



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA**

Ocorrência da infecção por *Trichomonas vaginalis* em mulheres HIV positivas e negativas atendidas em hospitais de referência em Goiânia, Goiás, Brasil.

PATRÍCIA ABREU PINHEIRO DE LEMOS

Orientador Prof. Dr. Marco Túlio Antonio García-Zapata

Dissertação de Mestrado

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

Patrícia Abreu Pinheiro de Lemos

Ocorrência da infecção por *Trichomonas vaginalis* em mulheres HIV positivas e negativas atendidas em hospitais de referência em Goiânia, Goiás, Brasil.

Orientador:

Prof. Dr. Marco Túlio Antonio García-zapata

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de pós-graduação em Medicina Tropical no Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, Goiânia - GO como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Medicina Tropical na área de concentração de Parasitologia.

Goiânia - Goiás, 2008

“Sonha e serás livre de espírito...

Luta e serás livre na vida.”

Ernesto “Che” Guevara

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e a Ciência pelo estudo, por constituírem a Biologia.

Ao professor e orientador Doutor Marco Tulio Antonio García-zapata pelo profissionalismo, pela sabedoria e pelo tanto que aprendi em nossa convivência

À coordenação de pós-graduação do IPTSP/UFG em nome da coordenadora professora doutora Mariane Martins de Araújo Stefani.

Aos professores doutores Alverne Passos Barbosa e Ruy de Souza Lino Júnior pelos registros fotográficos da espécie *Trichomonas vaginalis* e também pela filmagem de seus movimentos.

À professora doutora Ana Maria de Castro pela orientação nos primeiros procedimentos laboratoriais, ao colega Marcos Gontijo pelo auxílio no projeto piloto, à colega Nelma Costa Borborema pela colaboração na realização dos meios de cultura, à Nair, funcionária do IPTSP, pela atenção e simpatia,

Aos colegas de laboratório (NUPEREME): Edson Sidião de Souza Júnior pelo empenho e competência, Sônia de Fátima Santos pelo entusiasmo contagiante, Fabiana Aleixo pela alegria e vivacidade e Hugo Deleon pela solidariedade.

Ao diretor do Hospital de Doenças Tropicais (HDT/SES/GO Boaventura Brás de Queiroz pelo consentimento da pesquisa na instituição.

À Norma Ester Negrete Calpineiro, médica do HDT, pelo interesse no projeto, pela amizade e pelo respeito profissional.

Ao médico Julio da Fonseca Pôrto pela colaboração na coleta das amostras do HDT.

Ao coordenador do comitê de ética e pesquisa do Hospital Materno Infantil SES/GO Marco Aurélio Albernaz pela carta de aprovação e consentimento da pesquisa na referida instituição.

À médica Luíza Emylse Pelá Rosado Schumaltz pela colaboração na coleta de amostras no HMI.

Aos colegas de profissão no laboratório do HDT onde trabalhei nas microscopias A fresco, Cultura e na coloração de Papanicolaou.

Aos funcionários do laboratório do HMI pela receptividade e consentimento das análises microscópicas.

À Secretaria Municipal de Saúde, em nome do secretário Paulo Rassi, pela licença concedida ao núcleo do Programa de Saúde da Família (PSF) no bairro Jardim Curitiba III próximo a Maternidade Nascido Cidadão onde foram realizadas algumas análises.

Às enfermeiras Rejane e Viviane do PSF Jardim Curitiba III e a todos os auxiliares que prestaram gentilezas durante o período de coleta das amostras negativas.

Ao laboratório Rômulo Rocha, em especial, à professora Rita Goretti e às colegas citologistas Edna Manrique e Suelene Brito pelo auxílio na revisão de lâminas para verificação das alterações inflamatórias provocadas pelo *Trichomonas vaginalis*.

Aos auxiliares, técnicos e biomédicos do Laboratório Santa Helena Ltda onde realizei parte das análises laboratoriais.

Às pacientes que consentiram em participar do projeto fornecendo-nos as amostras.

À colega Ana Flávia Eugênio Lourenço pelo companheirismo nas horas de estudo para a prova de seleção.

Aos amigos e vizinhos que acompanharam minha jornada, pelo carinho e incentivo.

Muito obrigada!

À minha filha Beatriz

por alegrar cada amanhecer;

Aos meus pais Marúcia e Zenon

pelo amor que me dedicaram;

Ao meu irmão Zenon Filho

pelo exemplo de perseverança.

À memória do meu avô

Sylvio Pinheiro de Lemos.

SUMÁRIO

RESUMO.....	IX
ABSTRACT.....	X
LISTA DE FIGURAS.....	XI
LISTA DE TABELAS.....	XII
LISTA DE GRÁFICOS.....	XIII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XIV
INTRODUÇÃO.....	1
1. Considerações Preliminares.....	1
2. Aspectos históricos.....	2
2.1. Descoberta.....	2
2.2. Biologia e Patogenia.....	3
3. Diagnóstico Laboratorial.....	4
3.1. Exame a Fresco.....	4
3.2. Exame de Cultura.....	4
3.3. Exame Citológico de Papanicolaou.....	6
4. Aspectos epidemiológicos.....	7
5. Transmissão Vertical do <i>Trichomonas vaginalis</i>	8
6. Aspectos relacionados à Imunodeficiência Humana.....	9
7. Alguns riscos relacionados a Tricomoníase.....	9
OBJETIVOS.....	11
METODOLOGIA.....	12
1. Local do estudo.....	12
2. Amostra do estudo.....	14
3. Aspectos Éticos.....	14
4. Critérios de Seleção: Inclusão / Exclusão.....	15
5. Procedimentos.....	15
6. Aspectos Estatísticos.....	17
ARTIGO 1 - The prevalence of <i>Trichomonas vaginalis</i> in HIV- positive and negative patients in referral hospitals in Goiania, goias, Brazil.....	18

ARTIGO 2 - Method comparison in the identification of <i>Trichomonas vaginalis</i> in HIV-positive and negative women.....	36
CONCLUSÕES FINAIS.....	50
RECOMENDAÇÕES E /OU SUGESTÕES.....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
ANEXOS.....	59

RESUMO

O estudo avaliou a frequência da infecção por *Trichomonas vaginalis* em mulheres HIV+ (vírus imunodeficiência humana) e HIV- em Goiânia-GO, comparando a presença do parasito e correlacionando com as condições de imunodeficiência. Avaliou também as técnicas de diagnóstico: exame a fresco, cultura e citologia, e apontou as principais alterações inflamatórias nos dois grupos. As amostras de HIV+ (grupo teste) foram coletadas no Hospital de Doenças Tropicais e no Hospital Materno Infantil e as de HIV negativas (grupo controle) na Maternidade Nascido Cidadão. Foram utilizados “swabs” para os exames a fresco (salina) e para a cultura (meio Diamond), espátula de Ayre e escovinha para os esfregaços citológicos que foram submetidos a fixadores comerciais. Foram examinadas 237 amostras: 125 do teste e 112 do controle. A frequência por *T. vaginalis* foi 13,9%, sendo 18,4% nas HIV+ e 8,9% nas HIV-. O resultado foi estatisticamente significativo ($p < 0,05$), porém a infecção não foi associada à imunodeficiência (CD4, carga viral e linfócitos). Houve diferença significativa entre grávidas HIV+ e HIV- (22,6% vs 12,5%). A Cultura obteve 13,9% da presença de *T.vaginalis*, a Citologia 13,5% e o exame a fresco 11,4%. Halos perinucleares predominaram na avaliação das alterações inflamatórias, porém não houve diferença entre os grupos.

Palavras Chave: *Trichomonas*, HIV, Mulheres.

ABSTRACT

This study evaluated the frequency of *Trichomonas vaginalis* infection in human immunodeficiency virus positive (HIV+) and negative (HIV-) women in Goiania, Goiás, Brazil, comparing the presence of the parasite in the two groups and correlating it with the conditions of immunodeficiency present in these women. The diagnostic techniques used, wet mount microscopy, culture and cytology, were also evaluated, and the principal inflammatory alterations in the two groups were assessed. The HIV+ samples (test group) were collected at the Hospital of Tropical Diseases and in the Maternal and Child Healthcare Hospital, whereas the HIV-negative samples (control group) were collected at the Maternity Hospital. Swabs were used for wet mount microscopy (saline solution) and for culture (Diamond's medium), and Ayre's spatula and brush were used for the cytology smears, which were fixed using a commercial fixative. A total of 237 samples were analyzed, 125 HIV-positive test samples and 112 HIV-negative controls. The overall frequency of *T. vaginalis* was 13.9%, 18.4% in the HIV+ and 8.9% in the HIV- group. This difference was statistically significant ($p < 0.05$); however, the infection was not associated with immunodeficiency according to CD4, viral count and lymphocytes. There was a significant difference in the prevalence of the parasite between HIV+ and HIV-pregnant women (22.6% versus 12.5%). Culture identified a frequency of *T. vaginalis* of 13.9%, while cytology identified a rate of 13.5% and wet mount microscopy 11.4%. Perinuclear halos were the most frequent inflammatory alteration; however, there was no difference between the groups.

Key words: *Trichomonas*; HIV; women.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Localização geográfica de Goiás e Goiânia.....	12
FIGURA 2. Planta Urbanística de Goiânia.....	13
FIGURA 3. Organograma dos Locais de Coleta.....	14
FIGURA 4. Organograma dos Procedimentos.....	16
FIGURA 5. <i>T. vaginalis</i> no meio de Cultura.....	48
FIGURA 6. <i>T. vaginalis</i> pós-cultura corada pelo GIEMSA.....	48
FIGURA 7. <i>T. vaginalis</i> na Citologia de Papanicolaou.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Presença de <i>T. vaginalis</i> em mulheres HIV positivas e negativas atendidas em hospitais de referência em Goiânia, Goiás, Brasil.....	31
Tabela 2	Frequência de células CD4, Carga Viral e Linfócitos relacionada à presença de <i>T. vaginalis</i> em mulheres HIV positivas.....	32
Tabela 3	Gravidez relacionada à presença de <i>T. vaginalis</i> em mulheres HIV positivas e negativas.....	33
Tabela 4	Início da atividade sexual relacionado à presença de <i>T. vaginalis</i> nos grupos de mulheres HIV positivas e negativas.....	34
Tabela 5	Frequência de <i>T. vaginalis</i> no conjunto das três técnicas de diagnóstico.....	35
Tabela 6	Uso de preservativos relacionado à presença de <i>T. vaginalis</i> entre os grupos de mulheres HIV positivas e negativas.....	35
Tabela 7	Frequência de <i>T. vaginalis</i> nas três técnicas de diagnóstico.....	46
Tabela 8	Frequência de <i>T. vaginalis</i> no conjunto das três técnicas de diagnóstico.....	46
Tabela 9	Frequência de <i>T. vaginalis</i> no conjunto das três técnicas de diagnóstico entre os grupos de mulheres HIV positivas e negativas.....	47
Tabela 10	Presença de <i>T. vaginalis</i> relacionada à conclusão da Citologia Oncótica.....	47

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Frequência de <i>T. vaginalis</i> nas três técnicas de diagnóstico entre os grupos de mulheres: HIV + / -	48
Gráfico 2	Alterações inflamatórias pela presença de <i>T. vaginalis</i> relacionadas aos grupos de mulheres HIV positivas e negativas.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS

HDT/SES/GO - Hospital de Doenças Tropicais, Secretaria Estadual de Saúde do estado de Goiás.

HMI/SES/GO - Hospital Materno Infantil, Secretaria Estadual de Saúde do Estado de Goiás.

IPTSP - Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública

MNC/SMS/GO - Maternidade Nascir Cidadão, Secretaria Municipal de Saúde, Goiânia, Goiás.

NFkB - Nuclear kappa factor

NUPEREME - Núcleo de Pesquisa em agentes Emergente e Re-emergentes.

PSF/Jardim Curitiba III - Programa de Saúde da Família do Jardim Curitiba III.

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana.

UFG - Universidade Federal de Goiás.

K₂HPO₄ - Diidrogenofosfato de potássio

KH₂PO₄ - Hidrogenofosfato de Potássio

H₂O - Água

NaCl - Cloreto de Sódio

Na₂HPO₄·12H₂O - Fosfato dissódico dodecahidratado

TNF-α - Fator-alfa de Necrose Tumoral

INTRODUÇÃO

1. Considerações preliminares

Os protozoários, seres unicelulares, eucariontes, cuja nomenclatura vem do grego (*proto*, primeiro, *zoon*, animal) são formas simples de vida. Cavalier-Smith (2002) apontou a possibilidade de eucariontes serem advindos da transformação evolutiva de eubactérias gram-positivas como a arqueobactéria.

Célula única, os protistas apresentam membrana, citoplasma e núcleo desempenhando funções de nutrição, respiração, reprodução, excreção e locomoção (Cavalier-Smith, 2004).

Filo Sarcomastigophora e subfilo Mastigophora os flagelados possuem uma membrana elástica e expansível que confere plasticidade ao organismo (Petrin et al., 1998). O citoplasma (massa gelatinosa e semifluida) se diferencia em ectoplasma e endoplasma, este último apresenta uma porção mais granulosa e fluida, contém vacúolos, reservas alimentares e produtos metabólicos. Costamagna et al. (2001) constataram a elevada quantidade de glicogênio e, através da microscopia eletrônica, demonstraram a existência de fenômenos de micropinocitose associados com vesículas apresentando um mecanismo habitual de endo e exocitose seletiva e também a freqüente fagocitose de partículas maiores. O aparelho de Golgi é encontrado nos protozoários com suas membranas paralelas e suas vesículas desempenhando a secreção e a absorção (Pfeffer, 2001).

Os protozoários do gênero *Trichomonas*, cuja forma evolutiva é unicamente a trofozoítica, apresentam um bastonete rígido que percorre seu corpo, termina em uma extremidade livre e é constituído pela justaposição de microtúbulos (citoesqueleto) que não apresenta afinidade a corantes (figura 2). Para a locomoção apresentam quatro flagelos na parte anterior (canal periflagelar) que se dirigem para frente, uma membrana ondulante voltada para trás que emerge fora do canal juntamente com a costa ou rede hexagonal contendo estrias transversais (figura 1) (Maciel et al. e Rey, 2001).

O núcleo, estrutura globular situada no endoplasma, apresenta nos Mastigosphora, vesículas com cromatina em grânulos pequenos ou finos distribuídos

no interior. A respiração é feita pelos hidrogenossomos, semelhantes às mitocôndrias, porém, não completam o ciclo de Krebs e produzem moléculas de hidrogênio ao invés de oxigênio (Schmidt, 1996). Os hidrogenossomos possuem a ferredoxina, enzima que converte o piruvato em acetato e não é encontrada nas mitocôndrias, fato que aproxima o parasito à anaerobiose, além disso, não dispõem da enzima que converte H_2O_2 em oxigênio e água, o que pode explicar o fato do O_2 ser nocivo às culturas (Petrin et al., 1998). A recente identificação da Hmp31 nos hidrogenossomos, homóloga ao carreador de ADP/ATP (ANT) das mitocôndrias, sustenta a idéia de que ambos compartilham a mesma origem ancestral (Chose et al., 2002).

2. Aspectos históricos

2.1 Descoberta

Alphred Donné encontrou o flagelado em 1836, denominando-o *Trichomonas* por pensar sê-lo coberto de cabelos (grego *thrix*, cabelo) (Schmidt, 1996) e em 1837 publicou um pequeno tratado com características microscópicas do parasito. Nesta época, em Paris, Donné se deparou com as fotografias de Daguerre, colaborou com o físico Foucault e obteve a primeira fotomicrografia da espécie (Campbell, 2001).

Em 1885 Koelliker e Scanzoni, citado por Pessôa & Martins (1982) encontraram-no em cerca de 10% da secreção de mulheres grávidas. No estudo feito por Wilson et al. (1996) o parasito foi positivo em 23,4% das secreções de gestantes contra 17,7% nas não-grávidas, concluindo que apesar da monogamia, a gravidez não representa um período de redução da transmissão de infecção sexual. Panaretto et al. (2006) encontraram o *T. vaginalis* em 7,2% de gestantes aborígenes no norte da Austrália e Rompalo et al. (2001), estudando uma população de 793 mulheres nos Estados Unidos, encontraram uma prevalência de 6,4% do parasito. Foi considerado um comensal até meados de 1950 quando foi esclarecido o seu papel de agente patogênico causador de infecção sexualmente transmitida (Swygard et al., 2003).

2.1. Biologia e Patogenia

T. vaginalis infecta a vagina. É um organismo anaeróbico facultativo, mede cerca de 10 μm de comprimento por 7 μm de largura (Petrin, 1998), apresenta-se

como uma célula polimorfa (trofozoíto) tanto no hospedeiro natural quanto em meios de cultura (Maciel et al., 2004), cresce bem em temperaturas entre 20 e 40° C e na faixa de pH compreendida entre 5 e 7,5 (Pessôa & Martins, 1982). Murta et al. (2005) afirmam que a infecção por *T. vaginalis* não é influenciada pelo pH vaginal ou pela presença de células endocervicais. A presença do parasito na vagina está associada a um corrimento de aspecto cremoso, ácido e de cor amarelada caracterizando uma leucorréia persistente. É transmitido principalmente pela via sexual, entretanto por ser resistente ao meio externo conserva sua infecciosidade em gotículas de secreção vaginal depositadas em fômites como artigos de toalete e assentos de privada (Pessôa & Martins, 1982). Os sinais e sintomas da Tricomoniase vão depender das condições individuais, da agressividade e do número de parasitos (Maciel et al., 2004).

Foi constatado que há um aumento na incidência da infecção por *T. vaginalis* no período do ciclo após a menstruação. Este fato é possivelmente causado pela capacidade do parasito em fagocitar hemácias a fim de adquirir o ferro da hemoglobina que, segundo López et al. (2000), constitui um nutriente essencial ao seu metabolismo. De Carli et al. (1996) observaram a atividade hemolítica dos flagelados em um experimento feito com lavado de hemácias humanas do grupo sanguíneo tipo O.

O mecanismo no qual *T. vaginalis* causa dano à célula ainda não está bem definido, porém Mirhaghani & Warton (1998) pesquisaram a presença de componentes glicoconjugados na membrana externa do parasito marcando-os citoquímicamente com partículas de ouro e chegando a conclusão de que os mesmos favorecem a aderência do parasito à célula hospedeira conferindo-lhe a sua patogenicidade.

3. Diagnóstico laboratorial

3.1. Exame a Fresco:

Em 1957, Barreto et al. estudaram, na microscopia de luz, a secreção vaginal instilada pelo líquido de Ringer no fundo de saco uterino (Pessôa & Martins, 1982). Hoje, segundo outros autores, a secreção é somente embebida em solução salina e, imediatamente, examinada (Ohlemeyer et al., 1998 e Spriggs, 1977) onde o parasito é

perfeitamente visto na sua movimentação flagelar, sendo o método considerado de alta especificidade (99,8% segundo Wise et al.), entretanto com uma sensibilidade menor (58 a 82%). Kissinger et al. (2005), estudando mulheres HIV positivas, verificaram que o exame direto feito com lavado cérvico - vaginal obteve maior sensibilidade comparado aos swabs vaginais (18,9% versus 13,3%). A revisão de Patel et al. (2000) expõe a vantagem do baixo custo do método direto, considerando-o o diagnóstico mais conveniente e amplamente usado na pesquisa dos tricômonas. Clark et al. (2007) verificaram que pessoas com positividade no exame a fresco são aquelas que apresentam alta carga parasitária, onde os sinais da inflamação se mostram mais evidentes no exame de Papanicolaou.

4. 2. Exame de Cultura:

T. vaginalis foi obtido em uma cultura axênica por Trussel (citado por Clark et al., 2002) em 1940. Ele é hoje isolado diretamente no meio de cultura, incorporado de antifúngicos e antibióticos bactericidas. Dois meios foram utilizados para o seu isolamento: TYM e suas modificações e TYI-S-33, o qual foi modificado da sua forma original, para *Entamoeba histolytica*, pela diminuição do pH. YI-S também comporta crescimento exuberante ao ser modificado similarmente, porém não foi testado como meio de isolamento. O termo Meio “Diamond” (anexo 7.1) veio substituir os: TYM, TYM modificado por Hollander, TYI- S-33 e YI-S (Clark et al., 2002), constituindo o meio de cultura de escolha para o cultivo dos tricômonas, contendo soro de cavalo ou fetal bovino no seu preparo e apresenta pico de crescimento em 24-48 horas.

Os meios TB1 e TB2, apesar de conterem ferro e vitamina B12 em sua composição, não incluem o soro-animal. No trabalho de Limoncu et al. (2007) o TB1 apresentou grande sensibilidade no isolamento do *T. vaginalis* e na manutenção de culturas em laboratório. Mirhaghani & Warton (1998) obtiveram os parasitos a partir do “Oxoid médium” (anexo 7.4) sem a presença de ágar, porém suplementado com 5% de soro de cavalo inativado alcançando, também, um crescimento em até 48 horas.

Um produto comercial denominado In Pouch TV tem sido relatado como apresentando resultados comparáveis aos demais meios, além da vantagem de vir pronto e com longa data de validade (Ohlemeyer, 1998). A cultura permanece o

padrão ouro por apresentar elevadas taxas de sensibilidade e especificidade, por ser simples de interpretar e requerer somente 300 a 500 tricomonas/ml de inóculo para iniciar o tratamento (Maciel et al., 2004). Mabey et al. (2006) afirmam que a maioria dos tubos de cultura estarão positivos em 48 horas, porém deverão ser mantidos por 7 a 10 dias antes de serem descartados.

A revisão de Patel et al. (2000) mostrou que os meios de Diamond e CPLM (anexos 7.1 e 7.2) são os mais apurados, com sensibilidades maiores que 95%. O meio de Diamond produz o máximo crescimento dos parasitos in vitro. Sakru et al. (2005), utilizando o meio de Diamond, pesquisaram 93 mulheres, das quais 3 positivas para *T. vaginalis*. Através do repique a cada 48 horas encontraram outras 5 positivas, alertando para a importância deste procedimento nos casos de baixas cargas parasitárias.

3.3. Exame citológico de Papanicolaou:

A citologia oncoparasitária iniciou-se a partir dos experimentos do médico George Papanicolaou, que conduziu os experimentos de Stockard e formulou a teoria de que todas as fêmeas de espécies superiores têm uma descarga vaginal periódica, base dos seus experimentos posteriores. Tiemman (1913), citado por Spriggs (1977), examinou as amostras vaginais dos roedores e descobriu nelas diferentes padrões e seqüências citológicas que o incitou a realizar a primeira citologia exfoliativa, corada com os corantes que levariam seu nome. Os padrões citológicos que Papanicolaou detectou foram imediatamente associados com as fases do ciclo ovariano e menstrual, que foram reforçados com os trabalhos de Stockard (1917) revelando a existência de um ciclo estrógeno, por Allen & Doisy (1923), além da influência do ciclo sexual na citologia exfoliativa (George, 1933) (Felipe, 2002-2003 e Spriggs, 1977).

O exame de Papanicolaou apresenta sensibilidade em torno de 61% e especificidade em torno de 97% na detecção de *T. vaginalis* (Wiese et al., 2000). Lara-Torre & Pinkerton (2003) verificaram que pacientes apresentando inflamação nos esfregaços de base líquida foram mais predispostos a positividade de *T. vaginalis* (50% versus 13%, $p < .001$).

Esfregaços costumam exibir sinais inflamatórios. Gonçalves et al. (1999) apontaram, na citologia oncoparasitária, as principais alterações inflamatórias

relacionadas ao *T. vaginalis*: halos perinucleares com frequência de 53%, núcleos aumentados (fase aguda) com 35% e hiperkeratose com 18%, além da pseudoeosinofilia (fase crônica) com 64%; Perda de borda citoplasmática e alterações nucleares também foram observadas. Fonseca, 1975 descreveu as características teciduais após a infecção pelo parasito, sendo os halos presentes ao redor do núcleo que se cora mais suavemente que o restante do citoplasma, o apagamento das bordas citoplasmáticas: imprecisas, mal delimitadas e em grupos celulares. Segundo Koss (1992) a infecção pelo parasito causa também marcante eosinofilia nas células escamosas, citólise excessiva e até a inversão do padrão do epitélio sugerindo um aumento da atividade estrogênica devido ao aumento da descamação celular.

4. Aspectos Epidemiológicos

T. vaginalis acomete 170 a 200 milhões de pessoas em todo o mundo (Wiese et al., 2000), no entanto existem poucos trabalhos publicados a respeito da sua prevalência (Sorvillo et al., 2001). Chesson et al. (2004) estimou que 6,2% das infecções por HIV são atribuíveis à infecção por *T. vaginalis*. Kehinde et al. (2005), estudando uma população da Nigéria, mostrou que 25% de 6 mulheres portadoras do HIV apresentavam o parasito concomitantemente. O estudo realizado por Magnus et al. (2003) relata maior prevalência de *T.vaginalis* dentre as doenças sexualmente transmissíveis (DST) relacionadas ao vírus da imunodeficiência (13,1% *T. vaginalis*, 5,3% *C. trachomatis* e 4,9% *N. gonorrhoeae*).

A incidência de *T. vaginalis* está entre 10 a 20% na população feminina do Brasil. Consolaro et al. (2000) verificaram sua maior frequência na faixa etária de 26 a 30 anos, Oliveira & Soares (2007) encontraram-na na faixa de 15 a 34 anos.

De 1980 a junho de 2007 foram notificados 474.273 casos de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) no Brasil, a taxa de incidência foi crescente até metade da década de 90, alcançando em 1998 cerca de 20 casos por 100 mil habitantes. Em 2007 estimava-se que 33 milhões de pessoas no mundo eram portadoras do HIV e no Brasil o Ministério da Saúde estimou cerca de 600 mil infectados. A região Centro-Oeste totalizou aproximadamente 11.000 infectados; no estado de Goiás o número de casos é de 4.200, e no município de Goiânia (população

estimada de 1.244.645) esses números correspondem a 1.842 casos (Ministério da Saúde, 2007).

A incidência média de transmissão vertical (mãe-filho) do HIV é de 10%, no entanto medidas preventivas e tratamento adequado reduzem as chances de transmissão vertical do vírus para perto de 1%. De acordo com o Ministério da Saúde, até 2006 foram notificados no país 13.171 casos de SIDA em menores de 13 anos causadas por transmissão vertical.

5. Transmissão Vertical de *T. vaginalis*

T. vaginalis é transmitido durante o parto normal (Redman et al., 2003). O estudo de Hoffman et al. (2003) evidenciou a presença de *Trichomonas* na urina de um recém-nascido do sexo feminino no seu 15º dia de vida. Um estudo feito na Polônia (citado em Hoffman et al., 2003) descreveu 7,2% de casos de crianças menores que 3 semanas que desenvolveram corrimento vaginal e sugeriu que o efeito do estrogênio materno sobre o epitélio vaginal possa predispor neonatos do sexo feminino a infecção por *T. vaginalis*.

Redman et al. (2003) aponta o flagelado como causador de recém-nascidos de peso baixo e pequenos para a idade gestacional e como desencadeador de transtornos no bebê, tais como, secreções nasais supurativas e aflição respiratória. No trabalho realizado por Temesvári et al.(2004), o parasito foi encontrado em aspirados traqueais de dois recém nascidos prematuros e um estudo de Sutton et al. (1999) verificou que de 634 mulheres HIV positivas, 20,5% apresentaram parto prematuro, 18,9% associado ao peso baixo do bebê no nascimento e 24% recém-nascidos pequenos para a idade gestacional cujas mães possuíam *T. vaginalis* em suas secreções.

O trabalho de Simhan et al., 2007 relaciona a Tricomoníase com a ativação dos neutrófilos associada à presença de defensinas e interleucina 8 e afirma que há um aumento das defensinas no líquido amniótico na presença desta infecção subclínica intra-uterina, o que propicia a ruptura prematura das membranas placentárias.

6. Aspectos relacionados à Imunodeficiência Humana

T. vaginalis é considerado um fator importante que favorece a aquisição da Síndrome da Imunodeficiência Humana (Lawing & Schwebke, 2000) visto que é comprovado que a infecção promove maceração e erosão ao colo uterino segundo a intensidade da agressão inflamatória (Maciel et al., 2004) facilitando a porta de entrada para o vírus nos indivíduos HIV negativos e expandindo a porta de saída nos HIV positivos, pois provoca acumulação local de células infectadas por HIV que são susceptíveis a linfócitos e macrófagos (Buvé et al., 2001 e Wiese et al., 2000).

Outro fator que favorece a transmissão é a capacidade de *T. vaginalis* degradar a secreção leucocitária inibidora da protease que é um produto capaz de bloquear a invasão do vírus à célula, (Mirghagani et al., 1998). Segundo o trabalho de Guenther et al. (2005), *T. vaginalis* pode também ativar essas células imunes, aumentando a replicação do vírus devido ao aumento na produção da citocina TNF- α na presença do parasito. O trabalho de Réndón-Maldonado et al. (2003) descreveu a capacidade de *T. vaginalis* englobar linfócitos infectados pelo HIV.

O estudo de Kreiss et al. (1994) apontou a Tricomoniase como desencadeadora de cervicite (inflamação cervical) e associou-a significativamente à presença do DNA-HIV cervical. Este mesmo trabalho também associou o DNA-HIV cervical à maior estimulação progesterônica evidenciada na avaliação citológica de células ectocervicais pelo valor de maturação ≤ 85 .

No trabalho de Magnus et al. (2003) *T. vaginalis* não foi referido como agente oportunista, já que não houve associação da infecção com a contagem de células CD4.

7. Alguns riscos relacionados à Tricomoniase Humana

Buvé et al. (2001) comprovaram que o risco de Tricomoniase é mais elevado em mulheres que relataram maior número de parceiros sexuais durante a vida. Baixo nível de escolaridade, e uso de álcool também foram significativamente associados à infecção por *T.vaginalis* no estudo de Mc Clelland et al. (2007) e esta foi igualmente mais comum entre aquelas com cervicite ou vaginose bacteriana concomitantes, entretanto, o uso de preservativos e o uso de contraceptivos exclusivamente de

progesterona (DMPA ou Norplant) foram associados ao menor risco de infecção, o que levou a análises multivariadas.

OBJETIVOS

1. Geral

Comparar a frequência de *T. vaginalis* entre mulheres HIV positivas e negativas correlacionando com as condições de imunodeficiência bem como a eficiência dos exames a fresco, cultura e citologia de Papanicolaou para a detecção do parasito.

2. Específicos

Avaliar e comparar a frequência de *T. vaginalis* entre os grupos de mulheres HIV positivas e negativas.

Comparar três técnicas de diagnóstico entre os grupos e apontar as principais alterações inflamatórias relacionadas à presença de *T.vaginalis*.

METODOLOGIA

1. Local do Estudo

O presente trabalho foi realizado na cidade de Goiânia que constitui a capital e maior cidade do estado brasileiro de Goiás (figura 4). Situa-se no planalto central do Brasil, a 209 quilômetros a sudoeste da capital federal, Brasília.



FIGURA 1. Localização Geográfica de Goiás e de Goiânia

O município de Goiânia tem atualmente uma população estimada de 1.265.000 habitantes (IBGE, 2008), sendo o décimo segundo mais populoso do Brasil. Apresenta uma área de 739,5 km².

Goiânia possui 49,3% do total de sua população com faixa etária compreendida entre 20 e 49 anos, fato que comprova ser jovem quase a metade dos portadores de HIV.

A Secretaria Municipal de Saúde verificou, em 2007, 18 novos casos de AIDS em indivíduos com idade superior a 50 anos, no município (goiania.go.gov.br).

As tendências da AIDS em Goiânia seguem a nacional que é a feminilização da doença onde a razão entre homem e mulher é de 1,5: 1. No entanto, o maior número de casos continua sendo entre a população homossexual (goiania.go.gov.br).

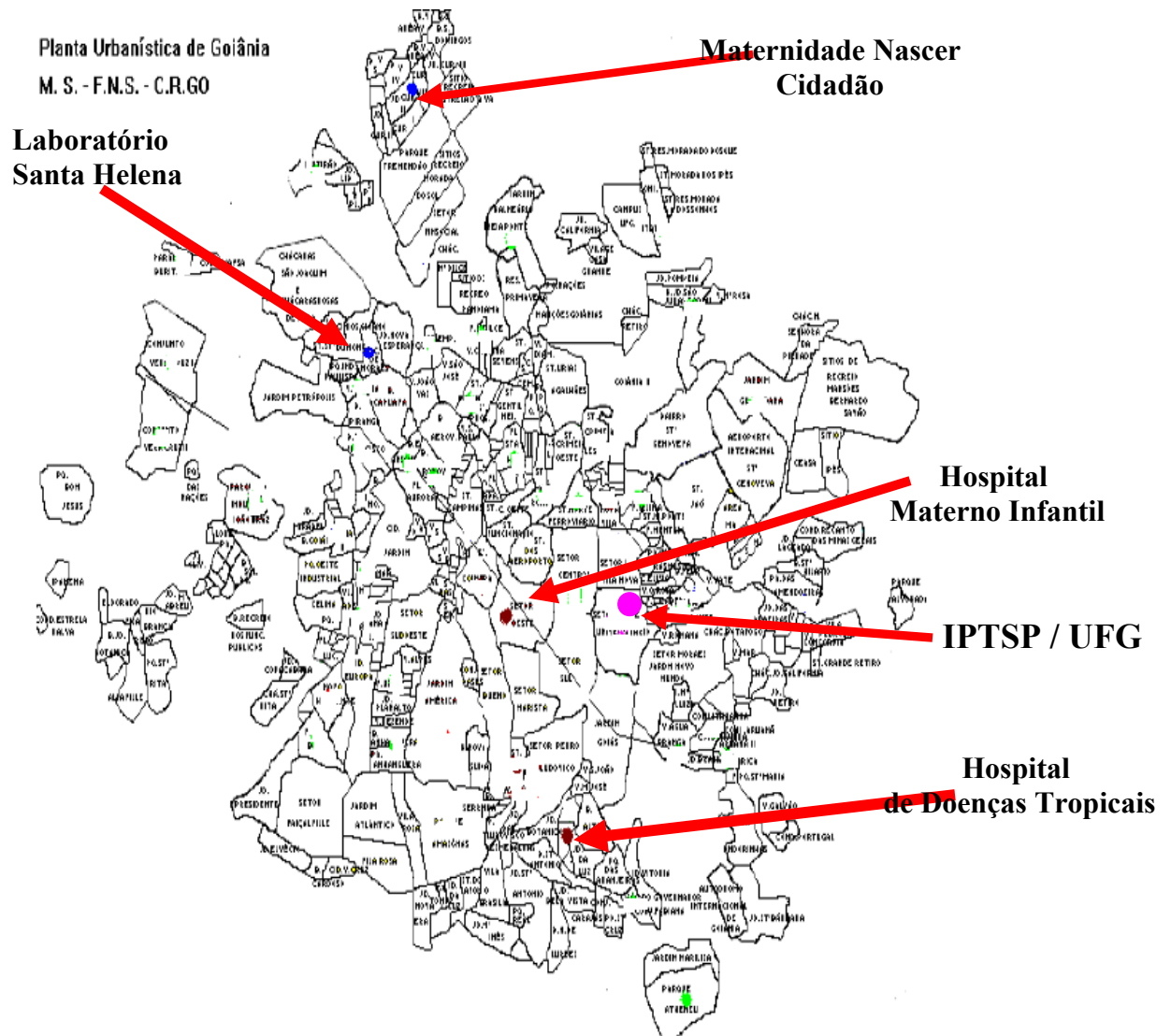


FIGURA 5. Planta Urbanística de Goiânia

O presente projeto foi realizado nos seguintes laboratórios:

- Laboratório do Núcleo de Pesquisa em agentes Emergentes e Re-emergentes (NUPEREME / IPTSP);
- Laboratório do Hospital de Doenças Tropicais (HDT/SES/GO);
- Laboratório do Hospital Materno Infantil (HMI/SES/GO);
- Laboratório da Maternidade Nascir Cidadão (MNC/SMS/GO);
- Laboratório Santa Helena Ltda (LSH).

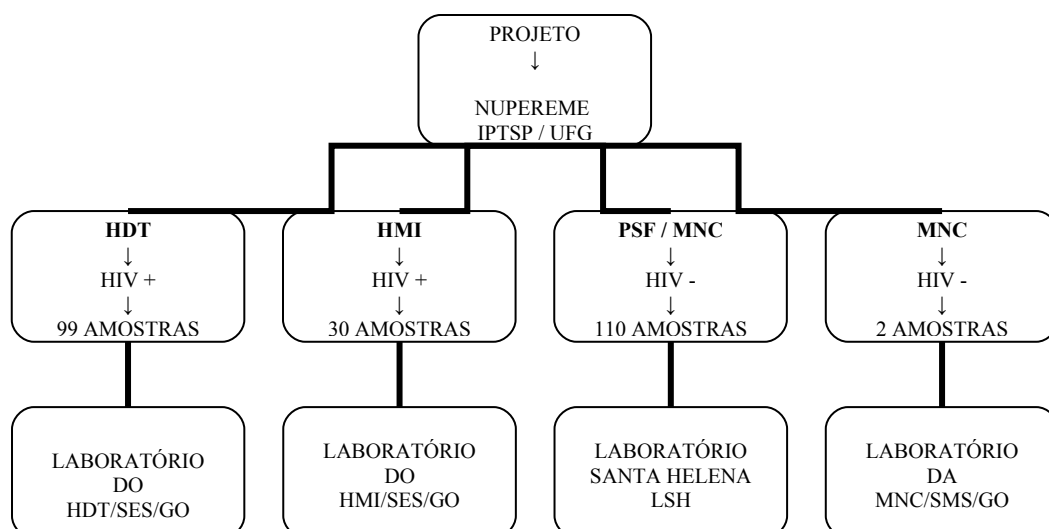


FIGURA 6: Organograma dos Locais de Coleta

2. Amostra do estudo

A população estudada foi obtida a partir de uma amostra consensual constituída por critérios de inclusão e exclusão (figura 6).

No início foi realizado um estudo piloto para avaliar a eficiência do meio de cultura com 12 amostras obtidas no Hospital de Doenças Tropicais /SES/GO.

No total foram pesquisadas 237 mulheres sendo 125 comprovadamente HIV positivas (grupo teste) e 112 HIV negativas (grupo controle) atendidas em hospitais públicos de Goiânia no período de 1 ano.

3. Aspectos Éticos

O presente projeto foi devidamente avaliado e aprovado pelos seguintes Comitês de Ética e Pesquisa (COEP):

- Hospital de Doenças Tropicais (anexo 10);
- Hospital Materno Infantil (anexo 11).

O termo de consentimento livre e esclarecido conteve as informações básicas do projeto, os seus procedimentos e os seus riscos de modo a obter, na presença de uma testemunha, as assinaturas do grupo pesquisado.

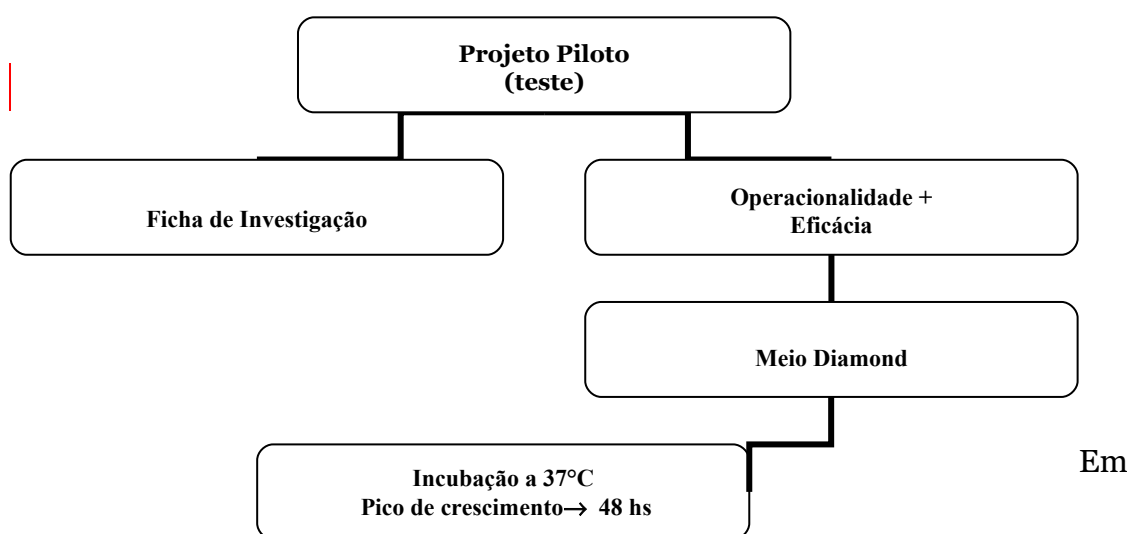
4. Critérios de Seleção: Inclusão / Exclusão

Os critérios básicos para inclusão consideraram pacientes do sexo feminino, em idade reprodutiva, sexualmente ativas, portadoras da Síndrome da Imunodeficiência Humana apresentando os comprovantes dos diagnósticos laboratoriais relacionados com a doença, outro grupo de mulheres não portadoras do HIV, dois grupos de gestantes: portadoras e não portadoras do HIV, em fase adequada para a coleta ginecológica tríplice, e todas as que aceitaram participar do Projeto e assinaram, na presença de uma testemunha, o “Termo de Consentimento” (em anexo). Foram excluídos todos os casos que não enquadrados nestes critérios.

5. Procedimentos

Para a coleta de dados deste estudo transversal, foi utilizada a ficha de investigação (anexo 8) adequada para a informatização e viabilização do banco de dados, aplicada na entrevista com a paciente. Esta ficha constitui o instrumento de base para os dados relacionados com as características epidemiológicas como para as análises laboratoriais da amostragem, de tal maneira a permitir no final do estudo, além da frequência de *T. vaginalis*, o grau de eficiência das técnicas de diagnóstico empregadas e correlacionadas à clínica das pacientes.

Na fase preliminar, foi feito um estudo piloto (figura 8) para avaliar o instrumento da pesquisa (ficha de investigação e testar a operacionalidade e eficácia dos meios de cultura para a identificação, durante os três primeiros meses. Durante esse período, foi preparado o meio de cultura para *T. vaginalis*, sendo um considerado padrão ouro “Diamond” (em anexo). Este meio foi testado com a coleta das primeiras amostras de secreção vaginal de mulheres HIV positivas feitas no Hospital de Doenças Tropicais. Observou-se a persistência dos tricômonas no meio Diamond comprovando a sua eficiência.



relação aos procedimentos laboratoriais e coleta foram realizadas as seguintes fases: 1, 2 e 3 (figura 7).

Realizou-se a coleta tríplex (fundo de saco + junção escamo colunar + canal endocervical).

O exame direto (a fresco) utilizou swab estéril embebido em solução fisiológica a 0,85%, acondicionado em tubo de ensaio apropriado também para o transporte.

A citologia oncoparasitária empregou espátula de Ayre e escovinha na feitura dos esfregaços finos, homogêneos e bem distribuídos nas lâminas de vidro, devidamente identificadas a lápis nas suas extremidades foscas e submetidos aos fixadores a base de polietilenoglicoes, etanol a 70% e acetona, em forma de “spray”, para evitar sua secagem ao ar que inutilizaria o esfregaço, posteriormente essas lâminas foram coradas pelo método de Papanicolaou. Os corantes utilizados na coloração foram da marca New Prov (nas primeiras 90 amostras). A bateria foi organizada no laboratório do Hospital de Doenças Tropicais na fase inicial das coletas para que as lâminas fossem coradas o mais rápido possível. Em um segundo momento, as cubas foram transferidas para um laboratório particular localizado próximo aos locais de coleta (Jardim Curitiba III e Hospital Materno Infantil) e a marca dos corantes foi substituída (Dolles).

Para a cultura foi utilizado o padrão ouro (Diamond); as amostras foram transportadas diretamente nos meios e encaminhadas ao laboratório (seção de microbiologia) onde foram analisadas ao microscópio de luz.

No Hospital de Doenças Tropicais foram colhidas 99 amostras, porém 4 foram descartadas. Das 33 amostras positivas para *T. vaginalis* apenas 30 foram avaliadas quanto às alterações inflamatórias na Citologia de Papanicolaou.

6. Aspectos Estatísticos

Os dados originais obtidos nesta pesquisa foram armazenados num banco de dados tipo EPIINFO 3.4 (2000). Foram calculados testes não-paramétricos (Teste exato de Fisher, Mantel e teste de duas proporções). O nível de significância dos testes não foi menor que 5% ($p < 0,05$).

Artigo 1

The prevalence of *Trichomonas vaginalis* in HIV-positive and negative patients in referral hospitals in Goiania, Goiás, Brazil.

Enviada à revista AIDS (anexo 12)

Abstract

Objective: To assess the frequency of *Trichomonas vaginalis*’ infection in HIV-positive and negative women attending three of the largest hospitals in Goiania, Brazil.

Design: Frequency of infection by *T. vaginalis* was evaluated using the gold standard diagnostic method of culture. **Methods:** Vaginal swab specimens were used for

inoculation of culture medium. **Results:** A total of 237 samples were examined: 125 (52.7%) comprising the HIV-positive group and 112 (47.3%) the HIV-negative control group. *T. vaginalis* was detected in 13.9% of the women, 23 (18.4%) of whom were HIV-positive while 10 (8.9%) were HIV-negative. This difference was statistically significant; however, infection by this parasite was not found to be associated with immune status. *T. vaginalis* was found in 20.5% of the pregnant women and there was a statistically significant difference in the rate of infection by this parasite between the pregnant HIV-positive and the pregnant HIV-negative women (22.6% versus 12.5%). **Conclusion:** *T. vaginalis* was more prevalent in HIV-positive women compared to the control group of HIV-negative women; however, no association was found between the infection and the immune status of the patients.

Keywords: *Trichomonas vaginalis*, Human Immunodeficiency Virus, HIV, pregnant women, protozoan.

Introduction

Trichomonas vaginalis is a flagellate parasite that infects 170-200 million individuals worldwide. [1] In Brazil, it affects 10-20% of the female population. [2] Few studies have been published on the prevalence of *T. vaginalis*. [3] Magnus et al. [4] reported a greater prevalence of this infection (13.1%) compared to other human immunodeficiency virus (HIV)-related, sexually transmitted infections (STIs); however, the infection was not found to be associated with lower CD4 counts, eliminating the hypothesis of an opportunistic condition.

Six hundred thousand individuals currently live with HIV in Brazil, around 11,000 of whom live in the mid-western region with 4,200 cases in the state of Goiás and 1,842 cases in the state capital, Goiania, a city of 1,244,645 inhabitants. [2]

According to some authors, *T. vaginalis* increases the risk of acquiring HIV, since it provides pools of leukocytes and macrophages that intensify the shedding of HIV in the genital area.

This infection may also provoke disruption of the epithelial barrier and may cause micro-ulcerations in the genital tract, increasing the portal of entry and exit of the virus. [3,5]

Another factor that favors transmission is the capacity of the infection to degrade secretory leukocyte protease inhibitor, a product capable of blocking the virus from attacking the cells.

[6] *T. vaginalis* may also activate the immune cells, increasing TNF- α cytokine production in the presence of this parasite.[7]

Buvé et al. [8] confirmed that the risk of *T. vaginalis* is higher in women reporting a greater lifetime number of sexual partners, in those with poorer education levels and in women with alcohol dependency, while McClelland et al. [9] reported that the infection was also more

common in women with concomitant cervicitis or bacterial vaginosis. On the other hand, the use of condoms and progesterone-only contraceptive methods (depot-medroxyprogesterone acetate or Norplant) was found to be associated with a lower risk of infection in a multivariate analysis model.

T. vaginalis is one of the most frequent sexually transmitted infections worldwide. [4] Its presence in the vagina increases predisposition to HIV seroconversion. [7] Since *T. vaginalis* infection is considered an important cofactor in HIV transmission, the objective of this study was to evaluate and compare the frequency of *T. vaginalis* in groups of HIV-positive and HIV-negative women,.

Methods

Setting

This study was conducted in three major hospitals in the city of Goiania, Goiás, Brazil: the Hospital of Tropical Diseases, a tertiary hospital for infectious diseases situated in the mid-west of Brazil, which forms part of the National Health Service network and has been a referral center for the care of HIV-infected individuals since 1980; the Maternal and Child Healthcare Hospital, a tertiary healthcare center for pregnant women that also includes a pediatric healthcare center; and a municipal maternity hospital, which is a tertiary, community-based healthcare center for pregnant women.

Ethics

This research was conducted within the required ethics guidelines of the Declaration of Helsinki and under the terms of the Resolution 196/96 of the Brazilian Ministry of Health.

The ethical committee of the hospitals involved had previously approved the study and inclusion of subjects followed the understanding and the consent of each participant.

Subjects

A total of 237 women were enrolled to the study between August 2005 and November 2006, 125 of whom were HIV-positive and 112 HIV-negative. Within this study population, 39 of the patients were pregnant, 31 HIV-positive and 8 HIV-negative women. Demographic and clinical data were collected by the investigators at enrollment using an assessment questionnaire. All patients provided vaginal smears for culture. Samples were obtained in the hospitals where the study took place and were analyzed by the investigators.

Admission criteria

Women who met the following criteria were enrolled to the study: women of reproductive age and sexually active; if pregnant, at a gestational age that permitted vaginal smear testing; women who had agreed to participate in the study, who had been informed of the procedures and risks involved, and who had signed an informed consent form in the presence of a witness.

A control group of HIV-negative women was then formed based solely on the aforementioned criteria, while in the case of HIV-positive women additional criteria comprised a confirmed diagnosis of HIV infection and the patient's awareness of her primary condition.

Diagnostic tests

Diamond's medium, considered the gold standard for the culture of *T. vaginalis*, was prepared and previously tested in a pilot study performed in 12 samples acquired from the Tropical

Disease Hospital. The culture medium was found to be effective. Cultures were maintained at 37 °C and observed under direct microscopy daily for 3 consecutive days with observations at 24, 48 and 72 hours.

Data Analysis

The data collected in this study were stored in a database using the EpiInfo software program, version 3.4 (2000). In view of the nature of the study, the nonparametric chi-square test and Fisher's exact test were used in the analysis. Significance level was established at $p < 0.05$.

Results

T. vaginalis was found in 33 of the 237 vaginal smear samples (13.9%), the highest prevalence being in the group of HIV-positive women (18.4%; $n=23$) compared to 8.9% ($n=10$) in the HIV-negative control group (Table 1).

When the laboratory findings of CD4 cells, viral load and lymphocytes per mm^3 were correlated with the presence of *T. vaginalis*, most of the women were found to have good immune status (Table 2).

Of the 237 HIV-positive and HIV-negative women, 39 (20.5%) were pregnant. A statistically significant difference was found in the rate of *T. vaginalis* infection between the group of 31 pregnant HIV-positive women and the group of 8 pregnant HIV-negative women (22.6% versus 12.5%; $p=0.0023$) (Table 3).

A correlation was found between the presence of *T. vaginalis* and a history of early initiation of sexual activities, defined as the initiation of sexual life prior to 18 years of age, 97.0% of the women in the HIV-positive group and 80.0% of the women in the HIV-negative group having had early sexual initiation (Table 4).

Regarding the presence of *T. vaginalis* and condom use, a higher frequency of the parasite (80%) was found in patients of the HIV-negative group who did not report condom use compared to the HIV-positive group (65.0%) in which more women reported condom use (Table 5).

Discussion

Analysis of the laboratory exams (viral load and CD4 lymphocyte count) showed no correlation between *T. vaginalis* and immunodeficiency in HIV-positive women, a result that is in agreement with the findings reported in the study conducted by Magnus et al. [4] However, it must be taken into consideration that most of the infected women are being followed up in one of the two specialized hospitals; therefore, immunosuppression is not an issue. The high rate of *T. vaginalis* found in HIV-positive women in the present study is in agreement with findings reported from other studies [10] and reveals the existence of a relationship between the virus and the parasite, since the latter may cause erosion and bleeding in the cervix [11], facilitating entry by the virus in view of its capacity to bind the leukocytes capable of phagocytosing infected virus particles and lymphocytes [12] or, according to Guenther et al. [7] activating the immune cells and increasing the response of the virus by increasing the production of the TNF- α cytokine. However, Chang et al. [13] (2004) observed that after 8 hours of incubation activation of NF- κ B (nuclear factor kappa B),

which produces TNF- α , declines. NF-KB stimulates and provokes the transcription of TNF- α , which is involved in the regulation of cell growth, inflammatory response and apoptosis (anti-apoptotic). [14]

T. vaginalis was detected in the vaginal smears of 8 of the 39 pregnant women (20.5%) in the present study. Some investigators [15,16] have also reported a high rate in this type of population. The difference between the rate found in the group of HIV-positive women compared to that found in the HIV-negative group was statistically significant. Considering that pregnancy is a period in which immunity is low, pregnant women run a greater risk of acquiring sexually transmitted infections, and the diagnosis and treatment of *T. vaginalis* is indispensable since the parasite acts as a carrier of the virus into the organism. [12]

Moreover, vertical transmission may lead to severe respiratory problems in the newborn infant. [17,18] It is important to point out that, according to Simhan et al. [16], premature rupture of membranes is a consequence of the activation of neutrophils by *T. vaginalis*, provoking an increase in defensins, principally IL-8, in amniotic fluid.

Most of the women in this study were married or had a steady partner; therefore, promiscuity could not be directly related to the presence of the parasite; however, early sexual initiation (defined as referring to women under 18 years of age at the time of initiation of sexual activities) was associated with the presence of the infection.

In agreement with the findings of McClelland et al. [9], in the present study poorer education levels were associated with the presence of *T. vaginalis*. The association between *T. vaginalis* and recreational drug use was not investigated in this study.

In conclusion, *T. vaginalis* was more prevalent in HIV-positive women compared to the control group of HIV-negative women; however, no association was found between the infection and the immune status of the patients.

Acknowledgements:

The authors would like to express their gratitude to the staffs of the Hospital of Tropical Diseases, Maternal and Child Healthcare Hospital and Municipal Maternity Hospital, Goias, GO, Brazil, for their collaboration in performing the study and collecting the samples.

References

1. Wiese W, Patel SR, Patel SC, Ohl CA, Estrada CA. A meta-analysis of the Papanicolaou smear and wet mount for the diagnosis of vaginal trichomoniasis. *Am J Med* 2000; **108**:301-308.
2. Brazilian Ministry of Health, 2007 www.saude.gov.br
3. Sorvillo F, Smith L, Kerndt P, Ash L. *Trichomonas vaginalis*, HIV, and African - Americans. *Emerg Infect Dis* 2001; **7**:927-932.
4. Magnus M, Clark R, Myers L, Farley T, Kissinger PJ. *Trichomonas vaginalis* among HIV - Infected women: are immune status or protease inhibitor use associated with subsequent *T. vaginalis* positivity? *Sex Transm Dis* 2003; **30**:839-843.
5. Niccolai LM, Kopicko JJ, Kassie A, Petros H, Clark RA, Kissinger P. Incidence and predictors of reinfection with *Trichomonas vaginalis* in HIV-infected women *Sex Transm Dis* 2000; **27**:284-288.
6. Mirhaghani A, Warton A. Involvement of *Trichomonas vaginalis* surface-associated glycoconjugates in the parasite/target cell interaction. A quantitative electron microscopy study. *Parasitol Res* 1998; **84**:374-381.
7. Guenther PC, Secor WE, Dezzutti CS. *Trichomonas vaginalis*-induced epithelial monolayer disruption and human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) replication: implications for the sexual transmission of HIV-1. *Infect Immun* 2005; **73**:4155-4160.
8. Buvé A, Weiss HA, Laga M, Van Dyck E, Musonda R, Zekeng L, *et al*. The epidemiology of trichomoniasis in women in four African cities. *AIDS* 2001; **15** (Suppl 4):89-96.
9. McClelland RS, Sangare L, Hassan WM, Lavreys L, Mandaliya K, Kiarie J, *et al*. Infection with *Trichomonas vaginalis* increases the risk of HIV-1 acquisition. *J Infect Dis* 2007; **195**:698-702.

10. Panaretto KS, Lee HM, Mitchell MR, Larkins SL, Manassis V, Buettner PG, *et al.* Prevalence of sexually transmitted infections in pregnant urban Aboriginal and Torres Strait Islander women in northern Australia. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2006; **46**:217-224.
11. Maciel GP, Tasca T, De Carli GA. Aspectos Clínicos, Patogênese e Diagnóstico de *Trichomonas vaginalis*. *J Bras Patol Med Lab* 2004; **40**:152-160.
12. Rendón-Maldonado J, Espinosa-Cantellano M, Soler C, Torres JV, Martínez-Palomo A. *Trichomonas vaginalis*: in vitro attachment and internalization of HIV-1 and HIV-1-infected lymphocytes. *J Eukaryot Microbiol* 2003; **50**:43-48.
13. Chang JH, Ryang YS, Morio T, Lee SK, Chang EJ. *Trichomonas vaginalis* inhibits proinflammatory cytokine production in macrophages by suppressing NF-kappaB activation. *Mol Cells* 2004; **18**:177-85.
14. Iwalewa EO, McGaw LJ, Naidoo V, Eloff JN. Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *Afr J Biotechnol* 2007; **6**:2868-2885.
15. Wilson TE, Minkoff H, McCalla S, Petterkin C, Jaccard J. The relationship between pregnancy and sexual risk taking. *Am J Obstet Gynecol* 1996; **174**:1033-1036.
16. Simhan HN, Anderson BL, Krohn MA, Heine RP, Martinez de Tejada B, Landers DV, *et al.* Host immune consequences of asymptomatic *Trichomonas vaginalis* infection in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2007; **196**:59.e1-5.
17. Temesvári P, Kerekes A. Newborn with suppurative nasal discharge and respiratory distress. *Pediatr Infect Dis J* 2004; **23**:282-283.
18. Redman R, Johnson D. Newborn with suppurative nasal discharge. *Pediatr Infect Dis J* 2003; **22**: 933, 937-8.

Table I: Presence of *Trichomonas vaginalis* in HIV positive and HIV negative women attending referral hospitals in Goiania, Goias, Brazil.

HIV	T. vaginalis		
	Positivo	Negativo	TOTAL
Positivo	23	102	125
%	18.4*	81.6	100
Negativo	10	102	112
%	8.9	91.1	100
TOTAL	33	204	237
%	13.9	86.1	100

p<0.05 - Fisher exact 0.026

Table II: Frequency of CD4, Viral load and Lymphocytes related to *Trichomonas vaginalis*' presence in HIV positive women.

<i>Celulas CD4</i>	<i>Frequency</i>	Percent %
< 200 cells/ mm ³	3	13.0
> 200 cells/ mm ³	18	78.3
Missing	2	8.7
Total	23	100.0
Viral Load	Frequency	Percent %
< Minimal Limit	12	52.2
< 1000 copies/mm ³	2	8.7
> 1000copies/mm ³	7	30.4
Missing	2	8.7
Total	23	100.0
Lymphocytes	Frequency	Percent %
< 25%	6	26.1
> 25%	17	73.9
Total	23	100.0

Table III: Pregnancy related to the presence of *T. vaginalis* between the two groups of women: HIV + / - .

<i>Pregnancy</i>	Presence of <i>T. vaginalis</i>					
	HIV +			HIV -		
	<i>T.vaginali</i>	<i>T.vaginali</i>	Total	<i>T.vaginali</i>	<i>T.vaginali</i>	Total
	<i>s +</i>	<i>s -</i>		<i>s +</i>	<i>s -</i>	
Pregnant	7	24	31	1	7	8
%	22.6*	77.4	100.0	12.5*	87.5	100.0
NotPregnant	16	78	94	9	95	104
%	17.0	83.0	100.0	8.7	91.3	100.0
Total	23	102	125	10	102	112
	18.4	81.6	100.0	8.9	91.1	100.0

*In the following two tests, low p values suggest that ratios differ by stratum (p<0.05)

Chi-square for differing Odds Ratios by stratum (interaction) 0,0023

Chi-square for differing Risk Ratio by stratum 0,0064

Table IV: Precocity of sexual initiation related to the presence of *T. vaginalis* between the groups of HIV +/- women.

<i>Age</i>	Presence of <i>T.vaginalis</i>					
	HIV +			HIV -		
	<i>T.vaginalis</i>	<i>T.vaginalis</i>	Total	<i>T.vaginalis</i>	<i>T.vaginalis</i>	Total
	<i>s</i> +	<i>s</i> -		<i>s</i> +	<i>s</i> -	
Missing	2	0	2	1	0	1
%	8,7	0,0	1,6	10,0	0,0	0,9
Under 15	6	30	36	2	26	28
%	26,1	29,4	28,8	20,0	25,5	25,0
15 to 18	14	51	65	6	49	55
%	60,9	50,0	52,0	60,0	48,0	49,1
19 to 21	1	14	15	0	17	17
%	4,3	13,7	12,0	0,0	16,7	15,2
> 21	0	7	7	1	10	11
%	0,0	6,9	5,6	10,0	9,8	9,8
Total	23	102	125	10	102	112
%	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Table V: Use of condoms related to the presence of *T.vaginalis* between the groups of HIV +/- .

Use of condoms	Presence of <i>T. vaginalis</i>					
	HIV +			HIV -		
	+	-	Total	+	-	Total
Yes	13	55	68	0	13	13
%	65.0	53.9	55.7	0.0	12.9	11.7
No	6	32	38	8	79	87
%	30.0	31.4	31.1	80.0	78.2	78.4
Some times	1	15	16	2	9	11

%	5.0	14.7	13.1	20.0	8.9	9.9
Total	20	102	122	10	101	111
%	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

Artigo 2

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONCLUSÕES

Verificamos a maior frequência de *Trichomonas vaginalis* no grupo de mulheres HIV positivas. Não foi observada a imunodeficiência das pacientes quando correlacionamos: Presença do parasito com Número de células CD4, Carga Viral e Número de linfócitos por mm³.

Na avaliação das técnicas de diagnóstico observamos a maior eficácia do exame de Cultura que obteve o maior número de amostras positivas, em seguida o exame citológico de Papanicolaou que apresentou um percentual aproximado ao do “padrão ouro” e o Exame a Fresco que obteve o menor percentual entre as técnicas.

Dentre as alterações inflamatórias relacionadas à presença de *T. vaginalis*, os Halos perinucleares foram mais frequentes, seguindo-se Hiperceratose, Perda de

borda citoplasmática e Núcleos aumentados. Não houve diferença estatística entre os grupos teste e controle.

RECOMENDAÇÕES E/OU SUGESTÕES

O meio Diamond é um meio propício ao crescimento de *T. vaginalis* sendo recomendável a sua utilização em um período máximo de 20 dias após a introdução do soro bovino fetal devido à possibilidade de degradação do mesmo e a conseqüente diminuição da sua eficácia.

Para uma boa avaliação da Cultura de *T. vaginalis* sugerimos uma coleta adequada da secreção, nas imediações do canal da endocérnix e em boa quantidade para 2 ml de meio Diamond de modo a permitir uma melhor visualização dos parasitos quando presentes.

Sugere-se que a cultura, assim como o exame a fresco, seja analisada em duas horas após a coleta, pois dessa forma temos uma maior noção da carga parasitária, já que seguimos avaliando o cultivo até seu tempo máximo de crescimento em 48 horas.

O exame da Citologia de Papanicolaou deve ser feito lenta e cautelosamente e exige uma coloração bem feita a fim de pesquisar os flagelados, pois estes quase sempre estão acompanhados de grande número de leucócitos, alterações inflamatórias e degenerações que podem confundir o pesquisador.

A presença predominante de Halos perinucleares é um fator importante para se suspeitar a presença do *T. vaginalis* na citologia de Papanicolaou, assim como a presença de Hiperkeratose.

REFERÊNCIAS

Buve A, Weiss HA, Laga M, Van Dyck E, Musonda R, Zekeng L, Kahindo M, Anagonou S, Morison L, Robinson NJ, Hayes RJ. **The epidemiology of trichomoniasis in women in four African cities.** AIDS; 15(4): S89-S96. 2001.

Campbell WC. **A historic photomicrograph of a parasite (*Trichomonas vaginalis*).** Trends in Parasitology; 17(10): 499-500. 2001.

Cavalier-Smith T. **The phagotrophic origin of eukaryotes and phylogenetic classification of Protozoa.** International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 52, 297-354. 2002.

Cavalier-Smith. **Only six kingdoms of life.** Proc.R.Soc.Lond.B, 271: 1251-1262. 2004.

Chang JHR Yong-Suk, Morio T, Lee SK, Chang, EJ. ***Trichomonas vaginalis* inhibits proinflammatory cytokine production in macrophages by supressing NF-kB ativation.** Molecules and cells **18**(2): 177-185. 2004.

Chose ONC, Gerbod D, Brenner C, Viscogliosi E, Roseto A (2002). **A form of cell death with some features resembling apoptosis in the amitochondrial unicelular organism *Trichomonas vaginalis*.** Elservier Science (USA) 276: 32-39.

Clark CGD , Louis S. **Methods for Cultivation of Luminal Parasitic Protists of Clinical Importance.** Clinic Microb Reviews; 15(3): 329-41. 2002.

Clark RA, Theall K, Kissinger PJ. **Reply to: Microscopy and culture for *Trichomonas vaginalis*: are both required?** International Journal of STD & AIDS; 18: 220. 2007.

Costamagna SFMP (2001). **On the ultrastructure of *Trichomonas vaginalis*: cytoskeleton, endocytosis and hydrogenosomes.** Parasitology al Día **25**(3-4).

De Carli GA, Brasseur P, Silva AW, Rott M. **Hemolytic Activity of *Trichomonas vaginalis* and *Trichomonas foetus*.** Mem Inst Oswaldo Cruz **91**(1): 107-110. 1996.

F e l i p e OG, Dueñas. **Historia de George Papanicolaou y de la tinción que lleva su nombre.** © Elizabeth Castro Regla, de la serie Mutaciones: 19-23. 2002-2003.

Fonseca NM. **ATLAS DE CITOPATOLOGIA GINECOLÓGICA.** Rio de Janeiro: Atheneu; 1975.

Gómez-barrio AN, Juan MP, Davis RFE, ESCARIO JA (2002). **Biological variability in clinical isolates of *Trichomonas vaginalis*.** Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 97(6).

Guenthner PC, Secor WE, Dezzutti CS. ***Trichomonas vaginalis* induced epithelial monolayer disruption and human immunodeficiency virus type**

1 (HIV-1) replication: implications for the sexual transmission of HIV-1. Infect Immun; 73(7): 4155-60. 2005.

Gonçalves MAG. **Associação *T. vaginalis* e *G. vaginalis*: variações nos efeitos epiteliais.** J. Bras Doenças Sex Transm; 11(1): 4-10. 1999.

Heath JP. **Behaviour and pathogenicity of *Trichomonas vaginalis* in epithelial cell cultures.** Br J Vener Dis **57**: 106-17. 1981.

Hoffman DJBG, Wirth FH, Gebert BS, Bailey CL, Anday EK. **Infecção do trato urinário com *Trichomonas vaginalis* no RN prematuro e o desenvolvimento de doença pulmonar crônica.** J Perinatol 23: 59-61. 2003.

IBGE Contagem e Estimativas da População 2007/2008.
<http://www.apaedegoiania.org.br>

Kissinger PJ, Dumestre J, Clark RA, Wenthold L, Mohammed H, Hagensee ME, Martin DH. **Vaginal swabs versus lavage for detection of *Trichomonas vaginalis* and bacterial vaginosis among HIV - positive women.** Sexually Transmitted Diseases; 32(4): 227-30. 2005.

Lara-Torre E, Pinkerton J. **Accuracy of detection of *Trichomonas vaginalis* organisms on a liquid - based papanicolau smear.** American Journal of Obstetrics and Gynecology; 188(2): 354-56. 2003.

Limoncu ME, Kilimcioğlu AA, Kurt O, Östan I, Özkütük N, Özbilgin A. **Two novel serum free media for the culture of *Trichomonas vaginalis*.** Parasitology Research; 100: 599-602. 2007.

Lobo TT, Feijó G, Carvalho SE, Costa PL, Chagas C, Xavier J, Simões-Barbosa A. **A comparative evaluation of the Papanicolaou test for the diagnosis of Trichomoniasis.** Sex Transm Dis; 30(9): 694-699. 2003.

Koss LG. **Diagnostic cytopathology and its histopathologic bases. 4. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven. p. 345-347.1992.**

Kreiss, JWF, Dennis M, Hensel M, Emony W, Plummer F, Ndinya-azhola J, Roberts PL, Hoskyn J, Hillier S, Kiviat N, Holmes KK. **Association between cervical inflammation and cervical shedding of Human Immunodeficiency Virus DNA.** The Journal of Infectious Diseases **170**: 1597-60.1994.

Kupferberg ABJG, Sprice H. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. **64**: 304.1948.

Lawing LFH, Spencer R.; Schwebke JR. **Detection of Trichomonosis in vaginal and urine specimens from women by Culture and PCR.** Journal of Clinical Microbiology **38**(10): 3585-3588. 2000.

López LBB, Melo MB, López, JO, Arroyo R, Silva Filho, FC. **Strategies by which some pathogenic trichomonads integrate diverse signals in the decision making process.** An Acad Bras Cienc; **72**(2): 173-86. 2000.

Mabey DA, Adu-Sarkodie Y. ***Trichomonas vaginalis* infection.** Sex Transm Infect; **82**(Suppl IV): Iv26-Iv27. 2006.

Maciel GP, Tasca T, De Carli GA. **Aspectos Clínicos, Patogênese e Diagnóstico de *Trichomonas vaginalis*.** J. Bras Patol Med Lab; **40**(3): 152-160. 2004.

Magnus M, Clark R, Myers L, Farley T, Kissinger PJ. ***Trichomonas vaginalis* Among HIV - I Women: Are Immune Status or Protease Inhibitor Use Associated With Subsequent *T. vaginalis* Positivity?** Sex Transm Infect; **30**(11): 839-43. 2003.

McClelland RSSL, Hassan WM, Lavreys L, Mandaliya K, Kiarie J, Ndinya-achola J, Jaoko W, Baeten JM. **Infecção com *Trichomonas Vaginalis* Aumenta o Risco de Contrair HIV-1.** Journal of Infectious Diseases **195**(10.1086/511278): 03-07. 2007.

Ministério da Saúde www.saude.gov.br

Mirhaghani AWA. **Involvement os *Trichomonas vaginalis* surface - associated glycoconjugates in tehe parasite / target cell interaction. A**

quantitative electron microscopy study. Parasitology Research 84: 374-381. 1998.

Murta EFC, Silva AO, Silva EAC, Adad SJ. **Frequency of infectious agents for vaginitis in non and hysterectomized women.** Arch Gynecol Obste; 273: 152-156. 2005.

Naib ZM. **CYTOPATHOLOGY.** Boston: Little & Brown, 1996.

Neves DPM, Linardi PM, Vitor RWA. **Parasitologia Humana.** São Paulo: Atheneu; 2005.

Patel SR, Wiese W, Patel SC, Ohl CA, Byrd JC, Estrada CA. **Systematic Review of Diagnostic Tests for Vaginal Trichomoniasis.** Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology; 8: 248-57. 2000.

Pessôa SB, Martins, AV. **Parasitologia Médica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1982.

Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G. **Clinical and Microbiological Aspects of *Trichomonas vaginalis*.** Clin Microbiol Rev.; 11: 300-17. 1998.

Pfeffer SR. **Constructing a Golgi complex.** J Cell Biol 2001; 155:873-5.

[Ohlemeyer CL](#), [Hornberger LL](#), [Lynch DA](#), [Swierkosz EM](#). **Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* in adolescent females: in pouch tv culture versus wet-mount microscopy.** J. Adolesc Health; 22(3): 205-8. 1998.

Otárola CBJ, Bahamondes MI, Muñoz R, Lorca ML(). **Frecuencia de *Trichomonas vaginalis* detectadas mediante Papanicolaou em cuatro servicios de salud.** 1997-2002. Rev. Chil. Obstet. Ginecol. 70(1): 3-7. 2005.

Panaretto KSMH, Mitchell MR, Larkins SL, Manassis V, Buettner PG, Watson D. **Prevalence of sexually transmitted infectious in pregnant urban aboriginal and torres strait islander women in northn Australia.**

Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology **46**: 217-224. 2006.

Prefeitura de Goiânia www.goiania.go.gov.br

Redman RJD. **Newborn with suppurative nasal discharge**. Pediatric Infect Dis J 22(10): 933, 937 -8. 2003.

Rendón-maldonado J, Espinosa-Castellano M, Soler C, Torres JV, Martínez-Palomo A. ***Trichomonas vaginalis*: In vitro Attachment and Internalization of HIV-1 and HIV-1-Infected Lymphocytes**. J. Eukaryot. Microbiol. **50**(1): 43-48. 2003.

Rey L. **PARASITOLOGIA**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.

Rivero LR, Rodriguez ME, Ramos IS, Pérez CS. **Trichomonosis vaginal em um grupo de personas HIV positivas**. Ver. Cubana Méd. Trop.52(3):230-2. 2000.

Rompalo AM, Gaydos C, Tennant M, Crotchfelt K, Madico G, Quinn C, Daniel R, Shah KV, Gaydos JC, Mckee JR, Kelly T. **Evaluation of a Single Intavaginal Swab to Detect Multiple Sexually Transmitted Infections in Active-Duty Military Women**. Clinical Infections Diseases 33: 1455-61. 2001.

Sakru N, Toz SO, Yetkin AC, Akinci P , Kirca. **Increased sensitivity of *Trichomonas vaginalis* isolation from vaginal secretions by subsequent blind passage of preliminary negative cultures**. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease; 52: 75-76. 2005.

Schmidt GDR, Larry S. **FOUNDATIONS OF PARASITOLOGY**. EUA, Wm. C. Brown Publishers. 1996.

Silva Filho AM, Longatto Filho A. **Colo uterino & vagina - processos inflamatórios**. Rio de Janeiro: Revinter; 2000.

Simhan HNA, Brenna L, Krohn MA, Heine P, Tejada BM, Landers DU, Hillier SL. **Host immune consequences of asymptomatic *Trichomonas vaginalis***

infection in pregnancy. American Journal of Obstetrics and Gynecology **196**(59): 1-59 e 5. 2007.

Simões-Barbosa AF, Gilvânia C, Silva, JX. **A six-year follow-up survey of sexually transmitted diseases in Brasilia, the capital of Brazil.** The Brazilian Journal of Infectious Diseases 6(3): 110-117. 2002.

Spriggs AI. **History of Cytodiagnosis.** Journal of Clinical Pathology; 30: 1091-1102. 1977.

Sorvillo FSL, Kerndt P, Ash L. **Trichomonas vaginalis, HIV, and african - Americans.** Emerging Infectious Diseases 7(6). 2001.

Sutton MY, Sternberg M, Nsuami M, Behets F, Nelson AM, St louis ME. **Trichomoniasis in pregnant human virus-infected and Human Immunodeficiency Virus-uninfected congolese women: prevalence, risk factors, and association with low birth weight.** Am J Obstet Gynecol 181(3): 6562. 1999.

Swygard HS, A. C, Hobbs MM, Cohen MS. **Trichomoniasis: clinical manifestations, diagnosis and management.** Sexual Transm. Infect. 2004.

Temesvári PKA. **Newborn with suppurative nasal discharge and respiratory distress.** Pediatric Infect Dis J 23(3): 282-3. 2003. 2004.

Trichomonas Medium www.oxid.com.

Wikipedia <http://pt.wikipedia.org/wiki/Goi%C3%A2nia>

Wilson TEBM, Howard MD, Mccalla SMD; Jaccard J. **The relationship beteen pregnancy and sexual risk taking.** American Journal of Obstetrics and Gynecology 174(3): 1033-1036. 1996.

Wiese W, Patel SR, Patel SC, Ohl CA, Estrada CA. **A meta-analysis of the papanicolaou smear and wet mount for the diagnosis of vaginal Trichomoniasis.** The American Journal of Medicine; 108(4): 301-08. 2000.

Zhang ZGS,YU S-Z, Marshall J, Zielesny M, Chen Y-X, Sun M, Tang S-L, Liao C-S, Xu J-L, Yang X-Z.*Trichomonas vaginalis* and cervical cancer. AEP 5(4): 335-332.1995.

LOCAL	Frequência	Porcentagem	Porcentagem Acumulada
HDT	95	40,1%	40,1%
HMI	30	12,7%	52,7%
PSF	112	47,3%	100,0%
Total	237	100,0%	100,0%

ANEXOS

ANEXO 1

Frequência das amostras de secreção vaginal nos locais de coleta em Goiânia / GO.

ANEXO 2

Estatística descritiva da média de idade nos grupos de HIV +/-

	Mínimo	25%	Média	75%	Máximo	Mode
HIV +	16,000 0	27,0000	33,5000	41,0000	62,0000	24,0000
HIV -	16,000 0	23,0000	30,0000	40,5000	67,0000	23,0000

Mann-Whitney/Wilcoxon Two-Sample Test (Kruskal-Wallis test for two groups)

Kruskal-Wallis H (equivalent to Chi square) = 3,5822

Degrees of freedom = 1

P value = 0,0584

ANEXO 3

RELAÇÃO DA PRESENÇA DE *Trichomonas vaginalis* NA FAIXA ETÁRIA DA POPULAÇÃO

		FAIXA ETÁRIA						
PRESENÇA DE <i>Trichomonas vaginalis</i>	Missing	15 a 25 anos	26 a 35 anos	36 a 45 anos	46 a 55 anos	56 a 65 anos	66 a 75 anos	TOTAL
+								
%	2	6	11	6	7	0	1	33
	6,1	18,2	33,3	18,2	21,2	0	3,0	100,0
-								
%	1	61	65	47	25	5	0	204
	0,5	29,9	31,9	23,0	12,3	2,5	0,0	100,0
TOTAL								
%	3	67	76	53	32	5	1	237
	1,6	28,0	31,8	22,2	13,4	2,1	0,4	100,0

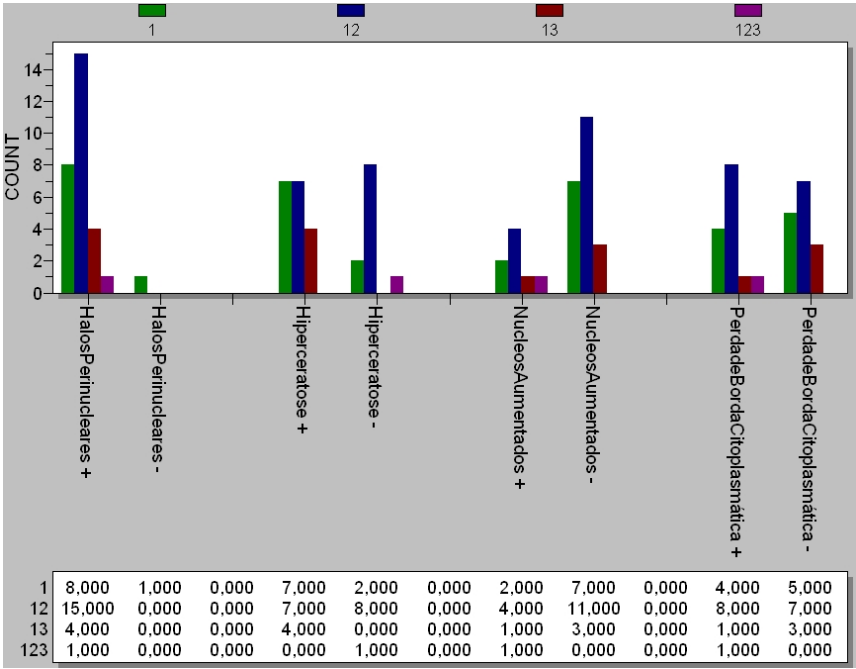
ANEXO 4

ESCOLARIDADE RELACIONADO À PRESENÇA DE *T.vaginalis* NO GRUPO DE MULHERES HIV +/-

[illegible]

ANEXO 5

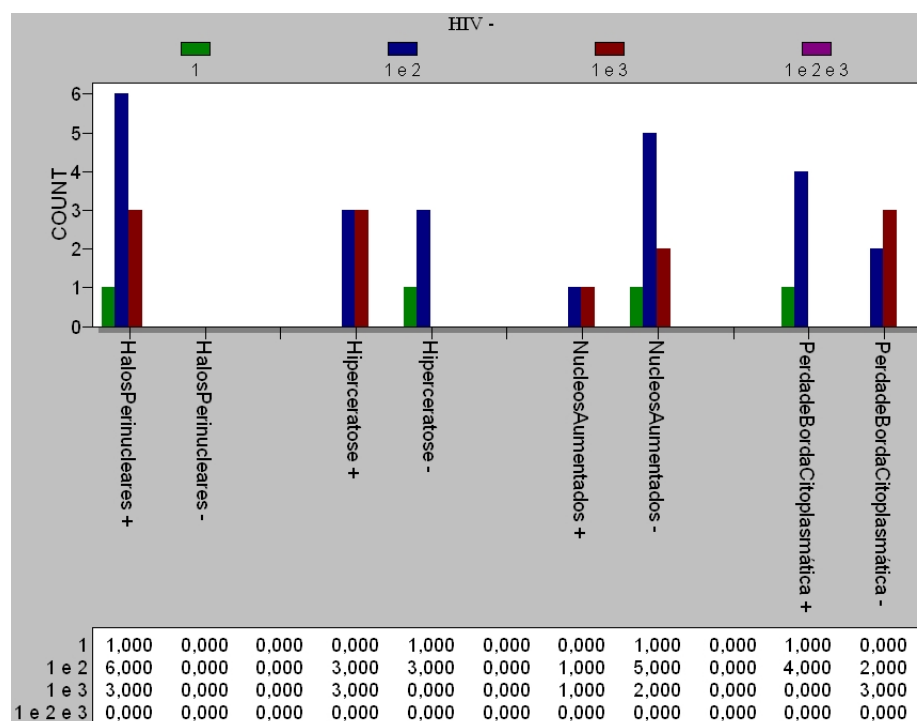
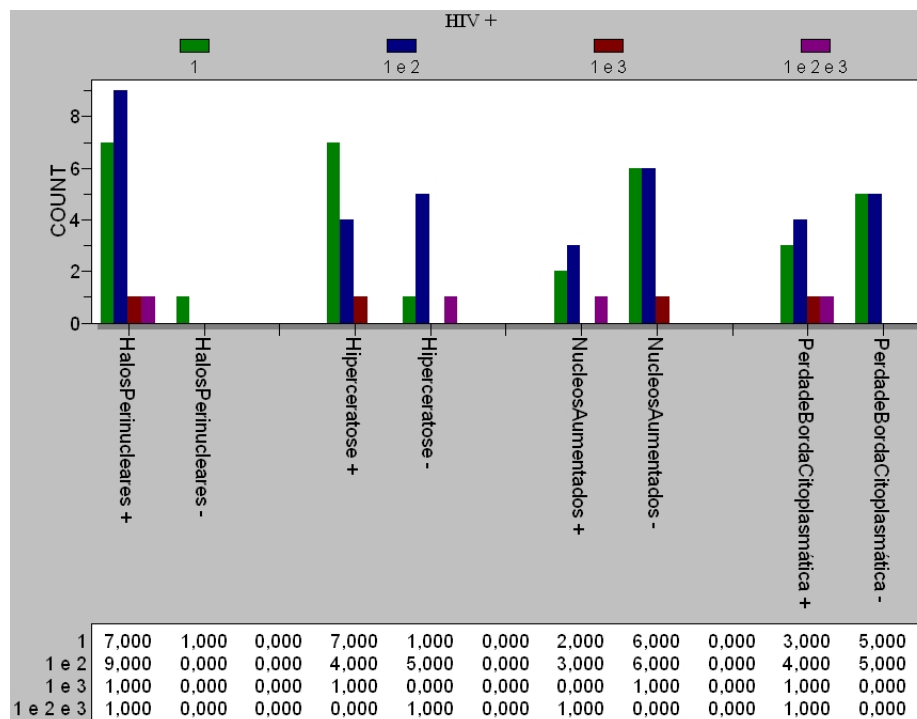
RELAÇÃO ENTRE OS AGENTES ESPECÍFICOS E AS ALTERAÇÕES INFLAMATÓRIAS DA CITOLOGIA DE PAPANICOLAOU



- 1 *Trichomonas vaginalis*
- 12 *f. vaginalis e G.vaginalis*
- 13 *f. vaginalis e Cândida sp*
- 123 *f.vaginalis, G. vaginalis e Cândida sp*

ANEXO 6

RELAÇÃO DOS AGENTES ESPECÍFICOS COM AS ALTERAÇÕES INFLAMATÓRIAS DA CITOLOGIA DE PAPANICOLAOU ENTRE OS GRUPOS DE MULHERES HIV + / -



- *Trichomonas vaginalis*
- *T. vaginalis* e *G. vaginalis*
- *T. vaginalis* e *Cândida sp*
- *T. vaginalis*, *G. vaginalis* e *Cândida sp*

ANEXO 7

Técnicas de Diagnóstico

7.1. Meio de Diamond

<i>Tryptone</i>	10,0 g (DIFCO)
<i>Extrato de levedo</i>	5,0 g (BIOBRÁS)
<i>Maltose</i>	2,5 g (MERK)
<i>L-Cisteína, cloreto</i>	0,5 g (SYNTH)
<i>Ácido ascórbico</i>	0,1 g (VETEC)
<i>K₂HPO₄</i>	0,4 g
<i>KH₂PO₄</i>	0,4 g
<i>Agar</i>	0,25 g (ISOFAR)

- Dissolver os sais tampão (cloreto, K₂HPO₄, KH₂PO₄) em 300 ml de H₂O; H₂O destilada deionizada 450 ml
- Acrescentar e dissolver os ingredientes remanescentes na ordem apresentada, com exclusão do agar (completar o volume com H₂O – 150 ml);
- Ajustar o pH em 6,0 e adicionar o agar;
- Autoclavar todo o meio no balão (121° C – 15’);
- Antes do uso suplementar com 10% (v/v) = 50 ml de soro de cavalo ou bovino, estéril e inativado (56°C – 30’);
- Acrescentar 1000 UI/ ml de penicilina G potássica 0,75 ml;
- Acrescentar 1 mg/ ml de Sulfato de estreptomicina 0,75 ml;
- Incubar o meio 24 h a 37° C para teste de esterilidade;
- Armazenar o meio a 4° a 5° C até 10 dias.

7.2. Meio Base *Trichomonas* CPLM, modificado (Himedia)

Digestão péptica de tecido animal..... 32 g

Digestão de fígado:.....20 g

Maltose:.....1.60 g

Hidrocloreto de L-Cisteína:.....2.40 g

Solução de Ringer 1/4 de concentração:.....q.s

pH Final (a 25°C):..... 6.0 + ⁻ 0.2

- Dissolva 56 gramas em 900 ml de água destilada.
- Aqueça para dissolver o meio completamente.
- Distribua em garrafas em alíquotas de 90 ml e
- Esterilize autoclavando a 10lbs de pressão a 115°C por 10 minutos.
- Resfrie até 50° C e adicione (para 90 ml de meio):
- Solução de Estreptomicina Penicilina estéril: 1ml e Solução Nistatina estéril: 1ml;
- Mexa vigorosamente e distribua em alíquotas apropriadas com precauções estéreis.
- Solução de Penicilina: 1 x 15⁵ unidades de penicilina + 0.1g de Estreptomicina + 10 ml de água destilada estéril;
- Solução de Nistatina: 5 x 10⁴ unidades de Nistatina + água destilada.

7.3. Meio de Kupferberg

Tripticase (BBL).....20,0 g

Cisteína (Cloridrato)..... 1,5 g

Maltose.....1,0 g

Agar.....1,0 g

Água destilada, q.s. para.....950,0ml

- Aquecer a mistura em banho-maria, até a dissolução do agar, e acertar o pH = 6.
- Filtrar a quente em papel de filtro de porosidade adequada (Reeve-Angel nº845, p. ex.) e juntar 0,6 ml de uma solução de azul de metileno a 0,5% para servir de indicador.

- Depois resfriar ligeiramente (em torno de 45°C), reajustar o volume para 50 ml, com água destilada, em pH 6;
- Distribuir o meio em tubos de ensaio (colocando 9,5 ml em cada um) e esteriliza-los em autoclave;
- Depois de resfriarem naturalmente, adicionar a cada tubo 0,5 ml de soro humano estéril.

7.4. Meio Oxoid para *Trichomonas* (Feinberg & Whittington)

Liver digest.....25 g

Glucose.....5 g

Sodium chloride.....6.5 g

Agar.....1.0 g

Ph 6.4 +- 0.2

- Dissolver 37,5 g em 1 lito de água destilada;
- Esterilizar autoclavando a 121°C por 15 minutos;
- Resfriar até aproximadamente 50°C;
- Inativar 80 ml de soro de cavalo, ajustar ao pH 6,0 e adicionar ao meio.

ANEXO 8

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA

Ficha de Investigação

Correlação clínico-epidemiológica & laboratorial do *Trichomonas vaginalis* em mulheres
HIV - positivas atendidas em hospitais de referência de Goiânia.

Nº DE REGISTRO:

Identificação da Paciente:

Nome: _____
Idade Atual: _____
Unidade de Saúde: _____
Prontuário: _____
Endereço: _____
Bairro: _____ Telefone: _____
Cidade/Estado: _____
Profissão: _____
Diagnóstico Preliminar: _____

Dados Laboratoriais:

AIDS:

() Sim () Não

Data do diagnóstico: ____/____/____

CD4/DATA: _____ CARGAVIRAL/DATA: _____

HEMOGRAMA:

Leucócitos: _____ Linfócitos: _____ Eosinófilos: _____

Hemoglobina: _____ Data: _____

TESTE DE GRAVIDEZ:

() Positivo () Negativo

Antecedentes pessoais:

Escolaridade:

() Analfabeta () 1º grau incompleto () 1º grau completo () 2º grau incompleto () 2º grau completo () Superior

Estado Civil:

☐ Casada ☐ Solteira ☐ Outras _____

Início da Atividade Sexual:

☐ Menor de 15 anos ☐ 15 a 18 anos ☐ 19 a 21 anos ☐ Maior de 21 anos

Número de Parceiros Sexuais:

☐ Um ☐ Um a três ☐ Três a cinco ☐ Mais que cinco ☐ Nenhum

Número de Gestações:

☐ Nenhuma ☐ Uma a Três ☐ Três a cinco ☐ Mais que cinco

Número de Filhos:

☐ Nenhum ☐ Um a três ☐ Três a cinco ☐ Mais de cinco

Menstruação Regular:

☐ Sim ☐ Não ☐ Não Sabe

Usa Anticoncepcional:

☐ Sim ☐ Não

Usa DIU:

☐ Sim ☐ Não

Usa preservativo (camisinha) durante a relação sexual:

☐ Sim ☐ Não ☐ Às vezes

Menopausa:

☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe

Histectomia:

☐ Sim ☐ Não

Terapia de Reposição Hormonal:

☐ Sim ☐ Não ☐ Não Sabe

Radioterapia Pélvica:

☐ Sim ☐ Não ☐ Não Sabe

Aborto Recente:

☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe

Citologia Anterior:

☐ Normal (negativo, inflamatório) ☐ Anormal (Lesões de baixo ou alto grau)
☐ Não ☐ Ignorado

Há quanto tempo:

☐ Até 3 anos ☐ de 3 a 5 anos ☐ Acima de 5 anos ☐ Ignorado

Fumante:

☐ Sim ☐ Não

Características clínicas:

Sintomas:

☐ Corrimento amarelado ☐ Corrimento esbranquiçado ☐ Leucorréia ☐ Secreção mal-cheirosa ☐ Outro

Inspeção do colo:

☐ Colo uterino normal ☐ Colo uterino avermelhado ☐ Outro _____

AVALIAÇÃO DA AMOSTRA

☐ Satisfatória

☐ Insatisfatória devido: _____

CLASSIFICAÇÃO GERAL

☐ Dentro dos limites normais

☐ Alterações reativas e/ou reparativas

☐ Anormalidades em células epiteliais

DIAGNÓSTICO DESCRITIVO

Tipos celulares

Células descamativas:

☐ Superficiais ☐ Intermediárias ☐ Parabasais

Células endocervicais:

☐ Típicas ☐ Típicas e reativas ☐ Típicas, reativas e degeneradas ☐ Típicas e degeneradas ☐ Outros

Células metaplasicas:

☐ Típicas ☐ Típicas e reativas ☐ Típicas, reativas e degeneradas ☐ Típicas e degeneradas ☐ Atípicas

☐ Escamosas ☐ Jovens ☐ Jovens e Escamosas

Células endometriais:

☐ Ausentes ☐ Presentes _____

Leucócitos: _____ Histiocitos: _____ Hemácias _____ Muco: _____

Microbiota vaginal:

☐ Moderada ☐ Acentuada

☐ Bacilos curtos e cocos ☐ Coccoide ☐ Lactobacilar ☐ Invertida ☐ Mista ☐ Cocobacilar

Agentes específicos:

☐ *Trichomonas vaginalis* ☐ *Gardnerella vaginalis* ☐ *Cândida sp* ☐ Outros _____

Modificações inflamatórias / reativas:

☐ Pseudoeosinofolia ☐ Halos perinucleares ☐ Hiperceratose ☐ Núcleos aumentados

☐ Perda de bordas citoplasmáticas ☐ Alterações nucleares ☐ Outros: _____

Anormalidades em células epiteliais: _____

CONCLUSÃO:

☐ Dentro dos limites da normalidade

☐ Processo Inflamatório Leve

☐ Processo Inflamatório Moderado

☐ Processo Inflamatório Acentuado

☐ Quadro sugestivo de Lesão Intraepitelial Escamosa de Baixo grau segundo Bethesda

☐ Quadro sugestivo de Lesão Intraepitelial Escamosa de Alto grau segundo Bethesda

☐ Quadro sugestivo de ASC-US: células escamosas atípicas de significado indeterminado

Categorias:

☐ Núcleos atípicos em células maduras não coilocitóticas

☐ Células que lembram coilocitos

☐ Outros: _____

ANEXO 9



Ministério de Educação e Cultura

Universidade Federal de Goiás (UFG)

Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP)

Curso de Mestrado em Parasitologia (CMP)

INFORMAÇÕES PARA A PACIENTE

Correlação clínico-epidemiológica & laboratorial da *Trichomonas vaginalis* em mulheres HIV-positivas atendidas em hospitais de referência de Goiânia.

O objetivo fundamental deste estudo é verificar a freqüência do Trichomonas vaginalis em mulheres HIV-positivas atendidas no Hospital Materno Infantil e no Hospital de Doenças Tropicais, em Goiânia, através de exames laboratoriais correlacionados com exames clínicos.

Nesse sentido é necessário:

- ❖ Realizar três técnicas de diagnóstico: exame direto, citologia oncoparasitária e cultura.
- ❖ Avaliar a eficácia das técnicas de diagnóstico através da comparação entre as mesmas.
- ❖ Analisar e apontar as principais alterações celulares no exame colpocitológico de Papanicolau.

A população estudada será de mulheres acima de 18 anos, sexualmente ativas e submetidas à consulta ginecológica nos ambulatórios de cada hospital. As pacientes serão abordadas pela pesquisadora na sala de espera, onde responderão à ficha de investigação. A médica ginecologista fará a coleta das amostras vaginais durante o exame clínico, localizando o colo uterino pela introdução do espéculo descartável na vagina, utilizando um cotonete estéril que será embebido em solução salina e outro que ficará dentro do meio de cultura. Com a espátula de madeira e a escovinha serão feitos os esfregaços em duas lâminas de vidro para o exame de prevenção que, depois de realizado, será colocado no prontuário de cada paciente, onde permanecerá resguardado, não sendo divulgado publicamente em hipótese alguma. Após a feitura dos três exames, as amostras serão descartadas. As gestantes não terão coleta tríplice devido aos riscos de abortamento que esta pode causar.

Pesquisar o *Trichomonas vaginalis* em mulheres HIV – positivas é importante porque a sua presença quase sempre é acompanhada de grande número de leucócitos, o que facilita a

entrada do vírus, representando um alto risco de transmissão; e também porque ele causa importantes alterações nas células do epitélio vaginal.

Em caso de dúvida ou arrependimento, a paciente poderá entrar em contato com a pesquisadora Patrícia pelo telefone 96173371.

Nesses termos, a paciente após informação básica sobre o projeto em menção e os procedimentos a serem empregados ficaria em pleno direito de dar o seu consentimento ou não sem penalidades ou perda de benefícios aos quais teria direito, porém não será remunerada pela participação.

Em caso de consentimento, e após leitura e esclarecimento das dúvidas por ventura existentes nesse respeito, a paciente, voluntária e espontaneamente poderá assinar na presença de testemunha o “Termo de Consentimento”.



Ministério de Educação e Cultura
Universidade Federal de Goiás (UFG)
Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP)
Curso de Mestrado em Parasitologia (CMP)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Correlação clínico-epidemiológica & laboratorial do *Trichomonas vaginalis* em mulheres HIV-positivas atendidas em hospitais de referência de Goiânia.

Nome da Paciente: _____

Unidade de Saúde/ Prontuário: _____

Endereço:

Eu (própria paciente) _____, abaixo assinada declaro ter sido esclarecida sobre o projeto de pesquisa supracitado e ter entendido apropriadamente as explicações que me foram dadas pela Dra. _____, Médica _____, do Hospital _____, componente da equipe clínica deste projeto, e concordo em ser submetido aos estudos laboratoriais que foram considerados necessários para o meu diagnóstico e tratamento adequados.

Declaro ainda, ter conhecimento dos riscos e desconfortos próprios da natureza destes procedimentos, como do pleno direito que tenho assegurado de em qualquer momento desistir da continuidade no Projeto de pesquisa supra, assim como que os benefícios requeridos para o meu tratamento e bem-estar prosseguirão.

Para afirmar que é verdade assino a continuação,

Nome: _____

Doc. _____

Identidade: _____

Endereço: _____

Testemunha: _____

Doc. _____

Identidade: _____

Endereço _____

ANEXO 10

 SUS Sistema Único de Saúde	SECRETARIA DA SAÚDE	 Hospital Materno Infantil	 GOIÁS Um Estado melhor a cada dia
--	--------------------------------	--	---

CARTA DE APROVAÇÃO

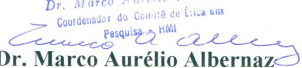
Goiânia, 09 de dezembro de 2005.

Protocolo CEPHA-HMI N° 035/05
Título do Projeto:Correlação clínico-epidemiológica laboratorial do Trichomonos vaginais em mulheres HIV-positivas atendidas em hospitais de referencia de Goiânia
Sr.(a):Investigador(a) Responsável: Patrícia Abreu Pinheiro de Lemos

Comunicamos-lhe que no dia 09 de dezembro de 2005 na reunião mensal do **Comitê em Ética em Pesquisa Humana e Animal do Hospital Materno Infantil CEP-HMI**, foi analisado e aprovado o Projeto de Pesquisa acima referido bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), de 18-11-2005 e estes considerados conformes com os princípios éticos vigentes.

Lembramos, ainda, ao investigador responsável, a necessidade de encaminhar ao CEP-HMI relatórios trimestrais do andamento, encerramento, conclusão e publicação da pesquisa.

Atenciosamente,


Dr. Marco Aurélio Albernaz
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa - HMI
Dr. Marco Aurélio Albernaz
Coordenador do CEP-HMI

Missão: Promover a saúde da mulher e da criança por meio das ações sócio-educativas e assistência médico-hospitalar, no contexto da saúde pública do Estado de Goiás e contribuir para o desenvolvimento científico através do ensino e pesquisa.	Visão: Ser referência em serviços especializados nas áreas da saúde da mulher e da criança, com enfoque na humanização da assistência integral aos seus clientes.
---	---

ANEXO 11



SES
SECRETARIA
DA SAÚDE



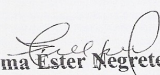
Um Estado melhor a cada dia

Hospital de Doenças Tropicais

DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que a pesquisadora Patrícia Abreu Pinheiro de Lemos está autorizada a realizar pesquisa nesta Unidade, referente ao projeto "Correlação Clínica – Epidemiológica e laboratorial do Trichomonos Vaginalis em mulheres HIV-positivas atendidas em hospitais de referência de Goiânia".

Goiânia, 29 de Julho de 2005.


Dr. Norma Ester Negrete Calpineiro
Membro do CEP – HAA/HDT

Missão: Oferecer Assistência especializada na área de doenças infecciosas, dentro do contexto público visando a reintegração do paciente e promover o conhecimento científico.

Visão: Ser um serviço de excelência em infectologia, uma das referências mencionadas no tratamento de saúde de doenças infecciosas, pautando-se pela alta resolutividade diagnóstica e terapêutica.

Hospital de Dr. Anuar Auad – HDT
Av. Contorno n.º 3556 – Jd. Bela Vista – Goiânia-Goiás – Fone/Fax: (62) 249-3122

ANEXO 12

AIDS

Online Submission and Review System Guidance for Authors on the Preparation and Submission of Manuscripts to AIDS

Note: These instructions comply with those formulated by the International Committee of Medical Journal Editors. For further details, authors should consult the following article: International Committee of Medical Journal Editors. "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" *N Engl J Med* 1997;336:309-315. The complete document appears at www.icmje.org.

Scope

AIDS publishes papers reporting original scientific, clinical, epidemiological, and social research which are of a high standard and contribute to the overall knowledge of the field of the acquired immune deficiency syndrome. The Journal publishes Original Papers, Concise Communications, Field Notes, Research Letters, and Correspondence, as well as invited Editorial Reviews, Opinion Pieces, and Editorial Comments. All manuscript submissions to the regular issues and supplements of the journal are peer-reviewed. Papers may be subject to a statistical analysis and for flow cytometry results by a group of experts in the field. Case Reports are not encouraged but may be considered as Correspondence letters.

Field Notes

Articles describing experiences with diagnosing and treating HIV infection and its accompanying opportunistic infections and cancers will be considered for this section of the journal. These contributors should report personal experiences and give insight into the way culture and medical care within a particular part of the world influences the approaches taken for HIV/AIDS. Preference is given to individuals working in developing countries. The length should be no longer than 1500 words and can have up to 4 illustrations. Please indicate this section when submitting the manuscript.

Original papers

Manuscripts should be concise and not be more than 3500 words, with up to five figures or tables. Papers will be returned if they exceed the maximum stated. The word limit refers to the main body of the text and does not include the abstract, references or figure legends.

Concise Communications

Original research findings that do not require a full paper, but are completed studies, may be submitted as Concise Communications. Papers should not exceed 1800 words, and may be accompanied by a maximum of two inserts only (figures/tables). Papers submitted for consideration as Concise Communications should be clearly identified in the author's covering letter.

Research letters

Research Letters provide a forum for original research results, excluding case reports, and observations that merit publication and can be reported succinctly. Research letters are reviewed by the Editors or external reviewers. Research letters should include a summary of up to 75 words, not exceed 1000 words (excluding summary) and not have more than one figure or table.

Correspondence

The correspondence section is reserved for case reports, and letters that are addressing issues or exchanging views on topics arising from published articles in the journal. Correspondence should not exceed 750 words and not have more than one figure or table. These letters are subject to review by the Editors, and may be rejected without written explanation. In some instances, correspondence will be peer-reviewed.

According to AIDS Editorial policy, the Editors will not enter into direct correspondence regarding a submission to the journal. Where clarification about a decision is requested, all communications should be made in writing and directed to the journal office in London. The Editors endorse the guidelines from the Committee on Publication Ethics (COPE) on good publication practice (www.publicationethics.org.uk).

Opinion Piece

The journal will consider articles that detail an opinion of an author(s) on a particular area of HIV/AIDS. These Opinion Pieces should be limited to 1500 words and can have up to three illustrations or tables. The papers will be subject to the same review process as other original articles.

POINTS TO CONSIDER BEFORE SUBMISSION

Authors should complete an Author Checklist form and send a signed copy by mail or fax to :The Editors, AIDS, AIDS Editorial Office, 250 Waterloo Road, London SE1 8RD, UK, Fax: +44 20 7981-0601.

Redundant or duplicate publication

Submissions are accepted on the understanding that they have not been published in their current form or a substantially similar form (in print or electronically, including on a web site), that they have not been accepted for publication elsewhere, and they are not under consideration by another publication. The International Committee of Medical Journal Editors has provided details of what is and what is not [duplicate or redundant publication](#). If you are in doubt (particularly in the case of material that you have posted on a web site), we ask you to proceed with your submission but to include a copy of the relevant previously published work or work under consideration by other journals.

Conflicts of interest

Authors must state all possible [conflicts of interest](#), including financial, consultant, institutional and other relationships that might lead to bias or a conflict of interest. If there is no conflict of interest, this should be explicitly stated. All sources of funding should be acknowledged in the paper. Some of our journals will print your statement; others at present do not. You might like to look at an editorial in the *British Medical Journal* on [Beyond conflict of interest](#). Remember that sources of funding should be acknowledged in your paper.

Permissions to reproduce previously published material

Authors should include with their submission, copies of written permission to reproduce material published elsewhere (such as illustrations) from the copyright holder. Authors are responsible for paying any fees to reproduce material. We cannot send your paper to press without these permissions!

Subject consent forms

Subjects have a right to privacy that should not be infringed without informed consent. Identifying details (written or photographic) should be omitted if they are not essential, but subject data should never be altered or falsified in an attempt to attain anonymity. Complete anonymity is difficult to achieve, and a consent form should be obtained if there is any doubt. For example, masking the eye region in photographs of subjects is inadequate protection of anonymity. When informed consent has been obtained, it should be indicated in the published article. A [sample patient consent form](#) is available here if required.

Ethics committee approval

All authors must sign a declaration that the research was conducted within the guidelines below and under the terms of all relevant local legislation. Please also look at the latest version of the [Declaration of Helsinki](#). The Editors reserve the right to judge the appropriateness of the use and treatment of humans or animals in experiments for publication in the journal.

Human experiments: All work must be conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. Papers describing experimental work on human participants which carries a risk of harm must include (1) a statement that the experiments were conducted with the understanding and the consent of each participant, and (2) a statement that the responsible ethical committee has approved the experiments.

Clinical trials and behavioural evaluations:

Authors reporting results of randomized controlled trials should include with their submission a complete checklist from the CONSORT statement, see *JAMA* 1996; 277:637-639 or <http://www.consort-statement.org>. For behavioural and public health evaluations involving non-randomized designs, authors should include with their submission a complete checklist from the TREND statement, see *Am J Public Health* 2004; 94:361-366 or <http://www.trend-statement.org>.

Registration of clinical trials: As a condition for publication of a clinical trial in *AIDS*, registration of the trial in a public registry is required. Registration of a trial must be at or before the enrollment of participants. This policy, in concert with that of the ICMJE, applies to clinical trials starting enrollment after 1 July 2005. For trials beginning enrollment before this date the journal will require registration by 13 September 2005. We will use the definition proposed by the ICMJE of a 'clinical trial as a research project that prospectively assigns human subjects to intervention or comparison groups to study a cause and effect relationship between a medical intervention and a health outcome' see *N Engl J Med* 2004; 351:911. Studies such as phase 1 trials will be exempt. The editors of *AIDS* also do not advocate one particular registry but require that the registry utilized meet the criteria set out in the statement of policy of the ICMJE. Thus the registry must include an identifying number of the trial, a description of the intervention(s), comparison(s) investigated, hypothesis, primary

and secondary outcome measures, eligibility and exclusion criteria, dates of start, anticipated follow up and closure, number of subjects, funding source, and contact information for the principal investigator.

Authorship

All authors must sign the document accompanying their submission to confirm that they have read and approved the paper, that they have met the [criteria for authorship](#) as established by the International Committee of Medical Journal Editors, that they believe that the paper represents honest work, and that they are able to verify the validity of the results reported. You might also be interested to read the debate on authorship in general in the *British Medical Journal's* [Authorship collection](#).

Many of the points covered above are discussed in the *New England Journal of Medicine's* collection of papers entitled '[Editorial policies](#)'.

The corresponding author should list the principal contributions made by each of the authors to the article in the Acknowledgements section of the submission. The journal discourages a long list of authors and does not recommend more than 10. In rare instances, a maximum of twelve is permitted if well-justified. Persons listed as authors must be able to justify their participation in the study and should have substantially contributed to the study's conception, design, and performance. An Appendix of additional study sites and participants, in addition to the authors, may be included after the References.

Compliance with NIH and Other Research Funding Agency Accessibility Requirements

A number of research funding agencies now require or request authors to submit the post-print (the article after peer review and acceptance but not the final published article) to a repository that is accessible online by all without charge. As a service to our authors, LWW will identify to the National Library of Medicine (NLM) articles that require deposit and will transmit the post-print of an article based on research funded in whole or in part by the National Institutes of Health, Wellcome Trust, Howard Hughes Medical Institute, or other funding agencies to PubMed Central. The revised Copyright Transfer Agreement provides the mechanism.

Copyright assignment

Papers are accepted for publication on the understanding that exclusive copyright in the paper is assigned to the Publisher. Authors are asked to sign a copyright assignment form after acceptance of their papers. They may use material from their paper in other works published by them.

Submissions

Authors are strongly encouraged to submit their manuscripts through the web-based tracking system at <http://aids.edmgr.com/>. Signed author forms may be included in the submission as a 'supporting document' or mailed to the journal office. The site contains instructions and advice on how to use the system. Authors should NOT in addition then post a hard copy submission to the editorial office, unless you are supplying artwork, letters or files that cannot be submitted electronically, or have been instructed to do so by the editorial office. For those authors who have no option but to submit by mail please send one copy of the article, plus an electronic version on disk or CD-ROM to: The Editors, AIDS, AIDS Editorial Office, 250 Waterloo Road,

London SE1 8RD, UK, Tel: +44 20 7981-0600, Fax: +44 20 7981-0601. Or alternatively via: AIDS Editorial Office (London), Lippincott Williams & Wilkins, Penn Mutual Building, 530 Walnut Street, Philadelphia, PA 19106, USA. Include the following where appropriate: subject consent forms; transfer of copyright form; permission to reproduce previously published material; checklist.

Double spacing should be used throughout the manuscript, which should include the following sections, each starting on a separate sheet: Title Page, abstract (when required) and keywords, text, acknowledgements, references, individual tables and captions. Margins should be at least 3 cm. Pages should be numbered consecutively, beginning with the Title Page, and the page number should be placed in the top right-hand corner of each page. Abbreviations should be defined on their first appearance in the text; those not accepted by international bodies should be avoided. The word count should be clearly stated on the Title Page. Manuscripts sent by post should be submitted on high quality white paper and on a word-processing disk.

Authors are invited to list up to four potential reviewers, including their full addresses, telephone and fax numbers, and e-mail addresses.

Disks and CD-ROMS

All submissions should include electronic files using either floppy disks or CD ROMs. Put only the latest version of the manuscript on the disk; name the file clearly; label the disk with the format of the file and the file name; provide information on the hardware and software used.

PRESENTATION OF PAPERS

Title Page

The Title Page should carry the full title of the paper (not more than 120 characters) and a short title (not more than 40 characters) to be used as a 'running head' (and which should be so identified). The first name, middle initial and last name of each author should appear. If the work is to be attributed to a department or institution, its full name should be included. Total number of words used should be clearly stated on the Title Page. Any disclaimers should appear on the Title Page, as should the name and address (and email) of the author responsible for correspondence concerning the manuscript and the name and address of the author to whom requests for reprints should be made. Finally, the Title Page should include the sources of any support for the work in the form of grants, equipment, drugs, or any combination of these. Disclose funding received for this work from any of the following organizations: National Institutes of Health (NIH); Wellcome Trust; Howard Hughes Medical Institute (HHMI); and other(s).

Abstracts

The abstract should *not exceed 250 words* and should follow one of the following two styles:

- a. Articles concerning original scientific research should include a structured abstract with the following headings and information:

Objective(s): State the primary objective of the paper (if appropriate).

Design: State the principal reasoning for the procedures adopted.

Methods: State the procedures used.

Results: State the main results of the study. Numerical data should be kept to a minimum.

Conclusions: State the conclusions that can be drawn from the data given.

- b. Articles containing original data concerning the course, cause, diagnosis, treatment, prevention or economic analysis of a clinical disorder or an intervention to improve the quality of health care should include a structured abstract with the following headings and information:

Objective: State the main question or objective of the study and the major hypothesis tested, if any.

Design: Describe the design of the study indicating, as appropriate, use of randomisation, blinding, criterion standards for diagnostic tests, temporal direction (retrospective or prospective), etc.

Setting: Indicate the study setting, including the level of clinical care (for example, primary or tertiary: private practice or institutional).

Subjects, participants: State selection procedures, entry criteria and numbers of participants entering and finishing the study.

Intervention: Describe the essential features of any interventions including their method and duration of administration.

Main outcome measure(s): The primary study outcome measures should be indicated as planned before data collection began. If the hypothesis being reported was formulated during or after data collection, this fact should be clearly stated.

Results: Describe measurements that are not evident from the nature of the main results and indicate any blinding. Absolute values should be indicated when risk changes or effect sizes are given.

Conclusions: State only those conclusions of the study that are directly supported by data, along with their clinical application (avoiding over generalisation). Equal emphasis must be given to positive and negative findings of equal scientific merit.

Key Words

The abstract should be followed by a list of 5-7 keywords or short phrases which will assist the cross-indexing of the article and which may be published. The terms used should be from the Medical Subject Headings list of the *Index Medicus* (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>). Include terms from the AIDS

classifications that appear on the Fast Track submission form at the back of each journal issue, and on the submission website at <http://aids.edmgr.com/>.

Text

Full papers of an experimental or observational nature may be divided into sections headed Introduction, Methods (including ethical and statistical information), Results, and Discussion (including a conclusion), although reviews may require a different format.

Acknowledgements

The corresponding author should list the principal contributions made by each of the authors to the article. Acknowledgements should be made only to those who have made a substantial contribution to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from people acknowledged by name in case readers infer their endorsement of data and conclusions. Sources of funding should be placed in this section.

References

References should be numbered consecutively in the order in which they first appear in the text. They should be assigned Arabic numerals, which should be given in brackets, e.g. [17]. References should include the names of all authors when six or fewer; when seven or more, list only the first six names and add *et al*. References should also include full title and source information. Journal names should be abbreviated as in the *Index Medicus* (<http://www.nlm.nih.gov>).

Articles in journals

Standard journal article:

Valori RM, Kumar D, Wingate DL. Effects of different types of stress and of 'prokinetic' drugs on the control of the fasting motor complex in humans. *Gastroenterology* 1986; **90**:1890–1900.

More than six authors:

Gentilini P, Laffi G, La Villa G, Romanelli RG, Buzzelli G, Casini-Raggi V, *et al*. Long course and prognostic factors of virus-induced cirrhosis of the liver. *Am J Gastroenterology* 1997; **92**:1–7.

Supplements:

Goulis J, Burroughs AK. Role of vasoactive drugs in the treatment of bleeding oesophageal varices. *Digestion* 1999; **60**(Suppl 3):25–34.

Letter/Abstract:

Ozsoylu S, Kocak N. Naloxone in hepatic encephalopathy [Letter]. *Am J Dis Child* 1985; **139**:749–750.

Lankisch PG, Assmus D, Pflichtohofer D.: The burden of pancreatic disease in a well-defined population [Abstract]. *Gastroenterology* 1998; 114:A24.

Books

Book:

Whitehead WE, Schuster MM, *Gastrointestinal Disorders. Behavioral and Physiological Basis for Treatment*. Orlando: Academic Press; 1985.

Chapter in a book:

Blackshaw AJ. Non-Hodgkin's lymphomas of the gut. In: *Recent Advances in Gastrointestinal Pathology*. Wright R (editor). New York: Saunders; 1980. pp. 213–240.

Personal communications and unpublished work should not feature in the reference list but should appear in parentheses in the text. Unpublished work accepted for publication but not yet released should be included in the reference list with the words 'in press' in parentheses beside the name of the journal concerned. References must be verified by the author(s) against the original documents.

Tables

Each table should be typed on a separate sheet in double spacing. Tables should not be submitted as photographs. Each table should be assigned an Arabic numeral, e.g. (Table 3) and a brief title. Vertical rules should not be used. Place explanatory matter in footnotes, not in the heading. Explain in footnotes all non-standard abbreviations that are used in each table. Identify statistical measures of variations, such as standard deviation and standard error of the mean.

Be sure that each table is cited in the text. If you use data from another published or unpublished source, obtain permission and acknowledge the source fully.

Illustrations

References to figures and tables should be made in order of appearance in the text and should be in Arabic numerals in parentheses, e.g. (Fig. 2). If hard copies of figures are submitted they should have a label pasted to the back bearing the figure number, the title of the paper, the author's name and a mark indicating the top of the figure. Illustrations should not be mounted. Half-tone illustrations should be presented as glossy prints to a width of 82 mm; line illustrations should be presented as original artwork or prints to a width of 82 mm or, when the illustration demands it, to a width of 173 mm. Photomicrographs must have internal scale markers. If photographs of people are used, their identities must be obscured or the picture must be accompanied by written consent to use the photograph. If a figure has been published before, the original source must be acknowledged and written permission from the copyright holder for both print and electronic formats should be submitted with the material. Permission is required regardless of authorship or publisher, except for documents in the public domain. Figures may be reduced, cropped or deleted at the discretion of the editor. Colour illustrations are acceptable but authors will be expected to cover the extra reproduction costs (for current charges, contact the publisher).

Legends for illustrations

Captions should be typed in double spacing, beginning on a separate sheet of paper. Each one should have an Arabic numeral corresponding to the illustration to which it refers. Internal scales should be explained and staining methods for photomicrographs should be identified.

Units of measurement

Measurements of length, height, weight, and volume should be reported in metric units (metre, kilogram, or litre) or their decimal multiples. Temperatures should be given in degrees Celsius. Blood pressures should be given in millimetres of mercury.

All haematologic and clinical chemistry measurements should be reported in the metric system in terms of the International System of Units (SI). Editors may request that alternative or non-SI units be added by the authors before publication.

Abbreviations and symbols

Use only standard abbreviations. Avoid abbreviations in the title and abstract. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement.

Offprints

Offprints may be purchased using the appropriate form that will be made available with proofs. Orders should be sent when the proofs are returned; orders received after this time cannot be fulfilled.



Copyright 2008, Lippincott Williams & Wilkins. All rights reserved
Published by Lippincott Williams & Wilkins

[Copyright/Disclaimer Notice • Privacy Policy](#)

ANEXO 13

INTERNATIONAL JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE

Eligibility for Publication: All authors who present papers at Medwell Online agree for publication and send covering letter to mention article never been published elsewhere or submitted are eligible to submit manuscripts for consideration in a peer-reviewed journal.

Organize your manuscript:

- * Formatted for 8.5 x 11 inch paper
- * Single spacing throughout
- * Two column page format including introduction to references, Title section as well as references, figure legends and tables at the end of the manuscript are in single column format

Manuscript is to be arranged in the following order

- * Title, Author(s) and complete name(s) of institution(s)
- * abstract
- * keywords (provide at least 6 keywords)
- * Introduction
- * Materials and Methods
- * Results and Discussion
- * Conclusion
- * Acknowledgement
- * References (put all references in text by author name and year not by numbering)
- * Tables
- * Figures

TEXT

Title Section

It is important that the major findings of your study are intelligible to all Medwell Publishing readers. Please review your title and abstract carefully to make sure they convey your essential points succinctly and clearly

Authors

Contains names of all authors and their complete mailing addresses and identifies who will receive all correspondence regarding the manuscript, including proofs:

Name:

Address:

Telephone and Fax Numbers:

e-mail ID:

URL: (Optional)

Abstract:

Should succinctly and clearly describe the major findings reported in the manuscript. Must not exceed 250 words. Should be understandable in itself, since it is frequently used as an abstract

Introduction

Presents the purpose of the studies and their relationship to earlier work in the field. Should not be an extensive review of the literature nor, in general, exceed one typed page

Materials and Methods

- * Brief but sufficiently complete to permit a qualified reader to repeat the experiments reported
- * only truly new procedures should be described in detail