

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E SAÚDE

**CARLA RIAMA LOPES DE PÁDUA MOURA**

**PARASITISMO CUTÂNEO EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE VISCERAL EM  
ÁREA ENDÊMICA**

**TERESINA**

**2017**

**CARLA RIAMA LOPES DE PÁDUA MOURA**

**PARASITISMO CUTÂNEO EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE VISCERAL EM  
ÁREA ENDÊMICA**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Saúde da Universidade Federal do Piauí para obtenção do título de Mestre em Ciências e Saúde**

**Área de concentração: Métodos Diagnósticos e Análise das Condições de Saúde**

**Linha de Pesquisa: Investigação para Diagnóstico em Saúde**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Dorcas Lamounier Costa**

**Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Henrique Nery Costa**

**TERESINA**

**2017**

**Universidade Federal do Piauí**  
**Serviço de Processamento Técnico**  
**Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde**

M929p Moura, Carla Riama Lopes de Pádua.  
Parasitismo cutâneo em pacientes com leishmaniose visceral em área  
endêmica / Carla Riama Lopes de Pádua Moura. -- 2017.  
97 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Pós-  
Graduação em Ciências e Saúde, 2017.

“Orientadora : Profa. Dra . Dorcas Lamounier Costa.”

Bibliografia

1. Leishmaniose visceral. 2. *Leishmania infantum*. 3. Calazar. 4. Pele.  
5. HIV. I. Título. II. Teresina – Universidade Federal do Piauí.

CDD 616.9364

**CARLA RIAMA LOPES DE PÁDUA MOURA**

**PARASITISMO CUTÂNEO EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE VISCERAL EM  
ÁREA ENDÊMICA**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Ciências e Saúde da Universidade Federal do Piauí para  
obtenção do título de Mestre em Ciências e Saúde**

**Área de concentração: Métodos Diagnósticos e Análise das  
Condições de Saúde**

**Linha de Pesquisa: Investigação para Diagnóstico em  
Saúde**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Dorcas Lamounier Costa  
Co-Orientador: Prof. Dr. Carlos Henrique Nery Costa**

**Data da aprovação: 26/09/17**

---

**Presidente**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Dorcas Lamounier Costa  
(UFPI-Presidente / orientador)

---

**1º Examinador**

Prof. Dr. Anastácio de Queiroz Sousa  
( UFC – Membro Externo)

---

**2º Examinador**

Prof. Dr. Lauro Lourival Lopes Filho  
( UFPI – Membro Interno)

---

**Suplente**

Prof. Dr. Carlos Henrique Nery Costa  
( UFPI – suplente)



A **Deus** por guiar meus passos e permitir essa conquista.

Aos meus pais, **Paulo e Nildes**, pelos conselhos e apoio em todos os momentos da minha vida e por sempre se esforçarem para tornar possível, o impossível.

Ao meu esposo **Rafael**, por todo amor, companheirismo, confiança e incentivo, sem os quais esse sonho não seria realizado.

Aos meus filhos **João e Mariah**, razões da minha vida e minhas maiores fontes de inspiração.



À **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Dorcas Lamounier Costa**, exemplo de ética e competência, pelo apoio, dedicação e ensinamentos constantes, e por ter orientado esta pesquisa com maestria.

Ao **Prof. Dr. Carlos Henrique Nery Costa**, grande incentivador deste trabalho, por ter me acolhido no Lableish e compartilhado suas experiências e conhecimentos, sempre demonstrando extrema segurança e habilidade na arte de ensinar.

Ao **Prof. Dr. Rafael Moura e Aline Ferro** pela análise das lâminas de imunohistoquímica.

Ao **Dr. Vladimir Costa**, pela atenção, disponibilidade e amparo diário e pela fundamental ajuda na realização do PCR real time.

À **Jossuely Mendes**, pelo auxílio constante na extração do DNA das amostras e na realização do PCR convencional e por ter tornado o desconhecido mundo do laboratório de pesquisa, um ambiente agradável.

À **Teresinha e Edilene** pelo cuidado e serenidade.

Aos **demais amigos do Lableish, Eliamara, Rebeca, Kátia, Amanda, Gabriel, Alexandre e Viviane**, pela convivência prazerosa e ajuda no desenvolvimento da pesquisa.

À **Universidade de São Paulo (USP)**, particularmente **Thaize e Lia Negrão**, pela prontidão e gentileza em prepararem as lâminas da imunohistoquímica.

Aos **professores do Mestrado** pelos ensinamentos e aos **amigos de turma** pelos momentos de alegria.

Aos **funcionários do Instituto de Doenças Tropicais Nathan Portella (IDTNP)**, em especial à **Amparo Pimentel** pela paciência e colaboração na seleção de participantes da pesquisa; à **Valmilda** pela assistência durante as biópsias cutâneas e ao **José Mendes** pela calma e empenho na separação dos prontuários.

Às técnicas em histologia do HU **Elizângela, Sammya e Luana** pelo cuidado no preparo dos blocos de parafina.

À **Vivi** pelos incentivos quando, por vezes, pensei em desistir deste sonho e por ter cuidado tão bem dos meus filhos nos momentos de minha ausência, possibilitando que eu tivesse tranquilidade para desenvolver esta tese.

À **Irene e Dadá** pelo auxílio diário.

Aos pacientes, sem os quais este estudo não seria possível.



## Resumo

MOURA, C.R.L.P. **Parasitismo cutâneo na leishmaniose visceral em área endêmica.** 2017. 97f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Saúde) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2017.

**Introdução:** Leishmaniose Visceral (LV) representa um problema de saúde pública em várias partes do mundo e 90% dos casos da América Latina ocorrem no Brasil, principalmente na região Nordeste, onde é causada pela *Leishmania infantum*. É transmitida pela picada de *Lutzomyia longipalpis* e o cão doméstico é considerado a principal fonte de infecção. Existem relatos de parasitismo dérmico em cães com calazar, porém, estudos análogos em humanos são escassos. No entanto, pessoas com LV causada *Leishmania infantum* foram capazes de infectar flebotomíneos em estudos experimentais. Pessoas infectadas que apresentam parasitismo cutâneo podem atuar como reservatório, permitir transmissão inter-humana e, caso o parasitismo dérmico persista após o tratamento, este sítio poderá ser responsável pela reativação da doença pós terapia. **Objetivo:** Avaliar o parasitismo cutâneo em humanos com LV americana em área endêmica. **Pacientes e métodos:** Estudo transversal, no qual os participantes foram selecionados de forma consecutiva. Foram incluídos pacientes com diagnóstico firmado de LV, internados no hospital de referência de enfermidades infecciosas do estado do Piauí “Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella” (IDTNP), Teresina-PI, no período de outubro de 2016 a abril de 2017. Em cada indivíduo foi aplicado questionário sobre dados clínicos e laboratoriais e foi coletada biópsia de pele morfológicamente normal do antebraço com *punch* 3mm para histopatológico e imuno-histoquímica. As variáveis foram analisadas descritivamente pelo software Stata versão 13.0. **Resultados:** Foram incluídos no estudo 22 pacientes de 5 meses a 78 anos de idade. Sete (31,8%) indivíduos eram infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Um paciente (4,5%), o qual era coinfestado por HIV, apresentou parasitismo cutâneo no exame histopatológico e na imuno-histoquímica, mas foi negativado após tratamento, mantendo-se ausente após sete meses. **Conclusão:** Existe parasitismo cutâneo em humanos com LV e este fato deve ser levado em consideração no acompanhamento clínico do paciente e em programas de controle da doença.

**Palavras-chave:** Leishmaniose visceral. *Leishmania infantum*. Calazar. Pele. HIV.



## Abstract

MOURA, C.R.L.P. **Cutaneous parasitism in visceral leishmaniasis in endemic area.** 2017. 97f. Dissertation (Master in Science and Health) – Health Sciences Center, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2017

**Introduction:** Visceral leishmaniasis (VL) is a public health problem in several parts of the world and 90% of Latin American cases occur in Brazil, mainly in the Northeast region, where it is caused by *Leishmania infantum*. It is transmitted by the bite of *Lutzomyia longipalpis* and the domestic dog is considered the main source of infection. There is reports of dermal parasitism in dogs with calazar, but similar studies in humans are scarce. However, people with VL caused *Leishmania infantum* were able to infect sand flies in experimental studies. Infected individuals with cutaneous parasitism can act as reservoir, allow inter-human transmission and, if cutaneous parasitism persists after treatment, this site could be responsible for the reactivation of post-therapy disease. **Objective:** To evaluate cutaneous parasitism in humans with American VL in an endemic area. **Patients and methods:** A cross-sectional study, in which the participants were selected consecutively. Patients with a confirmed diagnosis of VL were admitted to the reference hospital of infectious diseases of the state of Piauí, “Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella” (IDTNP), Teresina-PI, from October 2016 to April 2017. a questionnaire was applied on clinical and laboratory data and a morphologically normal skin biopsy was collected of the forearm with 3mm punch for histopathology and immunohistochemistry. The variables were analyzed descriptively by Stata software version 13.0. **Results:** Twenty-two patients, 5 months to 78 years of age, were included in the study. Seven (31.8%) individuals were infected with the Human Immunodeficiency Virus (HIV). One patient (4.5%), who was coinfecting with HIV, presented cutaneous parasitism on histopathological examination and immunohistochemistry, but was negative after treatment, remaining absent after seven months. **Conclusion:** There is cutaneous parasitism in humans with VL and this fact must be taken into account in the clinical follow-up of the patient and in disease control programs.

**Key words:** Visceral leishmaniasis. *Leishmania infantum*. Kala-azar. Skin. HIV



Figura 1 - Foto clínica do paciente que apresentou parasitismo cutâneo positivo.....	49
Figura 2 - Hematoxilina-eosina revelando epiderme sem alterações morfológicas e infiltrado inflamatório perivascular e perianexial em derme superficial e média do paciente número 8 em estudo (magnificação original x40 e x100) .....	50
Figura 3 - Hematoxilina-eosina revelando presença de amastigotas em fragmento de pele do paciente número 8 em estudo (magnificação original x400).....	51
Figura 4 - Imuno-histoquímica evidenciando positividade para anticorpo anti- <i>Leishmania</i> em fragmento de pele do paciente número 8 em estudo (magnificação original x400).....	52
Figura 5 - Hematoxilina-eosina revelando ausência de amastigotas em fragmento de pele do paciente número 8 após tratamento (magnificação original x400).....	53
Figura 6 - Imuno-histoquímica evidenciando negatividade para anticorpo anti- <i>Leishmania</i> em fragmento de pele do paciente número 8 após tratamento (magnificação original x400).....	54
Figura 7 - Hematoxilina-eosina revelando ausência de amastigotas em fragmento de pele do paciente número 8 após sete meses do término do tratamento (magnificação original x400).....	55



Tabela 1 -	Perfil sociodemográfico da população em estudo. Teresina 2016-2017.....	43
Tabela 2 -	Sinais e sintomas avaliados no momento da inclusão na pesquisa. Teresina 2016-2017.....	45
Tabela 3 -	Resultado dos exames realizados na admissão do paciente no estudo. Teresina 2016-2017.....	46
Tabela 4 -	Alterações laboratoriais significativas dentre os exames realizados na admissão do paciente no estudo. Teresina 2016-2017.....	47



AIDS	Síndrome da Imunodeficiência adquirida ( <i>Acquired Immunodeficiency syndrome</i> )
bpm	Batimentos por minuto
cm	Centímetro
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CE	Ceará
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
g/dL	Gramas por decilitro
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo
HU-UFPI	Hospital Universitário da Universidade Federal do Piauí
HIV	Vírus da Imunodeficiência humana ( <i>Human Immunodeficiency Virus</i> )
IDTNP	Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella
INR	Razão internacional normalizada
irpm	Incursões respiratórias por minuto
Kg	Quilograma
LV	Leishmaniose Visceral
LV/HIV	Coinfecção leishmaniose visceral e HIV
mg	Miligrama
mg/dL	Miligramas por decilitro
mL	Mililitro
mm <sup>3</sup>	Milímetro cúbico
mmHg	Milímetro de mercúrio
pH	Potencial hidrogeniônico
PKDL	Leishmaniose dérmica pós-calazar (Post-kala-azar dermal leishmaniasis)
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
qPCR	PCR quantitativo
RCD	Rebordo costal direito
RCE	Rebordo costal esquerdo
TGO	Transaminase glutâmico-oxalacética
TGP	Transaminase glutâmico-pirúvica

UFPI	Universidade Federal do Piauí
UI/L	Unidades por litro
VR	Valor de referência
WHO	<i>World Health Organization</i>



<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>22</b>
<b>1.1 Epidemiologia.....</b>	<b>23</b>
<b>1.2 Agente etiológico .....</b>	<b>24</b>
<b>1.3 Manifestações clínicas.....</b>	<b>24</b>
<b>1.4 Diagnóstico e tratamento .....</b>	<b>25</b>
<b>1.5 Coinfecção de leishmaniose visceral e HIV .....</b>	<b>26</b>
<b>1.6 Parasitismo cutâneo .....</b>	<b>28</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>31</b>
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>33</b>
<b>3.1 Objetivo geral .....</b>	<b>34</b>
<b>3.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>34</b>
<b>4 PACIENTES E MÉTODOS.....</b>	<b>35</b>
<b>4.1 Tipo de estudo e local de realização .....</b>	<b>36</b>
<b>4.2 População alvo .....</b>	<b>36</b>
<b>4.3 População fonte .....</b>	<b>36</b>
<b>4.4 Critérios de inclusão .....</b>	<b>36</b>
<b>4.5 Critérios de exclusão .....</b>	<b>36</b>
<b>4.6 Estudo dos casos.....</b>	<b>37</b>
<b>4.7 Coleta de amostras cutâneas.....</b>	<b>38</b>
<b>4.8 Imuno-histoquímica .....</b>	<b>38</b>
<b>4.8.1 Desparafinização a frio .....</b>	<b>38</b>
<b>4.8.2 Hidratação dos cortes.....</b>	<b>38</b>
<b>4.8.3 Recuperação antigênica .....</b>	<b>39</b>
<b>4.8.4 Bloqueio da peroxidase endógena e para ligações inespecíficas .....</b>	<b>39</b>
<b>4.8.5 Incubação com anticorpo primário (<i>Leishmania</i>).....</b>	<b>39</b>
<b>4.8.6 Incubação com anticorpo secundário específico ou bloqueio pós-</b>	

primário .....	39
4.8.7 Incubação com o complexo enzima-peroxidase ou com o polímero .....	39
4.8.8 Revelação com substrato cromogênico (diaminobenzidina [DAB] líquida + sistema cromógeno substrato – K3468 – DakoCytomation).....	39
4.8.9 Contra-coloração com hematoxilina de Harris .....	40
4.8.10 Desidratação .....	40
4.8.11 Montagem (Entellan ou Bálsamo).....	40
4.9 Análise estatística .....	40
4.10 Aspectos éticos .....	40
5 RESULTADOS.....	42
5.1 Perfil sociodemográfico da população em estudo.....	43
5.2. Alterações Clínicas .....	44
5.3. Alterações laboratoriais.....	46
5.4 Histopatológico e imuno-histoquímica .....	47
6 DISCUSSÃO.....	56
7 CONCLUSÃO.....	62
REFERÊNCIAS.....	64
APÊNDICES.....	73
APÊNDICE A - Termo de assentimento livre e esclarecido.....	74
APÊNDICE B - Termo de consentimento livre e esclarecido, destinado a pais ou responsável legal por voluntários menores de 18 anos. ....	75
APÊNDICE C - Termo de consentimento livre e esclarecido.....	76
APÊNDICE D - Questionário .....	78
APÊNDICE E - Características sócio-demográficas dos 22 participantes do estudo. Teresina 2016-2017.....	82
APÊNDICE F - Características clínicas dos dos 22 participantes do estudo.	

<b>Teresina 2016-2017.....</b>	<b>84</b>
<b>APÊNDICE G - Resultados de HIV, CD<sub>4</sub>, carga viral e principais exames diagnósticos dos 22 participantes do estudo. Teresina 2016-2017.....</b>	<b>86</b>
<b>APÊNDICE H - Resultados de hemograma e creatinina dos 22 participantes do estudo. Teresina 2016-2017.....</b>	<b>88</b>
<b>APÊNDICE I - Resultados de exames de função e enzimas hepática dos 22 participantes do estudo. Teresina 2016-2017.....</b>	<b>90</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>92</b>
<b>ANEXO A - Parecer de aprovação do Comitê de Ética da Universidade Federal do Piauí.....</b>	<b>93</b>
<b>ANEXO B – Comprovante de submissão do artigo científico da dissertação como requisito para defesa, no Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.....</b>	<b>97</b>



Leishmaniose engloba um grupo de doenças causadas por protozoários intracelulares obrigatórios e transmitidas por insetos, sendo endêmicas em áreas tropicais, subtropicais e da bacia mediterrânea. (CHAPPUIS *et al*, 2007). Estas enfermidades são caracterizadas tanto pela diversidade quanto pela complexidade, existindo cerca de vinte e uma espécies de leishmanias que são transmitidas a seres humanos por aproximadamente trinta espécies diferentes de flebótomos. (HERWALDT, 1999).

Quatro síndromes clínicas são categorizadas sob o termo leishmaniose: leishmaniose cutânea; leishmaniose mucosa (também chamada de espúndia); leishmaniose visceral (também conhecida como calazar); e leishmaniose dérmica pós-calazar (PKDL). (CHAPPUIS *et al*, 2007).

Leishmaniose Visceral (LV) é uma endemia em franca expansão geográfica e representa um problema de saúde pública em várias partes do mundo. (LARANJEIRA *et al*, 2014). A doença já foi observada em pelo menos 12 países da América Latina, sendo que 90% dos casos ocorreram no Brasil, principalmente na região Nordeste. (BRASIL, 2006).

## 1.1 Epidemiologia

A LV já foi descrita nas cinco regiões brasileiras e em 21 dos 27 estados da federação. A cada 5 anos, em média, é observado um aumento no número de casos, mostrando que a LV apresenta comportamento epidemiológico cíclico. (BRASIL, 2015a). No Brasil são registrados anualmente aproximadamente 3.500 casos, e o coeficiente de incidência é de 2 casos/100.000 habitantes. (BRASIL, 2014). A letalidade vem crescendo nos últimos anos, indo de 3,2% em 2000 para 7,8% em 2015. (BRASIL, 2015b).

No estado do Piauí, a LV foi descrita pela primeira vez em 1934 (DRUMOND e COSTA, 2011) e a incidência em 2015 foi de 6,6 por 100.000 habitantes. (BRASIL, 2015c). A primeira epidemia urbana desta patologia no Brasil ocorreu em Teresina em 1980. A partir de 1998, a incidência da doença nesta cidade se estabilizou em torno de 20 casos por 100 mil habitantes (DE ALMEIDA; WERNECK; RESENDES, 2014); no entanto, o Ministério da Saúde considera a LV sob controle apenas se a incidência for inferior a cinco casos por 100.000 habitantes. (DRUMOND e COSTA, 2011).

Nas décadas de 50 a 70, era uma zoonose eminentemente rural, mas a doença vem se expandindo para novas áreas, incluindo centros urbanos. (DOS SANTOS et al, 2004). Crianças menores de 10 anos são as mais afetadas (54,4%) e 60% dos doentes são do sexo masculino. (Brasil, 2006).

## 1.2 Agente etiológico

É causada por protozoário do gênero *Leishmania*, complexo *Leishmania donovani*. No continente americano e sudoeste da Europa o principal agente etiológico é *Leishmania infantum* (sin. *L. chagasi*), espécie zoonótica, enquanto na Ásia e África Oriental é provocada pela *Leishmania donovani*, espécie antroponótica. (KUHLS et al, 2011).

Este protozoário apresenta duas formas evolutivas durante seu ciclo de vida: amastigota, parasita intracelular obrigatório em mamíferos e encontrada em meios de culturas celulares; e promastigota, presente no tubo digestivo do inseto vetor e em meios de cultura acelulares (BRASIL, 2014).

A *Leishmania infantum* é transmitida por picada de fêmeas de flebotomíneos, conhecidos popularmente como mosquito palha, principalmente da espécie *Lutzomyia longipalpis*. (LAURENTI et al, 2013). Em regiões urbanas, o cão doméstico é considerado a principal fonte de infecção para o vetor (LARANJEIRA et al, 2014), enquanto raposas e marsupiais são reservatórios silvestres. Até o momento, não existem registros de transmissão interhumana no Brasil. (DE ALMEIDA; WERNECK; RESENDES, 2014).

## 1.3 Manifestações clínicas

O período de incubação da LV varia de 20 dias a 16 meses, com média entre três e seis meses. (ALENCAR et al, 1974). A gravidade dos sintomas depende de fatores do parasita (invasividade, tropismo e patogenicidade) e do perfil imunogenético, estado nutricional e idade do indivíduo. (BRASIL, 2015a).

A maior parte dos indivíduos infectados, se mantêm assintomáticos e a maioria evolui para resolução da infecção sem a necessidade de terapia específica. (BADARÓ et al, 1986). Estima-se que a forma clássica da doença ocorra apenas em 10-20% dos infectados em áreas endêmicas. (BRASIL, 2015a).

A LV é uma doença sistêmica, caracterizada em humanos por febre prolongada, superior a sete dias, hepatoesplenomegalia, perda de peso, astenia,

adinamia e anemia. A febre geralmente é associada a calafrios e pode ser intermitente. (BRASIL, 2014).

A hiperpigmentação cutânea, que possivelmente tornou a LV também conhecida por calazar (febre negra no hindi), apenas foi vista em doentes do subcontinente indiano, porém atualmente é incomum e provavelmente seja um sinal de doença prolongada, na época em que a terapêutica efetiva não estava disponível. (CHAPPUIS *et al*, 2007).

Os exames laboratoriais revelam pancitopenia, velocidade de sedimentação de eritrócitos e proteína C reativa elevadas, hipoalbuminemia e hipergamaglobulinemia. Alguns pacientes apresentam elevação de enzimas hepáticas e envolvimento renal. (COSTA *et al*, 2016).

Idade, infecção pré-existente por HIV, infecção bacteriana, fenômenos hemorrágicos, edema, dispnéia, icterícia, vômitos, enzimas hepáticas maiores que 100UI/L, leucócitos  $<1500/\text{mm}^3$ , plaquetas menor que  $50.000/\text{mm}^3$ , falência renal são fatores que estão relacionados com letalidade por LV. (COSTA *et al*, 2016). As principais causas de óbito são broncopneumonias, gastroenterites, sangramentos, sepses graves, insuficiência cardíaca devido à anemia grave, entre outros. (MADALOSSO *et al*, 2012).

#### 1.4 Diagnóstico e tratamento

Para pacientes com LV é recomendado exame direto de aspirado de medula óssea ou do creme leucocitário do sangue periférico e/ou isolamento do parasita por cultura *in vitro*. As formas amastigotas são identificadas por serem arredondadas, com citoplasma azul pálido, núcleo excêntrico e cinetoplasto em forma de bastonete, com cor semelhante à do núcleo. (BRASIL, 2015a).

Testes sorológicos, como reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e o teste imunocromatográfico, é recomendado na suspeita de LV em que testes diagnósticos parasitológicos (identificação microscópica, cultura e testes moleculares para DNA de parasitas) não podem ser realizados ou foram negativos. (ARONSON *et al*, 2017). Porém em coinfectados *Leishmania*-HIV apresentam baixa sensibilidade. Além disso, podem ocorrer reações cruzadas em casos de malária, esquistossomose ou doença de Chagas. (BRASIL, 2015a).

Fitas imunocromatográficas com antígenos recombinantes, como o rK39, em imunocompetentes, revelaram sensibilidade e especificidade, variando de 93,8 a

100% e de 96 a 100%, respectivamente. Já em co-infectados por HIV a sensibilidade foi de 45% (Brasil), 77% (Etiópia) e 100% (Índia). (BRASIL, 2015a).

A reação intradérmica de Montenegro, por ser um teste dependente da resposta imune celular, geralmente é negativa em pacientes com LV ativa, no entanto a reatividade cutânea se desenvolve em aproximadamente 90% dos casos após a cura. (COSTA *et al*, 2002).

Pode, ainda, ser realizado biópsia ou punção de órgãos do sistema fagocítico-mononuclear (baço, fígado ou linfonodos). (BRASIL, 2015a).

O tratamento em humanos é gratuito e está disponível na rede de serviços do Sistema Único de Saúde (SUS). Consiste no uso de um dos três medicamentos seguintes, a depender da indicação médica: antimoniato de N-metil glucamina, anfotericina B lipossomal e desoxicolato de anfotericina B. (DE ALMEIDA; WERNECK; RESENDES, 2014).

Espera-se a melhora do estado geral e desaparecimento da febre já na primeira semana de tratamento. Na segunda semana, percebe-se melhora das citopenias e redução da esplenomegalia, porém esta pode durar meses. (BRASIL, 2015a).

Em cães infectados, a recomendação é a eutanásia. O tratamento destes animais foi proibido pela Portaria Interministerial nº 1426/2008, pois como os medicamentos não eliminam por completo o parasita, estes animais poderiam permanecer como reservatórios. Além disso, o tratamento poderia contribuir para o desenvolvimento e disseminação de cepas de parasitas resistentes às poucas medicações disponíveis para o tratamento da leishmaniose visceral humana. (DE ALMEIDA; WERNECK; RESENDES, 2014). No entanto, a eficácia da eutanásia canina como medida de controle da doença é controversa (LAURENTI *et al*, 2013), pois tem se revelado ineficaz, sugerindo que existem outros reservatórios da infecção. (COSTA *et al*, 2002).

Medidas para o controle da doença incluem: controle do vetor; eliminação dos cachorros doentes e tratamento precoce e sistêmico dos humanos doentes. (LARANJEIRA *et al*, 2014).

### **1.5 Coinfecção de Leishmaniose visceral e HIV**

A primeira descrição de leishmaniose associada a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) foi em 1985. (WHO, 2007). Desde o início da década

de 1990, com a urbanização da leishmaniose e ruralização do HIV, houve um aumento significativo do número de coinfectados por estas doenças. (BRASIL, 2015a). Aproximadamente 100 casos por ano desta coinfecção são relatados no Brasil. (CARNAÚBA JR *et al*, 2009).

A presença de LV acelera o curso clínico da infecção pelo HIV, pois induz uma maior imunossupressão, estimulando a replicação viral. Por outro lado, indivíduos com HIV/AIDS que moram em áreas endêmicas para leishmaniose possuem um risco de adquirir esta última doença cerca de 100 a 1000 vezes maior, além de terem uma pior resposta ao tratamento da LV e uma maior chance de recorrência. (WHO, 2007). No Estado de São Paulo, comparando-se aos HIV-negativos, os coinfectados LV/HIV apresentaram letalidade três vezes maior e o quántuplo de recidiva. (QUEIROZ-E-SILVA, 2013).

A tríade clássica da LV, composta por hepatoesplenomegalia, febre e pancitopenia, é também a manifestação mais frequente desta enfermidade em coinfectados, ocorrendo em 75% dos casos. (BRASIL, 2015a). Apresentações atípicas também são descritas nestes pacientes, incluindo maior frequência de envolvimento de órgãos não pertencentes ao sistema fagocítico-mononuclear (trato gastrointestinal, respiratório, cardíaco, renal, adrenal, sinovial e cerebral) e acometimento cutâneo. (ALVAR *et al*, 1997; WHO, 2007).

No Distrito Federal, foi observado que 16% dos pacientes com HIV/AIDS em seguimento num hospital de nível terciário apresentavam infecção assintomática por *Leishmania*, mostrando a importância da coinfecção nesse cenário. (BRASIL, 2015a). Em Teresina, pesquisas envolvendo pacientes hospitalizados com HIV/AIDS constataram que 8,2% eram coinfectados por LV (SOARES *et al*, 2008) e destes, 16,8% evoluíam para óbito. (LIMA *et al*, 2013).

O Ministério da Saúde recomenda que, independente da idade, seja oferecido sorologia para HIV a todos os doentes com LV, pois o diagnóstico de coinfecção modifica a indicação e resposta terapêutica, o monitoramento de efeitos adversos, e a ocorrência de recidivas. Em coinfectados LV/HIV dá-se preferência ao tratamento com anfotericina liposomal e recomenda-se profilaxia secundária a cada duas (intervalo mais estudado) ou a cada quatro semanas, para todos os pacientes com linfócitos T CD4 menor que  $350/\text{mm}^3$  por ocasião do diagnóstico da LV. (BRASIL, 2015a).

## 1.6 Parasitismo cutâneo

A disseminação da *Leishmania* para diferentes sítios depende, dentre outros fatores, do estado imunológico do hospedeiro e da espécie e cepa do parasita. (DOS SANTOS *et al*, 2004). Parasitismo cutâneo foi evidenciado usando PCR para DNA de *Leishmania* em 70% de cachorros infectados. (SOLANO-GALLEGO *et al* 2001). No entanto, não foi encontrada correlação entre a carga parasitária cutânea e a transmissibilidade a flebotomíneos em estudos com xenodiagnóstico. Caninos sem parasitismo cutâneo foram capazes de infectar *Lutzomyia longipalpis*. (LAURENTI *et al*, 2013).

Silva *et al* (2016) observaram que a contagem microscópica de parasitas no sangue periférico e o cálculo de parasitemia sérica através de qPCR não eram matematicamente compatíveis com as proporções de insetos infectados em estudos de xenodiagnóstico publicados e propuseram que a pele, e não o sangue, poderia ser a principal fonte de infecção para os vetores.

Os flebotomos são alimentadores de piscina, ou seja, cortam as camadas superficiais da pele com seus estiletes afiados e se alimentam do sangue e lisados de células da pele que drenam da ferida. As partes bucais dos vetores da leishmaniose são relativamente curtas (250 a 350  $\mu\text{m}$ ), possibilitando uma penetração apenas até derme superficial (100-150  $\mu\text{m}$ ), que é relativamente pobre nos vasos sanguíneos. Como, apenas cerca de 5% do volume da pele é constituída por vasos sanguíneos, pode-se esperar que esses mosquitos ingerem amastigotas da pele e do sangue. (LEWIS, 1987). Além do mais, uma vez que as espécies de *Leishmania* que causam calazar são evoluídas a partir de espécie que causa leishmaniose cutânea, é provável que as primeiras tenham mantido a forma original de transmissão da pele e que esta seja a verdadeira fonte de parasitas. (SILVA *et al*, 2016).

Estudo com microbiópsias minimamente invasivas para identificar portadores assintomáticos e potencialmente infecciosos de *Leishmania donovani*, constataram que a pele, mais freqüentemente do que o sangue, foi a fonte de parasitas, pois embora o volume das microbiópsias tenha sido dez vezes menor do que as amostras de sangue de dedo, as taxas de detecção de DNA de *Leishmania* das microbiópsias foram significativamente maiores. (KIRSTEIN *et al*, 2017).

*L. infantum* foi observado em pacientes com leishmaniose cutâneas (LC) sem história prévia de LV, mais notavelmente nos países da Bacia do Mediterrâneo,

como Tunísia, Argélia, Marrocos, Espanha, Itália, Portugal, Grécia e França (TOZ *et al* 2013; LYRA *et al* 2015). Na Europa, esses casos parecem estar relacionados a zimodemas específicos, enquanto na América central, estudos em Honduras e Nicarágua, não observaram diferenças genéticas entre linhagens de *Leishmania (L.) infantum* causando LV e LC. (LYRA *et al*, 2015). No Brasil, essa manifestação clínica da *L. infantum* ainda é rara. LYRA *et al* (2015) descreveram um caso no Rio de Janeiro. Na Turquia, Eroglu, Koltas e Genc (2011), Toz *et al* (2013), Koltas *et al* (2014), e Eroglu *et al* (2015) observaram que 31,5% (11/35), 52,46% (117/223), 36,5% (39/107), e 35,8% (53/148), respectivamente, dos casos de LC eram causados por *L. infantum*. Eroglu *et al* (2015) levantou a hipótese de que variação genética do protozoário pode desempenhar um papel na evolução do paciente para LC ou VL. Enquanto, Toz *et al* (2009) propuseram que a supressão imune de pacientes com LC por *L. infantum* curados poderia potencialmente causar recidivas e desenvolvimento da doença visceral.

A PKDL causada por *L. donovani* na Índia foi relatada em pelo menos 10-15% dos doentes tratados para LV (BADIRZADEH *et al*, 2013) e no Sudão em mais de 50%. (BABIKER *et al*, 2014). Já a causada por *L. infantum* é rara (BADIRZADEH *et al*, 2013), mas cada vez mais relatada em pacientes infectados por HIV. (BITTENCOURT *et al*, 2002; STARK *et al*, 2006; BOUMIS *et al*, 2006; ANTINORI *et al*, 2007; RAMOS *et al*, 2008; CELESIA *et al*, 2014). No Brasil já foi relatado um caso na Bahia em paciente co-infectado por HIV (BITTENCOURT *et al*, 2002) e outro em São Paulo em paciente procedente de Alagoas e coinfecteda por hanseníase. (TRINDADE *et al*, 2015). Em Teresina, já foram diagnosticados 5 casos de PKDL (dados ainda não publicados).

Em estudo de xenodiagnóstico com *Phlebotomus longipalpis* em 16 cães, 14 humanos e uma raposa (não selecionados quanto à evidência microscópica de parasitismo dérmico), 75% dos primeiros, 28,5% dos segundos e a última infectaram insetos. De 238 flebotomos que se alimentaram de cachorros, 24,8% ficaram infectados, enquanto 14,8% dos 81 que se alimentaram de humanos e todos os 10 insetos que se alimentaram da raposa, foram infectados. (DEANE & DEANE, 1955). Portanto, concluíram que enquanto a chance de um cão doente infectar um flebotomo é de 25%, a raposa infecta 100% e o homem apenas 15%. Notaram ainda, que cães sem parasitismo dérmico foram capazes de infectar flebotomo.

Costa *et al* (2000) observaram que 25% dos pacientes com LV ativa infectaram pelo menos um flebótomo e 2,5% dos insetos que foram alimentados com pessoas doentes, foram infectados. Além disso, verificaram que idade (crianças menores de 4 anos), diarreia e contagem de neutrófilos no sangue periférico maior que 500/mL eram preditores independentes de infecciosidade.

Molina *et al* (1999), utilizando xenodiagnóstico direto com *Phlebotomus perniciosus*, um vetor importante da LV no sul da Europa, perceberam que todos os seis pacientes coinfectados por *Leishmania infantum* / HIV do estudo, foram capazes de infectar flebótomos. Determinaram que a infecciosidade dos pacientes não tratados foi inversamente proporcional à sua contagem absoluta de células de linfócitos CD4+.

Além disso, parasitismo cutâneo em amostras de pele aparentemente saudáveis foi observado em humanos com LV ativa. (CHAGAS *et al*, 1938 apud PRATA & PIVA, 1956; PRATA & PIVA, 1956; DEANE & DEANE, 1962; VASCONCELOS *et al*, 1993). É importante estarmos cientes das alterações epidemiológicas constantes das leishmanias (LYRA *et al* 2015).



Existem evidências de parasitismo dérmico em cães com LV causada por *Leishmania infantum*, no entanto, estudos análogos em humanos são escassos. Pessoas infectadas que apresentam parasitismo cutâneo podem atuar como reservatório, permitir transmissão inter-humana e, caso não haja negatificação cutânea após o tratamento, este sítio poderia ser responsável pela reativação da doença pós terapia.



### **3.1 Objetivo geral**

- Avaliar o parasitismo cutâneo em humanos com leishmaniose visceral americana em área endêmica.

### **3.2 Objetivos específicos**

- Correlacionar o grau de parasitismo cutâneo com idade, sexo e gravidade clínica dos pacientes.
- Avaliar se pacientes coinfectados com HIV apresentam um maior índice de parasitismo cutâneo;
- Determinar características demográficas, clínicas e laboratoriais de pacientes com LV e parasitismo cutâneo.



#### **4.1 Tipo de Estudo e Local de realização**

O estudo foi tipo transversal. Incluiu indivíduos de ambos os sexos e todas as idades. Os participantes foram selecionados de forma consecutiva, coletando amostra cutânea dos pacientes com LV que foram internados no hospital de referência em enfermidades infecciosas do estado do Piauí “Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella” (IDTNP), Teresina-PI, no período de outubro de 2016 a abril de 2017.

#### **4.2 População alvo**

Pessoas infectadas com LV de áreas endêmicas.

#### **4.3 População fonte**

Humanos sintomáticos com diagnóstico confirmado de LV, internados no IDTNP, em Teresina-PI.

#### **4.4 Critérios de inclusão**

Foram incluídos, durante o período do estudo, todos os pacientes internados no IDTNP com diagnóstico firmado de LV que aceitaram participar da pesquisa e assinaram Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e Termo de Assentimento Livre e esclarecido (TALE) (APÊNDICES A, B e C).

O diagnóstico de certeza foi estabelecido no paciente com sintomatologia clínica que apresentou resultado positivo para leishmaniose por um ou mais dos seguintes métodos diagnósticos:

- Reação em cadeia de polimerase (PCR);
- Pesquisa direta no aspirado de medula óssea, aspirado esplênico, sangue periférico, fragmento de pele ou qualquer tecido ou secreção obtido para o diagnóstico;
- Cultura de leishmanias na medula óssea;
- Teste rápido com antígeno rK39.

#### **4.5 Critérios de exclusão**

Foram excluídos do estudo:

- Pacientes que apresentavam lesão cutânea de leishmaniose, pois estes poderiam superestimar o grau de parasitismo cutâneo.
- Doentes que não possuíam área de pele sã, devido a outras enfermidades cutâneas, como ictioses, impossibilitando realização da biópsia.
- Aqueles que usaram qualquer medicamento leishmanicida nos últimos 6 meses para tratamento de episódio prévio de leishmaniose ou devido outras enfermidades.
- Mulheres grávidas ou que estivessem amamentando.

#### 4.6 Estudo dos casos

Em cada participante foi realizado uma biópsia de pele sã da face posterior do antebraço de um dos lados, utilizando *punch* 3mm, para realização de histopatológico e imuno-histoquímica.

Foram coletados, a partir de informações fornecidas pelo paciente/familiares e contidas no prontuário, dados como: idade, sexo, profissão, procedência, presença de imunossupressão (por exemplo, co-infecção por HIV), presença de icterícia, fenômenos hemorrágicos, edema generalizado, sinais de toxemia (letargia, má perfusão, cianose, taquicardia ou bradicardia, hipoventilação ou hiperventilação e instabilidade hemodinâmica).

Foram pesquisados, ainda, alterações laboratoriais significativas: leucócitos menor que  $1000/\text{mm}^3$  ou neutrófilos menor que  $500/\text{mm}^3$ ; plaquetas menor que  $50.000/\text{mm}^3$ ; hemoglobina sérica menor que  $7\text{g/dL}$ ; creatinina sérica maior que 2 vezes o valor de referência (VR); atividade de protrombina menor que 70%, bilirrubina acima dos valores de referência, enzimas hepáticas acima de cinco vezes o valor de referência, albumina menor que  $2,5\text{g/dL}$  e radiografia de tórax com imagem sugestiva de infecção ou de edema pulmonar (APÊNDICE D)

O score de gravidade clínico e a probabilidade de óbito dos pacientes envolvidos na pesquisa foram estimados através da calculadora de severidade da LV que utiliza dados de pacientes tratados em Teresina-PI de 2005 a 2013 (disponível on line em [www.sbmt.org.br/kalacal/](http://www.sbmt.org.br/kalacal/)). Este score para menores de 12 meses varia de 1 a 9, e para menores de 24 meses, varia de 0 a 9, levando em consideração para o cálculo: idade, presença de sangramento, edema, icterícia e

dipnéia. Já para maiores de 2 anos, é pontuado de 0 a 13 e avalia idade, presença de edema, HIV/AIDS, icterícia, vômitos, dispneia e infecção bacteriana.

#### **4.7 Coleta de amostras cutâneas**

Com os participantes da pesquisa em decúbito dorsal horizontal, foi realizado antissepsia na face posterior do antebraço com clorexidine 0,5% em solução alcoólica 70% e colocado campo cirúrgico fenestrado. A seguir, foi infiltrado lidocaína 2% sem vasoconstrictor e, após 5 minutos, retirado fragmento de pele através de *punch* 3,0mm. Foi então, realizado sutura com ponto cirúrgico simples, utilizando nylon 4.0, a depender do sangramento. O fragmento coletado foi fixado em formol tamponado 10% para posterior confecção de lâminas coradas em hematoxilina e Eosina (HE) e realização de imuno-histoquímica.

Optou-se por realizar a coleta na face posterior do antebraço devido ser uma área exposta a picada de insetos, aumentando a chance de detecção de parasitismo cutâneo.

#### **4.8 Imuno-histoquímica**

As amostras foram fixadas em formol tamponado a 10%, processadas histologicamente e confeccionadas lâminas coradas em HE no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital Universitário da Universidade Federal do Piauí (HU-UFPI). Posteriormente, os cortes do tecido para confecção das lâminas silanizadas foram realizados no Laboratório Histocell (São Paulo-SP) e as reações de imuno-histoquímica foram conduzidas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), segundo os passos abaixo, utilizando soro hiperimune de camundongo anti-*Leishmania*, fabricado no Laboratório de Patologia de Doenças Infecciosas FM-USP (São Paulo, Brasil), de acordo com Moreira *et al* (2007) e Rossi *et al* (2016) modificado.

##### **4.8.1 Desparafinização a frio**

a. Deixado as lâminas no xilol, à temperatura ambiente, por aproximadamente 15 min.

b. Banho em mais 3 cubas com xilol frio (somente passado para retirar o excesso de parafina).

##### **4.8.2 Hidratação dos cortes**

a. Banho no álcool etílico absoluto.

- b. Banho no álcool etílico 95%.
- c. Banho no álcool etílico 80%.
- d. Banho em cuba de água destilada.

#### 4.8.3 Recuperação antigênica

- a. Aquecido em banho-maria a solução de ácido cítrico 10mM/pH 6,0 (2,1g de ácido cítrico monohidratado por litro de água destilada), a temperatura de 95°-99°C.
- b. Colocadas as lâminas apenas quando estava nesta temperatura.
- c. Deixadas por 30 min.
- d. Desligado e deixado esfriar por no mínimo 20 min, até atingir 55°C, para retirar as lâminas.

#### 4.8.4 Bloqueio da peroxidase endógena e para ligações inespecíficas

- a. Retiradas as lâminas, colocadas em uma cuba de vidro e realizado 6 trocas de 5 min com água oxigenada no escuro.
- b. Descartada essa solução.
- c. Lavadas em água destilada.
- d. Incubadas com leite desnatado MOLICO (6g por 100mL de solução tampão salina [PBS]) por 1 hora a 37°C.

#### 4.8.5 Incubação com anticorpo primário (*Leishmania*)

- a. Diluído 1/1000 *Leishmania* em solução de albumina bovina a 1% em PBS em câmara úmida, por 1 hora a 37°C.
- b. Lavadas 3 vezes em PBS Tween por 5 min.

#### 4.8.6 Incubação com anticorpo secundário específico ou bloqueio pós-primário

- a. Incubadas com o Reagente de Bloqueio pós-primário do Novolink (RE7260-K – Novocastra) por 1h a 37°C.
- b. Lavadas 3 vezes em PBS Tween por 5 min.

#### 4.8.7 Incubação com o complexo enzima-peroxidase ou com o polímero

- a. Incubadas em câmara úmida por 45 min a 37°C com o Novolink polímero do Novolink (RE7260-K – Novocastra).
- b. Lavadas 3 vezes em PBS Tween por 5 min.

#### 4.8.8 Revelação com substrato cromogênico (diaminobenzidina [DAB] líquida + sistema cromógeno substrato – K3468 – DakoCytomation)

- a. Preparado a solução de DAB, usando 1mL de DAB + tampão substrato com 20µL de DAB + cromógeno.

- b. Incubado até 5 min em temperatura ambiente.
- c. Lavadas em água destilada para retirar o excesso do DAB.

#### 4.8.9 Contra-coloração com hematoxilina de Harris

- a. Filtrado a hematoxilina e incubado por 2 min.
- b. Lavadas em água corrente para retirar o excesso da hematoxilina.
- c. Banho em água destilada.

#### 4.8.10 Desidratação

- a. Banho no álcool a 50 %.
- b. Banho no álcool a 80 %.
- c. Banho no álcool a 95 %.
- d. Banho no álcool absoluto.
- e. Banho por 3 cubas de xilol.

#### 4.8.11 Montagem (Entellan ou Bálsamo)

Um controle positivo (pele de paciente com leishmaniose tegumentar americana) e negativo (omissão de anti-corpo primário) foram usados no ensaio imuno-histoquímico.

O parasitismo tecidual foi avaliado por dois patologistas do HU-UFPI utilizando análise quantitativa morfométrica, conforme Laurenti *et al* (2013). Dez campos diferentes de cada secção foram avaliadas com um microscópio de luz, utilizando uma objetiva de 40X e foi determinado o número de amastigotas por campo de grande aumento (medindo 0,5mm de diâmetro, 0,196mm<sup>2</sup>) em microscópio modelo Nikon Eclipse E200. O parasitismo tecidual foi considerado:

- Negativo (-): quando a amostra não tinha nenhum parasita em 20 campos;
- Baixo (+): quando foram visualizados de 01-10 amastigotas/campo;
- Moderado (++) : quando foram visualizadas 11-25 amastigotes/campo;
- Alto (+++) : quando mais de 25 amastigotes/campo foram visualizadas.

### 4.9 Análise estatística

Os dados coletados foram alocados numa planilha no programa Microsoft Office Excel 2014 e, em seguida, exportados ao software Stata versão 13.0. As variáveis foram analisadas descritivamente.

### 4.10 Aspectos éticos

O projeto foi submetido a avaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da

Universidade Federal do Piauí, conforme a Resolução N° 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) (BRASIL, 2012), que regulamenta diretrizes e normas envolvendo pesquisas em seres humanos, tendo sido aprovado em 04 de novembro de 2016, por meio do parecer no 1.806.554 (ANEXO A).



Foram incluídos no estudo 22 pacientes. Destes, 07 (31,8%) apresentaram resultado positivo nos três testes diagnósticos, 14 (63,6%) revelaram *Leishmania* na pesquisa direta do aspirado de medula óssea; 10 (45,5%) possuíam mielocultura positiva e 17 (77,3%) tinham teste rápido com antígeno rK39 reagente. Quatro (18,2%) tiveram os dois testes parasitológicos negativos, tendo sido incluídos devido positividade do teste rápido.

### 5.1 Perfil sociodemográfico da população em estudo

A idade dos pacientes variou de 5 meses a 78 anos, sendo que 04 (18,2%) tinham menos de 2 anos e 16 (72,7%) tinham mais de 18 anos. Não houve diferença de incidência entre os sexos em crianças, no entanto 87,5% (14/16) dos adultos incluídos eram do sexo masculino (TABELA 1).

Quanto à procedência, 14 (63,6%) eram do Piauí, 07 (31,8%) do Maranhão e 01 (4,6%) era do estado do Pará. Três (15%) eram de Teresina e 14 (63,6%) eram oriundos de cidades com menos de 50.000 habitantes.

Nenhum dos pacientes concluiu o ensino médio e, dentre os adultos, 37,5% (06/16) eram lavradores.

Sete pacientes (31,8%) eram HIV positivo. Em apenas um indivíduo, o valor do CD<sub>4</sub> não era conhecido. O doente com maior valor de CD<sub>4</sub> tinha 677 células/mm<sup>3</sup> e o de menor, 9 células/mm<sup>3</sup>. A média foi de 222 células/mm<sup>3</sup>, sendo que três (50%) apresentavam valor menor que 50 células/mm<sup>3</sup>. A carga viral era conhecida em apenas quatro pacientes, sendo indetectável em apenas um e nos demais a média foi de 257.065 cópias.

No apêndice E estão as características sócio-demográficas de cada um dos 22 participantes do estudo.

Tabela 1 - Perfil sócio-demográfico da população em estudo. Teresina 2016-2017.

(continua)

Características	Número de pacientes	%
<b>Idade</b>		
0 a 23 meses	04	18,2
2 a 18 anos	02	9,1
> 18 anos	16	72,7

(conclusão)

Características	Número de pacientes	%
<b>Gênero</b>		
Feminino	05	22,7
Masculino	17	77,3
<b>Procedência</b>		
Piauí	14	63,6
Maranhão	07	31,8
Pará	01	4,6
<b>População estimada da cidade de origem</b>		
< 20.000 habitantes	07	31,8
20.000 a 50.000 habitantes	07	31,8
> 50.000 habitantes	08	36,4
<b>Escolaridade</b>		
Não alfabetizado	05	22,7
Ensino fundamental	11	50,0
Ensino médio incompleto	01	4,6
Ensino médio completo	00	00
Não se aplica*	05	22,7
<b>HIV</b>		
Positivo	07	31,8
Negativo	15	68,2

\* Menores de 5 anos ainda não são alfabetizados.

## 5.2. Alterações Clínicas

A febre foi relatada em 21 enfermos (95,5%). O tempo de início deste sintoma antes da internação variou de 1 a 90 dias, sendo em média 27 dias. Durante a hospitalização, o valor médio da temperatura máxima foi de 38,5°C, variando de 37 a 40,3°C.

Esplenomegalia foi observada em 19 pacientes (86,4%), variando de 1 a 15 cm do rebordo costal esquerdo (RCE) e em média 5,3 cm. Já a hepatomegalia esteve presente em 17 doentes (77,3%), com extensão de 3 a 10 cm do rebordo costal direito (RCD) e média de 4,6 cm.

Outros sinais e sintomas observados foram: perda de peso em 16 pacientes (72,7%), tosse em 12 (54,5%), dor abdominal em 10 (45,5%), vômitos em 09 (40,9%), diarreia em 08 (36,4%), história de sangramento em 06 (27,3%), dispneia em 06 (27,3%), icterícia em 04 (18,2%) e edema de membros inferiores em 03 (13,6%) (TABELA 2).

Tabela 2 - Sinais e sintomas avaliados no momento da inclusão na pesquisa. Teresina 2016-2017.

Sinais/sintomas	Número de Pacientes	%
Febre $\geq$ 37,8	21	95,5
Esplenomegalia	19	86,4
Hepatomegalia	17	77,3
Perda de peso	16	72,7
Tosse	12	54,5
Dor abdominal	10	45,5
Vômitos	09	40,9
Diarreia	08	36,4
Sangramento *	06	27,3
Dispneia	06	27,3
Icterícia	04	18,2
Edema	03	13,6

\* Presença de petúquia, equimose, epistaxe, sangramento no local da punção venosa, hematúria ou sangramento intestinal.

A probabilidade de óbito dos pacientes envolvidos na pesquisa foi em média 10,8%. O score de gravidade clínico em menores de 24 meses variou de 0 a 2, sendo em média 0,75 e chance de morte estimada em média 1,1%. Em maiores de 2 anos, este score teve valor médio de 4, variando de 1 a 6, o que representa uma probabilidade de óbito estimada de 13%.

Um paciente (4,6%), de 18 anos de idade, evoluiu para óbito devido a sepse por foco pulmonar associado a sangramento de vias respiratórias. Este paciente tinha score 5 de gravidade clínica no exame de admissão no estudo e probabilidade de morte estimada de 15,4%.

No Apêndice F encontram-se as características clínicas de cada um dos 22 participantes do estudo.

### 5.3. Alterações laboratoriais

Quanto à dosagem de hemoglobina, os valores variaram de 4,7 a 14,3 g/dL, com média de 8,3 g/dL. Sete pacientes (31,8%) apresentaram hemoglobina menor que 7g/dL e apenas um tinha hemoglobina maior que 12g/dL. O valor médio dos leucócitos foi de 3.213/mm<sup>3</sup>, sendo que um participante tinha leucopenia menor que 1000/mm<sup>3</sup>, enquanto apenas 5 tinham leucócitos maior que 4000/mm<sup>3</sup>.

Neutropenia (neutrófilos menor que 1500/mm<sup>3</sup>) foi observada em 77,27% dos doentes, mas apenas dois tinham este exame menor que 500/mm<sup>3</sup>. Somente dois participantes não tinham trombocitopenia (menos de 150.000/mm<sup>3</sup>) e 18,2% tinham plaquetas menor que 500/mm<sup>3</sup>.

Dentre as alterações laboratoriais significativas (TABELA 4), a mais frequente no estudo foi o TAP < 70%, observado em 82,4% dos pacientes; seguido por níveis de bilirrubina acima dos valores de referência em 75%. No entanto, a alteração neste último exame foi superestimada pois sua realização na maioria dos doentes foi direcionada pela presença de icterícia clínica (apenas um paciente anictérico dosou bilirrubinas e foi exatamente o que revelou resultado normal).

Enzimas hepáticas maiores que cinco vezes o valor de referência foi detectado em dois doentes. Já alteração de creatinina ocorreu em dois participantes, porém apenas em um deles foi maior que duas vezes o limite de normalidade.

Nos apêndices G, H e I encontram-se os resultados dos principais exames laboratoriais dos 22 participantes do estudo.

Tabela 3 - Resultado dos exames realizados na admissão do paciente no estudo.  
Teresina 2016-2017 (continua)

Exame	Valor médio	Valor mínimo	Valor Máximo
Hemoglobina (g/dL)	8,3	4,7	14,3
Leucócitos (/mm <sup>3</sup> )	3.213	941	12.000
Neutrófilos (/mm <sup>3</sup> )	1182	252	2660
Plaquetas (/mm <sup>3</sup> )	98.059	22.000	174.000
TAP (%)	44,86	22	86

(conclusão)

Exame	Valor médio	Valor mínimo	Valor Máximo
TGO (U/L)	94	18	358
TGP (U/L)	52	7	200
Albumina (g/dL)	2,6	1,3	3,7
Bilirrubina direta (mg/dL)	2,27	0,18	6,4
Bilirrubina indireta (mg/dL)	0,53	0,2	1,2
Creatinina (mg/dL)	0,9	0,3	3,2

Tabela 4 - Alterações laboratoriais significativas dentre os exames realizados na admissão do paciente no estudo. Teresina 2016-2017.

Alteração laboratorial	Número de pacientes	Número de Pacientes que realizou o exame	%
TAP < 70%	14	17	82,4
Bilirrubinas > VR	03	04	75
Hemoglobina < 7mg/dL	07	22	31,8
Albumina < 2,5g/dL	03	14	21,4
Plaquetas < 50.000/ mm <sup>3</sup>	04	22	18,2
TGO/TGO > 5 vezes VR	02	15	13,3
Neutrófilos < 500/ mm <sup>3</sup>	02	22	9,1
Creatinina > 2 vezes VR	01	21	4,8
Leucócitos < 1000/mm <sup>3</sup>	01	22	4,6

#### 5.4 Histopatológico e imuno-histoquímica

Dos 22 indivíduos incluídos neste estudo, somente o paciente número 08 apresentou parasitismo cutâneo ao exame histopatológico em HE. Os cortes histológicos deste doente revelaram epiderme sem alterações morfológicas significativas e leve infiltrado inflamatório perivascular e perianexial constituído de linfócitos, plasmócitos e histiócitos contendo numerosas amastigotas intracelulares em derme superficial e média (FIGURAS 2 e 3).

As demais 21 amostras histopatológicas e as 02 amostras pós-tratamento do indivíduo positivo apresentaram achados discretos e inespecíficos, descritos como mínimo infiltrado linfocitário perivascular superficial.

O participante positivo à histopatologia apresentou, ao exame imunohistoquímico, positividade para o anticorpo anti-*Leishmania*, sendo classificado como de alto parasitismo cutâneo, pois foram visualizados mais de 50 amastigotas/campo de grande aumento (FIGURA 4). Tratava-se de um homem de 78 anos (FIGURA 1), portador do vírus HIV desde 2015, em uso regular de lamivudina, efavirenz e tenofovir. Apresentava carga viral abaixo do limite mínimo de detecção no início de novembro de 2016 e último CD<sub>4</sub> aferido de 53 células/mm<sup>3</sup> em agosto de 2016. Negava outras comorbidades. O fato de não ter havido recuperação imune apesar da inibição da replicação viral sugeria infecção por leishmaniose visceral há muito anos.

Este paciente foi admitido no IDTNP em janeiro de 2017 e relatava que estava doente há 90 dias com palidez, apatia, aumento de volume abdominal e tosse, no entanto não apresentava febre, perda ponderal, edema, nem história de sangramento. No exame físico tinha 50,5kg e 156cm de estatura, estava em bom estado geral, consciente, hidratado, anictérico e com palidez leve. Apresentava linfonodomegalias de aproximadamente 0,5cm, móveis, arredondadas, indolores à palpação na região retroauricular e cervical lateral superior direita. Frequência respiratória de 16irpm. Ausculta cardíaca com extrassístoles esparsas, frequência cardíaca de 77bpm e pressão arterial de 110 por 80 mmHg. Abdome flácido, indolor a palpação, com baço a 1cm do RCE e fígado a 6cm do RCD. Ausência de edema de membros inferiores.

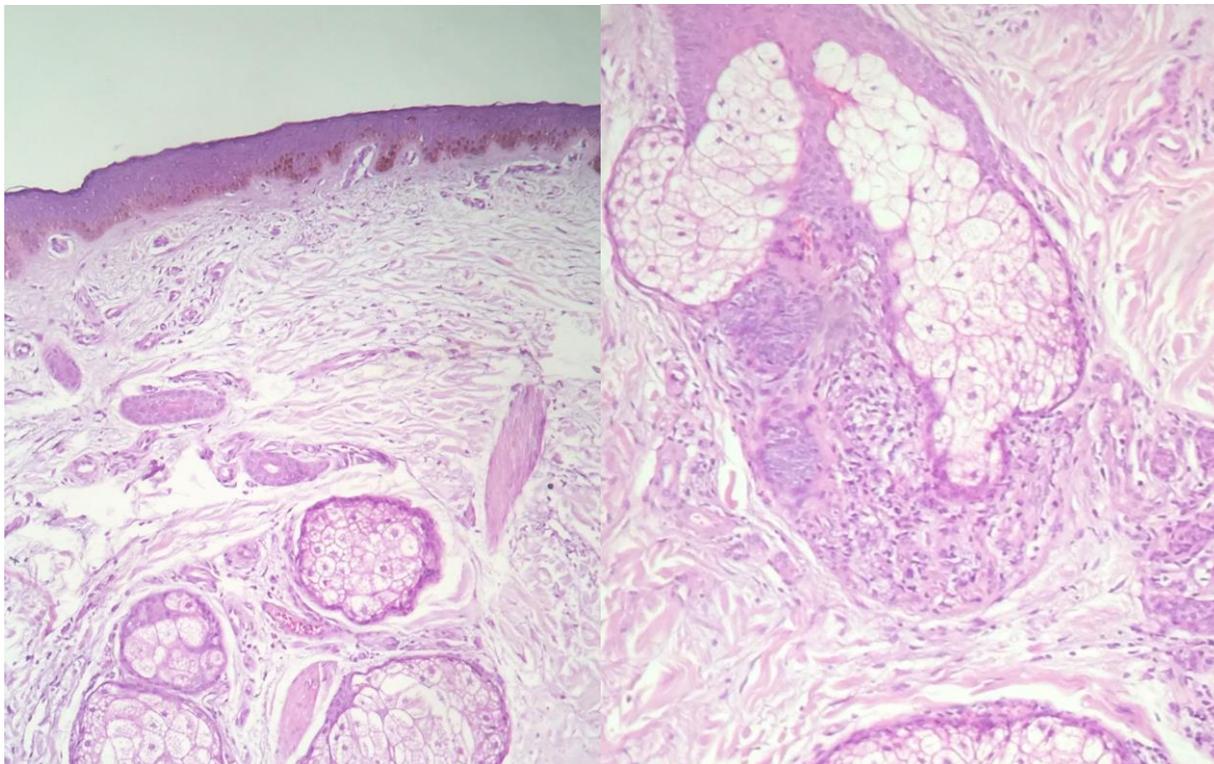
Os exames laboratoriais revelaram hemoglobina sérica de 9,24 g/dL, leucócitos de 4630/mm<sup>3</sup>, neutrófilos de 1343/mm<sup>3</sup>, plaquetas de 147.000/mm<sup>3</sup>; tempo de protrombina de 17 segundos (42%), com INR de 1,38; TGO 18 U/L, TGP 9 U/L; albumina 2,6 g/dL; globulina de 4,4 g/dL, creatinina sérica 0,9 mg/dL, uréia 31 mg/dL; amilase de 93 U/L; sumário de urina sem alterações, raio X de tórax com pulmões normoaerados e aorta alongada e tortuosa; eletrocardiograma com extrassístoles ventriculares; teste rápido para hepatite B e C não reagente; parasitológico de fezes com ovos de *Ascaris lumbricoides* e negativo para protozoários.

Figura 1 - Foto clínica do paciente número 8 que apresentou parasitismo cutâneo positivo.



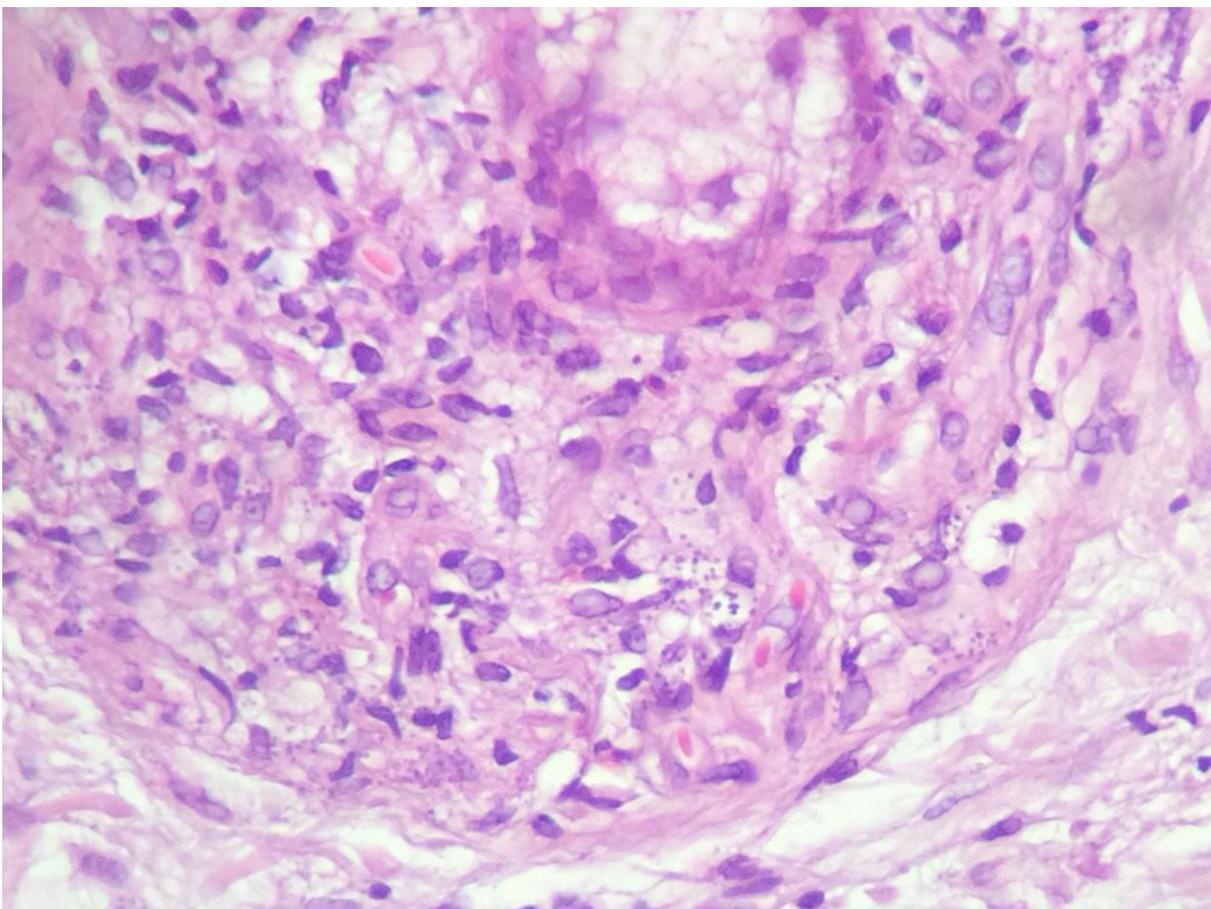
Fonte: Arquivo Pessoal.

Figura 2- Hematoxilina-eosina revelando epiderme sem alterações morfológicas e Infiltrado inflamatório perivascular e perifolicular em derme superficial e média do paciente número 8 em estudo (magnificação original x40 e x100).



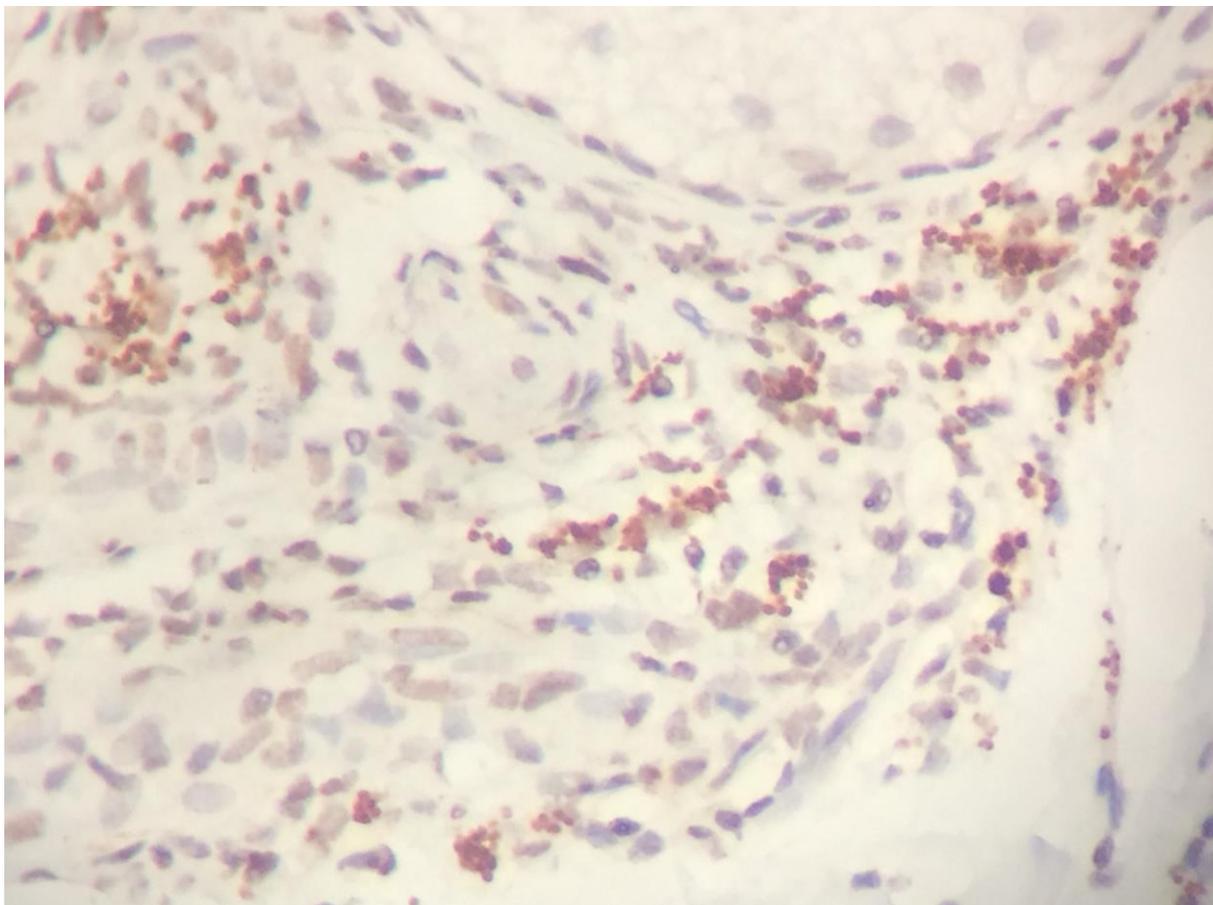
Fonte: Arquivo Pessoal.

Figura 3- Hematoxilina-eosina revelando presença de amastigotas em fragmento de pele do paciente número 8 em estudo (magnificação original x400).



Fonte: Arquivo Pessoal.

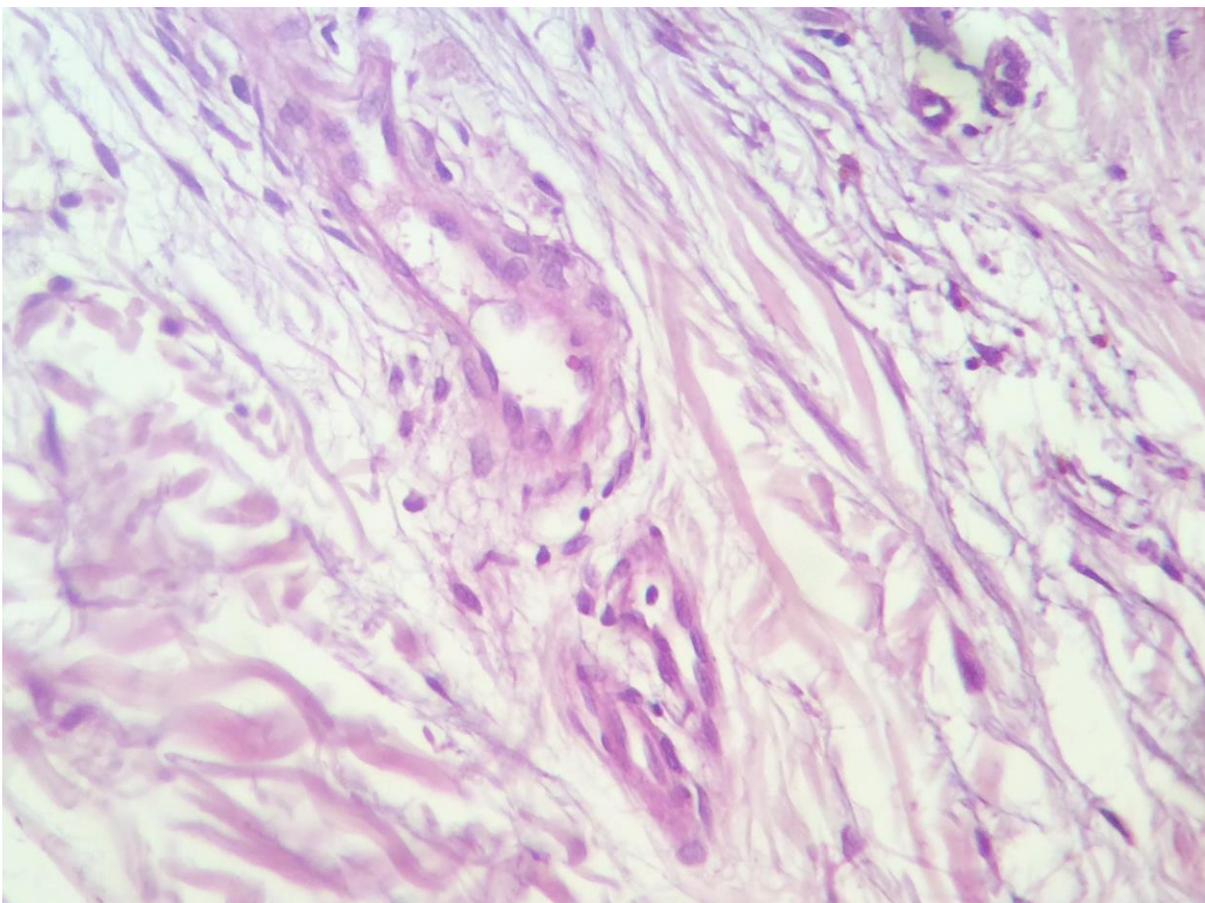
Figura 4 - Imuno-histoquímica evidenciando positividade para anticorpo anti-*Leishmania* em fragmento de pele do paciente número 8 em estudo (magnificação original x400).



Fonte: Arquivo Pessoal.

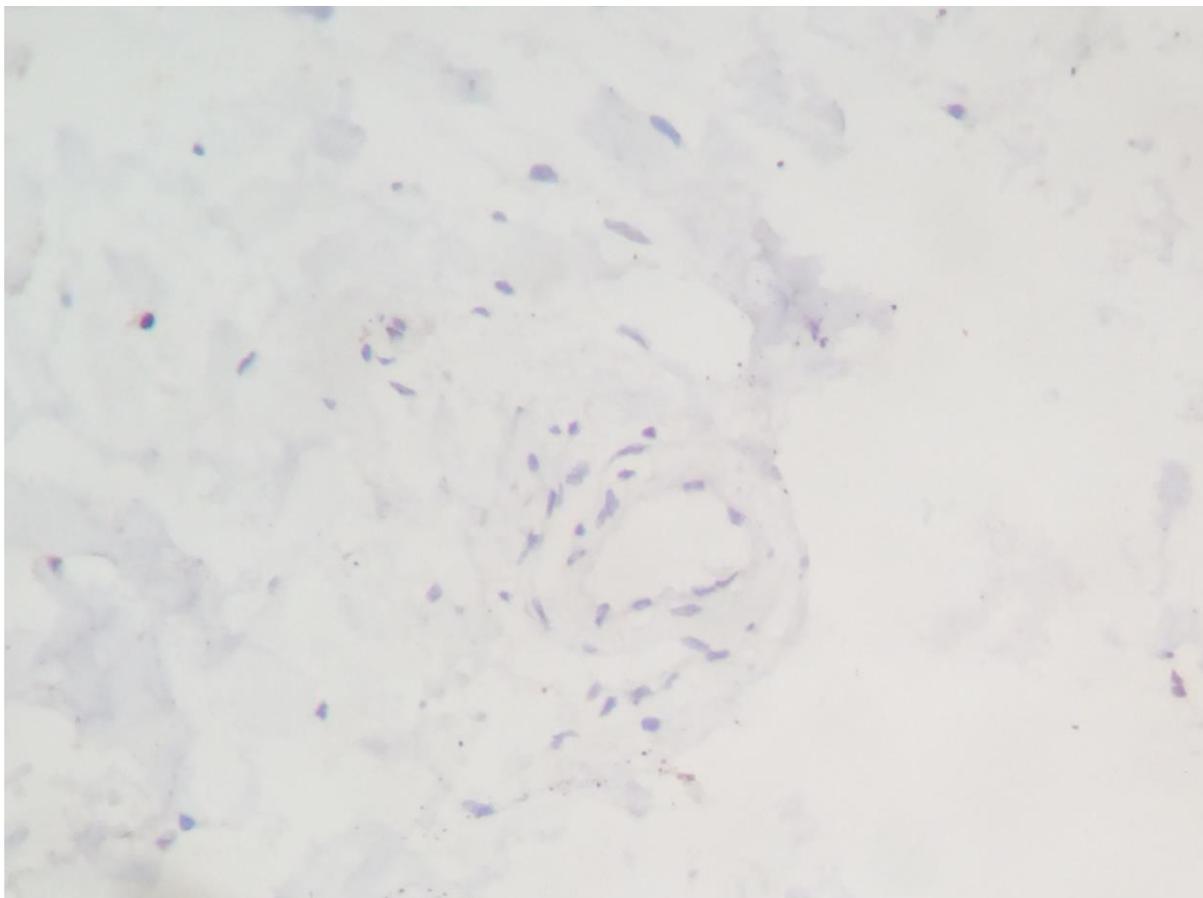
Este doente apresentou teste rápido com antígeno rK39 não reagente, no entanto, a pesquisa direta em aspirado de medula óssea e a mielocultura foram positivas. Foi tratado com anfotericina B lipossomal por 15 dias, sendo 4 ampolas de 50mg por dia durante 14 dias e 2 ampolas em um único dia. Evoluiu bem e, após 72 horas do término do tratamento, foi rebiopsiado em pele adjacente a do exame anterior, e mostrou-se negativo para anticorpo anti-*Leishmania* (FIGURAS 5 e 6). Recebeu alta em uso de profilaxia secundária com anfotericina B lipossomal a cada 14 dias.

Figura 5 - Hematoxilina-eosina revelando ausência de amastigotas em fragmento de pele do paciente número 8 após tratamento (magnificação original x400).



Fonte: Arquivo Pessoal.

Figura 6 - Imuno-histoquímica evidenciando negatividade para anticorpo anti-*Leishmania* em fragmento de pele do paciente número 8 após tratamento (magnificação original x400).



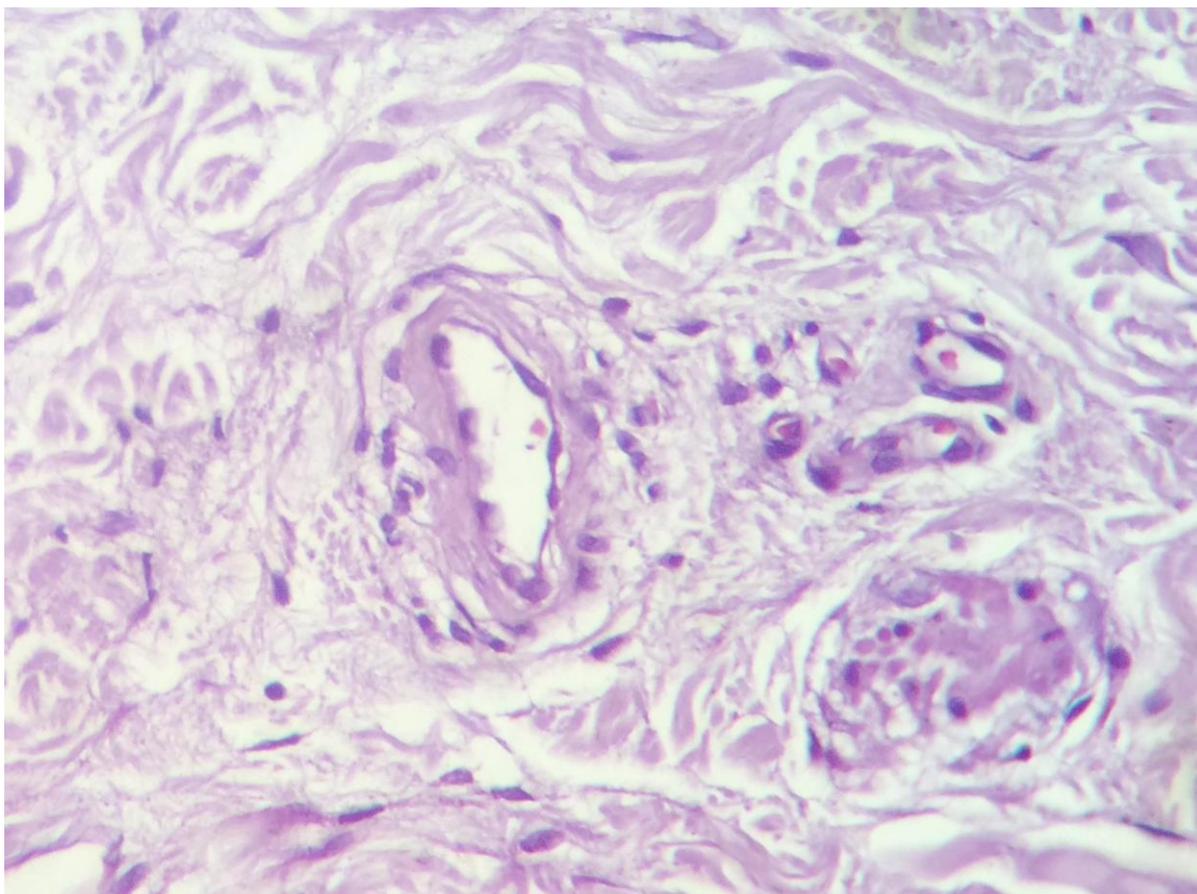
Fonte: Arquivo Pessoal.

Dosagem de CD<sub>4</sub>, CD<sub>8</sub> e carga viral foram repetidas em maio de 2017 e resultaram em 70 células/mm<sup>3</sup>, 1019 células/mm<sup>3</sup> e 127.414 cópias, respectivamente.

Em agosto de 2017 (sete meses após término do tratamento), este paciente foi novamente internado devido queixa de dor abdominal infraumbilical, de moderada intensidade. Negava febre, vômitos ou diarreia. Exames laboratoriais mostraram hemoglobina sérica de 11,8 g/dL, leucócitos de 2980/mm<sup>3</sup>, neutrófilos de 1937/mm<sup>3</sup>, plaquetas de 129.000/mm<sup>3</sup>. Raio X de tórax sem alterações. Raio X de abdome revelou distensão gasosa de alças intestinais centrais (delgado), pobreza na distribuição de gás em cólons, sugerindo quadro obstrutivo de delgado distal, no entanto o paciente mantinha abdome flácido associado a hipertimpanismo à percussão e hábito intestinal normal. Assim, um quadro obstrutivo foi afastado e houve melhora após administração de dimeticona. Nova pesquisa direta em

aspirado de medula óssea e cultura foram negativas para *Leishmania* e o histopatológico de pele da face posterior do antebraço mostrou novamente ausência de parasitismo cutâneo após tratamento (FIGURA 7).

Figura 7- Hematoxilina-eosina revelando ausência de amastigotas em fragmento de pele do paciente número 8 após sete meses do término do tratamento (magnificação original x400).



Fonte: Arquivo Pessoal.



Mais de 70% da nossa amostra era composta por adultos, ao contrário de estudos anteriores que mostravam uma predominância da LV em crianças menores de 10 anos (COSTA; PEREIRA; ARAÚJO, 1990; BORGES *et al*, 2008; MADALOSSO *et al*, 2012; BRASIL, 2006; LIMA, 2015). Provavelmente este fato decorreu da maior recusa em participar da pesquisa durante a infância devido a exigência de um procedimento invasivo (biópsia) para inclusão no estudo.

A maior incidência no sexo masculino observada está em consonância com a literatura (COSTA; PEREIRA; ARAÚJO, 1990; BORGES *et al*, 2008; MADALOSSO *et al*, 2012; QUEIROZ-E-SILVA, 2013; LIMA, 2015) e pode ser explicado por uma maior área corporal exposta a picada de insetos pelo fato de comumente no nordeste brasileiro, devido ao calor, homens permanecerem sem camisa. (COSTA; PEREIRA; ARAÚJO, 1990). Além disso, no sexo masculino há uma maior produção de IL-10, desviando a resposta imune para um padrão humoral Th2 (QUEIROZ-E-SILVA, 2013), causando inibição da ativação dos macrófagos e permitindo replicação intracelular da *Leishmania*, o que resulta em propensão à infecção e ao desenvolvimento de quadro grave. (SAPORITO *et al*, 2013).

Quanto à escolaridade, os pacientes do presente estudo apresentaram baixo índice de estudo formal, já que nenhum paciente concluiu o ensino médio. Este fato pode ser justificado pela maioria dos indivíduos de baixo nível de escolaridade estarem entre a população de baixo poder aquisitivo, a qual também é a que mais sofre com LV. (BEVILACQUA *et al*, 2001). A educação em saúde, aplicada em vários momentos durante a formação estudantil, tem forte potencial de controle epidemiológico. Por outro lado, a limitação causada pela ausência ou baixa escolaridade levaria a reduzida prática preventiva. (BORGES *et al*, 2008).

Em relação a procedência, a maioria dos nossos pacientes eram oriundos de cidades com menos de 50.000 habitantes, resultado semelhante ao apontado em outro estudo (LIMA, 2015). No Piauí, estado de origem de 63,6% dos doentes desta pesquisa, 219 dos 224 municípios têm menos 50.000 habitantes, o que pode explicar nosso resultado. (BRASIL, 2016).

Foi observado que muitos pacientes (31,8%) eram coinfectedados por HIV. Atualmente, a coinfeção *Leishmania*/HIV é descrita em 2-12% de todos os doentes com LV e tende a aumentar ao longo dos anos. Esta incidência global provavelmente é subestimada pois a LV não está incluída na lista do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) de infecções oportunistas e, portanto,

raramente é relatada em sistemas de notificação de AIDS (WHO, 2007). Além disso, a maior incidência de coinfeção observada nesse estudo pode ser devido ao viés relacionado ao fato do IDTNP ser centro de referência na região tanto para leishmaniose como para HIV. Estes pacientes imunossuprimidos podem ser reservatório da infecção para flebotomíneos, alterando o ciclo de transmissão para comportamento antroponótico, semelhante à LV na Índia, causada pela *Leishmania donovani*. (QUEIROZ-E-SILVA, 2013).

Em nossa pesquisa, o tempo médio entre o início dos sintomas e o diagnóstico não diferiram da média aproximada de 30 dias relatada na literatura. (COSTA *et al*, 2000). A apresentação clínica da LV foi similar aos resultados de outros estudos que demonstraram como principais manifestações a hepatoesplenomegalia associada a febre e pancitopenia. (MADALOSSO *et al*, 2012; LIMA, 2015; FRANCESCHINI *et al*, 2016).

O ciclo antroponótico da LV tem sido descrito na Ásia e África Oriental com a *Leishmania donovani* e, artificialmente, entre usuários de drogas, coinfectados HIV/LV por *Leishmania infantum*, durante o compartilhamento de seringas contaminadas. (CRUZ *et al*, 2006). Quanto a *Leishmania infantum*, o cão ainda é considerado o principal reservatório do parasita, embora a eutanásia canina como medida de controle da doença tenha se mostrado ineficaz. A comprovação, por estudos de xenodiagnóstico, de que pessoas com LV ativa, principalmente quando coinfectadas por HIV, podem infectar flebotomíneos com *L. infantum*, fortaleceram a hipótese de que humanos poderiam servir como reservatório de parasitas para outros indivíduos. (DEANE & DEANE, 1962; COSTA *et al*, 2000; MOLINA *et al*, 1999). Além disso, o surgimento de PKDL e leishmaniose cutânea por *Leishmania infantum* nas áreas endêmicas de LV (BADIRZADEH *et al*, 2013; DEREURE *et al*, 2003), reforçou a idéia de parasitemia cutânea na leishmaniose visceral americana humana.

No nosso estudo um participante de 22 doentes estudados, apresentou parasitismo cutâneo ao exame histopatológico, confirmado por imuno-histoquímica. Neste indivíduo, a densidade parasitária na derme era alta (mais de 50 amastigotas/campo de grande aumento) e, após o tratamento, foi negativada. A alta carga parasitária pode ser justificada pela coinfeção deste doente por HIV, cuja imunossupressão poderia induzir uma maior proliferação do protozoário e vasta distribuição dos parasitas em todo o corpo.

Parasitismo cutâneo por *Leishmania infantum* em humanos com leishmaniose visceral e pele aparentemente são já haviam sido descritos anteriormente no Brasil, porém na literatura não há publicações sobre este tema nos últimos 20 anos. Chagas *et al.* (1938 apud PRATA & PIVA, 1956), no Pará, encontraram raras leishmanias no esfregaço de biópsia de pele são em um dos quatro doentes estudados (25%).

No Ceará (CE), Deane & Deane (1955) examinaram a linfa dérmica em lesões cutâneas de 31 pacientes com calazar e encontraram leishmanias apenas em um único indivíduo (3,2%), na borda de uma úlcera maleolar traumática. Neste mesmo estudo observaram que 76,3% dos cães e 75% das raposas tinham parasitismo cutâneo nos esfregaços.

Em 1962, numa série de 43 pacientes com LV ativa e pele macroscopicamente normal, Deane & Deane encontraram sete participantes com parasitismo cutâneo (16,3%), sendo um deles bem proeminente e mostraram que todos os pacientes, cuja pele havia sido parasitada durante o envolvimento visceral, foram negativados quando novamente examinados após o tratamento. No entanto, nesta publicação não fica claro qual foi o local da biópsia, nem qual exame foi utilizado para detecção dos parasitas. Nesse mesmo estudo, os autores compararam com o parasitismo cutâneo canino, o qual na maioria das vezes foi mais abundante e frequente (77,6% dos cães com LV tinham parasitismo dérmico).

Ainda neste estado (CE), Diógenes (1987) não encontrou nenhuma forma amastigota em amostras teciduais provenientes de biópsias da região paraespinal subscapular de pele intacta de 27 humanos investigados. No entanto, em sete de 18 pacientes (38,9%), formas promastigotas foram identificadas em cultura de pele. (DIÓGENES, 1987; VASCONCELOS *et al.* 1993). Porém, no material da cultura é difícil separar tecido do sangue, logo os parasitas isolados poderiam estar na corrente sanguínea e não na pele. Além disso, experimentos recentes em cães demonstraram tendência das infecções por *L. infantum* em manter parasitemias duradouras (6 meses) na pele ao redor do local da picada infecciosa do flebótomo. (ASLAN *et al.*, 2016), logo a realização da biópsia em área coberta poderia resultar em uma menor carga parasitária e dificuldade de visualização na HE.

Prata & Piva (1956), na Bahia, biopsiaram pele aparentemente normal da face lateral do braço ou antebraço de sete pacientes com leishmaniose visceral e observaram a presença de *Leishmania* na pele de um deles (14,3%). Neste mesmo

estado, Teixeira (1980 apud DIÓGENES, 1987) detectou o parasita na pele de um dentre 14 pacientes com calazar (7,1%).

Mayrink *et al* (1971), em Minas Gerais, obteve resultado negativo em material obtido por escarificação da pele de todos os 23 pacientes estudados. Já Coutinho (1982 apud DIÓGENES, 1987), em Pernambuco, observou parasitismo cutâneo em dois de 28 doentes com LV estudados por necropsia (7,1%).

O parasitismo cutâneo pela *Leishmania infantum* pode ocorrer no momento da sua penetração na pele ou na sua disseminação pelo corpo. (DIÓGENES, 1987). É possível que os achados variáveis de parasitas na pele (0 a 38,9%) sejam devido a diferenças de método, mas demonstram que a transmissão homem-flebótomo-homem parece plausível e um novo ciclo antrozoonótico deve ser considerado na epidemiologia da infecção por *L. infantum*, principalmente em coinfectados por HIV. Para nosso conhecimento, este estudo é o primeiro a documentar por meio de imuno-histoquímica a presença de parasitismo cutâneo em pele sã de humanos com leishmaniose visceral americana ativa.

A imuno-histoquímica é uma técnica simples para a identificação de *Leishmania* nos tecidos, não necessitando de equipamentos especiais e é altamente sensível e específica (TAFURI *et al*, 2004), podendo fornecer resultados semelhantes aos obtidos com a reação em cadeia da polimerase (PCR) convencional, sendo sensível ao ponto de detectar baixa carga parasitária em cães assintomáticos. (LARANJEIRA *et al* 2014). Para a detecção de *Leishmania* na pele, o método imuno-histoquímico tem aumentado 50% o positivismo em relação ao método histológico hematoxilina-eosina de rotina. (TAFURI *et al*, 2004). Em nosso estudo, a imuno-histoquímica não conferiu aumento de sensibilidade na detecção de parasitismo cutâneo em relação à análise histopatológica convencional. Isso porque o único participante positivo exibiu alta carga parasitária, facilmente visualizada em lâmina corada em HE.

A imuno-histoquímica já foi usada como um método alternativo padrão para o diagnóstico Leishmaniose tegumentar americana (ALVES *et al*, 2013; MARQUES *et al*, 2017) e para pesquisa de parasitismo cutâneo na leishmaniose visceral canina (LAURENTI *et al.*, 2013; LARANJEIRA *et al.*, 2014; FURTADO *et al*, 2015; ROSSI *et al*, 2016).

Laranjeira *et al.* (2014) detectaram, através de imuno-histoquímica, parasitismo cutâneo em 64,4% de 134 cães vadios submetidos a eutanásia sem

inspeção sorológica prévia, taxa inferior a encontrada em linfonodos (100%) e baço (82,2%) dos mesmos animais.

Laurenti *et al* (2013) notaram que 58,3% dos cães sintomáticos e 35,7% dos assintomáticos tinham parasitismo cutâneo na imuno-histoquímica, resultados também abaixo dos achados em baço (66,7% e 71,4%, respectivamente) e linfonodos (100%). Assim como Deane & Deane (1955), perceberam que a presença de *Leishmania* na pele não foi crucial para a capacidade de infectar *Lutzomyia longipalpis*, pois animais sem parasitismo cutâneo infectaram insetos.

Como nas áreas endêmicas para LV a população humana é bem maior que a canina, o número de humanos infectados deve ser bem maior do que o de cães; portanto, apesar de menos apto a transmitir a doença para o vetor, a importância do homem como reservatório da doença não deve ser negligenciada. Além disso, Deane & Deane (1955) e Quinell, Dye e Shaw (1992) mostraram que *Lu. longipalpis* tem maior atratividade por hospedeiros humanos do que caninos, em grande parte devido seus maiores tamanhos relativos.

Apesar de portadores assintomáticos de *L. infantum* serem menos infecciosos para flebótomos do que pessoas com LV ativa, seus vastos números em uma cidade endêmica, constituiriam um surpreendente reservatório de parasitas. (COSTA *et al*, 2000). Em Teresina, um estudo com pessoas assintomáticas que viviam em domicílios em que houve um doente com LV ativa recente, mostrou que 71% apresentavam reatividade cutânea, o que representa uma das maiores prevalências de infecção assintomática relatada. (COSTA *et al*, 2002).

Em áreas endêmicas, onde as pessoas sustentam até 30 picadas de flebótomos por hora, um paciente sintomático poderia infectar quase 400 flebótomos em 30 dias, intervalo característico entre o início da febre e o tratamento. (COSTA *et al*, 2000).



Existe parasitismo cutâneo em humanos com leishmaniose visceral americana e estes podem servir como reservatório para infecção e contribuir para a transmissão. Este fato deve ser levado em consideração no acompanhamento clínico do paciente e em programas de controle da doença.

Não foi possível correlacionar o grau de parasitismo dérmico com outras variáveis, pois em apenas um participante o exame foi positivo. Este paciente era coinfestado por HIV o que sugere que estes apresentem um maior índice de parasitismo cutâneo, mas novos estudos com amostras maiores são necessários para um melhor entendimento.



ALENCAR, J. E. *et al.* Aspectos atuais do calazar no Ceará. **Rev Bras Malario**, v. 25, p. 27-48. 1974.

ALVAR, J. *et al.* Leishmania and Human Immunodeficiency Virus Coinfection: the First 10 Years. **Clin Microbiol Rev**, v. 10, n. 2, p. 298-319, apr, 1997. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC172921/>>. Acesso em: 30 jul. 2017.

ALVES, C. F. *et al.* American Tegumentary Leishmaniasis: Effectiveness of an Immunohistochemical Protocol for the Detection of Leishmania in Skin. **Plos One**, v. 8, n. 5, p. e63343, mai. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3660443/>>. Acesso em: 15 ago. 2017.

ANTINORI, S. *et al.* Post-kala-azar dermal leishmaniasis as an immune reconstitution inflammatory syndrome in a patient with acquired immune deficiency syndrome. **Br J Dermatol**, v. 157, n. 5, p. 1032-6, nov. 2007.

ARONSON N. *et al.* Diagnosis and Treatment of Leishmaniasis: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH)\*. **Am J Trop Med Hyg**, v. 96, n. 1, p. 24-45, jan. 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5239701/>>. Acesso em 04 set. 2017.

ASLAN, H. *et al.* New Insights Into the Transmissibility of *Leishmania infantum* From Dogs to Sand Flies: Experimental Vector-Transmission Reveals Persistent Parasite Depots at Bite Sites. **J Infect Dis**, v. 213, n. 11, p. 1752–1761, jun. 2016

BABIKER, A. M. *et al.* Concomitant Infection with *Leishmania donovani* and *L. major* in Single Ulcers of Cutaneous Leishmaniasis Patients from Sudan. **J Trop Med**, Mar. 2014. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/jtm/2014/170859/>>. Acesso em: 16 ago.2017

BADARÓ, R. *et al.* New perspectives on a subclinical form of visceral leishmaniasis. **J Infect Dis**, v. 154, n. 6, p. 1003-11, dec. 1986.

BADIRZADEH, A. *et al.* Cutaneous and post kala-azar dermal leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in endemic areas of visceral leishmaniasis, northwestern Iran 2002-2011: a case series. **Pathog Glob Health**, v. 107, n. 4, p. 194-7, jun. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4001470/>>. Acesso em 20 ago. 2017.

BEVILACQUA, P. D. *et al.* Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v. 53, n. 1, feb. 2001. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-09352001000100001](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352001000100001)>. Acesso em: 22 ago. 2017.

BITTENCOURT, A. *et al.* Post-kala-azar Dermal Leishmaniasis Associated With AIDS. **Braz J Infect Dis**, v. 6, n. 6, dec. 2002. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-86702002000600008](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-86702002000600008)>. Acesso em: 23 ago. 2017.

BORGES, B. K. A. *et al.* Avaliação do nível de conhecimento e de atitudes preventivas da população sobre a leishmaniose visceral em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 24, n. 4, apr. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.org/pdf/csp/v24n4/07.pdf>>. Acesso em: 12 ago. 2017.

BOUMIS, E. *et al.* Atypical disseminated leishmaniasis resembling post-kala-azar dermal leishmaniasis in an HIV-infected patient. **Int J STD & AIDS**, v. 17, n.5, p. 351-353. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução nº 466/2012**. Conselho Nacional de Pesquisa com Seres Humanos. Diário Oficial da União. Brasília, 2012. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466\\_12\\_12\\_2012.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466_12_12_2012.html)>. Acesso em: 02 abr. 2015.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Ed. do Ministério da Saúde, 2006. 120p. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_controle\\_leishmanios\\_e\\_visceras.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmanios_e_visceras.pdf)>. Acesso em: 26 abr. 2015.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Portal da Saúde**. Leishmaniose visceral (LV). 2014. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/726-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/leishmaniose-visceral-lv/11330-descricao-da-doenca>>. Acessado em: 26 abr. 2015.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de recomendações para diagnóstico, tratamento e acompanhamento de pacientes com a coinfeção Leishmania-HIV**. 1. ed. Brasília : Ministério da Saúde, 2015a. 109p. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_recomendacoes\\_pacientes\\_leishmania.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_recomendacoes_pacientes_leishmania.pdf)>. Acesso em: 10 fev. 2017

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Portal da Saúde**. Letalidade de Leishmaniose Visceral. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 2000 a 2015. 2015b. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/novembro/08/LV-Letalidade.pdf>>. Acesso em: 09 ago. 2017.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Portal da Saúde**. Coeficiente de incidência de Leishmaniose Visceral, por 100.000 habitantes. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2015. 2015c. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/novembro/08/LV-Coeficiente%20de%20Incidencia.pdf>>. Acessado em: 09 ago. 2017.

BRASIL. IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Estimativas da população residente no Brasil e unidades da federação com data de referência em 1º de julho de 2016**. 2016. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Estimativas\\_de\\_Populacao/Estimativas\\_2016/estimativa\\_dou\\_2016\\_20160913.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Estimativas_de_Populacao/Estimativas_2016/estimativa_dou_2016_20160913.pdf)>. Acesso em: 21 ago. 2017.

CARNAÚBA JR, D. *et al.* Atypical disseminated leishmaniasis similar to post-kala-azar dermal leishmaniasis in a Brazilian AIDS patient infected with *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*: a case report. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 13, n. 6, p. e504—e507, nov. 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971209001301>>. Acesso em: 23 ago. 2017.

CELESIA, B. M. *et al.* Atypical Presentation of PKDL due to *Leishmania infantum* in an HIV-Infected Patient with Relapsing Visceral Leishmaniasis. **Case Rep Infect Dis**, Ago. 2014. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/criid/2014/370286/>>. Acesso em: 23 ago. 2017.

CHAPPUIS, F. *et al.* Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control? **Nat Rev Microbiol**, v. 5, n. 11, p. 873-82, nov. 2007.

COSTA, C.H.N.; PEREIRA, H.F.; ARAÚJO, M.V. Epidemia de Leishmaniose visceral no estado do Piauí, Brasil, 1980-1986. **Rev. Saúde Públ**, v. 24, n. 5, p. 361-372, oct. 1990. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-89101990000500003](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89101990000500003)>. Acesso em: 28 jul. 2017.

COSTA, C.H.N, *et al.* Competence of the human host as a reservoir for *Leishmania chagasi*. **J Infect Dis**, v.182, n. 03, p. 997–1000, set. 2000.

\_\_\_\_\_. Assymptomatic human carriers of *Leishmania chagasi*. **Am J Trop Med Hyg**, v. 66, n. 4, p. 334-337, apr. 2002.

COSTA, D. L. *et al.* Predicting death from kala-azar: construction, development, and validation of a score set and accompanying software. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**, v. 49, n. 6, nov-dez. 2016. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822016000600728&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822016000600728&lng=en&nrm=iso&tlng=en)>. Acesso em: 16 jul. 2017.

CRUZ, I. *et al.* Leishmania and HIV co-infections in the second decade. **Indian J Med Res**, v.123, n. 3, p. 357-388, mar. 2006

DE ALMEIDA, A. S.; WERNECK, G. L.; RESENDES, A. P. C. Classificação orientada a objeto de imagens de sensoriamento remoto em estudos epidemiológicos sobre leishmaniose visceral em área urbana. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 8, p. 1639-1653, ago. 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/csp/v30n8/0102-311X-csp-30-8-1639.pdf>>. Acesso em: 24 abr. 2015.

DEANE, L. M. & DEANE, M. P. Observações preliminares sobre a importância comparativa do homem, do cão e da raposa (*Lycalopex vetulus*) como reservatórios da *Leishmania donovani*, em área endêmica de calazar, no Ceará. **O Hospital**, v. 48, n. 1, p. 6176, jul. 1955.

DEANE, L. M. & DEANE, M. P. Visceral leishmaniasis in Brazil: geographical distribution and transmission. **Rev. Inst. Med. Trop**, v. 4, n. 3, p. 198-212, mai-jun. 1962.

DEREURE, J. *et al.* Visceral leishmaniasis in eastern Sudan: parasite identification in humans and dogs; host-parasite relationships. **Microbes Infect**, v. 5, n. 12, p. 1103-8, oct. 2003. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S128645790300220X?via%3Dihub>>. Acesso em: 18 ago. 2017.

DIÓGENES, M. J. N. **Parasitismo cutâneo na leishmaniose visceral Americana: aspectos clínicos e histopatológicos**. 1987. 55 f. Dissertação (doutorado) – Escola Paulista de Medicina, Curso de Pós Graduação em Dermatologia, São Paulo, 1987.

DOS SANTOS, W. L. C. *et al.* Association between skin parasitism and a granulomatous inflammatory pattern in canine visceral leishmaniosis. **Parasitol Res**, v. 92, p. 89-94. 2004. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/7879/1/Santos%20WL%20dos%20Association%20between%20skin....pdf>>. Acesso em: 20 abr. 2015.

DRUMOND, K. O & COSTA, F.A. L. Forty years of visceral leishmaniasis in the state of Piauí: a review. **Rev. Inst. Med. Trop**, v. 53, n. 1, p. 3-11, jan-feb. 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rimtsp/v53n1/v53n1a02.pdf>>. Acesso em: 17 jul. 2017.

EROGLU, F.; KOLTAS, I. S.; GENÇ, A. Identification of causative species in cutaneous leishmaniasis patients using PCR-RFLP. **J Bacteriol Parasitol**, 2011. Disponível em: <<https://www.omicsonline.org/identification-of-causative-species-in-cutaneous-leishmaniasis-patients-using-pcr-rflp-2155-9597.1000113.php?aid=256>>. Acesso em: 31 ago. 2011.

EROGLU, F. *et al.* Clinical manifestations and genetic variation of *Leishmania infantum* and *Leishmania tropica* in Southern Turkey. **Exp Parasitol**, v.154, p.67-74, jul. 2015.

FRANCESCHINI, E. *et al.* Clinical and Microbiological Characteristics of Visceral Leishmaniasis Outbreak in a Northern Italian Nonendemic Area: A Retrospective Observational Study. **Biomed Research International**, nov. 2016. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/bmri/2016/6481028/>>. Acesso em: 24 ago. 2017.

FURTADO, M. C. *et al.* Comparative study of in situ hybridization, immunohistochemistry and parasitological culture for the diagnosis of canine leishmaniosis. **Parasit Vectors**, v. 2, n. 8, p. 620, dez. 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4667506/>>. Acesso em: 08 ago. 2017.

HERWALDT, B. L. Leishmaniasis. **Lancet**, v. 354, n. 9185, p. 1191-9, 2 out. 1999

KIRSTEIN, O. D. *et al.* Minimally invasive microbiopsies: a novel sampling method for identifying asymptomatic, potentially infectious carriers of *Leishmania donovani*. **Int. J. Parasitol**, 26 apr. 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020751917301042?via%3Dihub>>. Acesso em: 2 jul. 2017.

KOLTAS, I. S. *et al.* The emergence of *Leishmania major* and *Leishmania donovani* in southern Turkey. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg**, v.108, n.3, p. 154–158. 2014.

KUHLS, K. *et al.* Comparative Microsatellite Typing of New World *Leishmania infantum* Reveals Low Heterogeneity among Populations and Its Recent Old World Origin. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 5, n. 6, p. e1155. 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3110170/>>. Acesso em: 13 jun. 2017.

LARANJEIRA, D. F. *et al.* Serological and infection statuses of dogs from a visceral leishmaniasis-endemic area. **Rev Saúde Pública**, v. 48, n. 4, p. 563-570. 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4181098/>>. Acesso em: 05 abr 2015.

LAURENTI, M. D. *et al.* Asymptomatic dogs are highly competent to transmit *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* to the natural vector. **Veterinary Parasitology**, v. 196, n. 3-4, p. 296-300, sep. 2013.

LEWIS, D.J. Depth of penetration of vertebrate skin by phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). **Ann Trop Med Parasitol**, v. 81, n. 2, p. 173-179, abr. 1987.

LIMA, I. P. *et al.* Human immunodeficiency virus/*Leishmania infantum* in the first foci of urban American visceral leishmaniasis: clinical presentation from 1994 to 2010. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Uberaba, v. 46, n. 2, abr. 2013. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S003786822013000200156](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003786822013000200156)>. Acesso em: 3 ago. 2017.

LIMA, S. S. **INF-γ, IL-6, CXCL8 E IL-10 são marcadores precoces da evolução da leishmaniose visceral**. 2015. 149 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós Graduação em Ciências e Saúde, Teresina, 2015.

LYRA, M. R. *et al.* First report of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* in an urban área of Rio de Janeiro, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo**, v. 57, n. 5, p. 451-454, September-October. 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4660459/>>. Acesso em: 04 set. 2017.

MADALOSSO, G. *et al.* American Visceral Leishmaniasis: Factors Associated with Lethality in the State of São Paulo, Brazil. **Hindawi Publishing Corporation. Journal of Tropical Medicine**. 2012. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/jtm/2012/281572/>>. Acesso em: 10 jul. 2017.

MARQUES, F. A. *et al.* Effectiveness of an immunohistochemical protocol for *Leishmania* detection in different clinical forms of American tegumentary leishmaniasis. **Parasitology International**, v. 66, n. 1, p. 884-888, feb. 2017.

MARY, C. *et al.* Quantification of *Leishmania infantum* DNA by a real-time PCR assay with high sensitivity. **J Clin Microbiol**, v. 42, n. 11, p. 5249-5255. 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC525214/>>. Acesso em: 5 mai. 2017.

MAYRINK, W. *et al.* Diagnóstico do calazar. II - Estudo do teste de Montenegro e pesquisa de *Leishmania* em material de pele proveniente de pacientes portadores de calazar, antes e após terapêutica antimonial. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 13, n. 4, p. 268-271, jul-ago. 1971. Disponível em: < <http://www.imt.usp.br/wp-content/uploads/revista/vol13/268-271.pdf>>. Acesso em: 24 ago. 2017.

MOLINA, R. *et al.* Infection of sand flies by humans coinfecting with *Leishmania infantum* and human immunodeficiency virus. **Am J Trop Med Hyg**, v. 60, n. 1, p. 51-53, jan. 1999. Disponível em: <<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.524.1850&rep=rep1&type=pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2017.

MOREIRA, M. A. *et al.* Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for the diagnosis of leishmaniasis in dogs with different clinical signs. **Vet Parasitol**, v.145, p. 245-52. 2007.

PRATA, A. & PIVA, N. Presença de leishmanias em pele aparentemente normal de pacientes com calazar. **O Hospital**, v. 49, n. 4, p. 481-486, abr, 1956.

QUEIROZ-E-SILVA, I. T. B. **Comorbidade leishmaniose visceral/ AIDS no Estado de São Paulo, Brasil (1999-2010): aspectos epidemiológicos e moleculares.** 2013. 92 f. Doutorado (Tese) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

QUINELL, R. J.; DYE, C.; SHAW, J. J. Host preferences of the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Amazonian Brazil. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 6, n. 3, p. 195-200, jul. 1992.

RAMOS, A. *et al.* Post-kala-azar dermal Leishmaniasis and uveitis in an HIV-positive patient. **Infection**, v. 36, n. 2, p. 184-186, mar. 2008.

ROLÃO, N. *et al.* Quantification of *Leishmania infantum* parasites in tissue biopsies by real-time polymerase chain reaction and polymerase chain reaction-enzyme-linked immunosorbent assay. **J Parasitol**, v. 90, n. 5, p. 1150-1154, oct. 2004.

ROSSI, C. N. *et al.* *In situ* cutaneous cellular immune response in dogs naturally affected by visceral leishmaniasis. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 58, p.48. 2016.

SAPORITO, L. *et al.* Visceral leishmaniasis: host-parasite interactions and clinical presentation in the immunocompetent and in the immunocompromised host. **Int J Infect Dis**, v. 17, n. 8, p. 572-6, aug. 2013. Disponível em: <[http://www.ijidonline.com/article/S1201-9712\(13\)00035-0/fulltext](http://www.ijidonline.com/article/S1201-9712(13)00035-0/fulltext)>. Acesso em: 12 ago. 2017.

SILVA, J. C. *et al.* Comparison of optical microscopy and quantitative polymerase chain reaction for estimating parasitaemia in patients with kala-azar and modelling infectiousness to the vector *Lutzomyia longipalpis*. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 111, n. 8, p. 517-522, aug. 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4981120/>>. Acesso em: 20 mar. 2017.

SOARES, V. Y. R. *et al.* Clinical and epidemiological analysis of patients with HIV/AIDS admitted to a reference hospital in the northeast region of Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, São Paulo, v. 50, n. 6, dec. 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-46652008000600003](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652008000600003)>. Acesso em: 11 jul. 2017.

SOLANO-GALLEGO, L. *et al.* Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. **J Clin Microbiol**, v. 39, n. 2, p. 560-563, feb. 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC87775/>>. Acesso em: 30 mar. 2015.

STARK, D. *et al.* Post-Kala-Azar Dermal Leishmaniasis Due to *Leishmania infantum* in a Human Immunodeficiency Virus Type 1-Infected Patient. **J Clin Microbiol**, v. 44, n. 3, p. 1178-1180, mar. 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1393159/>>. Acesso em: 23 ago. 2017.

TAFURI, W. L. *et al.* An alternative immunohistochemical method for detecting *Leishmania* amastigotes in paraffin-embedded canine tissues. **Journal of Immunological Methods**, v. 292, n. 1-2, p. 17-23, sep. 2004.

TOZ, S.O. *et al.* Leishmaniasis in Turkey: molecular characterization of *Leishmania* from human and canine clinical samples. **Trop. Med. Int. Health**, v.14, n.11, p.1401-1406. 2009.

TOZ, S.O. *et al.* A real-time ITS1-PCR based method in the diagnosis and species identification of *Leishmania* parasite from human and dog clinical samples in Turkey. **PLoS Negl. Trop. Dis**, v.7, n.5, p.e2205. 2013. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0002205>>. Acesso em: 31 ago. 2017.

TRINDADE, M. A. B. *et al.* Post-kala-azar dermal leishmaniasis and leprosy: case report and literature review. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, p. 543, 23 nov. 2015. Disponível em: <<https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-015-1260-x>>. Acesso em: 23 ago. 2017.

VASCONCELOS, I. A. *et al.* Cutaneous parasitism by *Leishmania (Leishmania) chagasi* during South American visceral leishmaniasis. **Bull soc Pathol Exot**, v. 86, n. 2, p. 101-105.1993.

VOLPINI, A. C. *et al.* PCR-RFLP to identify *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L. (Leishmania) amazonensis* causing american cutaneous leishmaniasis. **Actatropica**, v. 90, n. 1, p. 31-37, mar. 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Report of the Fifth Consultative Meeting on Leishmania/ HIV Coinfection**. Addis Ababa, Ethiopia, mar, 2007. Disponível em: <[http://www.who.int/leishmaniasis/resources/Leishmaniasis\\_hiv\\_coinfection5.pdf](http://www.who.int/leishmaniasis/resources/Leishmaniasis_hiv_coinfection5.pdf)>. Acesso em: 31 jul. 2017.

\_\_\_\_\_. **Visceral leishmaniasis.** Geneva, [2017?]. Disponível em: <[http://www.who.int/leishmaniasis/visceral\\_leishmaniasis/en/](http://www.who.int/leishmaniasis/visceral_leishmaniasis/en/)>. Acesso em: 09 ago. 2017.



## APÊNDICE A- Termo de assentimento livre e esclarecido.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E SAÚDE**  
 Av. Frei Serafim, 2280, Centro, Teresina, Piauí, Brasil, CEP: 64001-020  
 Telefone: (86) 3215-5856/ Fax: (86) 3215-1148  
 E-mail: [mestradosaude@ufpi.br](mailto:mestradosaude@ufpi.br)

### TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa chamada “**PARASITISMO CUTÂNEO EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE VISCERAL EM ÁREA ENDÊMICA**”, que será realizada pela seguinte equipe de pesquisadores da Universidade Federal do Piauí: Carla Riama Lopes de Pádua Moura, Vivianne Martins Almeida, Prof<sup>ª</sup>. Dra. Dorcas Lamounier Costa e Prof. Dr. Carlos Henrique Nery Costa (telefone de contato (86) 981220707).

A equipe desse projeto quer saber se existe o micróbio do calazar na pele de humanos com essa doença e para isso serão feitos alguns exames. Será retirado sangue do seu braço e você poderá sentir um leve desconforto durante a punção da veia, o mesmo que você sente quando toma injeção. Manchas roxas poderão surgir no local mas desaparecerão em pouco dias, sem deixar marcas. Serão coletados também, dois pedacinhos de sua pele e será dado um pequeno beliscão utilizando um aparelho especial, mas você não sentirá dor pois será feita uma anestesia no local. Poderá sangrar um pouco e ficar pequenas cicatrizes no local do exame. Não se preocupe que a coleta do material será feita em um consultório reservado em que ficará apenas você e alguém da sua família e a equipe médica que cuidará de você. Qualquer incômodo que possa sentir será contornado de imediato ou caso ocorra no dia seguinte, você deverá ligar para o telefone acima ou procurar qualquer membro da equipe de médicos no Instituto de Doenças Tropicais Nathan Portella, onde você está sendo tratado(a). Além disso, algumas informações serão coletadas do seu prontuário e você e seus familiares responderão a uma entrevista que será feita em local reservado para evitar que você possa sentir vergonha ou desconforto.

Caso você consinta, seu antebraço será exposto a picadas de insetos sadios, reproduzidos em laboratório, para avaliar se você está transmitindo a doença para estes animais. O risco desse procedimento é você poder sentir um desconforto leve no momento da picada dos insetos, tipo uma picada de muriçoca.

Se você aceitar participar dessa pesquisa, deverá assinar este documento, em que estará declarando que tudo lhe foi explicado antes e que você entendeu e concordou. Se tiver alguma dúvida, pode perguntar a qualquer membro da equipe. O responsável por você poderá retirar o consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento. Você não será identificado quando divulgarmos as informações e prometemos sigilo total sobre os dados coletados. As amostras de sangue e pele coletadas na pesquisa ficarão guardadas no laboratório de pesquisa em Leishmaniose para que possam ser utilizados em novos estudos. Este termo de assentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra via ficará com você.

Eu, \_\_\_\_\_,  
 fui informado(a) dos objetivos do estudo de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei pedir novas informações, e o meu responsável recebeu o número de telefone dos responsáveis pela pesquisa, para tirar qualquer dúvida. Também podemos modificar a decisão de participar, se assim desejarmos. Tendo o consentimento do meu responsável já assinado, declaro que concordo participar desse estudo. Recebi uma via desse documento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer todas as minhas dúvidas. Teresina (PI), \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
 Assinatura do Participante

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa entre em contato com Comitê de Ética em Pesquisa – UFPI – Campus Universitário Ministro Petrônio Portella – Ininga – Pró-Reitoria de Pesquisa – CEP: 64049-550–Teresina – PI. Telefone: (86)3237-2332 – [www.ufpi.br/cep](http://www.ufpi.br/cep)

**APÊNDICE B - Termo de consentimento livre e esclarecido, destinado a pais ou responsável legal por voluntários menores de 18 anos.**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E SAÚDE**  
 Av. Frei Serafim, 2280, Centro, Teresina, Piauí, Brasil, CEP: 64001-020  
 Telefone: (86) 3215-5856/ Fax: (86) 3215-1148  
 E-mail: [mestradosaude@ufpi.br](mailto:mestradosaude@ufpi.br)

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Seu filho(a) \_\_\_\_\_ está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa chamada **“PARASITISMO CUTÂNEO EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE VISCERAL EM ÁREA ENDÊMICA”**, que será realizada pela seguinte equipe de pesquisadores da Universidade Federal do Piauí: Carla Riama Lopes de Pádua Moura, Vivianne Martins Almeida, Prof<sup>ª</sup>. Dra. Dorcas Lamounier Costa e Prof. Dr. Carlos Henrique Nery Costa (telefone de contato (86) 981220707).

A equipe desse projeto quer saber se existe o micróbio do calazar na pele de seres humanos e para isso serão feitos alguns exames. Será retirado sangue do braço do seu filho(a) e ele(a) poderá sentir um leve desconforto durante a coleta e manchas roxas poderão surgir no local, mas em alguns dias desaparecerão. Serão coletados, dois pedacinhos da pele do antebraço e será dado um pequeno beliscão na pele utilizando um aparelho especial. Antes será feita anestesia com agulha fina para ele(a) não sentir dor, mas poderá ocorrer pequeno sangramento e ficar cicatrizes bem pequenas. Além disso, algumas informações serão coletadas do prontuário de seu(sua) filho(a) e ele(a) responderá a uma entrevista que será feita em local reservado para evitar que possa sentir vergonha ou desconforto.

Caso você consinta, o antebraço de seu(sua) filho(a) será exposto a picadas de insetos sadios, reproduzidos em laboratório, para avaliar se ele(a) está transmitindo a doença para estes animais. O riscos desse procedimento é poder sentir desconforto leve no momento da picada dos insetos, tipo uma picada de muriçoca.

Caso você autorize, deverá assinar este documento em duas vias, uma vai ficar com você e a outra com os pesquisadores. Você não terá nenhum gasto, nem receberá qualquer tipo de pagamento. Não assine o documento antes de esclarecer todas as suas dúvidas conosco, estaremos à sua disposição, e se não quiser que seu filho(a) participe, não se preocupe que nenhum prejuízo vai acontecer a ele(a). As informações serão mantidas em sigilo e as amostras de sangue e pele coletadas na pesquisa ficarão guardadas no laboratório de pesquisa em Leishmaniose para que possam ser utilizados em novos estudos.

Você será informado(a) do resultado de todos os exames realizados no seu filho(a).

Eu, \_\_\_\_\_, responsável pelo(a) menor \_\_\_\_\_, entendi os objetivos deste projeto, fui bem esclarecido(a) e tirei todas as minhas dúvidas, concordo com minha participação e do(a) menor acima citado(a).

Teresina-PI, \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

\_\_\_\_\_  
 Assinatura do Responsável pelo Menor

\_\_\_\_\_  
 Assinatura da Pesquisadora Responsável

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa entre em contato com Comitê de Ética em Pesquisa – UFPI – Campus Universitário Ministro Petrônio Portela - Pró-Reitoria de Pesquisa– Ininga – Bloco SG 06 – CEP: 64049-550–Teresina – PI. Telefone: (86)3237-2332 – e-mail: [CEP.ufpi@ufpi.edu.br](mailto:CEP.ufpi@ufpi.edu.br), web: [www.ufpi.br/cep](http://www.ufpi.br/cep)

## APÊNDICE C - Termo de consentimento livre e esclarecido

1



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E SAÚDE**  
 Av. Frei Serafim, 2280, Centro, Teresina, Piauí, Brasil, CEP: 64001-020  
 Telefone: (86) 3215-5856/ Fax: (86) 3215-1148  
 E-mail: [mestradosaude@ufpi.br](mailto:mestradosaude@ufpi.br)

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa chamada “**PARASITISMO CUTÂNEO EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE VISCERAL EM ÁREA ENDÊMICA**”, que será realizada pela seguinte equipe de pesquisadores da Universidade Federal do Piauí: Carla Riama Lopes de Pádua Moura, Vivianne Martins Almeida, Prof<sup>a</sup>. Dra. Dorcas Lamounier Costa e Prof. Dr. Carlos Henrique Nery Costa (telefone de contato (86) 981220707).

A equipe desse projeto quer saber se existe o micróbio do calazar na pele de humanos com essa doença e para isso serão feitos alguns exames. Será retirado sangue do seu braço e você poderá sentir um leve desconforto durante a punção da veia, o mesmo que você sente quando toma injeção. Manchas roxas poderão surgir no local, mas desaparecerão em poucos dias, sem deixar marcas. Serão coletados também, dois pedacinhos de sua pele e será dado um pequeno beliscão utilizando um aparelho especial, mas você não sentirá dor pois será feita uma anestesia no local. Poderá sangrar um pouco e ficar pequenas cicatrizes no local do exame. Não se preocupe que a coleta do material será feita em um consultório reservado em que ficará apenas você e alguém da sua família e a equipe médica que cuidará de você. Qualquer incômodo que possa sentir será contornado de imediato ou caso ocorra no dia seguinte, você deverá ligar para o telefone acima ou procurar qualquer membro da equipe de médicos no Instituto de Doenças Tropicais Nathan Portella, onde você está sendo tratado(a). Além disso, algumas informações serão coletadas do seu prontuário e você responderá a uma entrevista que será feita em local reservado para evitar que possa sentir vergonha ou desconforto.

Caso você consinta, seu antebraço será exposto a picadas de insetos sadios, reproduzidos em laboratório, para avaliar se você está transmitindo a doença para estes animais. O risco desse procedimento é você poder sentir um desconforto leve no momento da picada dos insetos, tipo uma picada de muriçoca.

Você não terá nenhum gasto, nem receberá qualquer tipo de pagamento, mas será informado (a) do resultado de todos os exames realizados. Caso não queira participar, não se preocupe que isto não vai trazer nenhum prejuízo ao atendimento rotineiro a que tem direito. Se aceitar participar dessa pesquisa, deverá assinar este documento, em que estará declarando que tudo lhe foi explicado antes e que você entendeu e concordou. Se tiver alguma dúvida, pode perguntar a qualquer membro da equipe. Você poderá retirar o consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento. Você não será identificado quando divulgarmos as informações e prometemos sigilo total sobre os dados coletados. As amostras de sangue e pele coletadas na pesquisa ficarão guardadas no laboratório de pesquisa em Leishmaniose para que possam ser utilizados em novos estudos. Este termo encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra via ficará com você.

Eu, \_\_\_\_\_, fui informado(a) dos objetivos do estudo de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei pedir novas informações e recebi o número de telefone dos responsáveis pela pesquisa para tirar qualquer dúvida. Também posso modificar a decisão de participar, se assim desejar. Declaro que concordo participar desse estudo e autorizo o armazenamento de amostras biológicas obtidas durante este estudo para a realização de pesquisas após a finalização do presente estudo. Recebi uma via desse documento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer todas as minhas dúvidas.

Teresina (PI), \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

---

Assinatura do Participante

---

Assinatura da Pesquisadora responsável

---

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa entre em contato com Comitê de Ética em Pesquisa – UFPI – Campus Universitário Ministro Petrônio Portella – Ininga – Pró-Reitoria de Pesquisa – CEP: 64049-550–Teresina – PI. Telefone: (86)3237-2332 – [www.ufpi.br/cep](http://www.ufpi.br/cep)

## APÊNDICE D - Questionário

### 1. IDENTIFICAÇÃO

Nº do paciente no estudo: \_\_\_\_\_ Número do prontuário no IDTNP: \_\_\_\_\_  
 Sexo: \_\_\_M \_\_\_F Estado civil: \_\_\_\_\_ Escolaridade: \_\_\_\_\_  
 Data do nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Data da admissão: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Data da alta: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
 Procedência (UF) : \_\_\_\_\_ Município : \_\_\_\_\_  
 Profissão: \_\_\_\_\_

### 2. HISTÓRIA CLÍNICA

Tempo de doença antes do diagnóstico: \_\_\_\_\_ dias

Perda de peso..... ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado  
 Se sim, quantificar: \_\_\_\_\_ g

Febre..... ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado  
 Se sim duração da febre: \_\_\_\_\_ dias

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  
 Dispnéia..... ( ) 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

### 3. EXAME FÍSICO

Peso: \_\_\_\_\_ kg Estatura: \_\_\_\_\_ cm PA: \_\_\_\_\_ x \_\_\_\_\_ mmHg FC: \_\_\_\_\_ bpm FR: \_\_\_\_\_  
 irpm

Temperatura axilar máxima durante a internação \_\_\_\_\_ °C

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 da lesão, 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

Estado nutricional: ( ) 1. Eutrófico 2. Desnutrido I 3. Desnutrido II 4. Desnutrido III 9. Ignorado

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

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

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

Outras: \_\_\_\_\_

Ausculta cardíaca ( ) Normal ( ) Sopro ( ) Arritmia ( ) Ritmo de galope ( )  
 Frêmito

( ) Atrito pericárdico ( ) Abafamento de bulhas

( ) Outras: \_\_\_\_\_

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

Se sim, baço a \_\_\_\_\_ cm do BCE, na linha hemiclavicular, em direção à ponta

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

Se sim, fígado a \_\_\_\_\_ cm do BCD e \_\_\_\_\_ cm do apêndice xifóide

Diagnóstico anterior de LV: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Hemotransfusão anterior ao tratamento específico: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

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

#### 4. CO-MORBIDADES 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

( ) HIV / aids

( ) Uso de drogas imunossupressoras

( ) Câncer. Especificar: \_\_\_\_\_

( ) Transplante. Especificar: \_\_\_\_\_

( ) Doença renal crônica

( ) Doença hepática crônica

( ) Outra: \_\_\_\_\_

#### 5. DADOS LABORATORIAIS

Leucócitos: \_\_\_\_\_/mm<sup>3</sup>

Leucócitos < 1000/mL..... ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Neutrófilos: \_\_\_\_\_/mm<sup>3</sup>

Neutrófilos < 500/mL..... ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Plaquetas: \_\_\_\_\_/mm<sup>3</sup>

Plaquetas < 50.000/mL..... ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Hemoglobina sérica: \_\_\_\_\_g/dL

Hemoglobina sérica < 7g/dL..... ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Creatinina sérica: \_\_\_\_\_mg/dL

Creatinina sérica > 2x o valor de referência..... ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

TAP: \_\_\_\_\_%

TAP < 70%..... ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Bilirrubina Indireta \_\_\_\_\_ mg/dL

Bilirrubina direta: \_\_\_\_\_ mg/dL

Bilirrubinas > valores de referência..... ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

TGO \_\_\_\_\_ UI/L TGP \_\_\_\_\_ UI/L

Enzimas hepáticas > 5x valor de referência..... ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Albumina: \_\_\_\_\_g/dL

Albumina < 2,5mg/mL..... ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Rx de tórax: \_\_\_\_\_

Rx de tórax: infecção ou edema pulmonar..... ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

**6. DIAGNÓSTICO COMPLEMENTAR:**

Parasitismo cutâneo por PCR	( )	1. Positivo	2.Negativo	3.Não Realizou
Imuno-histoquímica	( )	1. Positivo	2.Negativo	3.Não Realizou
Aspirado medular:	( )	1. Positivo	2.Negativo	3.Não Realizou
Cultura	( )	1. Positivo	2.Negativo	3.Não Realizou
RT-PCR sérico	( )	1. Positivo	2.Negativo	3.Não Realizou
Teste rápido com antígeno rK39	( )	1. Positivo	2.Negativo	3.Não Realizou

**Apêndice E - Características sócio-demográficas dos 22 participantes do estudo. Teresina 2016-2017.**

(continua)

<b>Paciente</b>	<b>Idade</b>	<b>Sexo</b>	<b>Escolaridade</b>	<b>Profissão</b>	<b>UF de origem</b>	<b>Cidade de origem</b>
1	30 anos	M	EFI	Desempregado	MA	Caxias
2	48 anos	M	Não alfabetizado	Ajudante de pedreiro	PI	Valença
3	60 anos	M	EFI	Lavrador	PI	Teresina
4	41 anos	M	Não alfabetizado	Lavrador	PI	Caldeirão Grande do Piauí
5	4 anos	F	Não se aplica	Estudante	PI	São Pedro
6	26 anos	M	EFI	Servente de pedreiro	MA	Timon
7	53 anos	M	EFI	Técnico em refrigeração	PI	Barro Duro
8*	78 anos	M	Não alfabetizado	Lavrador	MA	Coelho Neto
9	48 anos	M	Não alfabetizado	Lavrador	PI	São Francisco de Assis do Piauí
10	18 anos	M	EFI	Estudante	PI	Betânia
11	30 anos	M	EMI	Eletricista	PI	Teresina
12	61 anos	M	EFI	Lavrador	PA	Marabá
13	25 anos	M	EFI	Ajudante de pedreiro	PI	Júlio Borges
14	11 anos	M	EFI	Estudante	MA	Matões
15	28 anos	M	EFI	Mecânico	PI	Barras
16	39 anos	F	EFI	Diarista	PI	Demerval Lobão
17	41 anos	F	EFI	Doméstica	MA	Caxias
18	1ano e 3meses	F	Não se aplica	Não se aplica	MA	Parnarama
19	33 anos	M	Não alfabetizado	Lavrador	MA	Codó

(continuação)

<b>Paciente</b>	<b>Idade</b>	<b>Sexo</b>	<b>Escolaridade</b>	<b>Profissão</b>	<b>UF de origem</b>	<b>Cidade de origem</b>
<b>20</b>	5 meses	M	Não se aplica	Não se aplica	PI	São Raimundo Nonato
<b>21</b>	1 ano e 7 meses	F	Não se aplica	Não se aplica	PI	União
<b>22</b>	5 meses	M	Não se aplica	Não se aplica	PI	Teresina

\* Paciente com parasitismo cutâneo positivo; M (Masculino); F (Feminino); EFI (Ensino fundamental incompleto); EMI (ensino médio incompleto); MA (Maranhão); PI (Piauí); PA (Pará).

**Apêndice F - Características clínicas dos dos 22 participantes do estudo. Teresina 2016-2017.**

(continua)

<b>Paciente</b>	<b>Score gravidade clínico</b>	<b>Probabilidade de óbito (%)</b>	<b>Presença de febre</b>	<b>Tempo de febre (dias)</b>	<b>Temperatura máxima na internação (°C)</b>	<b>Dias de internação</b>	<b>Óbito</b>
<b>1</b>	5	15,4	Sim	60	37,9	15	Não
<b>2</b>	3	3,6	Sim	1	37	11	Não
<b>3</b>	5	15,4	Sim	90	37,3	17	Não
<b>4</b>	4	7,6	Sim	5	38	14	Não
<b>5</b>	1	0,7	Sim	21	40	12	Não
<b>6</b>	4	7,6	Sim	15	39,2	16	Não
<b>7</b>	3	3,6	Sim	45	39,5	14	Não
<b>8*</b>	5	15,4	Não	0	37,6	27	Não
<b>9</b>	5	15,4	Sim	45	40,3	26	Não
<b>10</b>	5	15,4	Sim	1	38,5	24	Sim
<b>11</b>	5	15,4	Sim	3	38	31	Não
<b>12</b>	4	7,6	Sim	35	39,5	10	Não
<b>13</b>	6	28,8	Sim	20	38,2	10	Não
<b>14</b>	2	1,6	Sim	30	39	9	Não
<b>15</b>	5	15,4	Sim	60	38,5	50	Não
<b>16</b>	4	7,6	Sim	5	39	26	Não
<b>17</b>	6	28,8	Sim	54	37	21	Não
<b>18</b>	0	0,1	Sim	30	38,5	10	Não
<b>19</b>	6	28,8	Sim	10	40,1	51	Não

(continuação)

<b>Paciente</b>	<b>Score gravidade clínico</b>	<b>Probabilidade de óbito (%)</b>	<b>Presença de febre</b>	<b>Tempo de febre (dias)</b>	<b>Temperatura máxima na internação (°C)</b>	<b>Dias de internação</b>	<b>Óbito</b>
<b>20</b>	2	3	Sim	17	38,5	10	Não
<b>21</b>	0	0,1	Sim	15	39	10	Não
<b>22</b>	1	1,1	Sim	10	37,5	8	Não

\* Paciente com parasitismo cutâneo positivo.

**Apêndice G - Resultados de HIV, CD<sub>4</sub>, carga viral e principais exames diagnósticos dos 22 participantes do estudo. Teresina 2016-2017.**

(continua)

<b>Paciente</b>	<b>HIV</b>	<b>CD<sub>4</sub> (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Carga viral (cópias)</b>	<b>Mielograma</b>	<b>Cultura</b>	<b>Teste rápido</b>	<b>Imuno- histoquímica</b>	<b>PCR convencional sangue</b>
<b>1</b>	P	46	ND	P	N	N	N	P
<b>2</b>	N	-	-	N	N	P	N	N
<b>3</b>	N	-	-	P	P	P	N	N
<b>4</b>	N	-	-	P	P	P	N	P
<b>5</b>	N	-	-	N	P	P	N	N
<b>6</b>	P	677	ND	P	N	P	N	P
<b>7</b>	N	-	-	N	N	P	N	N
<b>8*</b>	P	53	< lim. mín.	P	P	N	P	P
<b>9</b>	N	-	-	P	P	P	N	N
<b>10</b>	N	-	-	P	P	P	N	N
<b>11</b>	P	529	411684	N	N	P	N	ND
<b>12</b>	N	-	-	P	ND	ND	N	ND
<b>13</b>	N	-	-	ND	ND	P	N	N
<b>14</b>	N	-	-	N	N	P	N	ND
<b>15</b>	N	-	-	P	N	P	N	N
<b>16</b>	P	9	266076	ND	ND	P	N	P
<b>17</b>	P	ND		P	P	P	N	P
<b>18</b>	N	-	-	ND	ND	P	N	ND

(continuação)

<b>Paciente</b>	<b>HIV</b>	<b>CD<sub>4</sub> (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Carga viral (cópias)</b>	<b>Mielograma</b>	<b>Cultura</b>	<b>Teste rápido</b>	<b>Imuno- histoquímica</b>	<b>PCR convencional sangue</b>
<b>19</b>	P	18	93435	P	N	N	N	N
<b>20</b>	N	-	-	P	P	P	N	ND
<b>21</b>	N	-	-	P	P	N	N	ND
<b>22</b>	N	-	-	P	P	P	N	ND

\* Paciente com parasitismo cutâneo positivo; P (Positivo); N(Negativo); ND (Não disponível).

**Apêndice H - Resultados de hemograma e creatinina dos 22 participantes do estudo. Teresina 2016-2017.**

(continua)

<b>Paciente</b>	<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	<b>Leucócitos (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Neutrófilos (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Plaquetas (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Creatinina (mg/dL)</b>
<b>1</b>	8,63	941	621	89.200	0,8
<b>2</b>	11,1	2.330	1.421	83.100	0,8
<b>3</b>	4,7	1.100	715	44.000	1,7
<b>4</b>	9,08	2.170	1.080	145.000	0,7
<b>5</b>	8,02	3.080	899	136.000	ND
<b>6</b>	10,6	3.440	2.133	132.000	0,7
<b>7</b>	11,1	2.440	1.025	111.000	0,8
<b>8*</b>	9,24	4.630	1.343	147.000	0,9
<b>9</b>	9,43	2.690	1.237	123.000	0,7
<b>10</b>	7,78	2.360	1.204	93.500	0,8
<b>11</b>	7,71	1.800	846	137.000	0,9
<b>12</b>	5,86	1.010	596	24.100	0,8
<b>13</b>	8,24	2.410	1.325	74.400	0,75
<b>14</b>	10,7	3.360	806	174.000	0,4
<b>15</b>	6,53	1.400	252	63.400	1,1
<b>16</b>	5,6	1.200	420	22.000	3,2
<b>17</b>	6,2	2.600	1.586	90.000	1
<b>18</b>	6,48	4.630	2.660	25.300	0,5
<b>19</b>	14,3	3.670	1.798	153.000	1,3
<b>20</b>	7,22	12.000	2.280	58.000	0,7

(continuação)

<b>Paciente</b>	<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	<b>Leucócitos (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Neutrófilos (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Plaquetas (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Creatinina (mg/dL)</b>
<b>21</b>	6,91	5.810	639	135.000	0,4
<b>22</b>	7,3	5.610	1.122	97.300	0,3

\* Paciente com parasitismo cutâneo positivo.

**Apêndice I - Resultados de exames de função e enzimas hepática dos 22 participantes do estudo. Teresina 2016-2017.**

(continua)

<b>Paciente</b>	<b>Bilirrubina indireta</b>	<b>Bilirrubina direta</b>	<b>TAP (%)</b>	<b>TGO (U/L)</b>	<b>TGP (U/L)</b>	<b>Albumina (g/dL)</b>
<b>1</b>	ND	ND	28	ND	ND	2,5
<b>2</b>	ND	ND	40	ND	ND	ND
<b>3</b>	ND	ND	34	182	116	1,8
<b>4</b>	ND	ND	ND	128	65	ND
<b>5</b>	ND	ND	84	80	31	2
<b>6</b>	ND	ND	80	38	26	ND
<b>7</b>	ND	ND	50	42	43	3
<b>8*</b>	ND	ND	42	18	9	2,6
<b>9</b>	ND	ND	ND	30	31	2,7
<b>10</b>	0,5	1,8	25	62	7	1,3
<b>11</b>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<b>12</b>	ND	ND	ND	76	34	1,8
<b>13</b>	ND	ND	35,7	358	200	ND
<b>14</b>	ND	ND	50	163	125	3,5
<b>15</b>	0,2	0,7	22	60	21	2,7
<b>16</b>	ND	ND	36	ND	ND	ND
<b>17</b>	ND	ND	86	ND	ND	ND
<b>18</b>	0,24	0,18	39	ND	ND	3,21
<b>19</b>	1,2	6,4	31	39	40	3,7
<b>20</b>	ND	ND	38	ND	ND	ND

(continuação)

<b>Paciente</b>	<b>Bilirrubina indireta</b>	<b>Bilirrubina direta</b>	<b>TAP (%)</b>	<b>TGO (U/L)</b>	<b>TGP (U/L)</b>	<b>Albumina (g/dL)</b>
<b>21</b>	ND	ND	42	47	15	2,7
<b>22</b>	ND	ND	ND	87	13	2,6

\* Paciente com parasitismo cutâneo positivo; ND (Não disponível).



## ANEXO A - Parecer de aprovação do Comitê de Ética da Universidade Federal do Piauí.



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Parasitismo cutâneo em pacientes com leishmaniose visceral em área endêmica

**Pesquisador:** Carla Riama

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 60987416.1.0000.5214

**Instituição Proponente:** Universidade Federal do Piauí - UFPI

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.806.554

#### Apresentação do Projeto:

Projeto de pesquisa que tem como pesquisadora responsável Carla Riama e como membros integrantes da equipe de pesquisa Carlos Henrique Nery Costa e Dorcar Lamounier Costa.

Trata-se de um estudo individuado, observacional, transversal. Os casos serão selecionados de forma consecutiva, coletando amostra cutânea e sérica dos pacientes com leishmaniose visceral que forem internados no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portella (IDTNP), Teresina-PI.

Como justificativa a pesquisadora afirmou que Existem evidências de parasitismo cutâneo em cachorros com leishmaniose visceral, no entanto, ainda são escassas informações sobre parasitismo cutâneo em humanos afetados por esta patologia, os quais poderiam atuar como reservatório e permitir transmissão interhumana. E, caso não haja negatificação cutânea após o tratamento, este sítio pode ser responsável pelos casos de reativação da doença pós terapia padrão. Além disso, faltam pesquisas que comparem a quantidade de parasitas na pele e no sangue, com a capacidade do doente transmitir a infecção para insetos. É importante fazer essa comparação para saber qual o principal sítio responsável pela transmissão da doença.

Haverá uso de fontes secundárias de dados. "Serão coletados, a partir de informações fornecidas pelo paciente/familiares e contidas no prontuário".

Haverá retenção de amostras para armazenamento em banco. "As amostras de sangue e pele serão guardadas no laboratório de pesquisa em Leishmaniose para que possam ser utilizados em novas

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



UFPI - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO PIAUÍ



Continuação do Parecer: 1.806.554

pesquisas que necessitem de amostras de pacientes com a mesma doença".

Tamanho da Amostra no Brasil: 43

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário:

- Avaliar o parasitismo cutâneo em humanos com leishmaniose visceral em área endêmica.

Objetivo Secundário:

- Comparar o parasitismo cutâneo com o sério.
- Correlacionar o grau do parasitismo cutâneo com idade, sexo e gravidade clínica dos pacientes;
- Avaliar se pacientes co-infectados com HIV apresentam um maior índice de parasitismo cutâneo;
- Relacionar o grau de parasitismo cutâneo com a capacidade de infectar flebotomíneos sadios (xenodiagnóstico)
- Comparar a técnica utilizando punch de 3,0mm à técnica com aparelho de microbiópsia corneana.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos:

Os riscos estão relacionados à coleta de materiais biológicos (sangue e pele). Os participantes poderão sentir leve desconforto à coleta do sangue e discretas equimoses (manchas roxas), autolimitadas, poderão surgir no local da punção. Já para obtenção de amostras cutâneas, além de dor discreta à infiltração de anestésico, poderão ocorrer pequenos sangramentos e persistirem diminutas cicatrizes no local da biópsia cutânea. Os riscos serão minimizados pelo uso de punch de pequeno diâmetro e através da realização de todos os procedimentos por médica dermatologista (pesquisadora responsável por este estudo), com formação adequada para realização das coletas.

Benefícios:

Como benefício, os participantes dessa pesquisa receberão os resultados de todos os exames realizados no estudo e, caso parasitismo cutâneo positivo, serão acompanhados com maior frequência para que haja diagnóstico precoce se reativação da doença pós terapia padrão.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A análise documental e apreciação ética da pesquisa foram realizadas. O projeto é relevante e, realizadas as alterações solicitadas, não necessita de adequação do ponto de vista ético.

**Endereço:** Campus Universitário Ministro Petronio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa  
**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



Continuação do Parecer: 1.806.554

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os termos obrigatórios foram postados e não necessitam de mais ajustes.

**Recomendações:**

Sem recomendações.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Apto a ser realizado

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_800383.pdf	20/10/2016 11:31:07		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TermoscomnovoTCLE.docx	20/10/2016 11:25:36	Carla Riama	Aceito
Outros	questionario.docx	20/10/2016 11:19:41	Carla Riama	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.docx	20/10/2016 11:18:50	Carla Riama	Aceito
Folha de Rosto	folharosto.pdf	14/10/2016 08:36:55	Carla Riama	Aceito
Outros	lattes.pdf	13/10/2016 09:23:39	Carla Riama	Aceito
Outros	termoconfidencialidade.pdf	04/10/2016 11:28:12	Carla Riama	Aceito
Outros	cartaencaminhamento.pdf	04/10/2016 11:26:50	Carla Riama	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	termoinstituicao.pdf	04/10/2016 11:13:11	Carla Riama	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracaopesquisadores.pdf	04/10/2016 11:02:19	Carla Riama	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.docx	04/10/2016 10:50:11	Carla Riama	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	04/10/2016 10:43:59	Carla Riama	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Endereço:** Campus Universitário Ministro Petronio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa  
**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: 1.806.554

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

TERESINA, 04 de Novembro de 2016

---

**Assinado por:**  
**Lúcia de Fátima Almeida de Deus Moura**  
**(Coordenador)**

## ANEXO B - Comprovante de submissão do artigo científico da dissertação como requisito para defesa, no Memórias do Instituto Oswaldo Cruz

● **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** <onbehalfof+memorias+fiocruz.br@manuscriptcentral.com>

Set 26 em 12:21 AM

Para carlariama@yahoo.com.br, carlariama@gmail.com

CC memorias.artigo@fiocruz.br

26-Sep-2017

Dear Dr.(a) Moura:

Your manuscript entitled "CUTANEOUS PARASITISM IN PATIENTS WITH AMERICAN VISCERAL LEISHMANIOSIS IN ENDEMIC AREA" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.

Your manuscript ID is MIOC-2017-0394.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc04.manuscriptcentral.com/mioc-scielo> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <https://mc04.manuscriptcentral.com/mioc-scielo>.

Thank you for submitting your manuscript to the Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.

Sincerely,  
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz  
[memorias@fiocruz.br](mailto:memorias@fiocruz.br)