



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE ENSINO E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E SAÚDE

ISABEL OLIVEIRA AIRES

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE RETINOL, COBRE E ZINCO E A
RECUPERAÇÃO CLÍNICA E NUTRICIONAL EM INDIVÍDUOS COM
LEISHMANIOSE VISCERAL**

TERESINA – PIAUÍ

2022

ISABEL OLIVEIRA AIRES

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE RETINOL, COBRE E ZINCO E A
RECUPERAÇÃO CLÍNICA E NUTRICIONAL EM INDIVÍDUOS COM
LEISHMANIOSE VISCERAL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Saúde da Universidade Federal do Piauí como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Dorcas Lamounier Costa

Área: Métodos diagnósticos e análise das condições de saúde

Linha de pesquisa: Nutrição e saúde

TERESINA – PIAUÍ

2022

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial do CCS
Serviço de Processamento Técnico

A298a Aires, Isabel Oliveira.
Associação entre os níveis de retinol, cobre e zinco e a recuperação clínica e nutricional em indivíduos com leishmaniose visceral / Isabel Oliveira Aires. – 2022.
107 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Ciências e Saúde, 2022.

Orientação : Profa. Dra. Dorcas Lamounier Costa.
Bibliografia

1. Cobre. 2. Estado nutricional. 3. Leishmaniose visceral. 4. Retinol. 5. Zinco. I. Costa, Dorcas Lamounier. II. Título.

CDD 613.2

ISABEL OLIVEIRA AIRES

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE RETINOL, COBRE E ZINCO E A
RECUPERAÇÃO CLÍNICA E NUTRICIONAL EM INDIVÍDUOS COM
LEISHMANIOSE VISCERAL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Saúde da Universidade Federal do Piauí como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre.

Trabalho apresentado em: _____/_____/_____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Dorcas Lamounier Costa (Orientadora - Presidente)

Prof. Dr. Gilberto Simeone Henriques (Examinador)

Profa. Dra. Adriana de Azevedo Paiva (Examinadora)

Profa. Dra. Débora Cavalcante Braz (Examinadora Suplente)

DEDICATÓRIA

A Deus,

Sou grata a Ele, que está sempre ao meu lado nos momentos de angústia, segura a minha mão quando preciso, guia e ilumina os meus caminhos.

À minha Família,

Elzineide Oliveira Aires e Leonício Aires da Silva, por todo sacrifício que fizeram e ainda fazem por mim ao longo desses 26 anos, por persistirem tanto na minha educação e não terem desistido de mim, sempre mostrando que sou capaz. Minha gratidão a vocês é imensurável. À minha amada irmã, Júlia, que é para mim um dos maiores exemplos de resiliência e persistência. Apesar da distância física transmite apoio, carinho e cumplicidade, além de ser a minha melhor amiga. Ao meu sobrinho Daniel, que é a minha fonte de alegria, conforto e carinho durante essa jornada. Ao meu cunhado Rodrigo, por me aconselhar, ajudar e apoiar em vários momentos.

Aos meus avós (*in memmorian*),

Maria das Dores, Maria Júlia e José Carlos, minhas saudades eternas.

AGRADECIMENTOS

Àqueles que tornaram possível a realização deste trabalho:

Ao Laboratório de Leishmanioses – LabLeish, ao Centro de Inteligência e Agravos Tropicais, Emergentes e Negligenciados – CIATEN e ao Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela – IDTNP, pela estrutura proporcionada para a execução de todas as etapas desta pesquisa.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciências e Saúde, por me acolher como aluna de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, por proporcionar minha bolsa de estudos.

À minha orientadora, professora Dra. Dorcas Lamounier Costa, que tenho o prazer de tê-la como grande exemplo de profissionalismo, competência e humanidade. Sou infinitamente grata por compartilhar seus conhecimentos, pela paciência, sensibilidade, compreensão, acolhimento, carinho e companheirismo.

Ao professor Dr. Carlos Henrique Nery Costa, pelo suporte e acolhimento no LabLeish, pela atenção, orientação e ensinamentos indispensáveis para o entendimento desse estudo, além de ser um professor, pesquisador e orientador exemplar e inspirador.

À professora Dra. Adriana de Azevedo Paiva, pela contribuição nas análises de laboratório realizadas. Minha eterna gratidão por ter me apresentado à pesquisa ainda na graduação, por ter me acolhido no estágio docente e por me proporcionar a oportunidade de realizar o doutorado.

Ao professor Dr. Gilberto Simeone Henriques, da Universidade Federal de Minas Gerais, por colaborar nas análises do cobre e do zinco e pela sua gentileza em contribuir com a metodologia do trabalho. Às colaboradoras da Universidade de São Paulo, Dra. Patrícia Helen de Carvalho Rondó e Dra. Liania Alves Luzia, pela realização das análises da vitamina A.

À professora Dra. Dilina do Nascimento Marreiro, por contribuir no desenho do estudo e nas análises do zinco em seu laboratório no Departamento de Nutrição. À professora Dra. Débora Cavalcante Braz, por aceitar o convite como examinadora da banca e pelas contribuições na revisão do trabalho.

À Mísia Joyner de Sousa Dias Monteiro e Dra. Maria Nauside, que proporcionaram o início do projeto de pesquisa, realizaram a coleta e análise de dados, e me acolheram para dar continuidade ao estudo. A todos os membros do grupo de pesquisa do LabLeish, pela atenção, acolhimento, incentivo e ajuda em diversos momentos que precisei.

Aos amigos:

Às pessoas maravilhosas que conheci e convivi nesses dois anos de mestrado, Andressa Barros Ibiapina, Larissa Lima Emérito, Vanessa Maria Oliveira, Caio César França e Maria Devany Pereira, obrigada pelo companheirismo, carinho e ajuda nos momentos difíceis dessa jornada que enfrentamos em plena Pandemia. À secretária do programa de mestrado, Edilene Oliveira Soares, pela amizade, atenção e acolhimento.

Aos amigos próximos que estiveram comigo e me ajudaram a superar as dificuldades e desafios: sou grata pela amizade e apoio, principalmente nos momentos mais sofridos. Vocês são todos muito especiais para mim!

AIRES, Isabel Oliveira. Associação entre os níveis de retinol, cobre e zinco e a recuperação clínica e nutricional em indivíduos com leishmaniose visceral. Dissertação (Mestrado em Ciências e Saúde) – Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina, 2022.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A leishmaniose visceral (LV) é uma doença causada por parasitas do gênero *Leishmania*, que faz parte de um conjunto de doenças provocadas por picadas de flebotomíneos, o tipo de espécie que causa as diferentes leishmanioses, sendo a LV a forma mais grave associada à síndrome inflamatória sistêmica. Alguns estudos apontam micronutrientes como zinco (Zn), cobre (Cu), vitamina A (retinol) e a relação Cu/Zn como marcadores da progressão da LV. **OBJETIVO:** Verificar a associação dos níveis de retinol, Cu e Zn antes do tratamento com a recuperação clínica e nutricional de indivíduos com LV. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Foi realizado um estudo comparativo não-controlado, “antes-depois” com 61 adultos de ambos os sexos acima de 19 anos admitidos no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela com sintomas sugestivos de calazar e com diagnóstico laboratorial. Todos os participantes foram submetidos à anamnese e ao exame físico, de acordo com um questionário estruturado. Para avaliação nutricional, foram aferidos peso e altura para classificação do índice de massa corpórea (IMC), dobras cutâneas tricípital (DCT) e subscapular (DCSE) e circunferência do braço (CB). Calculou-se a área muscular do braço (AMB), área adiposa do braço (AAB) e circunferência muscular do braço (CMB). Foram determinados os parâmetros bioquímicos de Cu, Zn e retinol e a mensuração da relação Cu/Zn na admissão e após 30 dias de tratamento. A análise estatística descritiva dos dados foi realizada pelo programa Stata/IC. **RESULTADOS:** Em média, os participantes tinham 38,38 anos de idade e 81,97% deles eram homens. A coinfeção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) estava presente em 30,61% dos indivíduos. O tempo médio de duração dos sintomas foi de 60,93 dias e as manifestações clínicas mais frequentes foram febre, palidez, apatia e inapetência. A maior parte dos indivíduos foi tratada com anfotericina B. As alterações laboratoriais mais observadas foram anemia, leucopenia e hipoalbuminemia. Os participantes apresentaram uma perda de peso relevante. Após 30 dias do início do tratamento, foi possível observar um aumento significativo nos níveis de Zn e retinol, ao passo que o Cu, a relação Cu/Zn e a proteína-C reativa (PCR) reduziram. Além disso, os participantes apresentaram um ganho ponderal interessante, embora não estatisticamente significativo. **CONCLUSÃO:** Foi observada uma perda de peso significativa associada a circunferência do braço, evidenciando perda de gordura e massa muscular. Foram observados baixos níveis de vitamina A e Zn na admissão, que foram recuperados após um mês de tratamento. O Zn e Cu correlacionaram-se negativamente, ao passo que a relação Cu/Zn reduziu significativamente durante o acompanhamento. Destaca-se a importância da realização de mais estudos para compreender melhor os papéis desses nutrientes na leishmaniose visceral.

AIRES, Isabel Oliveira. Associação entre os níveis de retinol, cobre e zinco e a recuperação clínica e nutricional em indivíduos com leishmaniose visceral. Dissertação (Mestrado em Ciências e Saúde) – Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina, 2022.

Palavras-chave: Cobre. Estado nutricional. Leishmaniose visceral. Retinol. Zinco.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Visceral leishmaniasis (VL) is a disease caused by parasites of the genus *Leishmania*, which is part of a set of diseases caused by stings of sandflies, the type of species that causes different leishmaniasis, VL being the most severe form associated with systemic inflammatory syndrome. Some studies point to micronutrients such as zinc (Zn), copper (Cu), vitamin A (retinol) and the Cu/Zn ratio as markers of VL progression. **OBJECTIVE:** To verify the association of retinol, Cu and Zn levels before treatment with clinical and nutritional recovery of individuals with VL. **MATERIALS AND METHODS:** An uncontrolled "before-after" comparative study was conducted with 61 adults of both sexes over 19 years of age admitted to the Natan Portela Institute of Tropical Diseases with suggestive symptoms of calazar and laboratory diagnosis. All participants underwent anamnesis and physical examination, according to a structured questionnaire. For nutritional evaluation, weight and height were measured to classify the body mass index (BMI), triceps skinfolds (TCD) and subscapular folds (DCSE) and arm circumference (BC). The arm muscle area (AMB), arm fat area (AAB) and arm muscle circumference (CMB) were calculated. The biochemical parameters of Cu, Zn and retinol were determined and the Cu/Zn ratio was measured at admission and after 30 days of treatment. The descriptive statistical analysis of the data was performed by the Stata/IC program. **RESULTS:** On average, participants were 38.38 years old and 81.97% of them were men. Human immunodeficiency virus (HIV) coinfection was present in 30.61% of the individuals. The average duration of the symptoms was 60.93 days and the most frequent clinical manifestations were fever, pallor, apathy and inappetence. Most of the individuals were treated with amphotericin B. The most observed laboratory changes were anemia, leukopenia and hypoalbuminemia. The participants presented a relevant weight loss. After 30 days from the beginning of the treatment, it was possible to observe a significant increase in Zn and retinol levels, while Cu, Cu/Zn ratio and PCR reduced. In addition, the participants presented an interesting weight gain, although not statistically significant. **CONCLUSION:** A significant weight loss associated with arm circumference was observed, evidencing fat loss and muscle mass. Low levels of vitamin A and Zn were observed on admission, which were recovered after one month of treatment. Zn and Cu correlated negatively, while Cu/Zn ratio decreased significantly during follow-up. It is important to carry out more studies to better understand the roles of these nutrients in visceral leishmaniasis.

Keywords: Copper. Nutritional status. Visceral leishmaniasis. Retinol. Zinc.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AAB – área adiposa do braço
- AFI – anticorpo fluorescente indireto
- AIDS – síndrome da imunodeficiência adquirida
- AMB – área muscular do braço
- CB – circunferência do braço
- CP – ceruloplasmina
- CTR1 – transportador de cobre 1
- Cu – cobre
- DCSE – dobra cutânea subescapular
- DCT – dobra cutânea tricípital
- DEP – desnutrição energético-proteica
- DMT1 – transportador de metais bivalente 1
- DNA – ácido desoxiribonucleico
- ELISA – ensaio de imunoabsorção enzimática
- EN – estado nutricional
- HAART - *highly active antiretroviral therapy* (terapia antirretroviral altamente ativa)
- HIV – vírus da imunodeficiência humana
- IDTNP – Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela
- IL – interleucina
- IMC – índice de massa corpórea
- LabLeish – Laboratório de Pesquisa em Leishmaniose
- LANPOP – Laboratório de Avaliação Nutricional de Populações – USP
- LC – leishmaniose cutânea
- LMC – leishmaniose mucocutânea
- LV – Leishmaniose visceral
- MT – metalotioneína
- OMS – Organização Mundial da Saúde
- PCR – reação em cadeia da polimerase
- qPCR – PCR quantitativa em tempo real
- RNA – ácido ribonucleico
- SOD – superóxido dismutase
- TAD – teste de aglutinação direta

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TNF- α – fator de necrose tumoral alfa

VitA – vitamina A

Zn – zinco

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização sociodemográfica dos indivíduos com leishmaniose visceral.....	34
Tabela 2. Manifestações clínicas apresentadas pelos participantes do estudo.....	35
Tabela 3. Parâmetros laboratoriais de indivíduos com leishmaniose visceral.....	36
Tabela 4. Medidas antropométricas e composição corporal dos participantes do estudo.....	37
Tabela 5. Classificação do estado nutricional de adultos com idade 20 e 60 anos de acordo com o Índice de Massa Corpórea.....	37
Tabela 6. Classificação do estado nutricional de indivíduos com idade ≥ 60 anos de acordo com o Índice de Massa Corpórea.....	38
Tabela 7. Níveis séricos de retinol de acordo com a idade e sexo dos participantes, nos períodos pré e pós-tratamento.....	40
Tabela 8. Níveis séricos de zinco de acordo com a idade e sexo dos participantes, nos períodos pré e pós-tratamento.....	41
Tabela 9. Níveis séricos de cobre de acordo com a idade e sexo dos participantes, nos períodos pré e pós-tratamento.....	42
Tabela 10. Razão cobre/zinco de acordo com as faixas etárias, no início e 30 dias após o tratamento.....	43
Tabela 11. Variação dos parâmetros bioquímicos e laboratoriais na admissão e 30 dias após o início do tratamento.....	44

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Funções das cuproenzimas e das proteínas ligadas ao cobre.....	19
Quadro 2. Classificação do estado nutricional IMC em adultos.....	27
Quadro 3. Classificação do estado nutricional pelo IMC em idosos.....	28
Quadro 4. Classificação do grau de suficiência de Vitamina A.....	32

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo Geral	10
2.2 Objetivos Específicos	10
3 REFERENCIAL TEÓRICO	11
3.1 Leishmaniose Visceral	11
3.1.1 Aspectos clínicos e laboratoriais	11
3.1.2 Leishmaniose e HIV	12
3.1.3 Leishmaniose e Desnutrição	13
3.2 Diagnóstico	14
3.2.1 Diagnóstico clínico laboratorial	14
3.2.2 Diagnóstico sorológico	14
3.2.3 Diagnóstico molecular	15
3.2.4 Diagnóstico parasitológico	15
3.3 Ciclo biológico e vetor	16
3.4 Epidemiologia	17
3.5 Resposta imune na leishmaniose visceral	18
3.6 Micronutrientes, sistema imune e infecção	19
3.6.1. Cobre	19
3.6.2 Zinco	20
3.6.3 Retinol	21
3.6.4 Zinco, cobre e retinol na leishmaniose visceral	22
4 MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 Área geográfica do estudo	24
4.2 Tipo de estudo e local	24
4.3 População Fonte	25
4.4 População do Estudo	25
4.4.1 Definição de caso de LV	25
4.4.2 Critérios de inclusão	25
4.4.3 Critérios de exclusão	25
4.5 Cálculo da amostra	25
4.6 Diagnóstico laboratorial de leishmaniose visceral	26
4.6.1 Testes Sorológicos	26
4.6.2 Exames Parasitológicos	26

4.6.2.1 Pesquisa direta de forma amastigotas	26
4.6.2.2 Cultura de <i>Leishmania sp</i>	26
4.6.2.3 Teste molecular	26
4.7 Mensuração da exposição	26
4.7.1 Participantes	26
4.7.1.1 Avaliação clínica.....	26
4.7.1.2 Tratamento	27
4.7.1.2 Avaliação nutricional	27
4.7.1.2.1 Peso e Altura.....	27
4.7.1.2.2 Classificação do Estado Nutricional	27
4.7.1.2.3 Dobra cutânea tricipital.....	28
4.7.1.2.4 Dobra cutânea subescapular.....	28
4.7.1.2.5 Circunferência do braço.....	29
4.7.1.3 Avaliação bioquímica e laboratorial.....	30
4.7.1.3.1 Exames complementares gerais	30
4.7.1.4. Determinação dos parâmetros bioquímicos dos micronutrientes.....	30
4.7.1.4.1 Determinação de Zinco e Cobre no Plasma e na Massa Eritrocitária.....	30
4.7.1.4.2 Retinol Sérico	31
4.7.1.5 Determinação da razão Cu/Zn.....	32
4.8 Análise estatística dos dados	32
4.9 Aspectos legais e éticos	33
5 RESULTADOS	34
5.1 Caracterização clínica e sociodemográfica	34
5.2 Estado nutricional e indicadores antropométricos	37
5.3 Associação entre o zinco e as variáveis clínicas, nutricionais e sociodemográficas 40	
5.4 Associação entre o cobre e as variáveis clínicas, nutricionais e sociodemográficas 41	
5.5 Controle de zinco e cobre nos períodos pré e pós-tratamento	43
6 DISCUSSÃO	46
7 CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	54
ANEXOS	63
ANEXO A - Manual de instruções do IT- leish individual rapid test	64
ANEXO B - Protocolo coleta de material medular para exame direto e cultura para diagnóstico de leishmaniose	65
ANEXO C - Procedimento operacional (POP) para as medidas antropométricas- Laboratório de Avaliação Nutricional de Populações (LANPOP)	72

ANEXO D – Tabela percentilar para dobra cutânea tricipital (DCT)	77
ANEXO E – Tabela de percentis para dobra cutânea subescapular (DCSE)	78
ANEXO F – Tabela de percentis para circunferência do braço (CB).....	79
APÊNDICES.....	81
APÊNDICE A – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa.....	82
APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	90
APÊNDICE C – Questionário estruturado.....	93

1 INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral (LV) é uma doença causada por protozoários, parasitas do gênero *Leishmania*. A LV faz parte de um conjunto de doenças transmitidas por picadas de flebotomíneos que causam diversas formas da doença, que inclui um espectro variado de entidades clínicas como a cutânea (acometimento de pele), a mucocutânea (acometimento de pele e mucosas) e a visceral, que é a forma mais grave, com envolvimento de múltiplos órgãos, associada à síndrome inflamatória sistêmica. As leishmanioses fazem parte das doenças negligenciadas, endêmicas principalmente em áreas tropicais e subtropicais na Ásia e África, América Latina e bacia do Mediterrâneo (RODRIGUEZ-CORTES et al, 2017).

A LV é endêmica em 102 países, com maior incidência observada em regiões tropicais e subtropicais. Aproximadamente 90% dos casos de LV concentram-se no Brasil, Índia, Sudão, Sudão do Sul, Quênia e Etiópia. Além disso, cerca de 350 milhões de pessoas possuem risco de contrair a doença. O Brasil é o país americano com o maior número de casos, somando cerca de 96% dos registros em 2018, com uma incidência de 5,05 casos para 100.000 habitantes. No mesmo ano, mais de 95% dos novos casos relatados à OMS ocorreram em 10 países: Brasil, China, Etiópia, Índia, Iraque, Quênia, Nepal, Somália, Sudão do Sul e Sudão (OPAS, 2019a, 2019b).

Na ausência de tratamento adequado a LV é fatal na maior parte dos indivíduos. Estima-se em 200 a 400 mil casos novos a cada ano no mundo, cerca de 10% deles evoluindo para o óbito, afetando particularmente populações vivendo em situação de pobreza e vulnerabilidade social. A maioria dos casos ocorre no Brasil, na África Oriental e na Índia. Continua sendo uma das principais doenças parasitárias com alto potencial de mortalidade (ALVAR et al, 2012).

A LV agride o sistema protetivo do organismo de mamíferos por meio de mecanismos efetores imunológicos inatos e adquiridos, afetando principalmente órgãos internos (fígado, baço e medula óssea), e a sua progressão é caracterizada por disfunção imune em animais e humanos. Ademais, há carência em medicamentos eficazes e seguros para o tratamento das leishmanioses, e os medicamentos disponíveis são potencialmente tóxicos, eficazes somente na via intravenosa, caros e devem ser administrados a longo prazo (OMS, 2018; GOGULAMUDI et al, 2019). Como as demais doenças negligenciadas, o investimento em pesquisas é pequeno e há necessidade de realizar mais estudos para conhecer a fisiopatogenia e identificar terapias alternativas e viáveis para o tratamento da doença.

O estado nutricional (EN) é essencial na modulação da resposta imune, caracterizando-se por ser um determinante do risco e do prognóstico de doenças infecciosas, e há relação entre a desnutrição energético-proteica (DEP) e a morbimortalidade de doenças infecciosas.

Enquanto a DEP aumenta a vulnerabilidade do indivíduo frente a infecções, estas também podem causar redução na ingestão alimentar, em um processo conhecido como ciclo infecção-desnutrição (SCRIMSHAW; SANGIOVANI, 1997; MALAFAIA, 2009).

O Cobre (Cu) é um mineral essencial que participa da composição de várias proteínas e enzimas importantes. É um receptor e doador de elétrons em reações redox ocorridas na respiração mitocondrial, na síntese de melanina e nas ligações cruzadas do colágeno. Juntamente a outros minerais, como o Zinco (Zn) e Selênio (Se), o Cu é um elemento essencial que possui um papel primordial no sistema imunológico, atuando como cofatores para enzimas antioxidantes (superóxido dismutase - SOD, citocromo C oxidase, lisil oxidase, metalotioneínas e ceruloplasmina), que participam da destruição de radicais livres produzidos pelo organismo (LIVINGSTONE, 2017; PUIG; THIELE, 2002; FARYADI; MOHEBALI, 2003).

Um estudo realizado no Brasil por Weyenbergh *et al* (2004) constatou que o Cu plasmático foi positivamente correlacionado com a resposta imune humoral em pacientes com formas diferentes de leishmaniose, principalmente na LV. Lal *et al* (2012) concluíram em seu estudo que o cobre sérico estava aumentado tanto na fase aguda, como na crônica de LV, mas, principalmente na última. Farzin & Moassi (2014) verificaram níveis séricos de zinco e selênio significativamente mais baixos em pacientes com LV quando comparados ao grupo controle, a necessidade da realização de mais estudos para esclarecer melhor a relação entre oligoelementos e a leishmaniose.

A vitamina A (VitA) é uma vitamina lipossolúvel que exerce papel no processo visual, no fortalecimento do sistema imunológico e na integridade epitelial, e a deficiência de vitamina A (DVA) está em segundo lugar em relação dos problemas nutricionais do mundo, ficando atrás apenas da deficiência de ferro. Infecções crônicas são capazes de esgotar lentamente o retinol sérico, levando à redução da imunidade e suscetibilidade a novas infecções, como a LV. Embora estudos tenham relatado a DVA em indivíduos com LV, o mecanismo que descreve a influência da VitA na resposta imune na LV ainda é incompreendido (YONEKURA *et al*, 2020; MACIEL *et al*, 2008; MACIEL *et al*, 2014).

Os micronutrientes têm importância na sua função imune e na suscetibilidade à infecção por *Leishmania spp.*, contudo, não há estudos que relatam o papel protetor de suplementos nutricionais orais em indivíduos com LV em tratamento antileishmania (NWEZE; NWEZE; ONOJA, 2020; CUSTODIO *et al.*, 2018). Em vista disso, é imprescindível o desenvolvimento de mais estudos para desvendar o papel dos micronutrientes na infecção por *Leishmania*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar os níveis de retinol, Cu e Zn nos períodos pré e pós-tratamento da LV, verificando a recuperação de parâmetros clínicos e nutricionais ligados à doença.

2.2 Objetivos Específicos

- Descrever as características sociodemográficas de indivíduos com LV;
- Avaliar as características clínicas e o estado nutricional de adultos com LV nos períodos pré e pós-tratamento;
- Quantificar os níveis de Cu e Zn eritrocitário e plasmático e retinol sérico em pessoas com LV pré e pós-tratamento;
- Analisar a relação Cu/Zn pré e pós-tratamento.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Leishmaniose Visceral

3.1.1 Aspectos clínicos e laboratoriais

As leishmanioses são doenças provocadas por protozoários da família Trypanosomatidae, da ordem Kinetoplastidae, do gênero *Leishmania*, sendo as espécies causadoras de leishmaniose visceral (LV) pertencentes ao complexo *L. donovani*: *L. donovani* (sin. *Leishmania archibaldi*) na Índia e na região oriental da África e *L. infantum* (sin. *L. chagasi*) em outras regiões do mundo. Esse parasita costuma ser transmitido por flebotomíneos que pertencem ao gênero *Lutzomyia* na América Latina e ao gênero *Phlebotomus* nas demais regiões do mundo, e são popularmente conhecidos como mosquito-palha, tatuquiras, asa dura e birigui (COSTA; COSTA, 2014).

Os parasitos do gênero *Leishmania* infectam mamíferos e animais domésticos ou silvestres. No homem, ocorrem duas formas de Leishmanioses: a cutânea, muco-cutânea, e a visceral. Os sintomas mais frequentes são: febre persistente, palidez, emagrecimento, hepatoesplenomegalia, aumento do volume abdominal e edema. Outros sinais e sintomas observados são, como diarreia, tosse, icterícia e sangramentos. A inespecificidade desta apresentação clínica retarda a identificação da doença pois sobrepõe-se ao diagnóstico diferencial com outras patologias (PEDROSA; ROCHA, 2004; FREITAS, 2010).

Trata-se de uma doença espectral, que possui características clínicas que variam desde infecções assintomáticas, formas oligossintomáticas até à forma clinicamente manifesta com diversos graus de acometimento, e alta letalidade. Quando associada a comorbidades, tais como a desnutrição e a infecção pelo HIV ou quando o diagnóstico é tardio, as complicações (como infecções bacterianas por *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*) e hemorragias, podem levar à morte (OLIVEIRA et al, 2010).

A maior parte dos indivíduos infectados não manifesta os sintomas da doença. Há uma variedade de fatores que determinam a gravidade da enfermidade envolvendo condições ambientais, idade, estado nutricional e resposta imune do indivíduo infectado. A forma sintomática da LV evolui de forma rápida e fatal, sendo a sua forma mais grave frequentemente observada em crianças, idosos e indivíduos que possuem alguma imunodeficiência, dando origem a quadros de difícil diagnóstico e tratamento. Além disso, a letalidade da LV é maior em crianças menores de dois anos e adultos, comparado a outros grupos etários (COSTA; COSTA, 2014).

A da doença geralmente se inicia com febre baixa e frequente, sendo considerado o sintoma notável devido à sua irregularidade. Outras manifestações relevantes são a hepatomegalia e esplenomegalia (em maior escala). Além disso, há uma série de eventos concomitante ao acometimento dos órgãos, dando início a alterações fisiológicas e histopatológicas, que podem ser agravadas com o decorrer da doença (SOUZA et al, 2012).

A leishmaniose visceral evolui em três períodos: inicial (fase aguda), caracterizado pelo início dos sintomas, sendo estes febre que pode durar de 2 a 4 semanas, palidez cutâneo-mucosa e hepatoesplenomegalia. Em crianças que vivem nas áreas endêmicas, a febre dura cerca de 2 semanas, e normalmente evolui para cura espontânea (forma oligossintomática). Ainda nesta fase inicial, a forma amastigota do parasita é presente no exame de medula óssea, e em exames complementares é comum o indivíduo apresentar anemia leve. O período de estado é definido por febre irregular, emagrecimento gradativo, palidez cutâneo-mucosa e agravamento da hepatoesplenomegalia. É caracterizado, também, por apresentar quadro clínico com comprometimento do estado geral, podendo se arrastar por dois meses. Os exames apresentam-se alterados, e os anticorpos específicos *antileishmania* são elevados no exame sorológico. Por último, o período final pode ser fatal na ausência de diagnóstico e tratamento. Neste, há comprometimento acentuado do estado geral, com febre contínua, desnutrição, edema (com possível evolução para anasarca), além de hemorragias (epistaxe, gengivorragia e petéquias), ascite e icterícia. O óbito desses pacientes geralmente ocorre por sangramentos e/ou infecções bacterianas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

3.1.2 Leishmaniose e HIV

A coinfeção com o vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) e LV é um desafio emergente na saúde pública mundial (MONGE-MAILLO et al., 2014). Desde o primeiro caso de infecção simultânea com HIV-LV, atingiu-se um pico em 1997, de 1998 até 2001 observou-se estabilidade e após 2001, houve uma queda nos casos em várias partes do mundo (MOHEBALI; YIMAM, 2020).

No ano de 2016, de acordo com a Organização Mundial de Saúde – OMS (2018), cerca de 26,7 milhões de pessoas viviam com HIV no mundo e dessas, 3,3 milhões eram do continente americano e essa coinfeção foi relatada em 35 países endêmicos. As pessoas infectadas pelo vírus HIV são mais vulneráveis à LV e por outro lado, a LV acelera a multiplicação do HIV e conseqüentemente piora o prognóstico da imunodeficiência associada ao vírus.

O comprometimento do sistema imune provocado pela infecção pelo HIV e sua imunotivação – principalmente a queda do número de linfócitos T CD4⁺ - permite a progressão da infecção por *Leishmania spp*, pois essas células são responsáveis pelo controle do parasita. Ademais, a imunoestimulação crônica induzida por *Leishmania spp* favorece a multiplicação do HIV e a sua progressão para Aids, reduzindo a imunidade devido ao esgotamento de recursos imunológicos (OKWOR; UZONNA, 2013).

3.1.3 Leishmaniose e Desnutrição

A desnutrição proteico-calórica (DPC) é definida, pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma consequência da baixa ingestão de alimentos ricos em nutrientes essenciais para manutenção da vida e é uma condição que abrange quadros clínicos diversos (MONTEIRO; RÉA, 1977). A subnutrição originada da DPC é capaz de aumentar a susceptibilidade a infecções comuns em regiões de baixa renda e pobreza (SCHAIBLE, KAUFMANN, 2007).

A distribuição da desnutrição no mundo está intimamente ligada a situações de pobreza, instabilidade socioeconômica e política, escassez no sistema educacional, más condições higiênico-sanitárias, carência alimentar, ineficiência ou falta de programas nutricionais (FRANÇA et al., 2009).

Durante o século XX a relação entre o estado nutricional e o sistema imune foi amplamente estudado por pesquisadores da época e, na atualidade, é aceita a relação direta entre a imunidade e/ou a susceptibilidade a doenças infecto-parasitárias e o estado nutricional do hospedeiro (MALAFAIA, 2007). A DEP muitas vezes pode ser associada a disfunções imunológicas, além de ser um potencial fator na suscetibilidade a doenças infecciosas (CORWARE et al., 2014).

O EN de indivíduos acometidos por *Leishmania spp*. está ligado a trajetória clínica da doença, sendo um dos principais determinantes na progressão, gravidade e aumento da mortalidade por LV (PEARSON et al., 1992) Um estudo realizado na Etiópia apontou altas taxas de desnutrição em indivíduos acometidos com LV e HIV ou infecções parasitárias simultaneamente. Além da desnutrição definida pelo índice de massa corpórea (IMC), a anemia também estava presente nessa população (MENGESHA et al., 2014).

O papel do EN do hospedeiro é imprescindível na defesa contra patógenos uma vez que, se o organismo está com o seu sistema imune fragilizado em decorrência da desnutrição, ficará mais suscetível a infecções assintomáticas e até a doenças graves. O peso corporal e os níveis

séricos de micronutrientes podem estar relacionados à suscetibilidade e a gravidade da infecção (NWEZE; NWEZE; ONOJA, 2020).

A perda de peso e desnutrição está presente em diversas faixas etárias em pacientes com LV. Em um estudo realizado no Piauí, Monteiro et al (2021) mostraram que a desnutrição e perda de peso foram observadas em todas as idades, porém foram mais frequentes em indivíduos adultos. Além disso, o IMC para idade em crianças, área de gordura do braço e área muscular do braço (AMB) tiveram uma associação significativa com a probabilidade de morte por LV (MONTEIRO et al., 2021).

3.2 Diagnóstico

3.2.1 Diagnóstico clínico laboratorial

O diagnóstico clínico é determinado de acordo com os sintomas mais frequentes da LV: febre, hepatoesplenomegalia, perda de peso e palidez, além da procedência do paciente em área endêmica para a zoonose. O diagnóstico da LV é complexo devido ao compartilhamento de características comuns a outras doenças, tais como febre tifóide, malária e tuberculose esquistossomose, tripanossomíase africana, e desnutrição. Ademais, a localização tecidual do parasita em tecidos profundos (baço, linfonodos ou medula óssea), dificulta o diagnóstico laboratorial ou parasitológico (LISBOA et al., 2016).

A doença pode ser diagnosticada por meio de demonstração parasitária em tecidos relevantes por microscopia de luz da amostra corada, cultura *in vitro* ou inoculação animal; detecção de DNA do parasita em amostras de tecido; ou imunodiagnóstico por detecção de antígeno parasitário em amostras de sangue, tecido ou urina, por identificação de anticorpos antileishmania específicos ou não específicos (imunoglobulina), ou por ensaio de imunidade mediada por células específicas de leishmania (SUNDAR; RAI, 2002).

3.2.2 Diagnóstico sorológico

De acordo com Elmahallawy *et al.* (2014), o diagnóstico sorológico da LV se baseia na presença de resposta humoral específica, sendo os testes sorológicos baseados em quatro modelos – Reação de Imunofluorescência Indireta- RIFI, ensaio de imunoabsorção enzimática (Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay- ELISA), análise pela técnica *western blot* (técnica que envolve separação de proteínas por eletroforese em gel) e teste de aglutinação direta (Direct Agglutination Test -DAT).

Entre as vantagens dos métodos de diagnóstico sorológico, estão os fatos de serem de baixo custo, fácil execução e dispensarem infraestrutura laboratorial e equipamentos de elevado padrão. Além disso, é o método menos invasivo, visto que coleta uma pequena alíquota de sangue, o que proporciona menor risco para os indivíduos em comparação aos exames parasitológicos, por meio de biópsias (RAVENA et al., 2018).

Existem, ainda, outros testes sorológicos disponíveis, considerados os principais métodos para diagnosticar LV, como os testes imunocromatográficos utilizando antígeno K39 recombinante (rK39-ICT). Chamados “testes rápidos”, são um importante avanço no diagnóstico da doença graças ao alto desempenho e baixo custo, somados à fácil e rápida execução (FREIRE et al., 2019).

3.2.3 Diagnóstico molecular

As ferramentas de reação em cadeia da polimerase (PCR) que amplificam o DNA do parasita são consideradas um dos métodos com maior sensibilidade para o diagnóstico clínico da LV, e podem ser verificados sem equipamentos sofisticados. A sensibilidade do teste PCR depende essencialmente do tipo de amostra biológica utilizada – sangue, medula óssea, fluidos esplênicos, entre outros (ALAM et al., 2013; BRUSTOLONI et al., 2007; SRIVASTAVA et al., 2011).

O teste PCR convencional mostra somente a presença ou ausência de *Leishmania*, sem a quantificação da carga parasitária. Hoje, com a PCR quantitativa em tempo real (qPCR) é possível determinar o número de moléculas de DNA de uma sequência em amostra complexa, com precisão e sensibilidade. Todavia, a qPCR mede apenas a quantidade de DNA do parasita circulante, não sendo capaz de prever a viabilidade ou quantificar o número de parasitas (MANNA et al., 2006; SUNDAR; SINGH, 2018).

A qPCR está relacionada com a gravidade da doença, mostrando uma diferença entre a carga parasitária e o curso da infecção. Estudos relataram uma alta na parasitemia sanguínea em pacientes com LV antes do tratamento e um declínio dias após o início do tratamento antileishmania, evidenciando que a qPCR pode ser um marcador de resposta ao tratamento, além da mensuração da carga parasitária em tempo real (HOSSAIN et al., 2017; SUDARSHAN et al., 2011, 2014).

3.2.4 Diagnóstico parasitológico

O diagnóstico parasitológico é capaz de detectar a presença do parasita em aspirados de baço, linfonodos ou medula óssea dos indivíduos, por meio da visualização de amastigotas através da microscopia, detecção de DNA parasitário por PCR, inóculo das biópsias em meios de cultura ou em animais de laboratório (ANTHONY et al., 1987; RAVENA et al., 2018)

O diagnóstico da LV deve ser realizado de maneira precisa e precoce. Recomenda-se que a confirmação parasitológica seja feita antes do início do tratamento. O método considerado como padrão-ouro para diagnosticar LV é a detecção, em amostras de tecido ou em aspirado de medula óssea, de formas de amastigotas do parasita por *Leishmania*. A sensibilidade desse método varia entre 50 a 99%, dependendo do tecido utilizado, sendo o baço o mais sensível (93-99%) e a pele (<50%) o de menor sensibilidade. É uma técnica invasiva e necessita de laboratórios e equipamentos complexos, portanto é inviável seu uso em campos generalizados (SARKARI; REZAEI; MOHEBALI, 2018).

3.3 Ciclo biológico e vetor

A *leishmania*, assim como muitos protozoários parasitas intracelulares, tem um ciclo de vida digenético, envolvendo um hospedeiro mamífero e um inseto vetor. Os parasitas *Leishmania spp* apresentam polimorfismo e uma variedade de formas de desenvolvimento celular, que se adaptam ao hospedeiro ou vetor (MATTHEWS, 2013).

O inseto vetor da leishmaniose pertence ao gênero *Phlebotomus* no Velho Mundo e ao gênero *Lutzomyia* no Novo Mundo. Há relatos que afirmam que o parasita *Leishmania infantum* foi introduzido no Novo Mundo em meados do século XVI por animais domésticos infectados que vieram como companheiros dos navegadores vindos de Portugal e do Mediterrâneo. A principal espécie responsável pela transmissão do parasita em regiões urbanas nas Américas é o *Lu. longipalpis*, e pode ser encontrado desde o sul do México até a Argentina, abrangendo uma diversidade de espécies. Ele pode ser encontrado em condições ecológicas dispersas, o que explica o seu sucesso na dispersão e adaptação (ARAKI et al., 2009; KUHLS et al., 2011; PEÇANHA BRAZIL, 2013).

A cada transição entre parasita e vetor, o parasita sofre diferenciação morfológica. Inicialmente o flebotomíneo é infectado após picada em um hospedeiro contaminado, e logo em seguida o parasita adquire a forma promastigotas procíclicos que se dividem no intestino médio do flebotomíneo em promastigotas nectomonas não divisíveis. Estas migram para o intestino anterior para tornar-se em leptomonas promastigotas se transformam em promastigotas metacíclicas e se direcionam até a probóscide do inseto, onde estão preparadas

para transmitir a um hospedeiro mamífero (GOSSAGE; ROGERS; BATES, 2003; SASIDHARAN; SAUDAGAR, 2021).

Os promastigotas metacíclicos são depositados no local da picada, para onde macrófagos serão recrutados e infectados. Ao invadir o macrófago, o promastigota se diferencia em amastigotas, modificando totalmente a estrutura do parasita. O promastigota que possui um flagelo longo e célula alongada passa a ter flagelo curto com uma ponta bulbosa que se estende até o corpo celular esférico (ANTOINE et al., 1990; SUNTER; GULL, 2017).

3.4 Epidemiologia

No mundo foram relatadas diferentes espécies de *Leishmania*, que se manifestam em suas diferentes formas clínicas (LC, LMC e LV), sendo a forma mais grave causada pelas espécies *L. donovani*, e *L. infantum*. Enquanto a *L. donovani* está presente na Índia, Bangladesh, Nepal, Sri Lanka e leste da África, a *L. infantum* (*sin. L. chagasi*) distribui-se no Mediterrâneo, centro e oeste da Ásia e Venezuela e nos países da América Central e América do Sul, incluindo o Brasil. (SASIDHARAN; SAUDAGAR, 2021).

Segundo dados da OMS (2021), 102 países e territórios são endêmicos para leishmaniose, de 200 países e territórios que reportam à OMS. Destes, 71 são endêmicos para LV e LC, 8 apenas para LV e 19 para LC. A OMS também relata o número de casos autóctones, para monitoramento de tendências de incidência e o quantitativo de casos importados. Em 2021, 55 países endêmicos de LV (70%) e 56 países endêmicos de LC (63%) relataram dados à OMS, e os casos globais de LV foram notificados por oito países: Brasil, Eritreia, Etiópia, Índia, Quênia, Somália, Sudão do Sul e Sudão.

No Brasil, o calazar atinge pessoas de todas as faixas etárias, mas as crianças menores de 10 anos são mais acometidas. Há uma tendência de mudanças na distribuição de casos por grupo etário em alguns focos urbanos estudados, com altas taxas em adultos jovens (SILVA et al., 2001).

Entre 2001 e 2017, foram notificados 53.715 casos de LV no Brasil, com as taxas de incidência variando entre os estados, em destaque o Pará (5,99/1.000), Roraima (6,70/1.000), Tocantins (16,51/1.000), Piauí (8,08/1.000), Maranhão (11,80/1.000), Ceará (3,94/1.000) Minas Gerais (3,75/1.000) e Mato Grosso do Sul (5,25/1.000) no ano de 2017 (DE AZEVEDO; LORENZ; CHIARAVALLLOTI-NETO, 2019).

No estado do Piauí foram observados ciclos de transmissão entre 1971 e 2018, com períodos de picos endêmicos em 1984, 1992, 2003 e 2014, sendo 1984 o ano com o maior

número de notificações. De 2008 a 2018 foram verificados 3.783 casos incidentes de LV no mesmo estado, sendo 62,7% autóctones (BATISTA et al., 2021).

3.5 Resposta imune na leishmaniose visceral

O parasita intracelular obrigatório *Leishmania* infecta rapidamente suas células hospedeiras após a picada do flebótomo infectado. Após a inoculação, células inatas como neutrófilos, monócitos, macrófagos, células dendríticas (CDs), mastócitos e células *natural killer* (NK) criam um ambiente permissivo ou hostil para o parasita e em seguida, modulam a resposta imune adaptativa à suscetibilidade ou resistência do hospedeiro. Embora a resposta imune adaptativa seja crucial no controle da leishmaniose, a importância da resposta imune inata na LV se dá pela sua mortalidade significativa (GURUNG; KANNEGANTI, 2015; VOLPEDO et al., 2021).

Os parasitas *Leishmania* são bem-sucedidos em suas estratégias para evitar a atividade microbicida dos neutrófilos. As características imunológicas alteradas das células hospedeiras após a infecção são induzidas por alterações nas vias metabólicas do hospedeiro. Modificações no perfil metabolômico das células imunes infectadas podem alterar a disponibilidade de nutrientes para o parasita, tornando o ambiente permissivo ou hostil, o que vai determinar a atividade antileishmania (KIRTHANA; AJAY, 2014).

Além disso, os parasitas *Leishmania* podem modificar as vias metabólicas hospedeiras a seu favor, influenciando por exemplo, na absorção de nutrientes. Tais alterações podem ser capazes de proteger o parasita de altas temperaturas, baixo pH e espécies reativas de oxigênio (MCCONVILLE et al., 2015).

As células inatas estão envolvidas na prevenção da invasão do parasita e do controle da sua multiplicação por meio da liberação de citocinas, sendo a IL-10 e o INF- γ os principais atores da patologia da LV. Porém, outras citocinas têm papel importante, como a IL-6, que está associada a LV ativa e é uma importante citocina pró-inflamatória relacionada à diferenciação de Th2, na inflamação e resposta Th1 e no desenvolvimento das células Th17, mantendo assim o equilíbrio entre as respostas das células T durante a doença ativa. Além dessas citocinas citadas, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), que é conhecida por exercer efeitos citotóxicos sobre patógenos invasores, também está envolvida na patogênese da LV (BHATTACHARYA; ALI, 2013).

3.6 Micronutrientes, sistema imune e infecção

3.6.1. Cobre

O cobre (Cu) é um mineral essencial, presente em proteínas e enzimas de importância biológica. É um membro da terceira série de transição de elementos com número 29 e peso atômico 63n, sendo capaz de mudar entre as formas oxidadas e reduzidas, fato que justifica sua importância biológica (MORRIS; MOHIUDDIN, 2020; SCHWARZSCHILD, MEDEIROS, 2013).

A importância biológica do Cu se dá pelo seu papel catalítico e estrutural, constituindo as cuproenzimas que atuam como oxidases, além de fazer parte de algumas proteínas que têm papel fundamental no organismo - Quadro 1 (CHEN *et al*, 2006; (HELLMAN; GITLIN, 2002); (INSTITUTE OF MEDICINE, 2002) (PETRAK; VYORAL, 2005).

Quadro 1. Funções das cuproenzimas e das proteínas ligadas ao cobre. (Continua)

Cuproenzimas/ proteínas	Localização	Funções
Diamina oxidase	Todas as células do organismo	Possui atividade intensa no intestino delgado, placenta e rins. Inativa a histamina liberada durante as reações alérgicas e poliaminas envolvidas na proliferação celular.
Monoamina oxidase (MAO)	Todas as células do organismo	Atua no metabolismo das catecolaminas e degrada a serotonina.
Citocromo C oxidase	Mitocôndrias	Promove a produção de ATP, catalisando a redução de O ₂ para H ₂ O na mitocôndria. Atua no transporte de elétrons.
Lisil oxidase	Colágeno e elastina	Atua no colágeno e na elastina, essencial na formação do tecido conjuntivo dos ossos, pulmões e vasos sanguíneos.
Tirosinase	Olhos e pele	Auxilia na síntese da melanina, catalisa a conversão de tirosina para dopamina.
Dopamina beta-hidroxilase	Cérebro e glândula renal	Acelera a conversão de dopamina em norepinefrina.
Ceruloplasmina (ferroxidase I)	Plasma	É o principal transportador do cobre no plasma. Estimula a oxidação de Fe ²⁺ em Fe ³⁺ , essencial a ligação do ferro à transferrina. Além de ser antioxidante, distribui ferro orgânico dos órgãos.
Hefaestina (ferroxidase II)	Membranas	Proteína altamente ligada à membrana celular, muito expressa no intestino delgado. Participa do metabolismo do ferro em sítios específicos, captando ferro da dieta.

Quadro 1. Funções das cuproenzimas e das proteínas ligadas ao cobre. (Conclusão)

Cobre-zinco superóxido dismutase (Cu/Zn SOD)	Citoplasma das células, cérebro, eritrócitos, fígado, tireóide e hipófise	Participa na defesa contra danos oxidativos provocados pelo radical superóxido.
Mangânês-zinco superóxido dismutase (Mn/Zn SOD)	Mitocôndrias	Participa na defesa contra danos oxidativos provocados pelo radical superóxido.
Metalotioneína	Enterócitos, fígado e rins	Proteína que possui cisteína em abundância, que liga zinco, cádmio e cobre, além de sequestrar íons de metais e previne toxicidade.
Transcupreína	Plasma	Atua no transporte do cobre no plasma.

Fonte: Adaptado de SCHWARZSCHILD, MEDEIROS, 2013.

A homeostase do cobre ocorre em duas vias, intra e extracelular. Inicialmente, o cobre presente no lúmen intestinal é reduzido e captado pelo transportador de cobre 1 (CTR1) na borda em escova. Além do CTR1, o Cu também pode ser captado via DMT1 (transportador de metais bivalente 1), expresso principalmente no duodeno proximal e nos rins. A passagem do íon cúprico (Cu I) pelo citoplasma até a membrana basolateral da célula é mediada principalmente pela metalotioneína (MT), uma proteína que regula a homeostase do Cu e Zn, ameniza a intoxicação por metais pesados e atenuam o estresse por superóxido. Após alcançarem a membrana basolateral, os íons de Cu são incorporados à ATP7A – adenosina trifosfatase 7A, uma ATPase responsável pela exportação do Cu para o sistema portal. Uma vez no sistema portal, o Cu é carregado principalmente à albumina e transcupreína (CRISPONI et al., 2010; VIGNESH; DEEPE JR, 2017).

Posteriormente, o Cu I é captado principalmente pelo fígado, que pode incorporar o Cu ao *pool* de síntese das cuproenzimas ou secretado para a vesícula biliar, exercendo assim o controle homeostático sobre o Cu extra-hepático. No fígado, cerca de 95% do Cu se liga à ceruloplasmina (CP) para ser distribuído aos tecidos periféricos na forma de íon cuproso (Cu II). Sua via de excreção principal é a bile, além da fração alimentar não absorvida e remanescentes da descamação das células (CRISPONI et al., 2010; STERN et al., 2007).

3.6.2 Zinco

Considerado um dos minerais de maior importância para o metabolismo humano, o Zn participa como cofator de mais de 300 reações enzimáticas, além de ser componente estrutural de proteínas, hormônios e nucleotídeos. Foi demonstrado em diversas pesquisas a participação do mineral na organização polimérica de macromoléculas, como o ácido desoxiribonucleico

(DNA) e ácido ribonucleico (RNA), tornando-o indispensável nas atividades enzimáticas que envolvem a síntese de DNA e RNA (MARET, 2001; MARQUES; MARREIRO, 2006).

O Zn possui uma versatilidade em suas características físico-químicas que o permitem participar no metabolismo dos carboidratos, proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos. O mineral também exerce papel importante na transcrição de nucleotídeos e, conseqüentemente, no controle da expressão gênica e de outras estruturas biológicas fundamentais. Além disso, o Zn auxilia no crescimento e desenvolvimento adequados, na integridade das membranas, na defesa antioxidante, na imunidade, na manutenção do apetite, na cicatrização e visão noturna (TUDOR, 2005).

Esse oligoelemento se encontra distribuído em diversos compartimentos do organismo em pequenas concentrações (1,5g a 2,5g). Embora sua quantidade seja baixa, a deficiência de Zn está associada a gravidade de doença devido a sua deficiência na ingestão alimentar, presença de quelantes, nos alimentos, distúrbios de má absorção intestinal e aumento da excreção urinária (HAMBIDGE et al., 2008).

Atualmente milhões de pessoas no mundo possuem deficiência de Zn, principalmente devido à desnutrição, prejudicando o crescimento e desenvolvimento, além de comprometer o sistema imune. A deficiência de Zn provoca atrofia tímica e linfopenia, além de deprimir respostas imunes inatas e adaptativas: prejudica a fagocitose, a atividade de morte intracelular e a produção de citocinas pelos macrófagos; defesa do hospedeiro por neutrófilos, produção de citocinas e secreção de anticorpos das células T e B (PRASAD, 2012; SHANKAR; PRASAD, 1998).

O Zn tem papel imprescindível tanto na produção como na atividade biológica de interleucinas, que influenciam no desenvolvimento e nas funções dos linfócitos T e B, macrófagos e células *NK* (*natural killer*). Uma vez que os níveis de Zn estão diminuídos, as funções das células T helper – Th1 e Th2 – também são afetadas, promovendo alterações na resistência a infecções (COMINETTI, COZZOLINO, 2013).

3.6.3 Retinol

A vitamina A (VitA) é um micronutriente essencial ao corpo humano, que possui diversas funções fisiológicas, atuando principalmente no processo visual, no grupo das opsinas, que são proteínas sensíveis à luz da retina, sendo a cegueira noturna um dos primeiros sintomas de sua deficiência. A VitA e seus derivados fazem parte dos retinoides, uma classe de compostos naturais e sintéticos relacionados estruturalmente. O retinol, forma livre da VitA, é

instável quimicamente e não é encontrada em abundância nos alimentos e tecidos, e nestes está presente na forma de ésteres, principalmente o palmitato de retinila. O retinol e ácido retinóico (AR) podem ser encontrados em pequenas quantidades nos alimentos, na configuração *trans*. E a pró-vitamina A (ou vitamina A₂) é encontrada em peixes de água doce e anfíbios. A pró-vitamina A pode ser reduzida para retinol *in vivo*, possuindo cerca de 30-40% da atividade biológica do retinol (YUYAMA et al, 2013).

A VitA refere-se a um grupo de retinóides lipossolúveis, que inclui retinol, retinal e ésteres de retinil. Uma vez que os animais não sintetizam novamente a VitA, ela pode ser obtida da dieta como VitA pré-formada de fontes animais, ou como carotenoides de pró-vitamina, como beta-caroteno de fontes vegetais. A VitA é armazenada no fígado e liberada na corrente sanguínea como retinol. Em seguida, o retinol é convertido em AR, que corresponde à sua forma bioativa. A VitA e o AR desempenham papéis complexos na regulação do sistema imunológico. A deficiência de vitamina A (DVA) é capaz de causar respostas diminuídas ou alteradas das células T e B a diversos patógenos, produção de INF- γ desregulada e alterações nos números e funções de células imunes inatas, como monócitos, células NK e subconjuntos de células dendríticas (MCGILL et al., 2019).

Ao ser liberado do fígado, o retinol se liga à proteína transportadora de retinol (*retinol binding protein* – RBP), uma globulina responsável pela manutenção da VitA em solução aquosa e pelo seu transporte para os tecidos periféricos (YONEKURA et al, 2020).

As doenças infecciosas são capazes de provocar a DVA, diminuindo a ingestão e absorção, e conseqüentemente aumentando a excreção, principalmente em populações onde a disponibilidade de VitA alimentar é baixa (STEPHENSEN, 2001).

3.6.4 Zinco, cobre e retinol na leishmaniose visceral

Oligoelementos como Zn e Cu são essenciais e desempenham um papel relevante no sistema imunológico, atuando como cofatores para enzimas antioxidantes que participam da eliminação de radicais livres tóxicos. Os status desses minerais variam em diversas doenças como a leishmaniose (FARYADI; MOHEBALI, 2003).

Existe uma associação direta entre a desnutrição e a endemicidade do parasita, ao mesmo tempo que a intensidade da infecção por *Leishmania* pode ser aumentada devido à desnutrição. Ademais, têm sido detectadas alterações de micronutrientes envolvidos na resposta imune e que têm propriedades antiinflamatórias (TAGHIPOUR et al., 2021).

Alguns achados relatam a influência dos níveis de Zn e a relação Zn/Cu na LV e LC. Os níveis de Zn diminuem na doença como consequência da síntese da metalotioneína (MT) no fígado e outros tecidos induzidos pela produção de interleucina 1 (IL-1) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) provocada pela infecção por *Leishmania* (FARZIN; MOASSESI, 2014; ROFE; PHILCOX; COYLE, 1996).

Uma correlação positiva foi apontada entre o Cu plasmático e a IgG específica do parasita em pacientes com diferentes formas de leishmaniose, sugerindo que o oligoelemento pode interceder na ação anti-*Leishmania*, levando uma resposta imune Th2/humoral não protetora, conhecida por ser aumentada na LV. Além disso, o aumento dos níveis de Cu diminui a produção *in vitro* de INF- γ , aumentando a suscetibilidade à infecção com patógenos intracelulares (RIBEIRO-DE-JESUS et al., 1998; WEYENBERGH et al., 2004). A alteração na relação Cu/Zn pode ser um marcador útil para a disfunção imune na leishmaniose, além de sugerir que os oligoelementos participam da resposta imune humoral e celular anti-*Leishmania*, uma vez que os transportadores desses oligoelementos, que são proteínas da fase aguda (PFA) estão envolvidos na resposta imune ao hospedeiro.

Infecções crônicas são capazes de esgotar lentamente o retinol sérico, acarretando uma redução da imunidade e aumenta a suscetibilidade a novas infecções, sejam elas virais, bacterianas ou fúngicas. É um ciclo pouco compreendido, que poderia ser fator de risco para desenvolvimento da LV. Estudos indicam deficiência de vitamina A em pacientes com calazar, porém o mecanismo que explica a influência do retinol na resposta imune a um patógeno intracelular, como a LV, ainda não é compreendido (BERN et al., 2007; MACIEL et al., 2008; MONTEIRO et al., 2021). Porém, sabe-se que a DVA prejudica a imunidade inata, barrando a regeneração normal das barreiras mucosas danificadas pelo processo infeccioso, acarretando a redução da função dos neutrófilos, macrófagos e células *natural killer* (STEPHENSEN, 2001).

Embora a deficiência de vitamina A seja prevalente em áreas endêmicas para LV, existem poucos dados na literatura em modelos animais ou em infecções por LV que relacionam o papel da vitamina A na resposta imune ao parasita (MACIEL et al., 2014). O estudo realizado no Brasil por Maciel *et al* (2014) surpreendeu ao expor uma potencial função dupla da vitamina A no sistema imunológico, que seria a melhora da regulação em células de crianças saudáveis após estimulação por leishmaniose e modulação para redução de IL-10 em células Treg e monócitos durante a LV sintomática, no entanto, nesse estudo os participantes não estavam sendo tratados para LV.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Área geográfica do estudo

O estudo foi conduzido em Teresina, capital do Estado do Piauí, localizada na Região Nordeste do Brasil. A cidade está localizada a 339 Km do litoral, 72m acima do nível do mar, a 05º 05' de latitude sul e 42º 48' longitude oeste. O clima é tropical com temperatura média anual de 27º C (variação de 22 a 39º C). A população estimada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística para o ano 2021 foi 871.126 habitantes (BRASIL, 2021). O município está conurbado com a cidade maranhense Timon, separadas apenas pelo Rio Parnaíba. Teresina está situada em importante entroncamento rodoviário regional e nacional, é centro político, de comércio e de serviços para uma grande área de influência nas Regiões Nordeste e Norte, atua como receptora de fluxos populacionais e representa importante referência em saúde na região (PIAÚÍ, 1994).

4.2 Tipo de estudo e local

Foi realizado um estudo comparativo não-controlado, “antes-depois” no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela (IDTNP) em Teresina, Piauí.

O IDTNP, é um hospital geral da Secretaria Estadual da Saúde do Piauí conveniado com a Universidade Federal do Piauí. O hospital é referência em doenças infecciosas e parasitárias para o Piauí e para estados vizinhos, tem capacidade de 137 leitos. Dispõe de serviço de pronto-atendimento para doenças infecciosas, unidade de terapia intensiva e serviço de ambulatório especializado em infectologia. Possui boa logística para captação de pacientes e infraestrutura para o diagnóstico e o tratamento das doenças mais prevalentes. Possui um laboratório de análises clínicas com serviços de microbiologia, micologia e parasitologia e um laboratório de pesquisas em leishmanioses capacitado a realizar técnicas de entomologia, parasitologia, sorologia e biologia molecular.

Aproximadamente 400 pacientes com LV eram atendidos anualmente no IDTNP até 2020, e representava 95% dos casos notificados no Estado, mas este número caiu significativamente nos dois últimos anos, em parte em decorrência da redução de hospitalizações em Teresina durante a pandemia pelo SarsCov-2 e em parte pela organização de saúde dos estados que restringiu o atendimento de pessoas não residentes no Piauí em hospitais do estado. Os pacientes procedentes do Piauí têm residência nos diversos municípios e apenas uma pequena parcela provém de Teresina. Todos os médicos assistentes possuem experiência em diagnosticar e tratar pacientes com LV.

4.3 População Fonte

A população fonte deste estudo foram pessoas com LV com idades acima de 19 anos, diagnosticadas e tratadas no IDTNP.

4.4 População do Estudo

A população de estudo foi composta por pessoas com LV que foram incluídas no ensaio clínico “Efeitos da Suplementação com vitamina A e zinco no tratamento da leishmaniose visceral”.

4.4.1 Definição de caso de LV

Foi considerado caso de LV o participante que apresentasse febre, esplenomegalia, emagrecimento ou palidez confirmado por um dos seguintes critérios: 1. Sorológico (teste imunocromatográfico rK39); 2. Parasitológico (pesquisa direta ou cultura de *Leishmania*, 3. Molecular (reação em cadeia da polimerase)

4.4.2 Critérios de inclusão

Foram incluídos indivíduos que preenchessem os critérios de definição de caso de LV, de ambos os sexos, com idades acima de 19, não tratados ou com tratamento iniciado há menos de 48 horas, sem história prévia de LV, admitidos no IDTNP no período de estudo, com hipótese diagnóstica de LV e submetidos a punção de medula óssea para pesquisa de amastigotas.

4.4.3 Critérios de exclusão

Foram considerados critérios de exclusão: presença de outras comorbidades que pudessem interferir na imunidade e nutrição, como doenças metabólicas congênicas, diabetes mellitus, cardiopatias, doenças renais e/ou ósseas e câncer. Foram excluídos ainda os indivíduos que faziam uso de suplementos vitamínicos e as gestantes.

4.5 Cálculo da amostra

Assumindo que 90% dos participantes apresentassem elevação da relação Cu/Zn e que esta alteração fosse 5% mais intensa nos participantes mais graves, então uma amostra de 138 participantes teria sido suficiente para detectar esta diferença com um nível de significância α de 0,05 e um poder de 80%.

4.6 Diagnóstico laboratorial de leishmaniose visceral

4.6.1 Testes Sorológicos

O teste rápido é um método imunocromatográfico, o qual utiliza o antígeno rK39. Esta avaliação é realizada por meio da coleta de sangue total venoso, plasma ou soro, ou ainda da polpa digital do sangue total do participante. A leitura do resultado ocorreu após 20 minutos de reação, conforme descrito no manual de instruções do fabricante (ANEXO A).

4.6.2 Exames Parasitológicos

4.6.2.1 Pesquisa direta de forma amastigotas

A técnica da pesquisa direta consiste em avaliar a presença das formas amastigotas em material obtido por aspiração de medula óssea. Este exame foi realizado conforme o protocolo do Laboratório de Pesquisa em Leishmaniose (LabLeish) do Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela (ANEXO B).

4.6.2.2 Cultura de Leishmania sp

O material biológico (medula óssea, sangue, aspirado de linfonodo) foi semeado para cultura de *Leishmania* no meio Novy, McNeal e Nicolle (NNN) com Scheneider's conforme o protocolo Laboratório de Pesquisa em Leishmaniose (LabLeish) do Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela (ANEXO B).

4.6.2.3 Teste molecular

O teste molecular foi realizado através da Reação de Cadeia de Polimerase (PCR), um método sensível específico que permite identificar e quantificar o parasito independente do gênero ou espécie. Esta avaliação foi exercida seguindo o protocolo do Laboratório de Pesquisa em Leishmaniose (LabLeish) do Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela.

4.7 Mensuração da exposição

4.7.1 Participantes

4.7.1.1 Avaliação clínica

Cada participante incluído no estudo foi submetido à anamnese e ao exame físico por médico envolvido na pesquisa, de acordo com questionário estruturado (APÊNDICE C) nas primeiras 48 horas da internação, independente de confirmação prévia da doença. Os participantes foram examinados pelo menos uma vez ao dia pelo médico assistente e as anotações contidas nos prontuários foram aceitas como informações sobre a evolução. A pressão arterial e as frequências cardíaca e respiratória foram aferidas uma vez ao dia, e a

temperatura axilar foi aferida quatro vezes ao dia em horários predeterminados e em outros horários se houvesse percepção de febre ou de hipotermia.

O baço foi medido em sua maior extensão a partir do bordo costal esquerdo na linha mamilar esquerda, em direção à ponta esplênica. O fígado foi medido a partir do bordo costal direito, na linha mamilar direita, no sentido crânio-caudal.

4.7.1.2 Tratamento

Todos os participantes receberam o tratamento específico de acordo com as recomendações nacionais do Ministério da Saúde, que orienta o uso de antimoniais pentavalentes ou Anfotericina B (BRASIL, 2011). A escolha entre as duas medicações foi feita pelo médico assistente.

4.7.1.2 Avaliação nutricional

A avaliação nutricional foi baseada no protocolo do Laboratório de Avaliação Nutricional de Populações – USP (LANPOP) – ANEXO C. Todos os procedimentos descritos a seguir foram realizados na admissão e 30 dias depois.

4.7.1.2.1 Peso e Altura

A estatura foi obtida utilizando-se um estadiômetro flexível e inelástico, com precisão de 0,1cm, fixada à parede, sem rodapé (BRASIL, 2011). Em seguida, manteve-se a cabeça do participante apoiada firmemente contra a parede com o pescoço reto e o queixo afastado do peito, no plano de Frankfurt (margem inferior da abertura do orbital e a margem superior do meatus auditivo externo estando em uma mesma linha horizontal), os ombros totalmente em contato com a superfície de apoio do estadiômetro os braços estendidos ao longo do corpo e as nádegas e os calcanhares em pleno contato com a superfície.

4.7.1.2.2 Classificação do Estado Nutricional

O Índice de Massa Corpórea – IMC (Kg/m^2) foi obtido a partir do cálculo do valor do peso corporal dividido pela estatura ao quadrado, de acordo com a seguinte fórmula (OMS, 2000):

$$\text{Índice de Massa Corporal } (\text{Kg}/\text{m}^2) = \text{Peso } (\text{Kg}) / \text{Altura } (\text{m}^2)$$

Em seguida, a classificação do estado nutricional foi realizada a partir dos pontos de corte de IMC para adultos (Quadro 2) e idosos (Quadro 3).

Quadro 2. Classificação do estado nutricional IMC em adultos.

CLASSIFICAÇÃO	IMC (Kg/m ²)
Desnutrição grave	< 16
Desnutrição moderada	16 – 16,99
Desnutrição leve	17 – 18,49
Eutrofia	18,5 – 24,99
Sobrepeso	25 – 29,99
Obesidade grau I	30 – 34,99
Obesidade grau II	35 – 39,99
Obesidade grau III	>40

Fonte: WHO, 2000.

Quadro 3. Classificação do estado nutricional pelo IMC em idosos.

CLASSIFICAÇÃO	IMC (Kg/m ²)
Baixo peso	IMC ≤ 22,0
Peso adequado	22,0 <IMC< 27,0
Sobrepeso	IMC ≥ 27,0

Fonte: OMS, 2017.

4.7.1.2.3 Dobra cutânea tricipital

A medida da dobra cutânea tricipital (DCT) foi realizada com o auxílio de um adipômetro científico Lange®. Posicionou-se o braço direito do indivíduo formando um ângulo de 90° no cotovelo e a palma da mão virada para cima. Em seguida, foi localizado o acrômio, onde segurou-se a extremidade da fita métrica da marca Seca®, estendendo a mesma no centro da superfície posterior do braço até a ponta do olécrano. Após localizar o ponto médio entre o acrômio e olecrano, a dobra cutânea foi medida com o dedo polegar e indicador, procurando-se definir o tecido celular subcutâneo do músculo subjacente, e pinçou-se o tecido celular subcutâneo cerca de 1 cm proximal ao sítio de medida, de modo que a pressão exercida pelos dedos não interferisse na medida da prega. Aguardou-se de 2 a 4 segundos para que toda pressão da borda do adipômetro fosse exercida. Foram realizadas três medições e registrou-se a média. Como referência para classificação da dobra cutânea tricipital utilizou-se a tabela de percentis proposta por Frisancho (1990) (ANEXO D).

4.7.1.2.4 Dobra cutânea subescapular

Para realizar a medida da dobra cutânea subescapular (DCSE) foi aferida do lado direito do avaliado, com o indivíduo posicionado em pé e relaxado, com os braços ao longo do corpo.

Logo após, foi usada uma fita métrica marca Seca® localizando 1 cm com uma cruz sob o sítio subescapular, em seguida foi pinçada a dobra com auxílio do adipômetro científico modelo Lange®. Como referência para classificação da DCSE foi utilizada a tabela de percentis proposta por Frisancho (1974; 1981) (ANEXO E).

4.7.1.2.5 Circunferência do braço

A circunferência do braço (CB) foi realizada no braço direito, formando um ângulo de 90° no cotovelo e a palma da mão virada para cima (nos casos em que o indivíduo estava com acesso no braço direito não foi possível realizar a medida, sendo assim foi executada no braço esquerdo), posteriormente foi localizado o acrômio, foi segurada a extremidade zero da fita métrica marca Seca®, estendendo a mesma no centro da superfície posterior do braço até a ponta do olécrano. Em seguida foi realizada uma marca horizontal no ponto médio, onde o indivíduo relaxou o braço prosseguindo a medida da CB (CDC, NCHS, NHANES, 2017). Como referência, para classificação da CB, foi utilizada a tabela de percentis proposta por Frisancho (1990) (ANEXO F). Valores abaixo do P5 são indicadores de risco de doenças e distúrbios associados à desnutrição, e valores acima do P95 representam risco de doenças 47 relacionadas ao excesso de peso.

A área de gordura do braço foi calculada de acordo com a proposta de Frisancho (1981). Este cálculo foi baseado na dobra cutânea tricipital e na circunferência braquial e seguiu os seguintes passos:

1. Área do braço em mm² (AB) = (Circunferência muscular do braço em milímetros)² / 12,56:

$$AB(mm^2) = \frac{\pi}{4} \times \left(\frac{c}{\pi}\right)^2$$

2. Circunferência muscular do braço em milímetros (CMB):

$$CMB = CB - (DCT \times \pi)$$

3. Área muscular do braço em mm² (AMB) = (Circunferência muscular do braço em milímetros)² / 12,56:

$$AMB(mm^2) = \frac{(c - \pi \times DCT)^2}{4\pi}$$

4. Área adiposa do braço em mm² (AAB):

$$AAB = AB(mm^2) - AMB(mm^2)$$

Para analisar a média de peso perdido durante a doença proporcional ao peso corporal anterior à doença foi calculada pela expressão (BLACKBURN et al., 1977):

$$\text{Percentual de peso perdido} = ((\text{Peso usual} - \text{Peso atual}) / \text{usual}) * 100$$

4.7.1.3 Avaliação bioquímica e laboratorial

4.7.1.3.1 Exames complementares gerais

O hemograma foi solicitado no momento da admissão e amostras de sangue e de medula óssea para a complementação da investigação laboratorial foram providenciadas após o resultado do hemograma, geralmente nas primeiras 48 horas da internação. As amostras de sangue foram colhidas por punção de veia periférica em frascos estéreis e secos ou contendo anticoagulantes (ácido etilenodiaminotetracético-EDTA e citrato de sódio de sódio 3,2%). O soro foi obtido após a coagulação do sangue à temperatura ambiente e centrifugação a 3000 rotações por minuto (rpm) por 5 minutos após 30 minutos da coleta. O plasma foi separado por centrifugação imediata do sangue citratado a 3.000 rotações rpm, por 15 minutos. Todo o material foi armazenado em alíquotas a -70°C até à sua utilização. AS amostras de plasma foram armazenadas por período máximo de seis meses e as amostras de soro por período máximo de 12 meses, até à realização dos testes.

A punção aspirativa de medula óssea para a pesquisa direta e para cultura de *Leishmania* e o teste sorológico foram realizados após o resultado do hemograma, geralmente nas primeiras 48 horas da internação.

4.7.1.4. Determinação dos parâmetros bioquímicos dos micronutrientes

4.7.1.4.1 Determinação de Zinco e Cobre no Plasma e na Massa Eritrocitária

As análises do Zinco e do Cobre (plasmático e eritrocitário) foram realizadas no Laboratório Interdisciplinar de Análises da UFMG (LIA/UFMG). A análise multielementar dos minerais foram colhidas em um espectrômetro de plasma indutivamente acoplado - Espectrometria de Emissão Óptica com uma configuração de vista axial e um nebulizador V-Groove (720 ICP/OES, Varian Inc., Califórnia, Estados Unidos) (BŁAŻEWICZ et al., 2015; HARRINGTON et al., 2014).

As amostras de plasma foram diluídas em 1:30, v/v da seguinte forma: 3,0% (m/v) 1-butanol, 0,1% (v/v) TAMA (surfactante de alta pureza), 0,05% (v/v) HNO₃. A massa eritrocitária foi diluída 1:100 v/v da seguinte forma: 3,0% (m/v) 1-butanol, 0,2% (v/v) TAMA

(surfactante de alta pureza), 0,1% (v/v) HNO₃, para auxiliar na dissolução dos elementos traço nas amostras, sendo duas linhas de emissão para cada elemento que foram testadas antes da seleção.

Foram realizadas medidas em triplicata, sendo que o material de referência certificado, Seronorm TM Oligoelement Serum L-1 e L-2 (Ref 201405) (Billingstad, Noruega), foi utilizado para validar as medições analíticas em ICP-OES do Zinco e do Cobre plasmáticos. Para os eritrócitos, utilizou-se o padrão adaptado Seronorm Trace Elements Whole Blood L-1 RUO (Ref 2110113) (Billingstad, Noruega), sendo os minerais lido nos comprimentos de onda de 213,800 nm para o Zinco e 324,760 nm para o Cobre.

Os limites de detecção foram medidos a partir da equação $3 \times SD$ de 10 medições do branco, dividido pela declividade da curva de calibração. Soluções estoque monoelementais de Zinco e Cobre de 1000 mg.L⁻¹ (Titrisol e Certipur - Merck, Germany) foram utilizados na preparação de soluções de referência para a curva de calibração e otimização das condições analíticas. Todas as soluções aquosas e as diluições foram preparadas com água ultrapura (18 MΩ.cm⁻¹), obtida por meio de um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA).

Para realização da leitura das amostras, o aparelho foi configurado nas seguintes condições: Potência: 1,4 kW; Fluxo de plasma (gás): 15 L/min; Fluxo de Gás auxiliar: 1,5 L/min; Tipo de Câmara de Spray: Ciclônica; e Fluxo do Nebulizador: 0,7 L/min. As curvas de calibração foram preparadas nas seguintes concentrações para os analitos testados: 1, 5, 10, 20, 50 e 100 µg/L em soluções diluentes contendo 3,0% (m/v) 1-butanol, 0,1% (v/v) TAMA (surfactante de alta pureza) e 0,05% (v/v) HNO₃. O valor de referência adotado foi 75 a 110 µg/dL para Zn plasmático e 40 a 44 µg/gHb para o Zn eritrocitário (GIBSON, 2005; GUTHRIE, PICCIANO, 1995).

4.7.1.4.2 Retinol Sérico

Para realização da coleta da vitamina A o participante estava em jejum obrigatório mínimo de oito horas, na quantidade de 4.0 ml em tubo para coleta de sangue contendo EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) envolto em papel alumínio para proteger da luz. As análises de retinol foram realizadas segundo adaptação do método descrito por Arnaud *et al.* (1991), realizadas em sistema HPLC (Shimadzu Inc. Tokyo – Japan) Modelo LC-20AT equipado com injetor automático SIL-20AC, controlador CBM-20A, detector de arranjo de diodos SPD-M20A. A quantificação foi realizada por padronização externa empregando-se curva de calibração de 5 pontos construídos mediante o estabelecimento da correlação entre razão das áreas dos picos referentes ao retinol. A identificação foi realizada pela comparação do tempo

de retenção de cada pico com o pico do padrão (Retinol R7632 Sigma, St Louis, USA). Uma amostra controle na concentração do menor calibrador ($\pm 5\%$ do valor nominal) foi incluída nos experimentos para determinar o limite de quantificação. A eficiência da extração foi de 97,65%. Os seguintes pontos de corte foram considerados para a classificação dos níveis séricos de VitA (ARNAUD *et al.*, 1991). Para as análises dos níveis de VitA considerou-se como deficiência níveis menores que $0,70\mu\text{mol/L}$.

Quadro 4 - Classificação do grau de suficiência de Vitamina A.

Níveis de retinol sérico ($\mu\text{mol/L}$)	Classificação
<0,70	Deficiência
0,70 a <1,05	Níveis aceitáveis
>1,05	Níveis normais

Fonte: World Health Organization (WHO), 1996; Institute of Medicine, 2001; EFSA Panel on Dietetic Products, 2015.

4.7.1.5 Determinação da razão Cu/Zn

O cálculo para a determinação da razão Cu/Zn na admissão e 30 dias após, foi obtido por meio da divisão simples dos níveis de Cu e Zn plasmáticos. Os valores de referência adotados foram: baixo (<0,93), normal (0,93 – 1,51) e alto (>1,51) (GAIER *et al.*, 2012).

4.8 Análise estatística dos dados

Os dados coletados foram submetidos à análise estatística descritiva pelo *software* Stata (Stata/SE[®] 10.0 for Windows *College Station, Texas, USA*).

Para a avaliação nutricional foi utilizado o Epi-Info nutricional (Epi Info[®] Versão 3.5.1 (*Division of Integrated Surveillance Systems and Services-DISSS, National Center for Public Health Informatics-NCPHI, Centers for Diseases Control and Prevention-CDC*)).

Os dados quantitativos foram apresentados em valores absolutos, proporções, médias, medianas, intervalos de confiança ou intervalos interquartis e a dispersão dos dados foram apresentados como desvios-padrão ou intervalos de valores mínimos e máximos. A relação entre variáveis foi medida pela razão de *odds* (RO) e pelo coeficiente de correlação (r). As diferenças entre variáveis dicotômicas analisadas pelo teste do qui-quadrado (χ^2) ou teste exato de Fisher quando os dados eram esparsos. A análise de correlação de Spearman foi empregada para detectar concordância entre variáveis contínuas com dados esparsos e a análise de correlação de Pearson foi empregada para variáveis com distribuição normal. O teste *t* de

Student foi usado para comparar diferenças entre médias de variáveis contínuas de amostras independentes com distribuição normal. Os testes de Wilcoxon e Kruskal-Wallis foram usados para comparar diferenças entre médias de variáveis com distribuições não paramétricas.

Em todas as análises foram considerados os testes bi-caudais e um nível de significância estatística α de 0,05.

4.9 Aspectos legais e éticos

O projeto deste estudo foi submetido a Plataforma Brasil para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí (CEP/UFPI), sob o título “Associação entre os níveis de vitamina D e Cu e carga parasitária em indivíduos portadores de leishmaniose visceral” e recebeu o parecer de aprovação nº4.866.453 (APÊNDICE A). A pesquisa foi realizada conforme da legislação de ética em pesquisa para seres humanos, de acordo com a Resolução 466/12 (BRASIL, 2013), e todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (APÊNDICE B).

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização clínica e sociodemográfica

Foram observados 61 indivíduos que possuíam em média 38,38 anos de idade (IC 95% 35,52 – 41,25), sendo que 18,03% (IC 95% 0,10 – 0,29) eram do sexo feminino e 81,97% (IC 95% 0,70 – 0,89) do sexo masculino. A maioria destes indivíduos era procedente do Piauí (55; 90,16%) e os demais (6; 9,84%) eram procedentes do Maranhão. Quanto à região do domicílio, 45 (73,77%) eram provenientes da zona urbana e 16 (26,23%) da zona rural. A coinfeção pelo HIV estava presente em 15 participantes (30,61%; IC 95% 0,19 – 0,45). Em 34 participantes (69,39%; IC 95% 0,54 – 0,80) a sorologia para o HIV foi não-reagente e em 12 indivíduos o teste não foi realizado. Dos 61 participantes, 6 (9,84%; IC 0,04 – 0,20) evoluíram para óbito durante o acompanhamento (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização sociodemográfica dos indivíduos com leishmaniose visceral.

Variável	Categoria	Frequência (n= 61)	Percentual (%)	Intervalo de confiança (95% IC)
Idade (anos)	19 – 40	36	59,02	0,46 – 0,70
	>40	25	40,98	0,29 – 0,53
Sexo	Mulheres	11	18,03	0,10 – 0,29
	Homens	50	81,97	0,70 – 0,89
HIV	Sim	15	30,61	0,19 – 0,45
	Não	34	69,39	0,54 – 0,80
Óbito	Sim	6	9,84	0,04 – 0,20
	Não	55	90,16	0,79 – 0,95
UF de residência	Piauí	55	88,71	0,78-0,95
	Maranhão	7	11,29	0,05-0,22
Área de residência	Urbana	45	73,77	0,61 – 0,83
	Rural	16	26,23	0,16 – 0,39

n: quantidade de participantes.

Grande parte dos participantes tinha ensino fundamental incompleto (26;42,62%) ou ensino fundamental completo (5; 8,20%). As atividades profissionais eram, na maior parte dos casos, ligadas à agricultura (18; 29,5%) ou ao trabalho urbano informal (28; 45,90%). As casas onde estas pessoas residiam tinham paredes de tijolos rebocados (34; 56,67%) ou tijolos não rebocados (21; 35,00%). Estas casas eram cobertas com telhas (54; 90,00%), tinham piso de

cerâmica ou madeira (18; 29,51%) ou de cimento (33; 54,10%). Os domicílios eram abastecidos por água tratada (46; 77,97%) ou por água de poço (6; 10,17%), de rio ou cisterna (7; 11,86%). Em contraposição ao abastecimento de água, somente 1 (1,69%) domicílio estava conectado à rede de tratamento de esgoto, enquanto 47 (79,66%) tinham fossa séptica, 8 (13,56%) tinham fossa rudimentar e 3 (5,08%) destinavam os dejetos em valas primitivas. Havia coleta de lixo pelas redes municipais em 44 (73,33%) dos domicílios. A adequação da oferta de água e do destino do lixo foram mais deficientes nos domicílios da área rural ($p < 0,001$ e $p < 0,001$). Da mesma forma, as paredes rebocadas predominaram nos domicílios urbanos ($p = 0,04$), assim como a disponibilidade de rede de esgotos ($p < 0,001$). O convívio com animais domésticos, cães e gatos, não diferiu entre as famílias residentes da área rural ou urbana ($p = 0,14$).

Todos os participantes apresentavam sinais e sintomas de LV e o diagnóstico foi confirmado pela visualização de formas amastigotas na medula óssea, identificação de formas tripomastigotas em meios de cultura ou teste rápido para calazar com antígeno rK39. 35 (57,38%) participantes tiveram pesquisa direta positiva, 32 (52,46%) tiveram cultura positiva e 25 (40,98%) tiveram teste rápido reagente. Todos os participantes tiveram diagnóstico confirmado por pelo menos um desses testes.

Em média, o tempo médio de duração dos sintomas foi de 60,93 dias (IC 95% 40,86 – 80,99). A Tabela 2 mostra os sinais e sintomas clínicos apresentados pelos sujeitos do estudo. As manifestações mais frequentes foram febre (93,44%), palidez (93,44%), apatia (88,52%) e inapetência (70,49%). Diversas formas de sangramento estiveram presentes: hematúria (1,64%), sangramento gengival (4,92%), sangramento digestivo (4,92%), equimoses (8,20%) e epistaxe (9,84%). Ao todo, 29 (46,03%) participantes apresentaram pelo menos uma forma de sangramento e 11 (18,03%) indivíduos apresentaram alguma forma de infecção bacteriana durante o período de observação. As médias dos tamanhos do baço ($n = 30$) e do fígado ($n = 25$) obtidos na admissão dos participantes foram 5,43 (IC95% 4,29 – 6,57) e 3,00 (IC95% 1,73 – 4,27), respectivamente.

Dos participantes observados neste estudo, 17 (33,3%) participantes receberam antimonial pentavalente e 34 (66,67%) receberam Anfotericina B. Quanto ao tratamento adjuvante, seis participantes (10,91%) receberam antibióticos; dois (3,57%) receberam concentrado de hemácias; um (1,82%) recebeu plasma fresco e concentrado de plaquetas. Não houve associação entre a droga usada para o tratamento específico e as condições clínicas e nutricionais dos participantes.

Tabela 2. Manifestações clínicas apresentadas pelos participantes do estudo. (Continua)

Manifestação clínica	Frequência (n = 61)	Percentual (%)
Febre	57	93,44
Palidez	57	93,44
Apatia	54	88,52
Irritabilidade	28	45,90
Inapetência	43	70,49
Tosse	31	50,82
Sangramento	29	46,03
Sangramento em locais de punção	23	37,70
Petéquias	7	11,48
Epistaxe	6	9,84
Equimoses	5	8,20
Sangramento gengival	3	4,92
Sangramento digestivo	3	4,92
Hematúria	1	1,64
Infecção bacteriana	11	18,03

n: quantidade de participantes.

Na admissão dos participantes, as alterações laboratoriais mais observadas foram: anemia, leucopenia e hipoalbuminemia. Em média, os participantes do estudo apresentaram em média, valores de hemoglobina de 8,64 g/dL (IC 95% 8,07 – 9,20), hematócrito 26,57% (IC 95% 24,95 – 28,19), leucócitos 2475,67 /mm³ (IC 95% 2047,31 – 2904,02). A média de albumina 2,83 (IC95% 2,40 – 3,35) apresentou-se abaixo dos níveis normais, enquanto a média de globulina 4,69 (IC 95% 3,27 – 6,11) estava acima dos níveis normais (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros laboratoriais de indivíduos com leishmaniose visceral. (Continua)

Parâmetro	n	Média (IC 95%)
Hemoglobina (g/dL)	61	8,64 (8,07 – 9,20)
Hematócrito (%)	60	26,57 (24,95 – 28,19)
Leucócitos (/mm ³)	61	2475,67 (2047,31 – 2904,02)
Plaquetas (*10 ³ /mm ³)	61	124,50 (107,91 – 141,08)
Ureia (mg/dL)	40	29,80 (23,78 – 35,81)

Tabela 3. Parâmetros laboratoriais de indivíduos com leishmaniose visceral. (Conclusão)

VHS (1ª hora)	13	76,54 (52,60 – 100,47)
VHS (2ª hora)	13	110,85 (87,94 – 133,75)
AST (U/L)	38	67,58 (45,13 – 90,03)
ALT (U/L)	33	75,18 (35,11 – 115,25)
Albumina (g/dL)	18	2,83 (2,40 – 3,35)
Globulina (g/dL)	14	4,69 (3,27 – 6,11)
PCR (mg/dL)	56	89,55(68,24 – 110,85)

VHS: velocidade de hemossedimentação; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; PCR: proteína C-reativa;
n: quantidade de participantes.

5.2 Estado nutricional e indicadores antropométricos

A tabela 4 apresenta as médias dos resultados obtidos pela medida da circunferência braquial, pelas dobras cutâneas tricípital, subescapular e os resultados dos cálculos da circunferência muscular do braço, da área do braço, da área adiposa do braço e da porcentagem de gordura calculada pela área adiposa do braço, além da média do IMC e da perda de peso. Observa-se um percentual médio de perda de peso significativa 13,32 % (IC95% 10,67 – 15,97) e diferenças estatisticamente significativas entre os sexos nas médias da DCT, CMB, AMB e AAB, apontando uma menor adiposidade e entre os homens.

Tabela 4. Medidas antropométricas e composição corporal dos participantes do estudo, por sexo. (Continua)

Variável	Total	Mulheres	Homens	Valor de p
	Média (IC 95%)	Média ± DP	Média ± DP	
CB (cm)	24,83 (23,73 – 25,93)	23,25 (± 4,81)	25,18 (± 4,13)	0,18
DCT (mm)	9,33 (7,71 – 10,95)	13,82 (± 6,18)	8,35 (± 5,96)	0,008
DCSE (mm)	9,83 (8,66 – 11,00)	11,95 (± 7,07)	9,38 (± 3,45)	0,09
CMB (cm)	217,52 (209,39 – 225,64)	189,19 (± 32,16)	224,01 (± 27,36)	<0,001
AB (cm ²)	4889,32 (4487,34 – 5291,29)	4476,45 (± 1736,20)	4983,94 (± 1491,84)	0,32
AMB (cm ²)	3843,15 (3561,28 – 4125,01)	2924,63 (± 990,35)	4053,65 (± 143,78)	0,001
AAB (mm ²)	1046,12 (856,07 – 1236,16)	1551,78 (± 870,50)	930,24 (± 649,22)	0,01
IMC (Kg/m ²)	22,10 (20,75 – 23,45)	21,02 (± 4,98)	22,36 (± 5,21)	0,44

Tabela 4. Medidas antropométricas e composição corporal dos participantes do estudo, por sexo. (Conclusão)

Perda de peso/ peso corporal (%)	13,32 (10,67 – 15,97)	12,17 (\pm 7,11)	8,86 (\pm 7,07)	0,21
----------------------------------	-----------------------	---------------------	--------------------	------

CB: circunferência do braço; DCT: dobra cutânea tricipital; DCSE: dobra cutânea subescapular; CMB: circunferência muscular do braço; AB: área do braço; AMB: área muscular do braço; AAB: área adiposa do braço; IMC: índice de massa corpórea; n: número de participantes.

Uma parte dos participantes apresentou graus variáveis de desnutrição – grave, moderada e leve, mostrando que 15 (27,27%) indivíduos apresentaram algum grau de desnutrição (Tabela 5). Por outro lado, a maioria dos participantes foi classificada como eutrófica, com sobrepeso e obesos.

Tabela 5. Classificação do estado nutricional de adultos com idades entre 19 e 60 anos de acordo com o Índice de Massa Corpórea (IMC).

Classificação	Frequência (n= 55)	Percentual (%)
Desnutrição grave	1	1,82
Desnutrição moderada	7	12,73
Desnutrição leve	7	12,73
Eutrofia	24	43,64
Sobrepeso	12	21,82
Obesidade	4	7,27

Classificação do IMC (Kg/m^2) para adultos: Desnutrição grave (<16); Desnutrição moderada (16 – 16,99); Desnutrição leve (17 – 18,49); Eutrofia (18,50 – 24,99); Sobrepeso (25 – 29,99); Obesidade (> 30). n: quantidade de indivíduos.

Apenas 3 indivíduos da população estudada tinham idade igual ou maior a 60 anos. Dois deles foram classificados como baixo peso e um como peso adequado. Nenhum participante dessa faixa etária estava acima do peso.

Tabela 6. Classificação do estado nutricional de indivíduos com idade ≥ 60 anos de acordo com o Índice de Massa Corpórea

Classificação	Frequência (n= 3)	Percentual (%)
Baixo peso	2	66,67
Peso adequado	1	33,33
Sobrepeso	-	-

Classificação do IMC (Kg/m²) para idosos: Baixo peso (≤ 22); Peso adequado (22 – 27); Sobrepeso (≥ 27).
n: quantidade de indivíduos.

O IMC dos participantes foi correlacionado positivamente com a CB ($\rho= 0,89$; $p<0,001$); com a DCT ($\rho= 0,68$; $p<0,001$); com a DCSE ($\rho= 0,73$; $p<0,001$); com a CMB ($\rho= 0,72$; $p<0,001$); com a AB ($\rho= 0,88$; $p<0,001$); com a AAB ($\rho= 0,75$; $p<0,001$). Já a perda de peso foi correlacionada negativamente com a CB ($\rho= -0,30$; $p=0,003$). Não houve correlações entre a perda de peso e as demais variáveis antropométricas, DCT ($\rho= -0,22$; $p=0,11$); DCSE ($\rho= -0,24$; $p=0,09$); AMB ($\rho= -0,23$; $p=0,10$); AAB ($\rho= -0,24$; $p=0,09$); CMB ($\rho= -0,23$; $p=0,10$).

A tabela 7 mostra os níveis de retinol sérico obtidos nos períodos pré e pós-tratamento da LV. Após 30 dias de tratamento (T1), é possível observar um aumento expressivo para níveis normais ($>1,05 \mu\text{mol/L}$) em todos os grupos. Além disso, observou-se diferenças significativas entre os sexos em ambas as faixas etárias, no pré e pós-tratamento.

Tabela 7. Níveis séricos de retinol de acordo com a idade e sexo dos participantes, nos períodos pré e pós-tratamento.

Retinol sérico ($\mu\text{mol/L}$)	19-40 anos		Valor <i>p</i>	>40 anos		Valor <i>p</i>
	Mulher	Homem		Mulher	Homem	
T0	0,86	1,34	0,03	0,60	1,71	0,05
Média \pm DP	($\pm 0,31$)	($\pm 0,45$)		($\pm 0,38$)	($\pm 0,86$)	
T1	1,72	2,69	0,03	1,20	3,42	0,05
Média \pm DP	($\pm 0,62$)	($\pm 0,90$)		($\pm 0,76$)	($\pm 1,73$)	

T0 – início do tratamento; T1 – 30 dias após o início do tratamento.

Foi encontrada correlação positiva entre os níveis de VitA e peso atual ($\rho= 0,47$; $p< 0,001$), VitA e IMC bruto ($\rho=0,31$; $p=0,03$). Porém, após a estratificação do IMC, a associação inexistente ($\rho= 0,21$; $p=0,14$). Não houve associação dos níveis de VitA com a coinfeção pelo HIV ($\rho=-0,23$; $p= 0,16$), óbito ($\rho=0,02$; $p=0,88$), perda de peso ($\rho= -0,06$; $p=0,69$).

Quanto às medidas antropométricas, observou-se associação entre os níveis de VitA e CB ($\rho= 0,29$; $p=0,03$), área do braço ($\rho= 0,31$; $p= 0,03$); área muscular do braço ($\rho= 0,40$; $p< 0,001$). Não foi encontrada associação do status de VitA e DCT ($\rho= 0,02$; $p=0,89$), DCSE ($\rho= 0,17$; $p=0,25$), área adiposa do braço ($\rho= 0,10$; $p= 0,47$). Também não foram encontradas associações entre VitA e os parâmetros laboratoriais.

5.3 Associação entre o zinco e as variáveis clínicas, nutricionais e sociodemográficas

Nos resultados a seguir (tabela 8) observa-se os níveis de Zn plasmático, eritrocitário e eritrocitário corrigido pela hemoglobina (RBC), de acordo com as faixas etárias, na admissão (T0) e 30 dias após o início do tratamento (T1). É possível observar uma melhora expressiva do Zn plasmático, onde todos os grupos estavam deficientes em ambas as faixas etárias, e no T1 todos apresentaram níveis de Zn plasmático normais.

Tabela 8. Níveis séricos de zinco de acordo com a idade e sexo dos participantes, nos períodos pré e pós-tratamento.

	19-40 anos		Valor <i>p</i>	>40 anos		Valor <i>p</i>
	Mulher	Homem		Mulher	Homem	
Zn plasmático (µg/dL)						
T0	56,04		0,82			0,32
Média ±DP	(±3,57)	55,70 (±3,61)		58,72 (±3,94)	56,60 (±3,86)	
T1	79,00		0,56			0,11
Média ±DP	(±5,34)	77,37 (±4,28)		72,55 (±5,37)	77,37 (±3,65)	
Zn eritrocitário (µg/dL)						
T0	475,41		0,16	465,05	466,09	0,95
Média ±DP	(±35,75)	498,31 (±38,12)		(±44,45)	(±23,30)	
T1	559,52		0,67	540,93	566,04	0,14
Média ±DP	(±42,77)	566,08 (±31,41)		(±29,19)	(±30,17)	
Zn RBC (µg/g Hg)						
T0	58,08		0,61	65,34	54,18	0,14
Média ±DP	(±15,94)	61,74 (±17,02)		(±19,82)	(±11,93)	
T1	46,51		0,77	54,47	46,36 (±6,31)	0,12
Média ±DP	(±5,42)	48,17 (±9,53)		(±15,46)		

T0 – início do tratamento; T1 – 30 dias após o início do tratamento;

Valores de referência adotados: 75 a 110 µg/dL para Zn plasmático e 40 a 44 µg/gHb para o Zn RBC.

Não foi observada associação entre os níveis de Zn plasmático e a coinfeção pelo HIV ($\rho=-0,15$; $p=0,40$), o óbito ($\rho=0,23$; $p=0,15$), o peso à admissão ($\rho=0,17$; $p=0,28$), perda de peso ($\rho=-0,30$; $p=0,07$), IMC ($\rho=0,12$; $p=0,45$), CB ($\rho=0,02$; $p=0,85$), DCT ($\rho=0,18$; $p=0,25$), DCSE ($\rho=0,009$; $p=0,96$), AB ($\rho=0,02$; $p=0,85$), AMB ($\rho=-0,04$; $p=0,77$), AAB ($\rho=0,15$; $p=0,33$). Também não foi encontrada associação do Zn plasmático com as variáveis laboratoriais. Observou-se uma forte correlação positiva entre os níveis Zn plasmático com o tamanho do baço ($\rho=0,59$; $p=0,005$).

Quanto ao Zn eritrocitário, foi observada uma associação dos seus níveis com a coinfeção pelo HIV ($\rho=-0,28$; $p=0,05$). O Zn eritrocitário não esteve associado ao óbito ($p=0,51$; $\rho=0,65$), peso atual ($p=0,86$; $\rho=-0,02$), IMC ($p=0,59$; $\rho=-0,07$), CB ($p=0,58$; $\rho=-0,07$), DCT ($p=0,76$; $\rho=-0,03$), DCSE ($p=0,98$; $\rho=-0,002$), AB ($p=0,38$; $\rho=-0,11$), AMB ($p=0,58$; $\rho=-0,07$), AAB ($p=0,60$; $\rho=-0,06$). Não foram encontradas associações entre o Zn eritrocitário e variáveis clínicas e laboratoriais.

O ZnRBC associou-se negativamente com os níveis de hemoglobina ($\rho=-0,56$; $p<0,001$) e com a albumina ($\rho=-0,64$; $p=0,03$) e positivamente com a creatinina ($\rho=0,38$; $p=0,05$).

5.4 Associação entre o cobre e as variáveis clínicas, nutricionais e sociodemográficas

Os resultados a seguir (tabela 9) mostram os parâmetros de Cu plasmático, eritrocitário e eritrocitário corrigido pela hemoglobina (RBC), de acordo com as faixas etárias, na admissão (T0) e 30 dias após o início do tratamento (T1). Os níveis de Cu permaneceram dentro dos parâmetros de referência, embora seja possível observar uma discreta redução nos seus níveis após o tratamento.

Tabela 9. Níveis séricos de cobre de acordo com a idade e sexo dos participantes, nos períodos pré e pós-tratamento. (Continua)

	19-40 anos		Valor <i>p</i>	>40 anos		Valor <i>p</i>
	Mulher	Homem		Mulher	Homem	
Cu plasmático (µg/dL)						
T0						
Média ±DP	111,28 (±3,81)	111,51 (±3,84)	0,89	111,92 (±4,61)	111,72 (±4,41)	0,94
T1						
Média ±DP	90,60 (±2,56)	90,90 (±3,37)	0,89	93,88 (±0,37)	93,03 (±1,98)	0,57
Cu eritrocitário (µg/dL)						
T0						
Média ±DP	68,42 (±6,35)	70,88 (±5,57)	0,38	74,79 (±0,62)	70,26 (±5,30)	0,25
T1						
Média ±DP	64,80 (±4,20)	67,11 (±3,72)	0,23	72,47 (±5,75)	68,75 (±3,81)	0,22
Cu RBC (µg/g Hg)						
T0						
Média ±DP	8,67 (±1,57)	8,91 (±1,57)	0,84	12,51 (±5,16)	8,18 (±1,94)	0,02

Tabela 9. Níveis séricos de cobre de acordo com a idade e sexo dos participantes, nos períodos pré e pós-tratamento. (Conclusão)

T1						
Média ±DP	5,31 (±0,45)	5,75 (±1,08)	0,49	7,73 (±2,59)	5,63 (±0,68)	0,01

T0 – início do tratamento; T1 – 30 dias após o início do tratamento;
Valores de referência adotados: 64-159ug/dL para cobre plasmático, 63-89ug/dL para cobre eritrocitário.

O cobre plasmático foi associado com a ocorrência de morte ($\rho=-0,36$; $p=0,02$). Não foram encontradas associações com peso do indivíduo à admissão hospitalar ($\rho= -0,01$; $p=0,94$) e idade ($\rho= 0,30$; $p=0,06$), HIV ($p=0,21$), perda de peso ($p=0,75$; $\rho= 0,05$), IMC ($p=0,14$; $\rho= -0,24$), CB ($p=0,15$; $\rho= -0,23$), DCT ($p=0,64$; $\rho= -0,07$), DCSE ($p= 0,45$; $\rho= -0,12$), AB ($p=0,15$; $\rho= -0,23$), AMB ($p=0,12$; $\rho= -0,24$), AAB ($p=0,43$; $\rho= -0,13$). Não foram encontradas associações entre o Cu plasmático e variáveis clínicas e laboratoriais.

No que se refere ao Cu eritrocitário, foi encontrada apenas associação com os linfócitos totais ($\rho= 0,32$; $p=0,03$). Não foram encontradas associações com as demais variáveis, sociodemográficas, clínicas, antropométricas e laboratoriais.

Foi observada também, associação entre o Zn plasmático e Cu plasmático ($\rho= -0,35$; $p=0,02$), enquanto não foi encontrada diferença significativa entre o Zn e Cu eritrocitários.

Quanto ao CuRBC (hemoglobina), foram observadas correlações negativas do PCR com o CuRBC ($\rho= -0,29$; $p= 0,05$), e albumina com o CuRBC ($\rho= -0,67$; $p= 0,01$). Não foram encontradas outras correlações referentes aos dados laboratoriais.

Não foi encontrada correlação entre a relação Cu/Zn com nenhuma variável antropométrica, clínica ou laboratorial.

Tabela 10. Razão cobre/zinco de acordo com as faixas etárias, no início e 30 dias após o tratamento.

Razão Cu/Zn*	T1				T30			
	19 – 40 anos		>40 anos		19 – 40 anos		>40 anos	
	N	%	n	%	n	%	n	%
< 0,93	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
0,93 - <1,51	0	0,00	0	0,00	23	100	17	100
>1,51	34	100	22	100	0	0,00	0	0,00
Total	34	100	22	100	23	100	17	100

n: quantidade de participantes;

*níveis plasmáticos;

T0 – início do tratamento; T1 – 30 dias após o início do tratamento.

5.5 Controle de zinco e cobre nos períodos pré e pós-tratamento

Ao final de 30 dias após o tratamento, todos os participantes sobreviventes encontravam-se em melhor estado clínico, sem sinais de atividade da doença. O ganho ponderal, entre os participantes sobreviventes e que tinham informação sobre o peso no período pós-tratamento (n=41) foi 2,96kg (95% IC 1,77-4,14). Houve grande melhora dos parâmetros laboratoriais hematológico e bioquímicos. As provas de atividade inflamatória mostraram melhora em todos os indivíduos e já estavam normais na maioria deles.

Após o período de 30 dias, o CuRBC foi correlacionado com presença de HIV ($p=0,02$); CB ($\rho=-0,32; p=0,04$); DCT ($\rho=-0,38; p=0,02$); AB ($\rho=-0,32; p=0,05$); AMB ($\rho=-0,33; p=0,04$); DCSE ($\rho=-0,38; p=0,03$); Hemoglobina ($\rho=-0,52; p<0,001$), enquanto o ZnRBC foi correlacionado com HIV ($p=0,02$); Hemoglobina ($\rho=-0,56; p<0,001$) e creatinina ($\rho=0,38; p=0,05$).

Não foi observada correlação entre o zinco e as demais variáveis do estudo. O Cu plasmático correlacionou-se com o peso à admissão ($\rho=-0,38; p=0,02$) e idade ($\rho=-0,38; p=0,02$).

Tabela 11. Variação dos parâmetros bioquímicos e laboratoriais na admissão e 30 dias após o início do tratamento. (Continua)

	Média	IC 95%	Valor <i>p</i>
Peso (Kg)			
T0	58,51	55,17 – 61,86	0,13
T1	62,16	58,85 – 65,47	
PCR (mg/dL)			
T0	89,55	68,25 – 110,85	<0,001
T1	8,58	5,92 – 11,25	
Hemoglobina (g/dL)			
T0	8,66	8,08 – 9,23	<0,001
T1	12,10	11,50 – 12,70	
Leucócitos (/mm³)			
T0	3090,83	2492,77 – 3688,90	<0,001
T1	5717,12	5099,43 – 6334,81	
Neutrófilos			
T0	1522,23	1242,54 – 1801,92	<0,001
T1	3142,68	2676,47 – 3608,90	

Tabela 11. Variação dos parâmetros bioquímicos e laboratoriais na admissão e 30 dias após o início do tratamento. (Continua)

Eosinófilos			
T0	22,69	14,55 – 30,82	<0,001
T1	206,10	162,88 – 249,32	
Baço (cm)			
T0	5,82	4,74 – 6,90	<0,001
T1	1,30	0,49 – 2,11	
Fígado (cm)			
T0	3,95	2,60 – 5,30	0,001
T1	1,40	0,58 – 2,22	
Cobre plasmático (µg/dL)			
T0	111,58	110,51 – 112,64	<0,001
T30	91,82	90,88 – 92,76	
Cobre eritrocitário (µg/dL)			
T0	70,57	68,99 – 72,15	0,004
T1	67,68	66,50 – 68,85	
Cobre RBC (µg/g Hb)			
T0	8,78	8,06 – 9,50	<0,001
T1	5,77	5,43 – 6,12	
Zinco plasmático (µg/dL)			
T0	56,26	55,30 – 57,21	<0,001
T1	77,25	75,92 – 78,58	
Zinco eritrocitário (µg/dL)			
T0	482,82	472,91 – 491,92	<0,001
T1	563,37	554,50 – 572,24	
Zinco RBC (µg/g Hb)			
T0	58,99	54,93 – 63,05	<0,001
T1	47,81	45,10 – 50,51	
Relação Cu/Zn			
T0	1,99	1,96 – 2,03	<0,001
T1	1,19	1,17 – 1,22	

Tabela 11. Variação dos parâmetros bioquímicos e laboratoriais na admissão e 30 dias após o início do tratamento. (Conclusão)

Retinol ($\mu\text{mol/L}$)			
T0	1,38	1,19 – 1,58	<0,001
T1	2,77	2,37 – 3,17	

T0 – início do tratamento; T1 – 30 dias após o início do tratamento; RBC: *red blood count*; PCR – proteína C-reativa.

A tabela 12 apresenta a evolução dos parâmetros de Cu, Zn, retinol e algumas variáveis laboratoriais após 30 dias de tratamento. Ressalta-se que houve diferenças significativas em todas as variáveis observadas, inclusive na relação Cu/Zn ($p < 0,001$). Dos parâmetros observados, apenas o peso não apresentou diferença significativa.

6 DISCUSSÃO

A LV representa um dos agravos mais complexos no conjunto de doenças negligenciadas, que é associada a um aumento de processos inflamatórios e emagrecimento acentuado. O presente estudo analisou o estado nutricional dos participantes por meio de algumas variáveis antropométricas, além dos status de Zn e Cu, aspectos clínicos, laboratoriais e sociodemográficos.

A maior parte desta população adulta de estudo era composta por homens na faixa de 19 a 40 anos, dados semelhantes aos encontrados em outros estudos realizados no Brasil (ALBUQUERQUE et al., 2014; CAVALCANTE et al., 2020; GUEDES et al., 2018). Mengesha *et al* (2014) observaram que 98,5% das pessoas com LV eram homens, numa amostra de 403 indivíduos. Pressupõe-se que os homens são a maioria dos infectados sejam do sexo masculino devido a sua maior exposição corporal em ambientes onde eles estão propícios a picadas de inseto e assim, devido a altas temperaturas em algumas regiões brasileiras os homens tendem a trabalhar com a região superior do corpo despida (COSTA; PEREIRA; ARAÚJO, 1990). Além disso, os homens estão envolvidos com maior frequência em atividades domésticas ou de lazer ao ar livre durante o horário de maior predominância de atividade do vetor (GOUVÊA et al., 2007). Outra hipótese para essa predominância masculina na LV está relacionada a variação hormonal na resposta imune de homens e mulheres contra as leishmanioses. Enquanto os andrógenos são potenciais imunossupressores, os esteroides possuem características imunomoduladoras. Em diferentes modelos clínicos, destacou-se o potencial imunossupressor da testosterona, que foi associada a maior suscetibilidade e controle ineficaz da carga parasitária e indução da apoptose celular (DE ARAÚJO ALBUQUERQUE et al., 2021).

As pessoas que vivem com HIV são suscetíveis à LV, e a LV é capaz de acelerar a replicação do HIV e sua progressão para Aids, e consequentemente os indivíduos coinfectados são mais propensos à recaídas e maior letalidade (COTA; DE SOUSA; RABELLO, 2011; LINDOSO et al., 2018). No presente estudo foi observada uma coinfeção LV-HIV em 30,61% dos indivíduos, dados que mostram um aumento desse índice quando comparado a outros achados (GUEDES et al., 2018; HERRILLO et al., 2019; SILVA et al., 2014; SOUSA; RAMALHO; DE MELO, 2018). No entanto, vale ressaltar que os mesmos foram realizados com tamanho amostral maior. Foi encontrada uma associação entre o Zn eritrocitário e o HIV ($p < 0,05$), dado este que pode ser atribuído à alta demanda de Zn pois o nucleocapsídeo e as proteínas integrase do HIV possuem dedos de Zn que necessitam do mesmo para estrutura e

funcionamento normais (ASEMOTA et al., 2018). A deficiência desse mineral é frequente em pessoas que vivem com HIV, e associa-se à inflamação, falha imunológica e morte (READ et al., 2019).

Em média, os indivíduos com LV relataram ter apresentado os sintomas por aproximadamente 61 dias (IC 95% 40,86 – 80,99), tempo semelhante ao observado no estudo realizado por Caldas *et al* (2006) no Maranhão, onde o tempo médio de duração das manifestações clínicas da LV foi de 14,22 ($\pm 9,62$) semanas. Os sinais e sintomas mais frequentes foram febre (93,44%), palidez (93,44%) e apatia (88,52%), assim como relatado em outras pesquisas (GOES; DE MELO; JERALDO, 2012; HORRILLO et al., 2019; VIANA et al., 2017). Tais manifestações clínicas são características da doença, observadas rotineiramente no momento da admissão. Ainda no que diz respeito aos sinais e sintomas da LV, foi visto que 46,03% dos indivíduos apresentaram algum tipo de sangramento, principalmente em locais de punção (37,70%). O sangramento é um dos desfechos que estão associados ao maior risco de óbito por LV, e pode estar associado com parâmetros inflamatórios, como IL-8 e INF- γ , que podem estar aumentados na sua forma mais grave (COSTA et al., 2013).

Observou-se a presença de anemia, leucopenia e trombocitopenia, assim como nos achados de Sarkari *et al.* (2016), Costa *et al.* (2016) e Zacarias *et al.* (2017). Mengesha *et al.* (2014) verificaram anemia em 100% dos participantes de seu estudo realizado na Etiópia, onde há a presença simultânea de outras doenças e LV, o que agrava a prevalência de anemia e desnutrição. O ferro (Fe) é essencial para a síntese de Hb logo, se os estoques de Fe estiverem baixos a produção de eritrócitos se torna incapaz de atender às necessidades do organismo. Essa redução do Fe pode ser causada por diversos fatores e condições genéticas que predis põem os indivíduos a episódios hemolíticos agudos, porém esses episódios são estimulados por danos externos, como uma infecção (GOTO et al., 2017).

Dentre outros achados laboratoriais do presente estudo, destacam-se a elevação das aminotransferases (AST e ALT) e redução da albumina, que corresponde a uma proteína plasmática de fase aguda negativa, e diminui em processos infecciosos. Indivíduos com LV apresentam parâmetros clínicos semelhantes aos da doença hepática crônica, fato que muitas vezes leva ao erro de diagnóstico (ENDALE et al., 2021). Em um estudo realizado no Egito por Endale *et al* (2021), foi observada uma diferença estatisticamente significativa entre os casos e controles, mostrando aumento na AST e ALT, além redução nos níveis de albumina sérica e proteínas totais, que podem ser atribuídas à DEP causada pela ingestão insuficiente de nutrientes e infecção grave da LV ou pelo mecanismo de defesa do hospedeiro para induzir a depleção energética (GATTO et al., 2013).

O nível médio da PCR foi de 89,07mg/dL (IC95% 67,74 – 110,40), um número muito acima dos níveis normais, indicando presença de inflamação ou infecções nos participantes, parâmetro também observado em alta nos achados de Sarkari *et al.* (2016) e Maciel *et al.* (2008). A PCR é uma das proteínas de fase aguda, cuja concentração sérica aumenta ou reduz no mínimo em 25% durante a inflamação, podendo sofrer alterações também em condições inflamatórias crônicas. Além da PCR, outro teste utilizado com base nas dosagens de proteína de fase aguda é o VHS (velocidade de hemossedimentação), que depende da concentração de fibrinogênio (AGUIAR *et al.*, 2013). O VHS observado nas duas primeiras horas estavam elevados no estudo. Foi observada uma associação significativa entre o PCR e CuRBC ($p < 0,05$; $\rho = -0,29$), que também foi observada em estudos anteriores que investigaram correlações entre os níveis séricos de PCR e Cu em diversas populações humanas, incluindo pacientes hospitalizados (GALLOWAY; MCMILLAN; SATTAR, 2000; OAKES *et al.*, 2008). No estudo de Bui *et al.* (2012) constatou-se uma associação positiva entre a PCR sérica e concentrações de Cu em crianças saudáveis (BUI *et al.*, 2012).

No que diz respeito ao estado nutricional, embora o IMC médio estivesse dentro do padrão de normalidade, constatou-se uma média de percentual de perda de peso grave 13,32 % (IC95% 10,67 – 15,97) e uma proporção considerável dos participantes estava com algum grau de desnutrição (15; 27,27%). A perda de peso é um dos sintomas mais presentes na LV, e pode estar associada à maior carga parasitária e a gravidade da doença, aumentando o risco de infecções oportunistas comuns na LV que levam ao aumento da mortalidade, de acordo com os achados de Silva *et al.* (2014). A desnutrição e perda de peso têm sido mais observadas em populações pediátricas (AHMED *et al.*, 2016; DIRO *et al.*, 2015; MENGESHA *et al.*, 2014) contudo, Monteiro *et al.* (2021) demonstrou uma correlação positiva entre a perda de peso e a idade, evidenciando uma maior perda de peso entre adultos.

No presente estudo a perda de peso relacionou-se com a circunferência do braço ($p < 0,003$; $\rho = -0,30$). Esse achado pode ser justificado pelo fato de a CB ser uma medida antropométrica que serve como índice de reserva de gordura e massa muscular, e diminui com a perda de peso. Estudos apontam que a medida da CB está relacionada ao tempo de internação, logo quanto menor o CB, maior o tempo que o paciente permanece hospitalizado (SILVA *et al.*, 2011). Além disso, o estudo mostrou correlações positivas entre o IMC e todas as variáveis antropométricas, CB ($p < 0,00$; $\rho = 0,89$); DCT ($p < 0,00$; $\rho = 0,68$); DCSE ($p < 0,00$; $\rho = 0,7323$); CMB ($p < 0,00$; $\rho = 0,72$); AB ($p < 0,00$; $\rho = 0,88$); AAB ($p < 0,00$; $\rho = 0,75$). Esses resultados ressaltam a importância de realizar a avaliação nutricional por meio de outros parâmetros além do IMC para obter um diagnóstico nutricional mais fidedigno, uma vez que

tal parâmetro isoladamente não é capaz de detalhar a perda ou ganho de massa magra ou gordura corporal. Foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre homens e mulheres nos indicadores de massa gorda (DCT e AAB) e massa magra (CMB e AMB), mostrando que homens possuem maiores índices de massa magra e menores índices de massa gorda.

No período pré-tratamento apenas homens entre 19 e 40 anos apresentaram níveis normais, em média, de retinol sérico antes do início do tratamento, enquanto os outros grupos apresentaram níveis baixos, em destaque as mulheres acima de 40 anos. Contudo, após 30 dias de tratamento todos os grupos recuperaram os níveis de retinol sérico. Foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) entre homens e mulheres em ambas as faixas etárias nos períodos observados, além disso foi encontrada uma associação significativa entre o retinol e o sexo, mostrando que as mulheres foram as mais afetadas pela DVA. Esses níveis reduzidos de retinol podem ser explicados devido à indução da resposta de fase aguda por doenças infecciosas, que prejudicam a avaliação do estado da vitamina A, uma vez que deprimem temporariamente as concentrações séricas de retinol (STEPHENSEN, 2001).

O estado nutricional de vitamina A prejudicado é uma característica da LV, elucidado por trabalhos anteriores (BERN et al., 2007; MACIEL et al., 2008). Em uma coorte realizada por Maciel *et al* (2014) observou-se que o status de retinol foi significativamente menor em crianças com LV sintomática em comparação ao grupo controle. Os níveis de retinol foram correlacionados com o peso atual, e IMC bruto. Porém, após a estratificação do IMC, a associação desaparece. Além disso, observou-se associação entre os níveis de retinol e CB, AB e AMB. A associação entre níveis baixos de retinol e infecções é atribuída à redução do transporte e síntese de retinol, que é um resultado direto do processo inflamatório. Vale ressaltar também que a deficiência de nutrientes como Zn e VitA podem ser atribuídos a baixa ingestão de alimentos fonte, como a carne vermelha (BERN et al., 2007).

O Zn plasmático é o principal marcador para avaliar o estado nutricional relativo ao mineral, sendo o único indicador bioquímico com dados populacionais referentes a diversos grupos populacionais (DE BENOIST et al., 2007). No período pré-tratamento homens e mulheres de ambas as faixas etárias apresentaram deficiência de Zn, achados que concordam com outros estudos que relataram a deficiência ou diferenças significativas entre os níveis do oligoelemento em indivíduos com LV comparados a grupos saudáveis (LAL et al., 2013; MISHRA; CARPENTER; SINGH, 2010; WEYENBERGH et al., 2004). Em um estudo de caso-controle realizado no Sudão mostrou uma alta prevalência de deficiência de Zn em indivíduos com LV, apontando uma possível associação entre LV e deficiência de Zn, sendo a hipozincemia uma potencial consequência da doença. Contudo, é importante ressaltar que a

deficiência desse oligoelemento pode estar relacionada a outros fatores, como idade, ingestão alimentar insuficiente, má absorção e consumo de álcool (ABASS, 2020).

Segundo Duarte, Reis e Cozzolino (2020), o Zn está armazenado em diversos órgãos, tecidos e fluidos do corpo humano, principalmente no músculo esquelético (cerca de 63%), além de estar presente no fígado (3%) e baço (<1%). No presente estudo, observou-se uma forte associação entre os níveis plasmáticos de Zn e o tamanho do baço. Em um estudo experimental realizado no Brasil, os autores relataram uma recuperação mais rápida da esplenomegalia entre aqueles indivíduos que utilizaram o tratamento convencional com suplementação de Zn em comparação àqueles que fizeram uso do tratamento convencional sem suplementação (CARBONE et al., 2018). Todavia, não é possível inferir causalidade nessa relação, uma vez que os níveis de Zn diminuídos e o aumento do baço são características comumente observadas na doença, e que normalizam após o tratamento.

Os níveis de Zn regridem na doença como consequência da síntese da MT no fígado e outros tecidos induzidos pela produção de IL-1 e TNF- α provocada pela infecção por *Leishmania* (FARZIN; MOASSESI, 2014). Vale ressaltar que o Zn está envolvido na defesa do organismo, influenciando na proliferação e maturação de células de defesa, logo indivíduos que apresentam deficiência desse mineral são suscetíveis a infecções. As células *natural killer* (NK) são essenciais para imunidade contra infecções e tumores, e sua atividade depende do Zn para reconhecer células de histocompatibilidade da classe I (MHC) (FRAKER et al., 2000).

O ZnRBC refere-se ao Zn eritrocitário ajustado pela hemoglobina, logo era esperada uma associação desse parâmetro com os níveis de hemoglobina. Apresentou, também, associação negativa com a albumina, que pode ser explicada pelo fato de a albumina fazer parte do transporte do Zn no plasma.

Os níveis de Cu plasmático apresentaram-se normais de acordo com as faixas etárias e sexos nos períodos pré e pós-tratamento, embora seja possível verificar uma diferença significativa entre os períodos. O presente estudo apontou uma correlação positiva entre Cu e idade, concordando com dados na literatura que apontam aumento nos níveis de Cu e na razão Cu/Zn em idosos com outras doenças (GAIER et al., 2012; MALAVOLTA et al., 2010). O Cu plasmático associou-se apenas com a ocorrência de morte e o Cu eritrocitário, com os linfócitos. Além disso, foi observada uma correlação negativa entre o Zn e Cu no plasma, mostrando que, enquanto o Zn estava diminuído, os níveis de Cu aumentaram. Já o CuRBC apresentou correlação negativa com o PCR e albumina. Weyenbergh *et al* (2004) apontaram uma correlação positiva muito significativa entre o Cu plasmático e a IgG específica na LV, sugerindo que o oligoelemento é capaz de interferir na resposta imune anti-*Leishmania*,

podendo levar a uma resposta imune Th2/humoral não protetora, que é exacerbada na LV, por exemplo.

Os achados deste estudo mostraram um valor elevado na razão Cu/Zn, porém ao final de 30 dias a mesma reduziu significativamente, concomitante à redução das concentrações de Cu e aumento no Zn. Além disso, foi observada também uma redução muito significativa no PCR, indicando melhora na resposta inflamatória durante o tratamento. A razão Cu/Zn está associada a marcadores inflamatórios, tais como IL-6, VHS e PCR e albumina sérica, sendo apontada um importante marcador clínico-nutricional (MALAVOLTA et al., 2010). O desequilíbrio Cu/Zn pode servir como marcador para diminuição da resposta Th1 e imunodeficiência na LV (WEYENBERGH et al., 2004).

Após 30 dias de tratamento, observou-se uma melhora na atividade inflamatória, nas manifestações clínicas e nos parâmetros laboratoriais. Com o tratamento e a melhora dos parâmetros citados, os indivíduos apresentaram ganho ponderal nesse período, contudo não foi significativo. O Cu corrigido pela hemoglobina correlacionou-se com o HIV, CB, DCT, AB, AMB, DCSE e hemoglobina. Já o Zn/RBC foi correlacionado com o HIV, hemoglobina e creatinina.

Ao comparar os níveis de Cu e Zn, na admissão e após 30 dias de tratamento, em suas diferentes apresentações (plasma, eritrócitos e RBC), observou-se diferenças significativas em todos os parâmetros, inclusive na relação Cu/Zn.

Os participantes deste estudo foram incluídos no estudo “Efeitos da Suplementação com vitamina A e zinco no tratamento da leishmaniose visceral”; 28 (45,90%) participantes haviam recebido suplementação de zinco e 29 (47,54%) haviam recebido suplementação de Vitamina A (SILVA, 2020). Assim como no estudo original, não houve relação entre a suplementação de zinco e vitamina A com os parâmetros clínicos e laboratoriais avaliados após 30 dias do início do tratamento. O incremento dos níveis de zinco e de Vitamina A não se correlacionou com a suplementação destes nutrientes, nem no estudo original, nem neste estudo. Contudo, houve relação entre o incremento dos níveis de retinol e a queda da PCR tanto no estudo original quanto na subpopulação deste estudo ($p=0,01$). O incremento do zinco, por outro lado, não se correlacionou com as variáveis clínicas e laboratoriais.

Para o cálculo amostral deste estudo, assumiu-se que, se 90% dos participantes apresentassem elevação da relação Cu/Zn e que esta alteração fosse 5% mais intensa nos participantes mais graves, então uma amostra de 138 participantes seria suficiente para detectar esta diferença com um nível de significância α de 0,05 e um poder de 80%. Na população estudada, todos os participantes apresentavam elevação da relação Cu/Zn (entre 1,74 e 2,35),

mas não se encontrou associação entre estes minerais e as demais variáveis clínicas e laboratoriais. Tampouco houve associação entre os minerais e as variáveis de desfecho aferidas após 30 dias do início do tratamento. A relação cobre/zinco foi 1.99 antes do tratamento e 1.19 um mês após o início do tratamento. Analisando as médias pareadas desta relação, calculou-se que uma população de 26 indivíduos antes e 26 indivíduos após o tratamento teria sido suficiente para detectar a associação entre estes minerais e os desfechos, caso ela existisse, com um poder de 80% a um nível de significância de 0.05. Com os resultados de cobre e zinco referentes a 40 indivíduos, o poder do estudo teria sido de 1.00.

Nossos próximos passos consistem em analisar a carga parasitária com o objetivo de verificar a sua relação com os micronutrientes estudados e suas proteínas carreadoras que participam das respostas de fase aguda, como a ceruloplasmina, transferrina e albumina. Além disso, serão incluídas as análises das proteínas carreadoras citadas. Nosso objetivo inicialmente consistia em analisar a ceruloplasmina, a principal proteína carreadora do Cu, que diminui na resposta de fase aguda. Contudo, não foi possível realizar todas as análises pretendidas devido à Pandemia do SARS-CoV-2 (novo coronavírus), que limitou a realização de pesquisas. Além disso, a prevalência de leishmaniose visceral reduziu drasticamente nesse período, e a quantidade de indivíduos para participarem de uma coleta seria insuficiente.

7 CONCLUSÃO

A leishmaniose visceral é uma doença subaguda, que representa um agravo complexo, geralmente associada a um aumento de processos inflamatórios multissistêmico e emagrecimento acentuado. Foi observada uma perda de peso significativa associada com a CB, evidenciando uma perda de massa adiposa e muscular nos participantes do estudo. A deficiência de VitA, que é uma característica da LV, foi observada nas duas faixas etárias, tanto em homens como em mulheres. Contudo, todos os grupos analisados recuperaram os níveis de VitA para parâmetros aceitáveis. Com a diminuição dos níveis de Zn e aumento dos níveis de Cu apresentados no estudo, era esperada uma correlação negativa entre ambos. Quanto à recuperação dos parâmetros bioquímicos, foi observada uma recuperação global muito significativa dos indivíduos após 30 dias de tratamento.

A relação Cu/Zn, que estava elevada no período antes do tratamento, reduziu significativamente após 30 dias de tratamento. Houve correlação negativa entre a queda de PCR e o incremento de retinol, evidenciando que os baixos níveis de retinol podem estar associados à resposta inflamatória, à disfunção hepática e a baixa produção de proteínas carreadoras e albumina.

É importante ressaltar que ainda são necessárias outras análises futuras para compreender melhor a relação dos micronutrientes com a leishmaniose visceral. Torna-se imprescindível analisar outros parâmetros importantes para compreender melhor o papel dos micronutrientes e da nutrição na leishmaniose visceral.

REFERÊNCIAS

ABASS, E. Low serum zinc concentrations in Sudanese patients with visceral leishmaniasis does not impair the anti-Leishmania antibody response. **Annals of parasitology**, v. 66, n. 4, p. 481–488, 2020.

AGUIAR, F. J. B. et al. Proteína C reativa: Aplicações clínicas e propostas para utilização racional. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 59, n. 1, p. 85–92, 2013.

AHMED, M. A. A. et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis among children in Gadarif hospital, eastern Sudan. **BMC Public Health**, v. 16, n. 1, p. 1–4, 2016.

ALAM, M. Z. et al. PCR-based Detection of leishmania donovani DNA in a stray dog from a visceral leishmaniasis endemic focus in Bangladesh. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 75, n. 1, p. 75–78, 2013.

ALBUQUERQUE, L. C. P. et al. HIV/AIDS-related visceral leishmaniasis: A clinical and epidemiological description of visceral leishmaniasis in northern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 1, p. 38–46, 2014.

ALVAR, J. et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS One**, 7(5), 2012. doi: 10.1371/journal.pone.0035671.

ANTHONY, R. L. et al. Rapid detection of Leishmania amastigotes in fluid aspirates and biopsies of human tissues. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 37, n. 2, p. 271–276, 1987.

ANTOINE, J. C. et al. Parasitophorous vacuoles of Leishmania amazonensis-infected macrophages maintain an acidic pH. **Infection and Immunity**, v. 58, n. 3, p. 779–787, 1990.

ARAKI, A. S. et al. Molecular and behavioral differentiation among Brazilian populations of Lutzomyia longipalpis (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, n. 1, p. 1–12, 2009.

ASEMOTA, E. A. et al. Zinc, copper, CD4 T-cell count and some hematological parameters of HIV-infected subjects in Southern Nigeria. **Integrative Medicine Research**, v. 7, n. 1, p. 53–60, 2018.

BARBER, DANIEL L.; ANDRADE, BRUNO B.; SERETI, IRINI; SHER, A. Immune reconstitution inflammatory syndrome: the trouble with immunity when you had none. **Nat Rev Microbiol.**, v. 10, n. 2, p. 150–156, 2012.

BATISTA, F. M. DE A. et al. Epidemiological profile and time trend in visceral leishmaniasis: Piauí, Brazil, 2008-2018. **Cadernos de Saude Publica**, v. 37, n. 11, 2021.

BERN, C. et al. The epidemiology of visceral leishmaniasis and asymptomatic leishmanial infection in a highly endemic Bangladeshi village. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 76, n. 5, p. 909–914, 2007.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. 8 ed. 1. reimpr. Brasília, 2013.

BRASIL. **Vigilância alimentar e nutricional - Sisvan**: orientações básicas para a coleta, processamento, análise de dados e informação em serviços de saúde – Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

BRUSTOLONI, Y. M. et al. Sensitivity and specificity of polymerase chain reaction in Giemsa-stained slides for diagnosis of visceral leishmaniasis in children. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 4, p. 497–500, 2007.

BUI, V. Q. et al. Associations between Serum C-reactive Protein and Serum Zinc, Ferritin, and Copper in Guatemalan School Children. **Biol Trace Elem Res**, v. 148, n. 2, p. 154–160, 2012.

CARBONE, D. C. B. . et al. Potential role of zinc in the visceromegaly regression and recovery of hematological parameters during treatment of visceral leishmaniasis in children from an endemic area. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 60, 2018.

CAVALCANTE, F. R. A. et al. Human visceral leishmaniasis: Epidemiological, temporal and spacial aspects in Northeast Brazil, 2003-2017. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 62, n. July 2019, p. 1–10, 2020.

COSTA, C. H. N. et al. Is severe visceral leishmaniasis a systemic inflammatory response syndrome? - A case control study. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 4, p. 386–392, 2010.

COSTA, C. H. N.; PEREIRA, H. F.; ARAÚJO, M. V. Epidemia de leishmaniose visceral no Estado do Piauí, Brasil, 1980-1986. **Revista de Saúde Pública**, v. 24, n. 5, p. 361–372, 1990.

COSTA, D.L.; COSTA, C.H.N. Espectro Clínico das Leishmanioses – Leishmaniose Visceral. In: CONCEIÇÃO-SILVA, F.; ALVES, C.R. **Leishmanioses do continente americano**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2014. *E-book*.

COSTA, D.L. et al. Serum cytokines associated with severity and complications of kala-azar. **Pathog Glob Health**, v. 107, n. 2, p. 78-87, 2013.

COTA, G. F.; DE SOUSA, M. R.; RABELLO, A. Predictors of visceral leishmaniasis relapse in hiv-infected patients: A systematic review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 6, p. 1–8, 2011.

COUTINHO, E. M. Estado nutricional e esquistossomose. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 13, n. 1, p. 91–96, 1980.

COUTINHO, E. M. et al. Factors Involved in Schistosoma mansoni Infection in Rural Areas of Northeast Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, n. 5, p. 707–715, 1997.

COZZOLINO, S. M. F.; COMINETTI, C. **Bases Bioquímicas e Fisiológicas da Nutrição: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença**. 1 ed. Manole: Barueri, SP. 2013.

CRISPONI, G. et al. Copper-related diseases: From chemistry to molecular pathology. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 254, n. 7–8, p. 876–889, 2010.

DE ARAÚJO ALBUQUERQUE, L.P. et al. Influence of sex hormones on the immune response to leishmaniasis. **Parasite Immunology**, 2021.

DE AZEVEDO, T. S.; LORENZ, C.; CHIARAVALLOTTI-NETO, F. Risk mapping of visceral leishmaniasis in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 52, n. September, p. 0–3, 2019.

DE BENOIST, B. et al. Conclusions of the Joint WHO/UNICEF/IAEA/IZiNCG interagency meeting on zinc status indicators. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 28, n. 3 SUPPL., p. 480–484, 2007.

DIRO, E. et al. Clinical aspects of paediatric visceral leishmaniasis in North-west Ethiopia. **Tropical Medicine and International Health**, v. 20, n. 1, p. 8–16, 2015.

ENDALE, H. T. et al. Assessment of liver function test and associated factors among visceral leishmaniasis patients attending university of gondar leishmaniasis research and treatment center, Northwest Ethiopia. **PLoS ONE**, v. 16, n. 11 November, p. 1–17, 2021.

EVANS, T. G. et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis in Northeast Brazil. **Journal of Infectious Diseases**, v. 166, n. 5, p. 1124–1132, 1992.

FARYADI, M.; MOHEBALI, M. Alterations of Serum Zinc , Copper and Iron Concentrations in Patients with Acute and Chronic Cutaneous Leishmaniasis. v. 32, n. 4, p. 53–58, 2003.

FARZIN, L.; MOASSESI, M. E. A comparison of serum selenium, zinc and copper level in visceral and cutaneous leishmaniasis. **J Res Med Sci**, v.19, n.4, p.355-357.

FRAKER, P. J. et al. Zinc and Health : Current Status and Future Directions The Dynamic Link between the Integrity of the Immune System. p. 1399–1406, 2000.

FRANÇA, T. G. D. et al. Impact of malnutrition on immunity and infection. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 15, n. 3, p. 374–390, 2009.

FREIRE, M. L. et al. Performance of serological tests available in Brazil for the diagnosis of human visceral leishmaniasis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 7, p. 1–12, 2019.

FREITAS, V.C. **O processo de interação de *Leishmania (Leishmaniose) chagasi* com *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* e a importância do lipofosfoglicano (LPG)**. 2010. Tese de Doutorado (Doutorado em Ciências da Saúde) – Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2010. Disponível em: http://www.cpqrr.fiocruz.br/texto-completo/T_19.pdf. Acesso em 11 out. 2020.

GAIER, E. D. et al. High serum Cu and Cu/Zn ratios correlate with impairments in bone density, physical performance and overall health in a population of elderly men with frailty characteristics. **Experimental Gerontology**, v. 47, n. 7, p. 491–496, 2012.

GALLOWAY, P.; MCMILLAN, D. C.; SATTAR, N. Effect of the inflammatory response on

trace element and vitamin status. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 37, p. 289–97, 2000.

GATTO, M. et al. Biochemical and nutritional evaluation of patients with visceral leishmaniasis before and after treatment with leishmanicidal drugs. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 6, p. 735–740, 2013.

GIEFING-KROLL, C. et al. How sex and age affect immune responses, susceptibility to infections, and response to vaccination. **Aging Cell**, v. 14, n. 3, p. 309–321, 2015.

GOES, M. A. DE O.; DE MELO, C. M.; JERALDO, V. DE L. S. Série temporal da leishmaniose visceral em Aracaju, estado de Sergipe, Brasil (1999 a 2008): aspectos humanos e caninos. **Rev. Brasil. Epidemiol.**, v. 15, n. 2, p. 298–307, 2012.

GOGUMALUDI, V. R. et al. Vitamins (A&D) and Isoprenoid (Chenodeoxycholic acid) molecules are accompanied by Th1 immunostimulatory response and therapeutic cure *in vivo*: possible antileishmanial drugs. **Scientific Reports**, 8531(9), 2019.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-44630-4>

GOMES, C. M. C. et al. Correlation between the components of the insulin-like growth factor I system, nutritional status and visceral leishmaniasis. p. 660–667, 2007.

GOSSAGE, S. M.; ROGERS, M. E.; BATES, P. A. Two separate growth phases during the development of *Leishmania* in sand flies: Implications for understanding the life cycle. **International Journal for Parasitology**, v. 33, n. 10, p. 1027–1034, 2003.

GOTO, Y. et al. Prevalence, severity, and pathogenesis of anemia in visceral leishmaniasis. **Parasitology Research**, v. 116, n. 2, p. 457–464, 2017.

GOUVÊA, M. V. et al. Factors associated to Montenegro skin test positivity in Teresina, Brazil. **Acta Tropica**, v. 104, n. 2–3, p. 99–107, 2007.

GUEDES, D. L. et al. Visceral leishmaniasis in hospitalized HIV-infected patients in Pernambuco, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 99, n. 6, p. 1541–1546, 2018.

HAMBIDGE, K. M. et al. Dietary reference intakes for zinc may require adjustment for phytate intake based upon model predictions. **Journal of Nutrition**, v. 138, n. 12, p. 2363–2366, 2008.

HELLMAN, N. E.; GITLIN, J. D. Ceruloplasmin metabolism and function. **Annual Review of Nutrition**, v. 22, n. 39, p. 439–458, 2002.

HORRILLO, L. et al. Clinical aspects of visceral leishmaniasis caused by *L. infantum* in adults. Ten years of experience of the largest outbreak in Europe: what have we learned? **Parasites & vectors**, v. 12, n. 1, p. 359, 2019.

HOSSAIN, F. et al. Real-time PCR in detection and quantitation of *Leishmania donovani* for the diagnosis of visceral leishmaniasis patients and the monitoring of their response to treatment. **PLoS ONE**, v. 12, n. 9, p. 1–16, 2017.

INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. **Panel on Micronutrients, Subcommittees on Upper Reference Levels of Nutrients and of Interpretation and Uses of Dietary Reference Intakes, and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes**, 2001.

JOHNSON, M.A. Copper physiology. In: CABALLERO, B.; TRUGO, L.; FINGLAS, P.M. **Encyclopedia of food sciences and nutrition**. 2ed. Maryland: Elsevier Science, 2003.

KUHLS, K. et al. Comparative microsatellite typing of new world leishmania infantum reveals low heterogeneity among populations and its recent old world origin. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 6, p. 1–16, 2011.

LAL, C. S. et al. Comparative analysis of serum zinc, Copper, Magnesium, Calcium and iron level in acute and chronic patients of visceral leishmaniasis. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 27, n. 2, p. 98–102, 2013.

LINDOSO, J. A. L. et al. Visceral leishmaniasis and HIV coinfection: Current perspectives. **HIV/AIDS - Research and Palliative Care**, v. 10, p. 193–201, 2018.

LISBOA, A. R. et al. Leishmaniose visceral: Uma revisão literária Visceral leishmaniasis: A literary review. p. 35–43, 2016.

LIVINGSTONE C. Revisão da Provisão de Cobre na Nutrição Parenteral de Adultos. **Nutr Clin Pract**. Abril de 2017; 32 (2): 153-165.

MACIEL, B. L. et al. Association of nutritional status with the response to infection with *Leishmania chagasi*. **Am J Trop Med Hyg**, v. 79, n. 4, p. 591–598, 2008.

MALAFAIA, G. Desnutrição protéico-energética como fator de risco para leishmaniose visceral: uma revisão. **Parasite Immunology**, v. 31, n. 10, p.587–596. doi: 10.1111 / j.1365-3024.2009.01117.x

MALAFAIA, G. The synergism between protein-energy malnutrition and visceral leishmaniasis . **Rev. Sau. Com.**, p. 134–147, 2007.

MALAVOLTA, M. et al. Plasma copper/zinc ratio: An inflammatory/nutritional biomarker as predictor of all-cause mortality in elderly population. **Biogerontology**, v. 11, n. 3, p. 309–319, 2010.

MANNA, L. et al. *Leishmania* DNA load and cytokine expression levels in asymptomatic naturally infected dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 142, n. 3–4, p. 271–280, 2006.

MARET, W. Zinc biochemistry, physiology, and homeostasis - Recent insights and current trends. **BioMetals**, v. 14, n. 3–4, p. 187–190, 2001.

MARQUES, R. C.; MARREIRO, D. D. N. Aspectos metabólicos e funcionais do zinco na síndrome de Down Metabolic and functional aspects of zinc in Down syndrome. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 4, p. 501–510, 2006.

MATTHEWS, K. R. Europe PMC Funders Group Controlling and Coordinating Development in Vector- Transmitted Parasites Preparing for Transmission : How Do Parasites Maximize Their Chances of. v. 331, n. 6021, 2013.

MENGESHA, B. et al. Prevalence of malnutrition and associated risk factors among adult visceral leishmaniasis patients in Northwest Ethiopia: a cross sectional study. 2014.

MISHRA, J.; CARPENTER, S.; SINGH, S. Low serum zinc levels in an endemic area of visceral leishmaniasis in Bihar, India. **Indian Journal of Medical Research**, v. 131, n. 6, p. 793–798, 2010.

MOHEBALI, M.; YIMAM, Y. Prevalence estimates of human immunodeficiency virus (HIV) infection among visceral leishmaniasis infected people in Northwest Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. **BMC Infectious Diseases**, v. 20, n. 1, p. 1–10, 2020.

MONGE-MAILLO, B. et al. Visceral Leishmaniasis and HIV Coinfection in the Mediterranean Region. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 8, 2014.

MONTEIRO, M. J. DE S. D. et al. Nutritional status and vitamin a and zinc levels in patients with kala-azar in Piauí, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 54, p. 1–9, 2021.

MÜLLER, O. et al. The association between protein-energy malnutrition, malaria morbidity and all-cause mortality in West African children, **Trop Med Int Health**, v.8, n.6, p. 507-511, 2003.

NOGUEIRA, C. R. et al. Aspectos antropométricos, bioquímicos e sintomatológicos em mulheres com tuberculose pulmonar. **Rev. ciênc. méd., (Campinas)**, v. 15, n. 4, p. 281–288, 2006.

NWEZE, J. A.; NWEZE, E. I.; ONOJA, U. S. Nutrition, malnutrition, and leishmaniasis. **Nutrition**, v. 73, p. 110712, 2020.

OAKES, E. J. C. et al. Acute inflammatory response does not affect erythrocyte concentrations of copper, zinc and selenium. **Clinical Nutrition**, v. 27, n. 1, p. 115–120, 2008.

OKWOR, I.; UZONNA, J. E. The immunology of Leishmania/HIV co-infection. **Immunologic Research**, v. 56, n. 1, p. 163–171, 2013.

OLIVEIRA, J.M. et al. Mortalidade por leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n.2, p. 188-193, 2010.

OPAS, O. P. DE LA S. Leishmanioses informe epidemiológico das Americas. **Organización Panamericana de la Salud**, v. 8, 2019b.

OPAS, O. P. DE LA S. **Manual de procedimientos para vigilancia y control de las leishmaniasis en las Américas**. [s.l: s.n.].

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE – OMS. **Leishmaniose**, 2018.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>

PEÇANHA BRAZIL, R. The dispersion of *Lutzomyia longipalpis* in urban areas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. May, p. 263–264, 2013.

PEDROSA, C.M.S.; ROCHA, E.M.M. Aspectos clínicos e epidemiológicos da leishmaniose visceral em menores de 15 anos procedentes de Alagoas, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.37, n.4, p. 300 – 304, 2004.

PETRAK, J.; VYORAL, D. Hephaestin - A ferroxidase of cellular iron export. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 37, n. 6, p. 1173–1178, 2005.

PRASAD, A. S. Discovery of human zinc deficiency: 50 years later. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 26, n. 2–3, p. 66–69, 2012.

PUIG, S. THIELE, D.J. Molecular mechanisms of copper uptake and distribution. **Current Opinion in Chemical Biology**, v.6, n.2, p.171-180, 2002.

RAVENA, A. M. et al. New antigens for the serological diagnosis of human visceral leishmaniasis identified by immunogenomic screening. 2018.

READ, S. A. et al. Peran Seng dalam Kekebalan Antiviral. **The University of Sydney and Westmead Hospital, Westmead, New South Wales, Australia**, p. 696–710, 2019.

RIBEIRO-DE-JESUS, A. et al. Cytokine profile and pathology in human leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 31, n. 1, p. 143–148, 1998.

RODRIGUEZ-CORTES, A. et al. A progressão da leishmaniose canina está associada à deficiência de vitamina D. **Sci Rep**, 3346 (7), 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03662-4>

ROFE, A. M.; PHILCOX, J. C.; COYLE, P. Trace metal, acute phase and metabolic response to endotoxin in metallothionein-null mice. **Biochemical Journal**, v. 314, n. 3, p. 793–797, 1996.

SARKARI, B.; REZAEI, Z.; MOHEBALI, M. Immunodiagnosis of visceral leishmaniasis: Current status and challenges: A review article. **Iranian Journal of Parasitology**, v. 13, n. 3, p. 331–341, 2018.

SASIDHARAN, S.; SAUDAGAR, P. Leishmaniasis: where are we and where are we heading? **Parasitology Research**, v. 120, n. 5, p. 1541–1554, 2021.

SCRIMSHAW, N.S.; SANGIOVANNI, J.P. Synergism of nutrition, infection, and immunity: an overview. **Am J Clin Nutr**, v.66, n.2, p.464-477, 1997.

SHANKAR, A. H.; PRASAD, A. S. Zinc and immune function: The biological basis of altered resistance to infection. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, n. 2, 1998.

- SILVA, E. S. et al. Visceral Leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 3, p. 285–291, 2001.
- SILVA, H. G. V. DA et al. Arm circumference : a good predictor of hospital stay. **Ceres: nutrição & saúde**, v. 6, n. 2, p. 95–104, 2011.
- SILVA, J. M. et al. Bone marrow parasite burden among patients with new world kala-azar is associated with disease severity. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 90, n. 4, p. 621–626, 2014.
- SOUSA, J. M. DOS S.; RAMALHO, W. M.; DE MELO, M. A. Demographic and clinical characterization of human visceral leishmaniasis in the State of Pernambuco, Brazil between 2006 and 2015. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 5, p. 622–630, 2018.
- SOUZA, M.A. et al. Leishmaniose Visceral Humana: do diagnóstico ao tratamento. **Revista de Ciências e Saúde Nova Esperança**, v. 10, n.2, p. 61-69, 2012.
- SRIVASTAVA, P. et al. Diagnosis of indian visceral leishmaniasis by nucleic acid detection using pcr. **PLoS ONE**, v. 6, n. 4, p. 4–8, 2011.
- STERN, B. R. et al. Copper and human health: Biochemistry, genetics, and strategies for modeling dose-response relationships. **J Toxic Envir Health**. v. 10, p. 157-222, 2007.
- SUDARSHAN, M. et al. Quantitative PCR in Epidemiology for Early Detection of Visceral Leishmaniasis Cases in India. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 12, p. 8–13, 2014.
- SUDARSHAN, M. et al. Study of parasite kinetics with antileishmanial drugs using real-time quantitative PCR in Indian visceral leishmaniasis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 66, n. 8, p. 1751–1755, 2011.
- SUNDAR, S.; RAI, M. Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 9, n. 5, p. 951–958, set. 2002.
- SUNDAR, S.; SINGH, O. P. Molecular Diagnosis of Visceral Leishmaniasis. **Molecular Diagnosis and Therapy**, v. 22, n. 4, p. 443–457, 2018.
- SUNTER, J.; GULL, K. Shape, form, function and Leishmania pathogenicity: From textbook descriptions to biological understanding. **Open Biology**, v. 7, n. 9, 2017.
- TAGHIPOUR, A. et al. Leishmaniasis and Trace Element Alterations: a Systematic Review Biological Trace Element Research, **Biol Tra Elem Res**, v. 199, p.3918-3938, 2021.
- VIANA, G. M. DE C. et al. Epidemiological profile of patients co-infected with visceral leishmaniasis and HIV/AIDS in northeast, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, n. 5, p. 613–620, 2017.
- YONEKURA, L. Vitamina A (retinol) e carotenoides. In: COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**, 6ed, São Paulo: Manole, 2020.

WEYENBERGH, J. V. et al. Zinc/copper imbalance reflects immune dysfunction in human leishmaniasis: An ex vivo and in vitro study. **BMC Infectious Diseases**, v. 4, p. 1–7, 2004.

ANEXOS

ANEXO A - Manual de instruções do *IT-leish individual rapid test*

CLINICAL MICROBIOLOGY

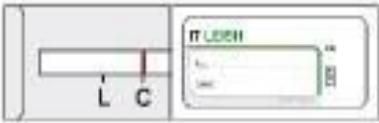
IT LEISH Individual Rapid Test
a Reference Tool for Visceral Leishmaniasis Diagnosis

Leishmaniasis is a vector-borne disease transmitted by phlebotomine sandflies in many tropical and sub-tropical countries. Visceral leishmaniasis (VL) is the most serious form of the disease, and has an estimated incidence of 500.000 new cases and 60.000 deaths per year. Most cases of VL are found in north-eastern India area, eastern Africa and South-America. VL is fatal if left untreated, with a fatality rate in developing countries that can reach 100% within 2 years. Early diagnosis is considered an essential component of VL control. VL diagnosis tests used in the field are based on anti-Leishmania antibodies detection. Among them, immunochromatographic rapid tests based on rK39 protein are mostly used.

- IT LEISH is a reference immuno-chromatographic RDT using **rK39 antigen** to confer high specificity and high sensitivity of detection.
- IT LEISH is an accurate assay for **confirmation of clinically suspected cases** and **early initiation of adequate treatment**.
- IT LEISH is individually packed and includes all components required for whole blood sampling and test processing. The test can be performed in **any field situation** and after a **short educational training period**.
- IT LEISH results are obtained in **20 minutes** only.

Result Interpretation (see Product Insert)

NEGATIVE



POSITIVE



Bibliography

- Evaluation of a new recombinant k39 rapid diagnostic test for Sudanese visceral leishmaniasis. Ritzmeyer K. and al, Am. J. Trop. Med. Hyg., 2006.
- Rapid, noninvasive diagnosis of visceral leishmaniasis in India: comparison of two immunochromatographic strip tests for detection of anti-K39 antibody. Sunder S. and al, J. Clin. Microbiol., 2006.
- Field evaluation of rK39 test and direct agglutination test for diagnosis of visceral leishmaniasis in a population with high prevalence of human immunodeficiency virus in Ethiopia. Horst R. and al, Am. J. Trop. Med. Hyg., 2009.

Ordering Information

Catalog No.	Description	
710124	IT LEISH Individual Rapid Test	24 tests/kit



For further information, please contact the Bio-Rad office nearest you or visit our website at www.bio-rad.com/diagnostics

Clinical
Diagnostics Group

bio-rad website: www.bio-rad.com U.S. 1-800-541-RAD Australia 61-2-9594-2000 Austria 43-1-877-8801 Belgium 32-9-260-8811 Brazil 55-11-5057-9400 Canada 1-814-274-4072 Chile 56-21-6278508 Czech Republic 420-241-420-812 Denmark 45-4462-1000 Finland 358-9-854-22-00 France 33-1-47-89-00-00 Germany 49-69-946-210-640 Greece 30-210-77-7680 Hong Kong 852-2758-3300 Hungary 36-1-468-0100 India 1-800-180-1224 Israel 972-3-6820000 Italy 39-02-918001 Japan 81-3-5351-7072 Korea 82-2-3473-4400 Mexico 52 (55) 5451-7070 New Zealand 64-9-443-1000 Norway 47-22-55-41-00 Poland 48-22-3218634 Portugal 351-21-421-7700 Russia 7-495-721-14-04 Singapore 65-6415-3170 South Africa 27-11-440-80-00 Spain 34-91-350-3000 Sweden 46-8-550-12-740 Switzerland 41-01-77-80-50 Taiwan 886-2-274-8311 United Kingdom 44-1200-8109-2000



© 2010 BIO-RAD 11/0811

bio-rad, it-leish, antigen, k39, immunochromatographic, rapid test, test results, rdt, immunochromatographic, it-leish, antigen, k39, immunochromatographic, rapid test, test results, rdt, immunochromatographic

ANEXO B - Protocolo coleta de material medular para exame direto e cultura para diagnóstico de leishmaniose

	INSTITUTO DE DOENÇAS TROPICAIS NATAN PORTELLA LABORATÓRIO DE PESQUISA EM LEISHMANIOSES- LABLEISH
	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP)
	TÍTULO: COLETA DE MATERIAL MEDULAR PARA EXAME DIRETO E CULTURA PARA DIAGNÓSTICO DE LEISHMANIOSE

Sumário:

1. Objetivo
2. Siglas
3. Responsabilidades
 - 3.1. Profissional responsável
4. Procedimentos
 - 4.1. Material necessário para realização
 - 4.1.1. Punção aspirativa
 - 4.1.2. Processamento do material coletado:
 - 4.2. EPIs
 - 4.3. Coleta de material medular
 - 4.3.1. Local de realização:
 - 4.3.2. Técnica de coleta de material medular
 - 4.3.2.1. Punção aspirativa
 - 4.4. Processamento do material medular aspirado
 - 4.4.1. Semeio de *Leishmania* em cultura
 - 4.4.2. Confeção de esfregaços de medula óssea
 - 4.4.3 Coleta de sangue
5. Precauções de segurança
6. Referências Bibliográficas

1. Objetivo

Avaliar a presença de protozoários do gênero *Leishmania* em pessoas com suspeita de leishmaniose visceral.

2. Siglas

IDTNP – Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella

LABLEISH - Laboratório de Pesquisa em Leishmanioses

POP – Procedimento Operacional Padrão

EPIs – Equipamento de Proteção Individual

NNN – Meio de Fase Sólida a base de água com sangue

EDTA –

mL – Mililitro

µL – Microlitro

3.Responsabilidades

3.1. Profissional responsável:

- Punção aspirativa: Médico devidamente treinado e autorizado pelo IDTNP.

- Processamento do material coletado: Técnico devidamente treinado e autorizado pelo LABLEISH.

4.Procedimentos

4.1. Material necessário para realização:

4.1.1. Punção aspirativa:

- Luvas para procedimento cirúrgico
- Gaze
- Xilocaína 2%
- 2 Seringas de 5 mL
- 1 seringa de 3 mL
- Agulha com mandril
- Povidine

- Agulhas estéreis
- Heparina

4.1.2. Processamento do material coletado:

- Lâminas para microscopia
- Lamparina e fósforo/isqueiro
- Tubos de hemocultura estéreis com tampa contendo meio de cultura NNN adicionado com meio de Schneider's
- Caixa de transporte
- Lápis para identificação das lâminas
- Caneta para registro no livro de cultura
- Tubos de EDTA-K3 para coleta de sangue venoso
- Tubos sem anticoagulante e com gel separador
- Eppendorf estéril contendo uma gota de EDTA

- Agulha estéril
- Álcool a 70%
- Seringa de 5 mL

4.2. EPIs

- Luvas descartáveis
- Máscara
- Jaleco de mangas compridas
- Sapatos fechados

4.3. Coleta de material medular

4.3.1. Local de realização:

- Ambulatório ou hospital

4.3.2. Técnica de coleta de material medular

4.3.2.1. Punção aspirativa

- Antissepsia: o médico, usando luvas esterilizadas e máscara, procede à limpeza do local da punção com povidine (respeitando a regra de limpeza do centro para a periferia e nunca retornando ao centro com a gaze já utilizada).
- Anestesia: anestesiar o local da punção com 0,5mL a 1,0 mL de xilocaína 1%, iniciando pelos tecidos superficiais e terminando com infiltração do periósteo.

LOCAIS DO CORPO QUE DEVEM SER PUNÇIONADOS

1ª OPÇÃO – PUNÇÃO DE CRISTA ILÍACA:

Recomendada para adultos e crianças de qualquer idade, sendo satisfatória inclusive em lactentes;

Punção de crista ilíaca anterior, apesar de ser menos satisfatória, pode ser utilizada caso não seja possível realizar a punção na crista ilíaca posterior.

Não está recomendada em pacientes obesos ou com imobilidade.

Com o polegar posicionado abaixo da crista ilíaca e o indicador acima da crista ilíaca para firmarem a pele, penetrar a epiderme com a agulha, posicioná-la em 90° e proceder à introdução desta em osso, com firmeza.

Quando a agulha estiver firmemente posicionada no osso, retirar o mandril, conectar a seringa e primeiramente aspirar 0,1 a 0,2 mL de medula, para a confecção das lâminas e semeio em meio de

cultura utilizando a seringa estéril e sem aditivos, trocar a seringa e aspirar 0,5 mL de material medular para estocagem no LABLEISH.

Vantagens: menos doloroso e mais seguro que a punção esternal.

Risco: existe a rara possibilidade de ultrapassar a tábua óssea interna e atingir a alça intestinal.

2ª OPÇÃO – PUNÇÃO ESTERNAL

- Recomendada para pacientes obesos ou com imobilidade, usando-se agulha com proteção de profundidade.
- Não se recomenda essa punção em crianças menores de 2 anos.
- Esterno, na altura do primeiro, do segundo ou do terceiro espaço intercostal.
- Com o dedo mínimo na fúrcula e o polegar e o indicador nos espaços intercostais, penetrar a epiderme com a agulha posicionada em 90° e proceder à introdução desta no osso, com firmeza, porém com delicadeza.
- Quando a agulha estiver firmemente posicionada no osso, retirar o mandril, conectar a seringa e primeiramente aspirar 0,1 a 0,2 mL de medula, para a confecção das lâminas e semeio em meio de cultura utilizando a seringa estéril e sem aditivos, trocar a seringa e aspirar 0,5mL de material medular para estocagem no LABLEISH.
- *Vantagem:* é de fácil execução e a tábua óssea delgada pode ser penetrada com facilidade.
- *Risco:* ultrapassar a tábua óssea interna e atingir vasos nobres (risco menor na punção do manúbrio, porque o esôfago encontra-se posterior).

3ª OPÇÃO – PUNÇÃO TIBIAL

- Recomendada para crianças menores de 2 meses e na impossibilidade da punção na crista ilíaca.
- Deve ser feita na superfície medial e achatada da diáfise proximal (1/3 superior), um a dois centímetros abaixo da tuberosidade tibial.
- Com o polegar e o indicador posicionados para firmarem a pele, penetrar a epiderme com a agulha, posicioná-la em um ângulo de 10° a partir do plano vertical, no sentido caudo-cranial, e proceder à introdução desta no osso, com firmeza, porém com delicadeza.
- Quando a agulha estiver firmemente posicionada no osso, retirar o mandril, conectar a seringa e primeiramente aspirar 0,1 a 0,2 mL de medula, para a confecção das lâminas e semeio em meio de cultura utilizando a seringa estéril e sem aditivos, trocar a seringa e aspirar 0,5mL de material medular para estocagem no LABLEISH.

- *Riscos*: osteomielite, hematomas, abscesso subcutâneo e fratura óssea são complicações raras.

4.4. Processamento do material medular aspirado

- Quando solicitado pelo IDTNP, o técnico do LABLEISH deverá organizar e colocar na caixa de transporte o material necessário para o processamento da amostra coletada descrito no item 4.1.2;
- Na sala de pequena cirurgia do IDTNP, equipar-se de jaleco, luvas e máscara;
- Proceder com a limpeza da bancada a ser utilizada com álcool a 70%, em seguida forrar a bancada com papel toalha, organizando o material necessário;
- Registrar no livro de cultura do LABLEISH as seguintes informações: código do aspirado; nome completo do paciente; bloco, enfermaria, leito referente a internação; idade do paciente; data do aspirado e o nome do médico que realizou o procedimento.
- Identificar as lâminas, tubos de coleta de sangue venoso, tubos de hemocultura e eppendorf, com o mesmo código, nome completo do paciente e data do aspirado registrado no livro;
- Receber do médico duas seringas: a seringa com material medular sem aditivo deverá ser utilizada para o semeio de *Leishmania* em cultura e confecção de esfregaços, já a segunda seringa com aditivo(heparina);
- Descartar as seringas que foram utilizadas na caixa de perfurocortante;

4.4.1. Semeio de *Leishmania* em cultura

- Receber do médico a primeira seringa sem aditivos, acender a lamparina e próximo a chama, transferir para o tubo de cultura com NNN + Schneider's de duas a três gotas de material medular, e com o restante do material confeccionar os esfregaços;
- As culturas deverão ser levadas ao LABLEISH e acondicionadas em estufa a 25°C.

4.4.2. Confecção de esfregaços de medula óssea

- Com as lâminas devidamente identificadas com o código e nome completo do paciente, realizar o esfregaço confeccionando 5 lâminas para cada paciente;
- Uma das lâminas deverá ser entregue no Laboratório de bioquímica do IDTNP junto com a requisição médica, as demais lâminas deverão ser levadas ao LABLEISH.

4.4.3 Coleta de sangue

- Identificar os tubos de coletas (EDTA-K3/tampa roxa e sem anticoagulante/tampa vermelha) com o código, nome completo do paciente e a data;
- Identificar o melhor local para punção venosa, colocar as luvas e garrotear o indivíduo;
- Solicitar ao indivíduo para abrir e fechar a mão até a veia ficar mais proeminente, lembrando que o garroteamento não poderá ultrapassar 1 minuto;
- Realizar a antisepsia da região, em posse de seringa de 5mL e agulha descartáveis, retirar o protetor da agulha e puncionar a veia com o bisel da agulha voltado para cima.

-Coletar:

- Adultos: 10 mL de sangue;
- Crianças e neonatos: a retirada de 2,5 a 3 mL/kg a cada punção é considerada segura ou, ainda, 3 a 7% do volume de sangue circulante total. Para casos envolvendo coletas múltiplas, sugere-se que 5 a 10% do volume de sangue total possa ser retirado no prazo de um mês;

Tabela 6.13.2 Quantidade de sangue total e que pode ser retirada em coleta

Peso (kg)	Volume total de sangue (mL)	Volume por coleta isolada (mL) (3 mL/kg)	Volume retirado em 4 a 6 semanas (mL) 5%
< 1,8	< 207	< 6	< 10
1,8 a 2,7	135 a 297	6 a 8	6 a 14
2,7 a 3,6	202 a 396	8 a 11	10 a 20
3,6 a 4,5	270 a 495	11 a 13	17 a 24
4,5 a 6,8	338 a 748	13 a 20	16 a 38
6,8 a 9,1	510 a 910	20 a 27	26 a 46
9,1 a 11,4	682 a 1.140	27 a 34	34 a 56
11,4 a 13,6	855 a 1.360	34 a 41	41 a 68
13,6 a 15,9	1.020 a 1.590	41 a 48	50 a 80
15,9 a 18,2	1.192 a 1.820	48 a 55	60 a 92
18,2 a 20,4	1.365 a 2.040	55 a 61	68 a 102
20,4 a 22,7	1.530 a 2.170	61 a 68	76 a 108
22,7 a 25,0	1.589 a 2.250	68 a 75	80 a 112
25,0 a 27,2	1.750 a 2.448	75 a 82	88 a 122
27,2 a 29,5	1.904 a 2.655	82 a 88	96 a 132
29,5 a 31,8	2.065 a 2.862	88 a 95	104 a 144
31,8 a 34,0	2.126 a 2.880	95 a 102	106 a 148
34,0 a 36,3	2.210 a 2.904	102 a 109	110 a 150
36,3 a 38,6	2.360 a 3.088	109 a 116	118 a 154
38,6 a 40,9	2.509 a 3.272	116 a 123	126 a 164
40,9 a 43,1	2.658 a 3.448	123 a 129	132 a 172
43,1 a 45,4	2.801 a 3.632	129 a 136	140 a 182

- Desgarrotear, remover a agulha e pressionar o local da punção com algodão orientando o paciente a não dobrar o braço;

- Transferir o sangue para os tubos de coletas (EDTA-K3/tampa roxa e sem anticoagulante/tampa vermelha);
- Descartar a seringa e agulha utilizada na caixa de perfurocortante;
- Levar o sangue coletado para ser processado e estocado no LABLEISH;

5. Precauções de segurança

- Manipule com precaução os materiais e amostras de origem humana. Considerando que não existe nenhum método de teste passível de garantir uma total ausência de agentes infecciosos, considere todas as amostras críticas como potencialmente infecciosa.
- Realize a assepsia das mãos e a troca de luvas entre o atendimento dos pacientes.

6. Referências Bibliográficas

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Leishmaniose visceral : recomendações clínicas para redução da letalidade / Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011

ANEXO C - Procedimento operacional (POP) para as medidas antropométricas- Laboratório de Avaliação Nutricional de Populações (LANPOP)

METODOLOGIA PADRONIZADA PARA EFERIÇÃO DE

PESO

[MASSA CORPORAL]

LABORATÓRIO DE AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE POPULAÇÕES USP

DEFINIÇÃO E USO

O peso é a medida de composição corporal total do corpo. Ela é importante para a triagem de crescimentos anormais, obesidade e desnutrição. É um dos importantes componentes do IMC, biomarcador para diagnóstico de obesidade e desnutrição.

1. ANTES DA AFERIÇÃO

1. Apresente-se educadamente ao indivíduo.
2. Informe-o sobre a aferição a ser realizada.
3. Solicite que o indivíduo retire os sapatos.
4. Que retire roupas pesadas como casacos, jaquetas, blusas grossas, etc...
5. Remova acessórios como óculos, cinto, colares, etc...
6. Retire objetos dos bolsos, como celular, caneta, dinheiro, moedas, carteira, lenço, papéis, etc...


~1kg


~50g

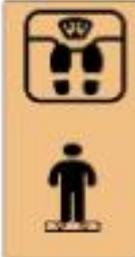

~150g


~1kg


~1kg

2. DURANTE A AFERIÇÃO

1. Solicite que o entrevistado suba na balança, com os dois pés apoiados no centro da plataforma e com o peso distribuído em ambos os pés.
2. A entrevistada não deve estar olhando para o visor da balança, e sim para a linha do horizonte.



3. PERGUNTAS FREQUENTES

- O que fazer com balanças descalibradas?
Caso haja possibilidade, envie a balança para o fabricante para recalibração. Caso não seja viável, não utilize mais o equipamento para aferições.
- Acamados e amputados?
Outros parâmetros devem ser utilizados para a avaliação de composição corporal, como circunferência braquial ou da panturrilha.

4. EQUIPAMENTO

TIPO

Balança eletrônica calibrada e de alta precisão.

MONTAGEM

1. Posicionar a balança em superfície regular e firme.
2. Evite colocar o equipamento sobre tapetes, carpetas, ou quaisquer superfícies irregulares.
3. A balança é ligada automaticamente ao subir nela. Espere aparecer o "zero" e peça para o entrevistado subir.

CALIBRAÇÃO

1. Verificar as pilhas e observar as condições do equipamento.
2. Utilize um peso padronizado de 5 Kg para certificar-se da calibração, ou utilize 5 garrafas tipo pet.

MANUTENÇÃO

1. Acondicionar a balança de maneira adequada na mochila.
2. Realizar a calibração regularmente.
3. Verificar pilhas.
4. Limpar as balanças com pano úmido, porém não é recomendada a utilização de álcool.

REPARO

1. Para equipamentos que apresentem grande variabilidade entre as pesagens do mesmo indivíduo, é recomendado trocar a balança de lugar, verificar pilhas, e tentar calibrar o equipamento.
2. Para equipamentos que apresentem grande variabilidade durante calibração recomenda-se anotar os valores observados na calibração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cameron N. The measurements of human growth. Cross Intl. London, 1994
- Frisancho AR. Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status. Ann Arbor, 1990.
- Lehman TG, Roche AF, Martorell. Anthropometric Standardization Reference Manual. Human Kinetics, Champaign, 1988
- Lanpop. Manual de técnicas antropométricas. <http://www.fg.usp.br/lanpop>



METODOLOGIA PADRONIZADA PARA AFERIÇÃO DE

ALTURA

LABORATÓRIO DE AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE POPULAÇÕES USP

DEFINIÇÃO E USO

Enquanto o comprimento se refere à extensão máxima do tamanho corporal entre pés e cabeça, na posição horizontal, e a Estatura à extensão máxima do tamanho corporal entre pés e cabeça, na posição vertical, a Altura Refere-se às medidas de comprimento e estatura independentemente. A altura é componente importante do IMC.

1. ANTES DA AFERIÇÃO

1. Apresente-se educadamente ao indivíduo.
2. Informe-o sobre a aferição a ser realizada.
3. Solicite que o mesmo retire os sapatos.
4. Solicite que ele retire roupas pesadas, remova enfites e prendedores de cabelo, e desfaça qualquer tipo de penteado.



2. DURANTE A AFERIÇÃO

1. O indivíduo deve ficar em pé com as pernas e pés paralelos, peso distribuído em ambos os pés, braços relaxados ao lado do corpo e palmas das mãos voltadas para o corpo.
2. As costas do indivíduo devem estar voltadas para a parede.
3. Encostar idealmente calcanhares, panturrilhas, nádegas, ombros e a parte posterior da cabeça na parede. Encoste no mínimo 3 pontos: ombros, nádegas e panturrilhas ou ombros, nádegas e calcanhares.
4. Posicionar a cabeça do indivíduo no plano de Frankfurt (alinhar horizontalmente a borda inferior da abertura do orbital com a margem superior do condutor auditivo externo).
5. Deslizar o cursor delicadamente, fixando-o contra a cabeça do examinado, com pressão suficiente para comprimir o cabelo, caso necessário.



3. QUANDO NÃO AFERIR?

- Menores de 2 anos de idade;
- Indivíduos com pelo menos uma das pernas amputadas;
- Não houver possibilidade de posicionar o indivíduo adequadamente (menos de 3 pontos anatômicos encostados);
- Indivíduos adultos acamados;

4. EQUIPAMENTO

TIPO

Estadiômetro Portátil ou Estadiômetro com Base

MONTAGEM

1. Posicione o estadiômetro no chão.
2. Fixe a régua para cima, no sentido vertical, até alcançar o número 0 visto no marcador do estadiômetro. Os olhos devem estar na mesma altura do visor, em uma linha reta.
3. Fixe a parte superior do estadiômetro na parede com fita adesiva. Certifique-se que a régua está reta.
4. Solte a parte móvel.
5. Verifique se o equipamento está posicionado corretamente. Desça a parte móvel do equipamento até o chão. A distância entre a parte fixa e o chão deverá ser de 2 ou 2,2 metros.

CALIBRAÇÃO

1. Para calibrar a fixação correta do estadiômetro, posicione o gabarito na posição vertical, encostado na parede e abaixo do estadiômetro. Verificar se o rodapé forma um ângulo de 50° com o chão.
2. Baixe a parte deslizando até tocar no gabarito. Neste ponto, o linha vermelha indicadora do estadiômetro deve estar marcando exatamente 30 cm.
3. Caso não haja correspondência da medida do estadiômetro com o gabarito, repita todo o procedimento.

MANUTENÇÃO

Guardar o equipamento de forma adequada.

REPARO

Equipamentos com régua danificada devem ser trocados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cameron R. The measurements of human growth. Crown Helm. Londres, 1984.
- Frisancho AR. Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status. Ann Harbor, 1990.
- Johnson TG, Roche AF, Marroff. Anthropometric Standardization Reference Manual. Human Kinetics, Illinois, 1988.
- Lanepq. Manual de técnicas antropométricas. <http://www.fnp.usp.br/lanepq>



- * Soltar a pressão exercida sobre as hastes do calibrador.
- * Manter a pressão sobre a dobra.
- * Realizar a leitura.
- * Registrar a medida.
- * Repetir o processo para obtenção de uma segunda medida.

Atenção!

- * **Técnica**
- * Não realizar o pinçamento na superfície lateral do braço.
- * O sentido da dobra deve ser vertical.
- * Calibrador deve entrar perpendicularmente em relação à dobra.
- * Soltar a pressão exercida sobre as hastes do calibrador, enquanto exerce pressão sobre a dobra.
- * Leitura e registro de medida.

Bibliografia Consultada

- * **Referência adotada:**
- 1. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric Standardization Reference Manual. Human Kinetics Books, 1988.
- * **Imagens:**
- 1. Cogill B. Guide de mesure des indicateurs anthropométriques. Projet de Assistance Technique pour l'Alimentation et la Nutrition, Académie pour le Développement de l'Éducation, Washington, D.C., 2003. Original: United Nations, department of Technical Cooperation for Development and Statistical Office. How to Weigh and Measure Children: Assessing the Nutritional Status of Young in Household Surveys. New York, 1986.
- 2. Lanpop. Manual de técnicas antropométricas. <http://www.fsp.usp.br/lanpop>.

Elaborado por: Iolanda Karle Santana dos Santos

Professor responsável: Wolney Lisboa Conde

Imagens reproduzidas com autorização.

LANPOP

Faculdade de Saúde Pública
Departamento de Nutrição
Av. Dr. Arnaldo, 715
Cerqueira César

Tel: 30617878

Fax: 30617705

Correio eletrônico: lanpop@fsp.usp.br

Endereço eletrônico: www.fsp.usp.br/lanpop

Instruções Programadas em Técnicas de Medidas Antropométricas

Módulo I

"Introdução: Aquisição de conhecimento em técnicas de medidas antropométricas"

Medidas Antropométricas Dobra Cutânea Tricipital

www.fsp.usp.br/lanpop

Dobra Cutânea Tricipital

- ◆ **Definição:** Medida da espessura de duas camadas de pele e a gordura subcutânea adjacente.



Referência 2.

- ◆ **Equipamento:**
- * Calibrador.
- * Escala em mm.

- ◆ **Indivíduo:**

- * Braço direito livre de roupas.
- * Indivíduo ereto.
- * Pés afastados.
- * Peso distribuído em ambos os pés.

Ponto Médio

- ◆ **Definição:** Distância da projeção lateral do acrômio e a margem inferior do olécrano dividida por dois.

- ◆ **Técnica:**

- * O braço deve formar um ângulo de 90° com o antebraço, a mão voltada para cima.
- * Localizar e marcar o acrômio.
- * Localizar e marcar o olécrano.



Referência 1.

- * Medir a distância entre o acrômio e o olécrano.
- * Calcular e marcar o ponto médio.



Referência 1.

Dobra Cutânea Tricipital

- ◆ **Técnica:**

- * Braço estendido com a palma da mão voltada para o corpo.
- * Pinçamento:
 - Face posterior do braço.
 - 1 cm acima do ponto médio.
 - Utilizar o polegar e o indicador da mão esquerda.
 - Os dedos devem formar uma abertura de 6 a 8 cm.
 - Pinçar uma dobra de espessura dupla.
- * Dobra:
 - Sentido vertical.



Referência 2.

- * Colocar o calibrador:
 - Segurar com a mão direita.
 - Perpendicular à dobra.
 - Sobre o ponto médio.

- * Manter a dobra pressionada enquanto a medida é realizada.
- * Aguardar entre 2 e 4 segundos, até que o ponteiro se estabilize.
- * Realizar a leitura.
- * Registrar a medida.
- * Repetir o processo para obtenção de uma segunda medida.

Atenção!

- ♦ Técnica
 - * No pinçamento da dobra, o antropometrista não deve pinçar tecido muscular ou deixar de pinçar tecido adiposo adjacente.
 - * O sentido da dobra deve ser diagonal.
 - * Calibrador deve entrar perpendicular à dobra.
 - * Soltar a pressão exercida sobre as hastes do calibrador, enquanto exerce pressão sobre a dobra.
- ♦ Leitura e registro de medida.

Bibliografia Consultada

- ♦ Referência adotada:
 1. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric Standardization Reference Manual. Human Kinetics Books, 1988.
- ♦ Imagens:
 1. Lanpop. Manual de técnicas antropométricas. <http://www.fsp.usp.br/lanpop>.
 2. National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). Anthropometry Procedures Manual, 2000.

Elaborado por: Iolanda Karla Santana dos Santos
 Professor responsável: Wolney Lisboa Conde
 Imagens reproduzidas com autorização.

LANPOP

Faculdade de Saúde Pública
 Departamento de Nutrição
 Av. Dr. Arnaldo, 715
 Cerqueira César

Tel: 30617878
 Fax: 30617705
 Correio eletrônico: lanpop@fsp.usp.br
 Endereço eletrônico: www.fsp.usp.br/lanpop

Instruções Programadas em Técnicas de Medidas Antropométricas

Módulo I

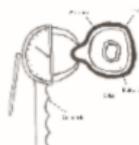
"Introdução: Aquisição de conhecimento em técnicas de medidas antropométricas"

Medida Antropométricas Dobra Cutânea Subescapular

www.fsp.usp.br/lanpop

Dobra Cutânea Subescapular

- ♦ Definição: Medida da espessura de duas camadas de pele e a gordura subcutânea adjacente.



Referência 1.

- ♦ Equipamento:
 - * Calibrador.
 - * Escala em mm.

- ♦ Indivíduo:
 - * Indivíduo ereto.
 - * Pés afastados.
 - * Peso distribuído em ambos os pés.
 - * Lado direito das costas livre de roupas.
 - * Braços ao lado do corpo.
 - * Ombros relaxados.

- ♦ Técnica:
 - * Localizar o ângulo inferior da escápula



Referência 1.

- * Pinçamento:
 - Apalpar a escápula do indivíduo.



Referência 1.

- Utilizar o polegar e o indicador da mão esquerda.
- Os dedos devem formar uma abertura de 6 a 8 cm.
- Pinçar uma dobra de espessura dupla.
- * Dobra:
 - Sentido diagonal.
- * Segurar firmemente a dobra entre o polegar e o indicador.



Referência 2.

- * Colocar o calibrador:
 - Cerca de 1 cm do pinçamento.
 - Perpendicular à dobra.
- * Soltar a pressão exercida sobre as hastes do calibrador.

ANEXO D – Tabela percentilar para dobra cutânea tricípital (DCT)

PADRÕES PARA PREGA CUTÂNEA DO TRÍCEPS (mm)

IDADE	MASCULINO							FEMININO						
	5	10	25	50	75	90	95	5	10	25	50	75	90	95
1 - 1,9	6	7	8	10	12	14	16	6	7	8	10	12	14	16
2 - 2,9	6	7	8	10	12	14	15	6	8	9	10	12	15	16
3 - 3,9	6	7	8	10	11	14	15	7	8	9	11	12	14	15
4 - 4,9	6	6	8	9	11	12	14	7	8	8	10	12	14	16
5 - 5,9	6	6	8	9	11	14	15	6	7	8	10	12	15	18
6 - 6,9	5	6	7	8	10	13	16	6	6	8	10	12	14	16
7 - 7,9	5	6	7	9	12	15	17	6	7	9	11	13	16	18
8 - 8,9	5	6	7	8	10	13	16	6	8	9	12	15	18	24
9 - 9,9	6	6	7	10	13	17	18	8	8	10	13	16	20	22
10 - 10,9	6	6	8	10	14	18	21	7	8	10	12	17	23	27
11 - 11,9	6	6	8	11	16	20	24	7	8	10	13	18	24	28
12 - 12,9	6	6	8	11	14	22	28	8	9	11	14	18	23	27
13 - 13,9	5	5	7	10	14	22	26	8	8	12	15	21	26	30
14 - 14,9	4	5	7	9	14	21	24	9	10	13	16	21	26	28
15 - 15,9	4	5	6	8	11	18	24	8	10	12	17	21	25	32
16 - 16,9	4	5	6	8	12	16	22	10	12	15	18	22	26	31
17 - 17,9	5	5	6	8	12	16	19	10	12	13	19	24	30	37
18 - 18,9	4	5	6	9	13	20	24	10	12	15	18	22	26	30
19 - 24,9	4	5	7	10	15	20	22	10	11	14	18	24	30	34
25 - 34,9	5	6	8	12	16	20	24	10	12	16	21	27	34	37
35 - 44,9	5	6	8	12	16	20	23	12	14	18	23	29	35	38
45 - 54,9	6	6	8	12	15	20	25	12	16	20	25	30	36	40
55 - 64,9	5	6	8	11	14	19	22	12	16	20	25	31	36	38
65 - 74,9	4	6	8	11	15	19	22	12	14	18	24	29	34	36

Fonte: Frisancho, 1990

Valor encontrado	Classificação
$\leq P5$	Desnutrido
P5-P10	Risco de desnutrição
P10 – P85	Eutrofia
P85 – P90	Sobrepeso
$\geq P90$	Obeso

ANEXO E – Tabela de percentis para dobra cutânea subescapular (DCSE)

Table IV.17.
Means, standard deviations, and percentiles of subscapular skinfold thickness (mm) by age for males and females of 1 to 74 years

Age (yrs)	N	Mean	SD	Percentiles								
				5	10	15	25	50	75	85	90	95
Males												
1.0-1.9	681	6.3	1.9	4.0	4.0	4.5	5.0	6.0	7.0	8.0	8.5	10.0
2.0-2.9	677	5.9	2.0	3.5	4.0	4.0	4.5	5.5	7.0	7.5	8.5	10.0
3.0-3.9	716	5.5	1.8	3.5	4.0	4.0	4.5	5.0	6.0	7.0	7.0	9.0
4.0-4.9	708	5.3	1.8	3.0	3.5	4.0	4.0	5.0	6.0	6.5	7.0	8.0
5.0-5.9	677	5.2	2.4	3.0	3.5	4.0	4.0	5.0	5.5	6.5	7.0	8.0
6.0-6.9	298	5.5	3.3	3.0	3.5	3.5	4.0	4.5	5.5	6.5	8.0	13.0
7.0-7.9	312	5.7	3.3	3.0	3.5	4.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	12.0
8.0-8.9	296	6.0	3.8	3.0	3.5	4.0	4.0	5.0	6.0	7.5	9.0	12.5
9.0-9.9	322	6.8	4.8	3.0	3.5	4.0	4.0	5.0	7.0	9.5	12.0	14.5
10.0-10.9	334	7.6	5.5	3.5	4.0	4.0	4.5	6.0	8.0	11.0	14.0	19.5
11.0-11.9	324	9.0	7.6	4.0	4.0	4.0	5.0	6.0	9.0	15.0	18.5	26.0
12.0-12.9	349	8.9	7.1	4.0	4.0	4.5	5.0	6.0	9.5	15.0	19.0	24.0
13.0-13.9	350	8.8	7.0	4.0	4.0	5.0	5.0	6.5	9.0	13.0	17.0	25.0
14.0-14.9	358	9.0	6.5	4.0	5.0	5.0	5.5	7.0	9.0	12.0	15.5	22.5
15.0-15.9	357	9.4	6.8	5.0	5.0	5.5	6.0	7.0	10.0	13.0	16.0	22.0
16.0-16.9	349	10.1	6.2	5.0	6.0	6.0	7.0	8.0	11.0	14.0	16.0	22.0
17.0-17.9	339	10.1	6.0	5.0	6.0	6.0	7.0	8.0	11.0	14.0	17.0	21.5
18.0-24.9	1750	13.4	7.6	6.0	7.0	7.0	8.0	11.0	16.0	20.0	24.0	30.0
25.0-29.9	1247	15.5	8.2	7.0	7.0	8.0	9.0	13.0	20.0	24.5	26.5	31.0
30.0-34.9	938	17.3	8.5	7.0	8.0	9.0	11.0	15.5	22.0	25.5	29.0	33.0
35.0-39.9	835	17.6	8.3	7.0	8.0	9.5	11.0	16.0	22.5	25.5	28.0	33.0
40.0-44.9	818	17.4	8.2	7.0	8.0	9.0	11.5	16.0	22.0	25.5	29.5	33.0
45.0-49.9	860	18.2	8.6	7.0	8.0	9.5	11.5	17.0	23.5	27.0	30.0	34.5
50.0-54.9	872	17.7	8.4	7.0	8.0	9.0	11.5	16.0	22.5	26.5	29.5	34.0
55.0-59.9	802	17.6	8.1	6.5	8.0	9.5	11.5	16.5	23.0	26.0	28.5	32.0
60.0-64.9	1251	18.1	8.4	7.0	8.0	10.0	12.0	17.0	23.0	26.0	29.0	34.0
65.0-69.9	1770	16.8	8.2	6.0	7.5	8.5	10.5	15.0	21.5	25.0	28.0	32.5
70.0-74.9	1247	16.3	7.8	6.5	7.0	8.0	10.3	15.0	21.0	25.0	27.5	31.0
Females												
1.0-1.9	622	6.5	2.0	4.0	4.0	4.5	5.0	6.0	7.5	8.5	9.0	10.0
2.0-2.9	615	6.4	2.3	4.0	4.0	4.5	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.5
3.0-3.9	652	6.1	2.2	3.5	4.0	4.0	5.0	5.5	7.0	7.5	8.5	10.0
4.0-4.9	681	6.0	2.3	3.5	4.0	4.0	4.5	5.5	7.0	8.0	9.0	10.5
5.0-5.9	672	6.2	3.0	3.5	4.0	4.0	4.5	5.0	7.0	8.0	9.0	12.0
6.0-6.9	296	6.3	3.4	3.5	4.0	4.0	4.5	5.5	7.0	8.0	10.0	11.5
7.0-7.9	330	6.7	3.5	3.5	4.0	4.0	4.5	6.0	7.5	9.5	11.0	13.0
8.0-8.9	276	7.8	5.8	3.5	4.0	4.0	5.0	6.0	8.0	11.5	14.5	21.0
9.0-9.9	322	9.0	6.5	4.0	4.5	5.0	5.0	6.5	9.5	13.0	18.0	24.0
10.0-10.9	329	9.7	6.5	4.0	4.5	5.0	5.5	7.0	11.5	16.0	19.5	24.0
11.0-11.9	300	10.7	7.6	4.5	5.0	5.0	6.0	8.0	12.0	16.0	20.0	28.5
12.0-12.9	323	11.5	7.7	5.0	5.5	6.0	6.5	9.0	13.0	17.0	22.0	30.0
13.0-13.9	360	12.3	7.8	5.0	6.0	6.0	7.0	10.0	15.5	19.0	23.0	26.5
14.0-14.9	370	13.0	7.7	6.0	6.0	7.0	7.5	10.0	16.0	20.5	25.0	30.0
15.0-15.9	308	13.0	7.5	6.0	7.0	7.5	8.0	10.0	15.0	20.0	23.0	28.0
16.0-16.9	343	14.7	8.7	7.0	7.5	8.0	9.0	11.5	16.5	24.0	26.0	34.0
17.0-17.9	291	15.4	8.9	6.0	7.0	7.5	9.0	12.5	19.0	24.5	28.0	34.0
18.0-24.9	2587	16.1	9.4	6.5	7.0	8.0	9.5	13.0	20.0	25.5	29.0	36.0
25.0-29.9	1913	17.5	10.4	6.5	7.0	8.0	10.0	14.0	23.0	29.0	33.0	38.5
30.0-34.9	1615	19.7	11.7	6.5	7.5	8.5	10.5	16.0	26.5	32.5	37.0	43.0
35.0-39.9	1446	20.6	11.6	7.0	8.0	9.0	11.0	18.0	28.5	34.0	36.5	43.0
40.0-44.9	1382	20.9	11.4	6.5	8.0	9.0	11.5	19.0	28.5	34.0	37.0	42.0
45.0-49.9	956	21.8	11.4	7.0	8.5	10.0	12.5	20.0	29.5	34.0	37.5	43.5
50.0-54.9	995	23.0	11.4	7.0	9.0	11.0	14.0	21.9	30.0	35.0	39.0	43.5
55.0-59.9	870	23.2	11.7	7.0	9.0	11.0	13.5	22.0	31.0	35.0	38.0	45.0
60.0-64.9	1376	22.8	11.3	7.5	9.0	11.0	14.0	21.5	30.5	35.0	38.0	43.0
65.0-69.9	1933	21.4	10.6	7.0	8.0	10.0	13.0	20.0	28.0	33.0	36.0	41.0
70.0-74.9	1460	20.5	10.1	6.5	8.5	10.0	12.0	19.5	27.0	32.0	35.0	38.5

ANEXO F – Tabela de percentis para circunferência do braço (CB)

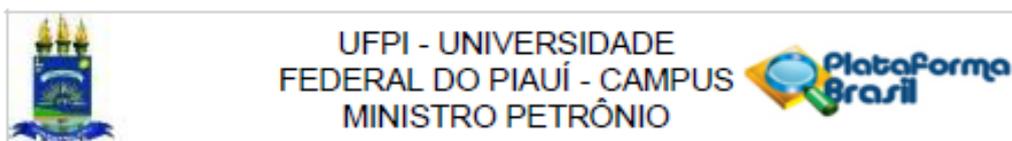
Table IV.10.
Means, standard deviations, and percentiles of upper arm circumference (cm) by age for males and females of 1 to 74 years

Age (yrs)	N	Mean	SD	Percentiles								
				5	10	15	25	50	75	85	90	95
Males												
1.0-1.9	681	16.1	1.2	14.2	14.7	14.9	15.2	16.0	16.9	17.4	17.7	18.2
2.0-2.9	672	16.4	1.4	14.3	14.8	15.1	15.5	16.3	17.1	17.6	17.9	18.6
3.0-3.9	715	16.9	1.4	15.0	15.3	15.5	16.0	16.8	17.6	18.1	18.4	19.0
4.0-4.9	708	17.2	1.4	15.1	15.5	15.8	16.2	17.1	18.0	18.5	18.7	19.3
5.0-5.9	676	17.7	1.8	15.5	16.0	16.1	16.6	17.5	18.5	19.1	19.5	20.5
6.0-6.9	298	18.3	2.1	15.8	16.1	16.5	17.0	18.0	19.1	19.8	20.7	22.8
7.0-7.9	312	19.0	2.1	16.1	16.8	17.0	17.6	18.7	20.0	21.0	21.8	22.9
8.0-8.9	296	19.6	2.3	16.5	17.2	17.5	18.1	19.2	20.5	21.6	22.6	24.0
9.0-9.9	322	20.7	2.7	17.5	18.0	18.4	19.0	20.1	21.8	23.2	24.5	26.0
10.0-10.9	333	21.8	3.0	18.1	18.6	19.1	19.7	21.1	23.1	24.8	26.0	27.9
11.0-11.9	324	22.8	3.4	18.5	19.3	19.8	20.6	22.1	24.5	26.1	27.6	29.4
12.0-12.9	349	23.8	3.5	19.3	20.1	20.7	21.5	23.1	25.4	27.1	28.5	30.3
13.0-13.9	350	24.8	3.3	20.0	20.8	21.6	22.5	24.5	26.6	28.2	29.0	30.8
14.0-14.9	358	26.2	3.5	21.6	22.5	23.2	23.8	25.7	28.1	29.1	30.0	32.3
15.0-15.9	359	27.3	3.2	22.5	23.4	24.0	25.1	27.2	29.0	30.3	31.2	32.7
16.0-16.9	350	28.7	3.2	24.1	25.0	25.7	26.7	28.3	30.6	32.1	32.7	34.7
17.0-17.9	339	29.0	3.4	24.3	25.1	25.9	26.8	28.6	30.8	32.2	33.3	34.7
18.0-24.9	1757	31.0	3.5	26.0	27.1	27.7	28.7	30.7	33.0	34.4	35.4	37.2
25.0-29.9	1255	32.1	3.5	27.0	28.0	28.7	29.8	31.8	34.2	35.5	36.6	38.3
30.0-34.9	945	32.7	3.4	27.7	28.7	29.3	30.5	32.5	34.9	35.9	36.7	38.2
35.0-39.9	838	32.9	3.3	27.4	28.6	29.5	30.7	32.9	35.1	36.2	36.9	38.2
40.0-44.9	830	32.9	3.2	27.8	28.9	29.7	31.0	32.8	34.9	36.1	36.9	38.1
45.0-49.9	871	32.7	3.4	27.2	28.6	29.4	30.6	32.6	34.9	36.1	36.9	38.2
50.0-54.9	882	32.4	3.4	27.1	28.3	29.1	30.2	32.3	34.5	35.8	36.8	38.3
55.0-59.9	809	32.3	3.3	26.8	28.1	29.2	30.4	32.3	34.3	35.5	36.6	37.8
60.0-64.9	1263	31.9	3.4	26.6	27.8	28.6	29.7	32.0	34.0	35.1	36.0	37.5
65.0-69.9	1773	31.1	3.4	25.4	26.7	27.7	29.0	31.1	33.2	34.5	35.3	36.6
70.0-74.9	1251	30.6	3.4	25.1	26.2	27.1	28.5	30.7	32.6	33.7	34.8	36.0
Females												
1.0-1.9	622	15.7	1.3	13.6	14.1	14.4	14.8	15.7	16.4	17.0	17.2	17.8
2.0-2.9	615	16.2	1.3	14.2	14.6	15.0	15.4	16.1	17.0	17.4	18.0	18.5
3.0-3.9	651	16.6	1.4	14.4	15.0	15.2	15.7	16.6	17.4	18.0	18.4	19.0
4.0-4.9	680	17.1	1.5	14.8	15.3	15.7	16.1	17.0	18.0	18.5	19.0	19.5
5.0-5.9	673	17.7	1.8	15.2	15.7	16.1	16.5	17.5	18.5	19.4	20.0	21.0
6.0-6.9	296	18.2	2.0	15.7	16.2	16.5	17.0	17.8	19.0	19.9	20.5	22.0
7.0-7.9	330	19.0	2.2	16.4	16.7	17.0	17.5	18.6	20.1	20.9	21.6	23.3
8.0-8.9	275	20.0	2.6	16.7	17.2	17.6	18.2	19.5	21.2	22.2	23.2	25.1
9.0-9.9	321	21.1	2.8	17.6	18.1	18.6	19.1	20.6	22.2	23.8	25.0	26.7
10.0-10.9	330	21.8	3.1	17.8	18.4	18.9	19.5	21.2	23.4	25.0	26.1	27.3
11.0-11.9	302	23.2	3.6	18.8	19.6	20.0	20.6	22.2	25.1	26.5	27.9	30.0
12.0-12.9	324	24.0	3.4	19.2	20.0	20.5	21.5	23.7	25.8	27.6	28.3	30.2
13.0-13.9	361	25.0	3.7	20.1	21.0	21.5	22.5	24.3	26.7	28.3	30.1	32.7
14.0-14.9	370	25.9	3.6	21.2	21.8	22.5	23.5	25.1	27.4	29.5	30.9	32.9
15.0-15.9	309	25.9	3.5	21.6	22.2	22.9	23.5	25.2	27.7	28.8	30.0	32.2
16.0-16.9	343	26.8	3.5	22.3	23.2	23.5	24.4	26.1	28.5	29.9	31.6	33.5
17.0-17.9	293	27.3	4.1	22.0	23.1	23.6	24.5	26.6	29.0	30.7	32.8	35.4
18.0-24.9	2591	27.5	4.0	22.4	23.3	24.0	24.8	26.8	29.2	31.2	32.4	35.2
25.0-29.9	1934	28.5	4.3	23.1	24.0	24.5	25.5	27.6	30.6	32.5	34.3	37.1
30.0-34.9	1630	29.6	4.7	23.8	24.7	25.4	26.4	28.6	32.0	34.1	36.0	38.5
35.0-39.9	1460	30.2	4.8	24.1	25.2	25.8	26.8	29.4	32.6	35.0	36.8	39.0
40.0-44.9	1398	30.6	4.8	24.3	25.4	26.2	27.2	29.7	33.2	35.5	37.2	38.8
45.0-49.9	968	30.9	5.0	24.2	25.5	26.3	27.4	30.1	33.5	35.6	37.2	40.0
50.0-54.9	1010	31.2	4.5	24.8	26.0	26.8	28.0	30.6	33.8	35.9	37.5	39.3
55.0-59.9	887	31.6	5.1	24.8	26.1	27.0	28.2	30.9	34.3	36.7	38.0	40.0
60.0-64.9	1394	31.4	4.6	25.0	26.1	27.1	28.4	30.8	34.0	35.7	37.3	39.6
65.0-69.9	1950	30.9	4.4	24.3	25.7	26.7	28.0	30.5	33.4	35.2	36.5	38.5
70.0-74.9	1465	30.5	4.3	23.8	25.3	26.3	27.6	30.3	33.1	34.7	35.8	37.5

Valor encontrado	Classificação
$\leq P5$	Desnutrido
P5-P10	Risco de desnutrição
P10 – P85	Eutrofia
P85 – P90	Sobrepeso
$\geq P90$	Obeso

APÊNDICES

APÊNDICE A – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE VITAMINA D E COBRE E CARGA PARASITÁRIA EM INDIVÍDUOS PORTADORES DE LEISHMANIOSE VISCERAL

Pesquisador: Isabel Oliveira Aires

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 45254821.2.0000.5214

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

Patrocinador Principal: CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO-CNPQ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.866.453

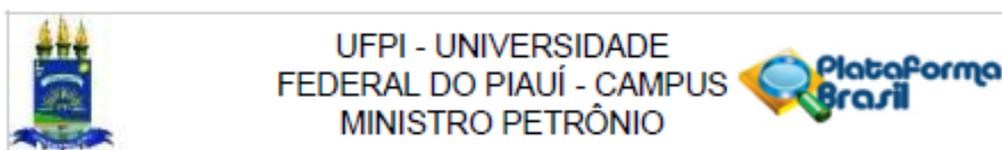
Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivos da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo "Informações Básicas da Pesquisa" (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO "ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE VITAMINA D E COBRE E CARGA PARASITÁRIA EM INDIVÍDUOS PORTADORES DE LEISHMANIOSE VISCERAL", de

20/06/2021) e/ou do Projeto Detalhado (30/03/2021): RESUMO, HIPÓTESE, METODOLOGIA, CRITÉRIOS DE INCLUSÃO, CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.

Resumo: Introdução: A leishmaniose visceral (LV) é uma doença causada por protozoários, parasitas do gênero *Leishmania*. A LV desenvolveu novas estratégias para atacar o sistema protetivo do organismo de mamíferos por meio de mecanismos efetores imunológicos inatos e adquiridos, e ainda há uma carência em medicamentos acessíveis para o tratamento da Leishmaniose. Diante disso, surge a necessidade de realizar mais estudos para descobrir terapias alternativas e viáveis para o tratamento da doença. **Objetivo:** Correlacionar as concentrações sanguíneas de vitamina D e cobre com a apresentação clínica e a carga parasitária de adultos acometidos por Leishmaniose Visceral. **Materiais e Métodos:** Será um estudo de caráter transversal, quantitativo, descritivo no Hospital Natan Portela da cidade de Teresina/PI, realizado com pessoas diagnosticadas com LV e tratadas no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela. A população de estudo será composta

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portela.
Bairro: Ininga **CEP:** 64.049-550
UF: PI **Município:** TERESINA
Telefone: (86)3237-2332 **Fax:** (86)3237-2332 **E-mail:** cep.ufpi@ufpi.edu.br



Continuação do Parecer: 4.866.453

por pessoas com LV diagnosticadas por método sorológico, parasitológico ou molecular. O teste molecular será realizado por meio da Reação de Cadeia Polimerase (PCR), e em seguida a carga parasitária será quantificada através das seguintes etapas: extração de DNA, quantificação de DNA e construção da curva padrão. O estado nutricional será avaliado e classificado por meio do Índice de Massa Corpórea (IMC) e dobras cutâneas. A dosagem de vitamina D será realizada pelo método de eletroquimioluminescência (Diasorin®) e o cobre por meio de um espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (720ICP/OES, Varian Inc., Estados Unidos). Em todas as análises serão considerados os testes bi-caudais e um nível de significância estatística de 0,05. Resultados esperados: O estudo proposto não apresenta riscos aos participantes. O estudo trará benefícios, sendo uma contribuição para futuras pesquisas envolvendo nutrição e leishmaniose, além da investigação futura para um potencial tratamento associado desses micronutrientes; e contribuição para realização de um prognóstico mais detalhado da LV. Hipótese: Os níveis de 25-hidroxicalciferol estão associados a carga parasitária e a gravidade da leishmaniose visceral? Os níveis de cobre estão associados a carga parasitária e a gravidade da leishmaniose visceral?

Objetivo Primário: Correlacionar as concentrações sanguíneas de vitamina D e cobre com a apresentação clínica e a carga parasitária de adultos acometidos por Leishmaniose Visceral.

Objetivo Secundário: Avaliar o estado nutricional das pessoas com LV; Quantificar os níveis de Vitamina D em pessoas com LV; Quantificar os níveis de cobre plasmático em pessoas com LV; Quantificar a carga parasitária pela Reação de Cadeia de Polimerase (PCR) em adultos com leishmaniose visceral.

Metodologia proposta: Será considerado caso de calazar sintomático o paciente que apresenta febre, esplenomegalia, emagrecimento ou palidez confirmado por um dos

seguintes critérios: 1. Sorológico (teste imunocromatográfico rK39); 2. Parasitológicos (pesquisa direta ou cultura de Leishmania, 3. Molecular (reação em cadeia da polimerase). AMOSTRAGEM: Assumindo que 90% dos participantes apresentem redução de vitamina D e que esta alteração seja 5% mais intensa nos pacientes mais graves ou nos pacientes com carga parasitária mais elevada, então uma amostra de 138 participantes

seria suficiente para detectar esta diferença com um nível de significância α de 0,05 e um poder de 80%. **DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE LV:** O teste molecular será realizado através da Reação de Cadeia de Polimerase (PCR), um método específico para o diagnóstico da LV, o qual permite identificar e/ou quantificar a presença do parasito independente do gênero ou espécie. Esta avaliação será exercida seguindo o protocolo do

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portela.
 Bairro: Ininga CEP: 64.049-550
 UF: PI Município: TERESINA
 Telefone: (86)3237-2332 Fax: (86)3237-2332 E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br



UFPI - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS
MINISTRO PETRÔNIO



Continuação do Parecer: 4.886.453

Laboratório de Pesquisa em Leishmaniose (LABLEISH) do Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela. QUANTIFICAÇÃO DA CARGA PARASITÁRIA: Extração de DNA - A medula óssea foi retirada de forma rotineira por punção do esterno ou da crista ilíaca. Foram armazenados

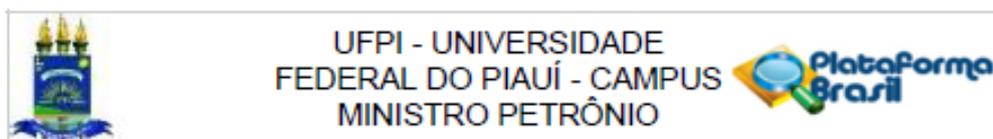
aproximadamente 500L e congelados a -80°C. A extração do DNA será realizada com o mini kit QIAamp DNA (Valencia, CA), de acordo com as instruções do fabricante. O DNA será eluído em 200L em tampão AE para ser armazenado a -20°. Quantificação de DNA - A quantificação de DNA será realizada com qPCR utilizando a tecnologia TaqMan. Serão utilizados primers e sondas desenhadas para DNA de minicírculo (kDNA) de L.

infantum nas reações, de acordo com Rolão et al (2004). Em seguida, será realizada a qPCR com amostra de DNA, Ensaios de Expressão Gênica TaqMan Custom (Applied Biosystems – ref. 4331348) e água ultrapura estéril. As reações ocorrerão em microplacas e processadas no equipamento StepOne Real – Time PCR System(Applied Biosystems, Foster City, CA), de acordo com o protocolo descrito por Mary et al (2004). Esses dados serão utilizados posteriormente para a construção da curva padrão. PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO NUTRICIONAL: A avaliação nutricional será baseada com o protocolo do Laboratório de Avaliação Nutricional de Populações – USP(LANPOP). Será obtido o Índice de Massa Corpórea –

IMC(Kg/m²), calculado a partir do valor do peso corporal dividido pela estatura ao quadrado, de acordo com a seguinte fórmula (OMS, 2000): Índice de Massa Corporal(Kg/m²) = Peso(Kg)/Altura(m²). A altura será mensurada com auxílio de um estadiômetro flexível e inelástico, com precisão de 0,1cm, fixada à parede, sem rodapé. O peso será aferido com auxílio de balança digital portátil, com capacidade de 150kg. Em seguida, a classificação do EN será realizada a partir dos pontos de corte de IMC para adultos, considerando Magreza(I, II e III), eutrofia, sobrepeso e obesidade(I, II, III). Para avaliação do comportamento da adiposidade subcutânea será realizada aferição das espessuras das dobras cutâneas tricipital(DCT) e subescapular(DSE) e tais medidas serão realizadas com uso de um adipômetro científico. Como referência para classificação da dobra cutânea tricipital será utilizada a tabela percentilar proposta por Frisancho (1990). PARÂMETROS BIOQUÍMICOS: para dosagem de

micronutrientes, será coletado sangue do paciente, por meio de punção venosa, por um profissional capacitado. VITAMINA D: Será realizada pelo método de eletroquimioluminescência(Diasorin®), em parceria com o laboratório de Micronutrientes da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo-SP. COBRE: As análises do cobre plasmático e eritrocitário serão feitas no Laboratório de Espectrometria de Emissão Atômica–(Embrapa Instrumentação Analítica), por meio de espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (720 ICP/OES, Varian Inc., Estados Unidos)(BAEWICZ et al., 2015; HARRINGTON et al., 2014; NIEDZIELSKI;

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portela.
Bairro: Ininga CEP: 64.049-550
UF: PI Município: TERESINA
Telefone: (86)3237-2332 Fax: (86)3237-2332 E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br



Continuação do Parecer: 4.898.453

SIEPAK, 2003).

Critério de Inclusão: Serão incluídos pacientes de ambos os sexos, entre 20 e 60 anos, sintomáticos, não tratados, sem história prévia de LV, admitidos no IDTNP no período de estudo, com hipótese diagnóstica de LV e submetidos a punção de medula óssea para pesquisa de amastigotas.

Critério de Exclusão: Presença outras comorbidades, como diabetes mellitus, cardiopatias, doenças renais e/ou ósseas e câncer. Serão desconsiderados os pacientes que façam uso de suplementos vitamínicos, gestantes e lactantes, indivíduos menores de 20 e acima de 60 anos, pacientes em uso de drogas antileishmânia por mais de 72 horas.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Correlacionar as concentrações sanguíneas de vitamina D e cobre com a apresentação clínica e a carga parasitária de adultos acometidos por Leishmaniose Visceral.

Objetivo Secundário:

Avaliar o estado nutricional das pessoas com LV;

Quantificar os níveis de Vitamina D em pessoas com LV;

Quantificar os níveis de cobre plasmático

em pessoas com LV;

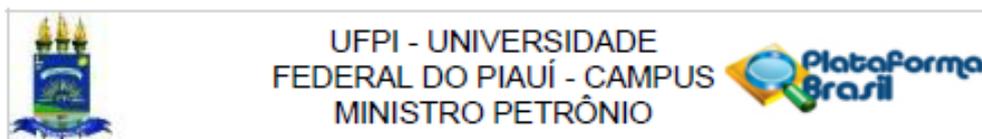
Quantificar a carga parasitária pela Reação de Cadeia de Polimerase (PCR) em adultos com leishmaniose visceral.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Esclareço que esta pesquisa acarreta os seguintes riscos:- Como se trata de estudo com uso de material biológico, as amostras de sangue coletadas serão utilizadas em futuras pesquisas, em caso de sobra de material;- Além disso, você nos fornecerá dados confidenciais e deve estar ciente que nós, pesquisadores, seremos portadores dessas informações. Porém, os mesmos riscos citados acima serão contornados, uma vez que o uso posterior do sangue para pesquisas será apenas sob o seu consentimento, além disso, este documento garante que nós iremos guardar todas as informações coletadas com o intuito de utilizar exclusivamente para fins de pesquisa, sendo assim, informações que se manterão como confidenciais. Nós garantimos, sob este termo, a confidencialidade e privacidade, proteção da imagem, afirmamos a não utilização dos dados em prejuízo dos participantes do estudo, inclusive em termos de autoestima, de prestígio, saúde e/ou

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portela.
Bairro: Ininga **Município:** TEREZINA **CEP:** 64.049-550
UF: PI **Telefone:** (86)3237-2332 **Fax:** (86)3237-2332 **E-mail:** cep.urpi@ufpi.edu.br



Continuação do Parecer: 4.688.453

econômico-financeiro.

Benefícios:

Contribuição para futuras pesquisas envolvendo nutrição e leishmaniose, além da investigação futura para um potencial tratamento associado desses micronutrientes; contribuição para realização de um prognóstico mais detalhado da LV.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante sobre a Leishmaniose visceral e Vitamina D e o Cobre.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Recomendações:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O protocolo de pesquisa apresentava Parecer pendente nº 4.688.118 emitido pelo CEP em 03/05/2021, as seguintes pendências:

1. Descrever nas Informações Básicas os riscos do estudo para os participantes e como será contornado - **PENDÊNCIA ATENDIDA.**

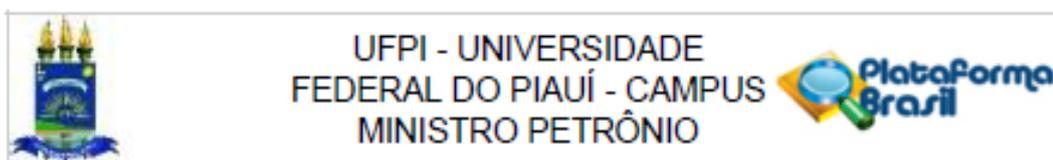
2. Como o projeto fala da utilização de material já coletado, explicar ou Anexar a aprovação ou comprovação de guarda dos materiais biológicos por meio de um Biorrepositório ou Biobanco - **PENDÊNCIA ATENDIDA.**

3. Na Metodologia proposta está descrito de forma minuciosa com o será a coleta de material para o diagnóstico de Leishmaniose visceral - sorológico, parasitológico e molecular, mas precisa descrever de forma clara e objetiva - **PENDÊNCIA ATENDIDA.**

3.1 Como o material será coletado (sangue) junto aos participantes para os exames de dosagem de Vitamina D e Cromo - **PENDÊNCIA ATENDIDA.**

3.2 Como será realizado os "PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO NUTRICIONAL": avaliação nutricional, Índice de Massa Corporal, aferições das espessuras das dobras cutâneas tricipital (DCT) e

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portella.
 Bairro: Ininga CEP: 64.049-550
 UF: PI Município: TERESINA
 Telefone: (86)3237-2332 Fax: (86)3237-2332 E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br



Continuação do Parecer: 4.868.453

subescapular (DSE)- PENDÊNCIA ATENDIDA.

4. Elaborar um TCLE (ver modelo no site do CEP da UFPI), no projeto básico está anexado um TCLE, mas é necessário rever e modificar - PENDÊNCIA ATENDIDA.

5. Anexar o Instrumento e coleta de dados e o cronograma de execução da pesquisa - PENDÊNCIA ATENDIDA.

Dessa forma, encontra-se de acordo com a Resolução 466/2012, apto para ser desenvolvido parecer de Aprovado.

Em atendimento as Resoluções CNS nº 466/2012 e 510/2016, cabe ao pesquisador responsável pelo presente estudo elaborar e apresentar ao CEP RELATÓRIOS PARCIAIS (semestrais) e FINAL. Os relatórios compreendem meio de acompanhamento pelos CEP, assim como outras estratégias de monitoramento, de acordo com o risco inerente à pesquisa. O relatório deve ser enviado pela Plataforma Brasil em forma de "notificação". Os modelos de relatórios que devem ser utilizados encontram-se disponíveis na homepage do CEP/UFPI (<https://www.ufpi.br>)

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, a Comitê de Ética em Pesquisa – CEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação protocolo de pesquisa.

Solicita-se que seja enviado ao CEP/UFPI/CMPP o relatório parcial e o relatório final desta pesquisa. Os modelos encontram-se disponíveis no site: <http://ufpi.br/cep>

1ª Em atendimento as Resoluções CNS nº 466/2012 e 510/2016, cabe ao pesquisador responsável pelo presente estudo elaborar e apresentar ao CEP RELATÓRIOS PARCIAIS (semestrais) e FINAL. O relatório deve ser enviado pela Plataforma Brasil em forma de "notificação";

2ª Qualquer necessidade de modificação no curso do projeto deverá ser submetida à apreciação do CEP, como EMENDA. Deve-se aguardar parecer favorável do CEP antes de efetuar a/s modificação/ões.

3ª Justificar fundamentadamente, caso haja necessidade de interrupção do projeto ou a não

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portela.
 Bairro: Ininga CEP: 64.049-550
 UF: PI Município: TERESINA
 Telefone: (86)3237-2332 Fax: (86)3237-2332 E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br



UFPI - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS
MINISTRO PETRÔNIO



Continuação do Parecer: 4.898.453

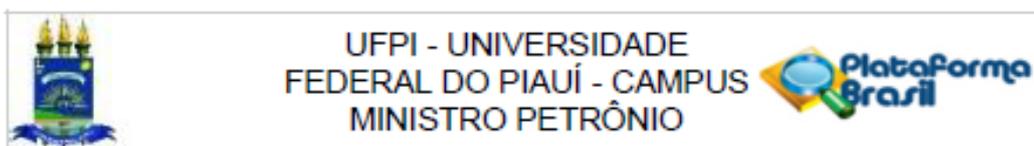
publicação dos resultados.

4* O Comitê de Ética em Pesquisa não analisa aspectos referentes a direitos de propriedade intelectual e ao uso de criações protegidas por esses direitos. Recomenda-se que qualquer consulta que envolva matéria de propriedade intelectual seja encaminhada diretamente pelo pesquisador ao Núcleo de Inovação Tecnológica da Unidade.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1723466.pdf	20/06/2021 21:25:19		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tole_isabel_aires_cep.docx	20/06/2021 21:25:04	Isabel Oliveira Aires	Aceito
Outros	instrumento_de_coleta_de_dados_isabel.docx	23/05/2021 16:07:54	Isabel Oliveira Aires	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	termo_de_guarda_de_material_biologico_isabel.pdf	23/05/2021 16:07:16	Isabel Oliveira Aires	Aceito
Cronograma	cronograma_isabel_aires.docx	23/05/2021 16:06:58	Isabel Oliveira Aires	Aceito
Outros	declaracao_assinaturas_pos_pandemia.docx	05/04/2021 20:39:58	Isabel Oliveira Aires	Aceito
Outros	curriculo_carlos_henrique_nery_costa.pdf	05/04/2021 20:38:36	Isabel Oliveira Aires	Aceito
Outros	curriculo_dorcas_lamounier_costa.pdf	05/04/2021 20:38:14	Isabel Oliveira Aires	Aceito
Outros	curriculo_isabel_oliveira_aires.pdf	05/04/2021 20:37:50	Isabel Oliveira Aires	Aceito
Solicitação Assinada pelo Pesquisador Responsável	Carta_de_Encaminhamento_assinada.pdf	05/04/2021 20:37:16	Isabel Oliveira Aires	Aceito
Outros	termo_de_confidencialidade_isabel_aires.docx	05/04/2021 20:36:50	Isabel Oliveira Aires	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracao_pesquisadores_isabel.docx	05/04/2021 20:25:08	Isabel Oliveira Aires	Aceito

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portella.
 Bairro: Ininga CEP: 64.049-550
 UF: PI Município: TERESINA
 Telefone: (86)3237-2332 Fax: (86)3237-2332 E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br



Continuação do Parecer: 4.868.453

Declaração de Instituição e Infraestrutura	autorizacao_institucional_idtnp.doc	05/04/2021 20:24:04	Isabel Oliveira Aires	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_isabel_cep.pdf	30/03/2021 10:18:18	Isabel Oliveira Aires	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_isabel.pdf	29/03/2021 17:53:20	Isabel Oliveira Aires	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

TERESINA, 26 de Julho de 2021

Assinado por:

Raimundo Nonato Ferreira do Nascimento
(Coordenador(a))

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portella.
 Bairro: Ininga CEP: 64.049-550
 UF: PI Município: TERESINA
 Telefone: (86)3237-2332 Fax: (86)3237-2332 E-mail: cep.urpi@ufpi.edu.br

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da pesquisa: Associação entre os níveis de vitamina D e Carga parasitária em indivíduos portadores de leishmaniose visceral

Pesquisadores responsáveis: Dr^a Dorcas Lamounier Costa (dorcas.lc@gmail.com) e Mestranda Isabel Oliveira Aires (i-aires@hotmail.com)

Telefone e Fax: (86) 99504- 2590 / (86) 3221 2424.

Informações ao voluntário ou ao seu representante legal

Estamos convidando você para participar como voluntário de um projeto de pesquisa desenvolvido por pesquisadores desta instituição de saúde. A pesquisa tem como objetivo geral: Correlacionar o estado nutricional e a carga parasitária em pacientes com leishmaniose visceral internados no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela - IDTNP.

Como objetivos específicos: Avaliar o estado nutricional das pessoas com LV; Avaliar os níveis de Vitamina D em pessoas com LV; Verificar os níveis de Carga parasitária em pessoas com LV. Quantificar a carga parasitária pela técnica de Reação de Cadeia de Polimerase (qPCR).

A leishmaniose visceral, também conhecida como calazar, é uma doença causada por um parasito chamado leishmania que infecta o ser humano por meio da picada de um inseto chamado flebótomo (também conhecido como mosquito palha). O doente apresenta febre, palidez, emagrecimento, cansaço e crescimento do abdômen. O diagnóstico é feito pelo exame do material da medula óssea, que é a parte interior de um dos ossos do corpo, geralmente da bacia ou do tórax. O diagnóstico pode também ser feito por exame de sangue. A doença tem cura, mas pode ser grave e pode matar se não for tratada.

Descrição do estudo

Serão convidados para participar desta pesquisa homens, mulheres, crianças com calazar confirmado, atendidos no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella. Cada participante será examinado pelo médico e pelo nutricionista no início do tratamento. Uma amostra de sangue será colhida para dosagem de vitaminas. Uma amostra da medula óssea será armazenada para ao final do estudo, realizar o exame que mede a quantidade de micróbios. As coletas de sangue e da medula óssea já fazem parte dos exames que o médico vai solicitar de forma que não haverá procedimento além do recomendado para o tratamento. Além disso, será realizada a avaliação antropométrica que incluirá a aferição do peso, altura, circunferência do braço, circunferência da cintura e dobras cutâneas tricipital e subescapular. A pessoa que participar da pesquisa será acompanhada pelo médico conforme as melhores recomendações nacionais. Você receberá uma via deste termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre a pesquisa de sua participação.

Riscos possíveis

O participante do estudo será avaliado pelo médico clínico e pelo nutricionista que farão perguntas sobre as condições de vida e de saúde. Os exames que serão necessários serão colhidos no mesmo momento dos exames solicitados pelo médico.

Benefícios

O participante da pesquisa não terá nenhum benefício direto por participar desta pesquisa. O tratamento do calazar é garantido pelo Ministério da Saúde a todas as pessoas. Os pesquisadores se esforçarão para colaborar durante o período de hospitalização para assegurar que o tratamento seja bem conduzido.

Armazenamento de amostras biológicas para uso em pesquisas futuras

Ao término desta pesquisa, as amostras de sangue e medula dos ossos que sobraem será guardado no laboratório de Leishmanioses para que possam ser utilizadas em novas pesquisas de interesse para o conhecimento do calazar.

Observações complementares

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato:

Comitê de Ética em Pesquisa – UFPI - Campus Universitário Ministro Petrônio Portella - Bairro Ininga. Centro de Convivência L09 e 10- CEP: 64.049-550. Teresina–PI. Tel.: (86) 3237.2332. E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br

Dados de identificação do participante

Nome: _____ N° no estudo: _____

Sexo: M () F () Endereço: _____

Bairro: _____ Cidade _____ Estado: _____

CEP _____ Telefone: () _____

Responsável legal _____ Sexo: M () F ()

Grau de parentesco _____

Termo de consentimento livre e esclarecido

Eu, _____, antes de dar o consentimento assinando este documento, afirmo que fui suficientemente informado (a) de todo o estudo, os inconvenientes, os perigos e os eventos adversos que podem acontecer. Eu conversei diretamente com profissional de saúde envolvido no estudo que respondeu todas as minhas perguntas satisfatoriamente em relação ao estudo e voluntariamente aceito a participação. Eu autorizo os pesquisadores a utilizarem as anotações médicas do prontuário para esta pesquisa. Autorizo ainda o armazenamento de amostras biológicas obtidas durante este estudo para a realização de pesquisas futuras.

Nome do voluntário

Assinatura ou impressão digital do voluntário

____/____/____ às _____ horas
Data Hora

Declaração da testemunha:

Eu presenciei a explicação acima descrita, posso confirmar a oportunidade concedida ao voluntário de fazer perguntas e a assinatura do termo.

Nome da testemunha

Assinatura da testemunha

____/____/____ às _____ horas
Data Hora

Declaração do investigador:

Eu expliquei o objetivo deste estudo ao responsável. No melhor do meu conhecimento, ele entendeu o objetivo, procedimentos, riscos e benefícios deste estudo. Declaro também que o paciente recebeu uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Nome do investigador

Assinatura do investigador

____/____/____ às _____ horas
Data Hora

APÊNDICE C – Questionário estruturado

Identificação do domicílio e do residente

- 1.1 Número do Paciente no Estudo 1.2 Data de nascimento: ___/___/___
- 1.3 Idade:..... 1.4 N° do prontuário no IDTNP: _____ 1.5 Bloco:.....
- 1.6 Enferm:..... 1.7 Leito:..... 1.8 Data da admissão: ___/___/___
- N° SUS..... 1.9 Data da alta: ___/___/___
- 1.10 Endereço.....
- 1.11 Bairro..... 1.12 Cidade de onde reside.....
- 1.13 () 1. Área urbana () 2. Área rural
- 1.14 Nome do responsável.....
- 1.15 Nome da vila/ favela/ conj. habitacional.....
1. 16 Sexo: F 1. () M 2. ()
- 1.17 Escolaridade dos pais: ()1. Ens fundam completo ()2. Ens fundam incompleto ()3. Ens médio incompleto ()4. Ens médio completo ()5. Ens superior completo ()6. Ens superior incompleto ()7. Não estuda/nunca estudou
- 1.18 Escolaridade do paciente: ()1. Ens fundam completo ()2. Ens fundam incompleto ()3. Ens médio incompleto ()4. Ens médio completo ()5. Ens superior completo ()6. Ens superior incompleto ()7. Não estuda/nunca estudou
- 1.19 Bairro onde exerce suas atividades profissionais:.....
1. 20 Já morou fora de Teresina? 1 () SIM 2 () NÃO 3 () NR
1. 21 Há quanto tempo mora no domicílio?
- 1.22 Profissão.....

Relação de Cães Existentes no Domicílio

Nº	NOME	IDADE	RAÇA	SEXO	TEMPO DE MORADIA	TESTE DE CALAZAR
1						
2						
3						
4						

Características da habitação:

- 3.1 Tipo da habitação: 1. () casa 2. () apartamento
- 3.2 Tipo de cercado: 1. () muro de alvenaria 2. () cerca 3. () não tem cercado
- 3.3 Paredes: 1. () tijolo rebocado 2. () tijolo sem reboco 3. () outro
- 3.4 Teto: 1. () telha/ laje 2. () madeira/ palha 3. () misto 4. () forro
- 3.5 Piso: 1. () cerâmica 2. () cimento 3. () madeira 4. () terra/ barro 5. () outro
- 3.6 Água: 1. () rede geral 2. () poço 3. () rio 4. () outro
- 3.7 Esgoto: 1. () rede geral 2. () fossa séptica 3. () fossa rudimentar 4. () vala
- 3.8 Plantas em casa: 1. () sim 2. () não
- 3.9 Destino do lixo: 1. () coleta pelo serviço de limpeza 2. () céu aberto

Anamnese Clínica

História clínica

Tempo de doença: _____

Perda de peso..... 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Se sim, quantificar: _____ kg

Febre..... 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Se sim duração da febre: _____

Calafrios..... 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Palidez..... 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Apatia.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Agitação / irritabilidade.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Fadiga / astenia.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Vômitos.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Sonolência.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Insônia	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Inapetência.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Aumento do volume abdominal.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Diarréia.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Constipação intestinal.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Dor abdominal.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Tosse.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Alteração da cor da urina.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Oligúria.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Queda de cabelo.....	1. Sim	2. Não.	9. Ignorado
Edema.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Petéquias.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Equimoses.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Epistaxe.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Sangramento gengival.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Sangramento em locais de punção.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Sangramento digestivo.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado
Hematúria macroscópica.....	1. Sim	2. Não	9. Ignorado

Exame físico

	Medição 1	Medição 2	Média
5. Peso Atual (kg)			
6. Peso usual ou habitual (kg)			
7. Estatura (cm)			

8. PA (mmHg)			
9. FC (bpm)			
10. FR (irpm)			
11. Circunferência braquial (cm)			
2. Dobra cutânea tricipital (cm)			
3. Dobra cutânea subescapular (cm)			
20. IMC (kg/m ²)			
21. Temperatura axilar máxima durante a internação (°C)			
22. Temperatura durante o exame (°C)			

Exame físico (pacientes acamados)		
<p>Peso Homens (kg)= (1,16 x AJ) + (0,37 x DCSE) + (0,98 x CP) + (1,73 x CB) – 81,69</p> <p>Peso Mulheres (kg)= (0,87 x AJ) + (0,40 x DCE) + (1,27 x CP) + (0,98 x CB) – 62,35</p> <p>Altura Homens (cm) = 64,19 – (0,04 x idade) + (2,02 x AJ)</p> <p>Altura Mulheres (cm)= 84,88 – (0,24 x idade) + (1,83 x AJ)</p> <p>Fonte: Chumlea <i>et al.</i>, 1987.</p>		
23. Peso Estimado (kg)		
24. Circunferência da panturrilha (cm)		
25. Altura do joelho (cm)		

Estado geral () 1. Bom 2. Regular 3. Comprometido

Consciente () 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Cor das mucosas () 1. Normocoradas 2. Palidez leve/moderada 3. Palidez acentuada

Icterícia () 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Perfusão periférica () 1. Boa 2. Cianose de extremidades 3. Cianose generalizada

Lesões de pele / Especificar () 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Se sim, especificar (tipo, localização, tamanho, forma, contornos, ulceração, elevação, secreção)_____--_____

Alopecia () 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Linfonodomegalia () 1. Ausente 2. Em 1-2 cadeias 3. Em mais de 3 cadeias

Hidratação () 1. Hidratado 2. Desidratado I 3. Desidratado II 4. Desidratado III 9. Ignorado

Edema () 1. Ausente 2. Edema de MMII 3. Edema generalizado

Dispneia () 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Se sim, retrações intercostais ou subdiafragmáticas () 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Ausulta pulmonar () Normal () Estertores crepitantes () Estertores bolhosos
() Sibilos () Roncos

Outras: _____

Ausulta cardíaca () Normal () Sopros () Arritmia () Ritmo de galope
() Frêmito () Atrito pericárdico () Abafamento de bulhas

Outras: _____

Esplenomegalia () 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Se sim, baço a _____ cm do RCE, na linha hemiclavicular, em direção à ponta

Hepatomegalia () 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Se sim, fígado a _____ cm do RCD e _____ cm do apêndice xifóide

Diagnóstico anterior de LV: () 1. Sim 2. Não 9. Ignorado Se sim, data: ___/___/___

Terapia utilizada

Terapia específica

() Antimonial de N metil glucamina. () Anfotericina B lipossomal

Terapia de suporte:

() Antibióticos. () Concentrado de hemácias () Concentrado de plaquetas

() Plasma () Vitamina K

Co-morbidades

() HIV / aids

() Uso de drogas imunossupressoras

() Câncer. Especificar: _____

() Transplante. Especificar: _____

() Doença renal crônica

() Doença hepática crônica

Outra(s): _____

Evolução clínica

() Infecção urinária () Insuficiência renal () Pneumonia () Convulsões

() Infecção cutânea ou do tecido celular subcutâneo () Sepsis () Hemorragia

Outra(s): _____

Número de dias de febre após o início da terapia específica: ____ dias

Tamanho do baço à saída do hospital: _____ cm do RCE

Tamanho do fígado à saída do hospital: _____ cm do RCD

() Alta hospitalar com melhora

() Alta hospitalar sem melhora

() Transferência para UTI

() Transferência para outro serviço

() Óbito

Em caso de óbito, data do óbito: ___/___/___ Causa mortis: _____

Comentários: _____

Avaliação laboratorial

Exames Bioquímicos	Valores normais	Dia ___/___/___
Hemácias	Homens: 4,3 a 5,7 x 10 ⁶ Mulheres e crianças: 3,9 a 5,3 x 10 ⁶	
Hemoglobina	Homens: 13,50 a 18,00g/dL Mulheres e crianças: 12,00 a 16,40/dL	
Hematócrito	Homens: 40 a 54 % Mulheres e crianças: 36 a 47 %	

VGM	Normal: 76,0 – 96,0 μ^3	
HGM	Normal: 27,0 – 32,0 μ^3	
CHGM	Normal: 32,0 – 36,0 %	
Leucócitos	Criança: 4.000 a 10.000/mm ³ Adultos: 4.000 a 9.000/mm ³	
Pro, meta e mielócitos	0\%	
Bastonetes	1-5\%	
Segmentados	Criança: 30 a 55\% Adultos: 50 a 70\%	
Neutrófilos	40-80% 1800-8000/mm ³	
Eosinófilos	Criança: 1 a 5\% Adultos: 1 a 4	
Basófilos	0-1\%	
Linfócitos	Criança: 30 a 45\% Adultos: 20 a 45\%	
Monócitos	0\%-2 %	
Plaquetas	Criança: 150.000 a 430.000/mm ³ Adultos: 150.000 a 400.000/mm ³	
AST (TGO)	Homens: <37U/I. Mulheres: <31U/I	
ALT (TGP)	Homens: < 40U/I Mulheres: <31U/I	
Creatinina	0,4 – 1,3 mg/dL	
Ureia	15 a 45 mg/dL	
Amilase	Até 220 u/L	
Proteínas totais	6,0 a 8,0 g/dL	
Albumina	3,5 a 5,5 g/dL	
Globulinas	2,0 a 3,2 g/dL	
Bilirrubina direta	Até 0,4 mg/dL	
Bilirrubina indireta	Até 0,8 mg/dL	
VHS	<10	

