

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Epidemiologia molecular das leishmanioses no sul de Mato Grosso do Sul

JACIEL DE OLIVEIRA CLEMENTINO

**Dourados - MS
2018**

JACIEL DE OLIVEIRA CLEMENTINO

Epidemiologia molecular das leishmanioses no sul de Mato Grosso do Sul

Área do CNPq: Ciências da Saúde

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde

Área de concentração: Doenças Crônicas e Infecto-Parasitárias

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Herintha Coeto Neitzke-Abreu

Co-orientador: Prof. Dr. Manoel Sebastião da Costa Lima Junior

Dourados - MS
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

C626e Clementino, Jaciel De Oliveira

Epidemiologia molecular das leishmanioses no sul de Mato Grosso do Sul
[recurso eletrônico] / Jaciel De Oliveira Clementino. -- 2019.

Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Herintha Coeto Neitzke-Abreu .

Coorientadora: Manoel Sebastião da Costa Lima
Junior .

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) -Universidade Federal da
Grande Dourados, 2018. Disponível no Repositório Institucional da UFGD
em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Leishmanioses. 2. Epidemiologia. 3. Diagnóstico. I. Neitzke-abreu,
Herintha Coeto. II. Lima Junior, Manoel Sebastião Da Costa . III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo (a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA POR JACIEL DE OLIVEIRA CLEMENTINO, ALUNO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "DOENÇAS CRÔNICAS E INFECTO-PARASITÁRIAS", REALIZADA NO DIA 11 DE DEZEMBRO DE 2018.

Ao decimo primeiro dia do mês de dezembro do ano de dois mil e dezoito (11/12/2018), às 14h, em sessão pública, realizou-se, na Sala 04/02 Bloco C da Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Dissertação de Mestrado intitulada "Epidemiologia molecular das leishmanioses no sul de Mato Grosso do Sul" apresentada pelo mestrando JACIEL DE OLIVEIRA CLEMENTINO, do Programa de Pós-Graduação Mestrado em Ciências da Saúde, à Banca Examinadora constituída pelos professores **Dra. Herintha Coeto Neitzke Abreu** (Presidente/orientador), **Dra. Silvana Beutinger Marchioro** (membro titular), **Dra. Marjorie Ester Dias Maciel** (membro titular), **Dr. Sebastião Martins de Souza Neto** (membro suplente) e **Dra. Sara Santos Bernardes** (membro suplente). Iniciada sessão, a presidência deu a conhecer ao candidato e aos integrantes da Banca as normas a serem observadas na apresentação da Dissertação. Após o candidato ter apresentado a sua Dissertação, no tempo previsto de 30 até 40 minutos, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições, que foram intercaladas pela defesa do candidato, no tempo previsto de até 240 minutos. Terminadas as arguições, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou ao julgamento, tendo sido o candidato considerado **APROVADO**, fazendo jus ao título de **MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Dourados, 11 de dezembro de 2018.

Dra. Herintha Coeto Neitzke Abreu _____
Dra. Silvana Beutinger Marchioro _____
Dra. Marjorie Ester Dias Maciel _____

ATA HOMOLOGADA EM: / / , PELA PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA / UFGD.

Profa. Kely de Picoli Souza
Pró-Reitora de Ensino de Pós-Graduação e Pesquisa

DEDICATÓRIAS

Dedico este trabalho a todos os pacientes acometidos pelas leishmanioses, afinal todo nosso esforço e empenho teve como motivação, contribuir para a restauração da sua saúde

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me dado força nos momentos mais difíceis dessa caminhada, pois posso sentir a sua presença o tempo todo ao meu lado, seja através de bênçãos ou através de anjos na forma humana, que apareceram na minha vida e contribuíram de alguma maneira para o meu crescimento espiritual e pessoal.

Aos meus pais, João Antônio Clementino e Mirian de Oliveira Clementino (*in memoriam*), por terem sido os melhores exemplos de retidão e honestidade mesmo diante das mais adversidades enfrentadas na vida. Amor eterno!

Aos meus amados irmãos por toda força e amor: Ana, Emilson (*in memoriam*), Angela, Júnior, Jackson, Djalma e José. Amo vocês!

Ao meu marido, Alysson Gomes dos Santos, por trazer leveza e amor à minha vida e ter sido companheiro nos momentos mais difíceis enfrentados até aqui. Realmente não consigo imaginar como teria sido tudo isso sem o seu apoio. Te amo!

Aos meus filhos caninos, Guga e Theo, pelo amor e carinho e, principalmente, por estarem ao meu lado na construção desse trabalho. Amor infinito é o que eu tenho para lhes oferecer!

À minha professora e orientadora, Dra. Herintha, meu muito obrigado pelo tempo dispensado, pela paciência, dedicação, cooperação e compreensão com que me conduziu durante todo esse tempo de mestrado. Agradeço por sua contribuição no meu crescimento pessoal e intelectual.

Ao meu co-orientador, Dr. Manoel, por todas as contribuições dispensadas em prol da construção desse estudo e do meu crescimento pessoal e intelectual.

Aos meus colegas de trabalho pela paciência e contribuições importantes para o meu crescimento pessoal e intelectual. Os meus sinceros agradecimentos a todos por terem me acolhido nos momentos mais difíceis da minha jornada em Dourados: Rosângela, Rose, Fuad, Gianni, Evelyn, Angela, Graciela, Cinthia, Renata, Fabiana, Daniel, Cris e Andyane. Muito obrigado!

EPÍGRAFE

“Talvez não tenha conseguido
fazer o melhor, mas lutei para que
o melhor fosse feito. Não sou o
que deveria ser, mas Graças a
Deus, não sou o que era antes”

(MARTHIN LUTHER KING)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Formas (A) promastigota e (B) amastigota <i>Leishmania</i> spp.	18
Figura 2 - Ciclo de vida de <i>Leishmania</i> spp.	18

LISTA DE ABREVIATURAS

CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i> – Centro de Controle e Prevenção de Doenças
DTN	Doenças Tropicais Negligenciadas
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i> – Ensaio de Imunoadsorção ligado a enzima
IDRM	Intradermorreação de Montenegro
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i> – Vírus da Imunodeficiência Humana
Kg	Quilograma
LCA	Leishmaniose Cutânea Antrópica
LCZ	Leishmaniose Cutânea Zoonótica
LPCS	Laboratório de Pesquisa em Ciências da Saúde
LT	Leishmaniose Tegumentar
LV	Leishmaniose Visceral
Mg	Miligrama
MS	Mato Grosso do Sul
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> – Reação em Cadeia da Polimerase
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
rK39	<i>Kinesin-related protein</i> - Proteína relacionada à cinesina
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
UFGD	Universidade Federal da Grande Dourados

Epidemiologia molecular das leishmanioses no sul de Mato Grosso do Sul

RESUMO

As leishmanioses são zoonoses de grande prevalência mundial, com letalidade significativa reconhecida em seres humanos há mais de um século, e continuam a atingir amplas populações apesar dos esforços para contê-las. No Brasil, as leishmanioses encontram-se presentes em todos os estados, configurando-se como um problema de saúde pública dada o seu grau de mortalidade quando não diagnosticada e tratada corretamente. Nesse sentido o presente estudo teve como objetivo determinar o perfil epidemiológico e molecular das leishmanioses no sul do Mato Grosso do Sul, contribuindo para melhoria no diagnóstico e tratamento dos pacientes acometidos por leishmaniose. Para tal, realizou-se um estudo epidemiológico descritivo, dividido em três etapas: na **primeira etapa** foi realizado um estudo retrospectivo com análise das as notificações para Leishmaniose Visceral (LV) e Leishmaniose Tegumentar (LT), disponíveis no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) do Departamento de Vigilância Epidemiológica da Secretaria Municipal de Saúde de Dourados de 2007 a 2017, totalizando 112 notificações, dessas, 62 casos foram de LV e 50 de LT, em relação aos casos de LV, 33,81% dos indivíduos eram de Ponta Porã, 80,77% dos casos foram autóctones e 67,86% deles tiveram a área urbana como local de infecção, em 67,75% do casos os indivíduos foram do sexo masculino e 27,41% tinha faixa etária entre 1-4 anos. O diagnóstico laboratorial foi realizado em 90,32% e em 8,06 havia coinfeção com HIV. A medicação de primeira escolha, para o tratamento, foi a Anfotericina B em 55,56% dos casos e a evolução para óbito foi de 11,11% dos casos. Nos casos de LT, em 60,0% dos casos eram de Dourados, 92,0% foram casos novos e 52,0% dos casos eram a forma mucosa. Verificou-se que 72,0% eram do sexo masculino e 26,0% tinham a faixa etária de 41-59 anos de idade. Diagnóstico laboratorial foi realizado em 90,0% e em 13,33% havia coinfeção com HIV. O uso de Antimonial Pentavalente foi em 70,0% dos casos e a cura foi de 100%. A **segunda etapa** consistiu em relatar um caso de um paciente de 54 anos, douradense, hipertenso, tabagista, com história de residir por um ano na capital do Mato Grosso do Sul. Nesse período, o mesmo apresentou uma perda síndrome consumptiva de 26 kg em menos de um ano devido a inapetência, com histórias sucessivas de buscas ao sistema de saúde para resolução do seu problema, o qual teve como diagnóstico inicial uma anemia. Ao regressar para Dourados em 2017, buscou o sistema de saúde local, onde realizou diversos exames de sangue e de imagem

com o objetivo de investigar tuberculose pulmonar e HIV. Devido ao agravamento do quadro clínico do mesmo, foi necessária à sua internação no Hospital Municipal com posterior transferência para um leito da Unidade de Terapia Intensiva (UTI) do Hospital Universitário local, o qual é referência em infectologia da região da Grande Dourados. O paciente necessitou de ventilação mecânica via tubo orotraqueal, consequência da insuficiência respiratória aguda, apresentando-se hipotenso, taquicárdico, afebril. Embora o paciente tenha buscado ajuda no sistema de saúde por um período de aproximadamente dois anos, o diagnóstico para LV foi confirmado laboratorialmente, no dia seguinte ao óbito (materiais biológicos coletados no décimo dia de internação), pelo teste sorológico de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) reagente (título $\geq 1:160$), pela pesquisa direta de aspirado de medula óssea mostrando formas amastigotas sugestivas de *Leishmania* spp. Para a **terceira etapa** foram analisadas amostras biológicas (sangue periférico, biopsia de lesão e/ou sangue medular) de 100 pacientes. Para 55% dos casos o sexo foi masculino, a média de idade foi de 42,57 anos, 50% dos casos eram de Dourados, a febre estava presente 32% dos casos. As comorbidades diagnosticadas foram: HIV em 6,0% (6) dos casos; Diabetes mellitus e Hipertensão arterial em 6,0% (6); Insuficiência renal aguda (IRA) em 4,0% (4); Insuficiência renal crônica (IRC) em 3,0% (3); Sífilis em 3,0% (3); Artrite reumatoide em 2,0% (2). A PCR foi positiva no sangue periférico de 15,0% (15) dos casos, sendo que em dois pacientes coinfectados com HIV apenas a PCR foi positiva. O teste rápido foi positivo em 12,0% (12) dos casos. A PD foi positiva em 6,0% (6). A RIFI foi positiva em 4,0% (4) e indeterminada em 3,0% (3) dos casos. Em 7,0% (7) dos casos apenas o teste rápido foi positivo. Em 8,0% (8) dos casos só a PCR foi positiva. A PD e a PCR foram positivas simultaneamente em 4,0% (4) dos casos e em apenas 5,0% (5) dos casos, tanto o teste rápido quanto a PCR, tiveram resultados positivos. A taxa geral de óbitos foi de 6,0% (6), sendo 3 pacientes coinfectados com HIV.

Palavras-chave: Leishmanioses; Epidemiologia; Diagnóstico.

Molecular epidemiology of leishmaniasis in southern of Mato Grosso do Sul

ABSTRACT

Leishmaniasis are zoonoses of high global prevalence, with significant lethality recognized in humans for more than a century and continue to reach large populations despite efforts to contain them. In Brazil, leishmaniasis is present in all states, becoming a public health problem given its degree of mortality when undiagnosed and treated correctly. In this sense, the present study aimed to determine the epidemiological and molecular profile of leishmaniasis in southern of Mato Grosso do Sul, contributing to improve the diagnosis and treatment of patients affected by leishmaniasis. To do this, a descriptive epidemiological study was carried out, divided into three stages: a retrospective study was conducted in the first stage with the analysis of the reports for Visceral Leishmaniasis (VL) and Tegumentary Leishmaniasis (TL) available in the Notification of Injury Information System (SINAN) from the Department of Epidemiological Surveillance of the Municipal Health Department of Dourados from 2007 to 2017, totaling 112 notifications, of which 62 cases were VL and 50 TL, in relation to VL cases, 33.81% of the individuals were Ponta Porã, 80.77% of the cases were autochthonous and 67.86% of them had the urban area as an infection site, in 67.75% of the cases the individuals were male and 27.41% were between 1- 4 years. The laboratory diagnosis was performed in 90.32% and in 8.06 there was co-infection with HIV. The first choice medication for treatment was Amphotericin B in 55.56% of the cases and the evolution to death was 11.11% of the cases. In TL cases, in 60.0% of the cases were of Dourados, 92.0% were new cases and 52.0% of the cases were the mucosal form. It was found that 72.0% were males and 26.0% had the age group 41-59 years of age. Laboratory diagnosis was performed in 90.0% and in 13.33% there was co-infection with HIV. The use of Pentavalent Antimonial was in 70.0% of the cases and the cure was of 100%. The second stage consisted in reporting a case of a 54-year-old patient, of Dourados, hypertensive, smoker, with a history of residence for one year in the capital of Mato Grosso do Sul, to care for his mother. In this period, the patient presented a loss of 26 kg of consumptive syndrome in less than a year due to inappetence, with successive histories of searches to the health system to solve his problem, which had as initial diagnosis anemia. Upon returning to Dourados in 2017, he sought the local health system, where he performed several blood and imaging tests to investigate pulmonary tuberculosis and HIV. Due to the worsening of the clinical picture of the patient, it was necessary for him to be admitted to the Municipal

Hospital with a subsequent transfer to a bed of the Intensive Care Unit (ICU) of the local University Hospital, which is a reference in infectious diseases in the Dorados region. The patient required mechanical ventilation via the orotracheal tube, as a consequence of acute respiratory failure, presenting hypotension (66x43 mmHg), tachycardia (117 bpm), afebrile (36.8°C). Although the patient sought help in the health system for a period of approximately two years, the diagnosis for VL was laboratory confirmed, on the day after death (biological material collected on the tenth day of hospitalization), by the serological test of indirect immunofluorescence (IFI) (titre \geq 1: 160), by the direct search for bone marrow aspirate showing amastigote forms suggestive of *Leishmania* spp. For the third stage, biological samples (peripheral blood, lesion biopsy and/or marrow blood) of 100 patients were analyzed. For 55% of the cases the sex was male, the mean age was 42.57 years, 50% of the cases were of Dorados, the fever was present 32% of the cases. The comorbidities diagnosed were: HIV in 6.0% (6) of the cases; Diabetes mellitus and Hypertension in 6.0% (6); Acute renal failure (ARF) in 4.0% (4); Chronic renal insufficiency (CRF) in 3.0% (3); Syphilis in 3.0% (3); Rheumatoid arthritis in 2.0% (2). PCR was positive in the peripheral blood of 15.0% (15) of the cases, and in two patients coinfecting with HIV only PCR was positive. The rapid test was positive in 12.0% (12) of the cases. Direct research (DR) was positive in 6.0% (6). The IFI was positive in 4.0% (4) and undetermined in 3.0% (3) of the cases. In 7.0% (7) of the cases only the rapid test was positive. In 8.0% (8) of the cases, only PCR was positive. DR and PCR were both positive in 4.0% (4) of the cases and in only 5.0% (5) of the cases, both the rapid test and the PCR, had positive results. The overall death rate was 6.0% (6), with 3 patients coinfecting with HIV.

Keywords: Leishmaniasis; Epidemiology; Diagnosis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Aspectos Clínicos das Leishmanioses	16
2.2 Ciclo de vida da <i>Leishmania</i>	17
2.3 Distribuição das Leishmanioses no Mundo	19
2.4 Leishmanioses no Brasil	20
2.5 Diagnósticos das Leishmanioses	22
2.6 Tratamento e critérios de cura das Leishmanioses	24
3 OBJETIVOS	25
4 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
5 APÊNDICES	30
5.1 Artigo 1: Challenge in epidemiological studies of leishmaniasis against underreporting in Brazil	31
5.2 Artigo 2: Coinfection and delayed diagnosis of visceral leishmaniasis: predecessors factors for death	48
5.3 Artigo 3: Epidemiologia molecular das leishmanioses no sul de Mato Grosso do Sul	61
6 CONCLUSÕES	78
7 ANEXOS	79
7.1 Parecer de Aprovação do Comitê de Ética	80

1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses são caracterizadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma das seis doenças infecciosas mais importantes do mundo (WHO, 2010). Estima-se que sejam acometidas, todo ano, cerca de 2 milhões de pessoas (Cardim *et al.*, 2016). No entanto, estas são consideradas doenças negligenciadas pela indústria farmacêutica, dado o perfil socioeconômico desfavorecido das populações mais afetadas, ou seja, com menor poder de compra e menor potencial de gerar lucros a essas empresas (WHO, 2010; Want *et al.*, 2017).

No Brasil, as leishmanioses estão presente em todos os estados (Gontijo e De Carvalho, 2003). A transmissão de *Leishmania chagasi*, principal agente etiológico da leishmaniose visceral (LV) e em casos leves de leishmaniose cutânea (LC), se dá pela picada de fêmeas de insetos dípteros pertencentes à família Psychodidae, tendo como principal vetor *Lutzomyia longipalpis* (Brazuna *et al.*, 2012; Cardim *et al.*, 2016). Mais recentemente, *L. cruzi* foi também identificado como vetor da LV, no Estado de Mato Grosso do Sul (Souza *et al.*, 2013; Cardim *et al.*, 2016).

A leishmaniose tegumentar (LT), também encontra-se amplamente distribuída em todo território nacional, no entanto, as manifestações clínicas referem-se a lesões cutâneas crônicas com diferentes formatos (Gontijo e De Carvalho, 2003; Hakkour *et al.*, 2016), transmitida pela picada de diferentes espécies de flebotomíneos infectados, tais como: *Lutzomyia whitmani*, *Lu. wellcomei* e *Lu. intermedia*, entre outras (Gontijo e De Carvalho, 2003), sendo a *Leishmania (Vianna) braziliensis* a espécie de maior ocorrência em todas as regiões do país, geralmente sendo relacionada com presença de animais domésticos (Gontijo e De Carvalho, 2003).

O diagnóstico, rotineiramente é realizado com base em parâmetros clínicos e epidemiológicos, porém, um dos principais problemas é a semelhança sintomatológica com algumas doenças como Doença de Chagas, Malária, Esquistossomose, Febre Tifóide e Tuberculose nos casos de LV e paracoccidioidomicose, hanseníase virchowiana, rinoscleroma, boubá, sífilis terciária, granuloma médio facial e neoplasias nos casos de LT, principalmente em áreas não endêmicas (Gontijo e De Carvalho, 2003; Roiko *et al.*, 2016; Mohammadpour *et al.*, 2017). Por esse motivo, deve-se utilizar associação com os métodos laboratoriais parasitológico, sorológico e imunológico, para elucidação do diagnóstico (Gontijo e De Carvalho, 2003; Gualda *et al.*, 2015; Roiko *et al.*, 2016; Mohammadpour *et al.*, 2017).

A sensibilidade diagnóstica concomitante com a identificação da espécie envolvida na infecção, fornecem parâmetros essenciais para auxiliar na prescrição da terapêutica adequada. Nesse sentido, o uso da reação em cadeia da polimerase (PCR) têm demonstrado resultados promissores devido a maior sensibilidade, comparada aos métodos diagnósticos comumente utilizados (Souza *et al.*, 2013; Gualda *et al.*, 2015; Sharifi-Rad *et al.*, 2016), assim como a sua aplicabilidade em diferentes amostras biológicas (Gontijo e Melo, 2004b; Souza *et al.*, 2013; Gualda *et al.*, 2015), sendo nesse momento, de grande relevância o ajuste de novos primers com maior sensibilidade na identificação das espécies, o que é essencial para o sucesso do tratamento (Gontijo e De Carvalho, 2003; Souza *et al.*, 2013; Gualda *et al.*, 2015).

A PCR é utilizada tanto para o diagnóstico de leishmanioses como no monitoramento do tratamento e estudos epidemiológicos (Gontijo e Melo, 2004b; Conter *et al.*, 2015; Gualda *et al.*, 2015; Franceschini *et al.*, 2016; Mohammadpour *et al.*, 2017; Sharifi-Rad *et al.*, 2016; Neitzke-Abreu *et al.*, 2013; Neitzke-Abreu, Reinhold-Castro, *et al.*, 2014).

O presente estudo justifica-se devido a leishmaniose ser um grave problema de saúde pública, de incidência elevada nos centros urbanos do Brasil. Essa doença tem alta letalidade, principalmente a forma visceral, quando não diagnosticada e tratada precocemente, com elevada demanda hospitalar (Hakkour *et al.*, 2016).

Portanto, o presente estudo pretende determinar o perfil epidemiológico e molecular das leishmanioses no sul de Mato Grosso do Sul, contribuindo para a melhoria no diagnóstico e tratamento das leishmanioses. Outrossim relatar um caso de LV humano com desfecho em óbito devido o diagnóstico tardio.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos Clínicos das Leishmanioses

As leishmanioses são enfermidades infecto-parasitárias que estão na lista das doenças tropicais negligenciadas, principalmente no que se refere a investimento na busca de inovações para o tratamento (Gontijo e De Carvalho, 2003; Hakkour *et al.*, 2016; Want *et al.*, 2017), que afetam principalmente populações de baixa renda nos trópicos (Gontijo e De Carvalho, 2003; Hakkour *et al.*, 2016).

O quadro clínico das leishmanioses depende da espécie de *Leishmania* responsável pela infecção dos vetores, complexidade biológica do parasita, reservatórios, meio ambiente e resposta imune do hospedeiro (Gontijo e De Carvalho, 2003; Bañuls *et al.*, 2011; Roiko *et al.*, 2016; Biswas *et al.*, 2017; Mohammadpour *et al.*, 2017). Essas manifestações podem ser agrupadas de maneira geral em visceral e tegumentar (Mohammadpour *et al.*, 2017).

A forma visceral da doença tem uma letalidade alta, estimada entre 10% a 20%, mesmo quando os pacientes têm acesso ao tratamento (Alvar *et al.*, 2012; Brazuna *et al.*, 2012), essa mortalidade pode atingir até 90% casos quando os indivíduos não são diagnosticados e tratados oportunamente (Biswas *et al.*, 2017; Want *et al.*, 2017). A LV é uma doença infecciosa crônica generalizada, que pode ser assintomática ou grave, apresentando frequentemente febre irregular, mal-estar, anorexia, esplenomegalia, hepatomegalia, linfadenopatia, fraqueza, perda ponderal e anemia como principais sinais clínicos (Brazuna *et al.*, 2012; Roiko *et al.*, 2016; Biswas *et al.*, 2017).

A doença cutânea refere-se a danos crônicas com diferentes formas clínicas, as quais podem ocorrer na pele e mucosa, tendo como consequência lesões desfigurantes (Neitzke-Abreu *et al.*, 2013; Roiko *et al.*, 2016; Dantas-Torres *et al.*, 2017). Indivíduos podem apresentar lesões mucosas não cicatrizantes espontaneamente, fontes de invasão bacteriana oportunistas, por muitas vezes tornando a doença fatal (Roiko *et al.*, 2016).

2.2. Ciclo de vida da *Leishmania*

O ciclo de vida da *Leishmania* sp. se inicia quando a fêmea de flebotomíneo, através da picada, no momento do repaste sanguíneo, inocula parasitas na forma promastigota, a qual passa por um processo de metaciclogênese no intestino do vetor, facilitando o seu reconhecimento e entrada nos macrófagos do hospedeiro vertebrado, que após serem fagocitados perdem seus flagelos e assumem a forma amastigota e começam a se reproduzir assexuadamente por divisão binária, originando novos parasitas que ao romperem os macrófagos persistente com a infecção ao passo que são novamente fagocitados pelo organismo do hospedeiro (Bogdan *et al.*, 2000; Rittig e Bogdan, 2000; Gontijo e De Carvalho, 2003; Awasthi *et al.*, 2004; Alvar *et al.*, 2012) (Figura 1).

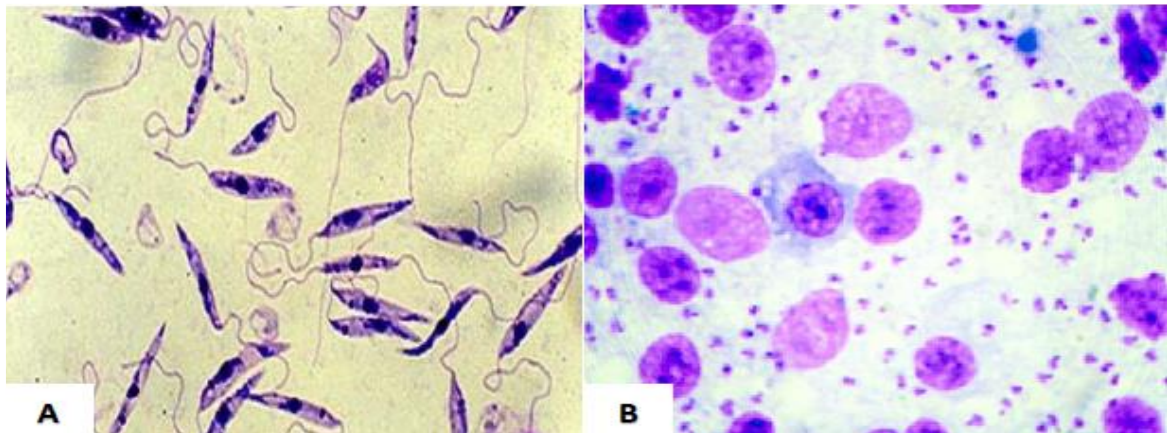


Figura 1. (A) Formas promastigota *Leishmania* spp. E (B) formas amastigota de *Leishmania* spp dentro dos macrófagos (B).

O curso de vida do parasito tem como seqüência a ingestão das formas amastigotas pelo vetor, presentes nos hospedeiros vertebrados, quando o flebotomíneo realiza o repasto sanguíneo, as quais diferenciam-se nas formas promastigotas procíclicas no aparelho digestivo do vetor, e metacíclicas, forma infectante, a qual encontra-se na faringe do inseto, prontas para reiniciarem o ciclo de vida (Bogdan *et al.*, 2000; Rittig e Bogdan, 2000; Awasthi *et al.*, 2004; Alvar *et al.*, 2012) (Figura 2).

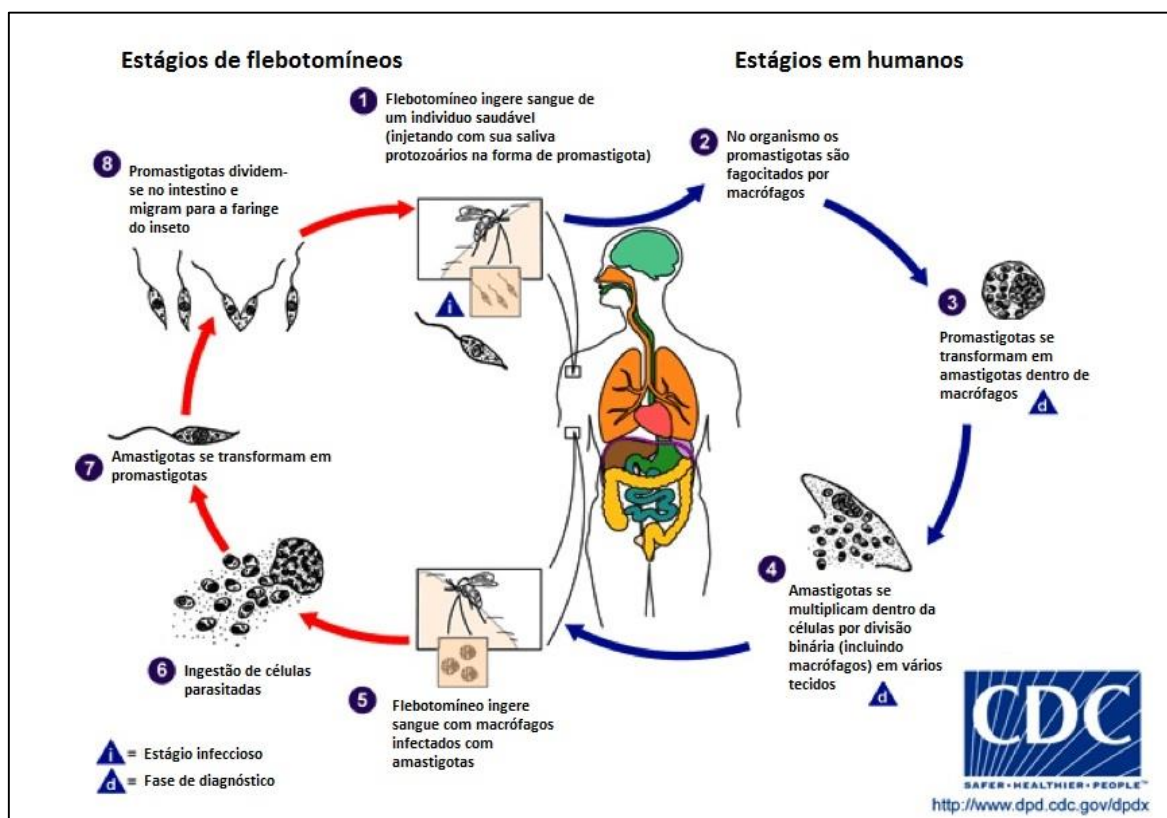


Figura 2. Ciclo de vida da *Leishmania* spp., mostrando a fase do ciclo no hospedeiro invertebrado (flebotomíneo) e vertebrado (mamífero)

2.3. Distribuição das Leishmanioses no Mundo

As leishmanioses são importantes problemas de saúde pública de ocorrência em 98 países (WHO, 2010). Avalia-se que 350 milhões de pessoas no mundo estão susceptíveis a infecção pela *Leishmania*, desse número, são esperado que 2 milhões de casos ocorram anualmente (WHO, 2010).

No Oriente Médio, principalmente no Irã, Afeganistão, Paquistão e Arábia Saudita há relatos da presença de três formas de leishmanioses, sendo elas: leishmaniose cutânea zoonótica; leishmaniose cutânea antrópica e leishmaniose visceral (Sharifi-Rad *et al.*, 2016).

A LV é considerada endêmica no Leste da Europa e na região do Mediterrâneo, sua transmissão é especialmente zoonótica, tendo a *Leishmania infantum* como principal agente (Franceschini *et al.*, 2016). Observa-se também ocorrência de casos novos ocasionados por espécies incomuns, como a *L. donovani* em Chipre (Antoniou *et al.*, 2009). Em Portugal, também foram detectados em consumidores de drogas injetáveis, HIV-positivos, duas espécies híbridas de *Leishmania*, a *L. major* e *L. infantum* (Ravel *et al.*, 2006).

A LV é uma antropozoonose, que ocorre nas Américas Central e do Sul, sendo essa a forma mais grave da doença, com grande parcela de notificações realizadas no Brasil (Cardim *et al.*, 2016). O principal vetor a *L. longipalpis*, e o cão doméstico é o reservatório principal do parasito. Duas espécies estão diretamente ligadas essa manifestação clínica, saber: a *L. infantum* e *L. chagasi* (Cardim *et al.*, 2016).

O litoral Tirreno, localizado na Itália, em conjunto com as penínsulas do sul e as ilhas, são zonas endêmicas da LV desde o início da década de 1990, observa-se, no entanto, uma propagação da doença para o norte, regiões que não eram consideradas endêmicas na época (Franceschini *et al.*, 2016).

No Marrocos a leishmaniose também é considerada como uma das principais doenças endêmicas (Hakkour *et al.*, 2016). Um estudo epidêmico-molecular mostrou que a província de Taza há uma coexistência de duas espécies de *Leishmania*: a *L. tropica* e *L. infantum*, comprovando que a *L. infantum* é mais prevalente do que os descrito na literatura local (Hakkour *et al.*, 2016).

A LC é altamente endêmica na região do Sahel Ocidental do Mali, causada pelas espécies: *L. major* (Traoré *et al.*, 2016), estudo recente, ressalta a possibilidade da evolução clínica da infecção pela *L. major* para auto-cura, porém foram diagnosticadas

lesões grandes com aspecto desfigurante, ulcerativas (Traoré *et al.*, 2016), apontando para a vigilância e tratamento breve das lesões visto que as cicatrizes permanentes deixadas inevitavelmente pelo processo de cicatrização, é uma forte causa de preconceitos sociais (WHO, 2010; Herwaldt, 1999).

2.4. Leishmanioses no Brasil

A LV passou por um processo de urbanização nas últimas três décadas em diversas regiões do Brasil, sendo considerada endêmica e epidêmica nos grandes centros urbanos das macrorregiões do país. Inclusive presente em diversos estados da região nordeste, principalmente Pernambuco e Bahia, os quais desde a década de 1990, sofreram mudanças no perfil epidemiológico da doença com disseminação dos casos em todas as microrregiões desses estados (Gontijo e Melo, 2004; Maia-Elkhoury *et al.*, 2008; Diniz *et al.*, 2018).

No Brasil, a LV acomete indivíduos de todas as faixas etárias, no entanto em áreas endêmicas cerca de 80% dos casos notificados ocorrem em crianças de 10 anos, porém em alguns focos urbanos pesquisados, foi constatada uma tendência de alteração no que concerne a notificação dos casos por grupos etários, observando-se altas taxas de ocorrências em grupos de adultos jovens (Gontijo e Melo, 2004).

São descritos como fatores associados ao aumento da incidência da LV, em todo mundo, o constante desmatamento de matas próximas as cidades, seja para o avanço dos centros urbanos através de construções de condomínios e áreas industriais ou destinadas a agropecuária, assim como a constantes migrações, a desnutrição e as infecções pelo HIV (Desjeux, 2001).

Inicialmente a região nordeste era responsável por 90% dos casos de LV, porém há alguns anos, observa-se um novo panorama na dispersão dos casos da doença para o Centro Oeste, Sudeste e Norte, evidenciando uma modificação epidemiológica da LV no país (Brazuna *et al.*, 2012).

No Mato Grosso do Sul a LV encontra-se amplamente distribuída, segundo dados do boletim epidemiológico 01/2014 pelo menos 58 municípios registraram a presença da doença através de notificação no Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN), totalizando 3.088 notificações de casos confirmados de LV humana (Brasil, 2014).

Em Campo Grande o aumento da densidade do vetor *L. Longipalpis* e o aparecimento da doença podem ser fruto da expansão ocorrida com a abertura de avenidas próximas aos córregos e o desmatamento de áreas de mata virgem para a construção de residências populares (Margonari *et al.*, 2006).

Em Belo Horizonte, um estudo determinou que 84% dos casos de LV notificadas em humanos estavam conexos aos casos caninos (Margonari *et al.*, 2006).

No Brasil e em outros países do Novo Mundo a LT constitui um problema de saúde pública, não somente pela sua alta incidência e vasta distribuição geográfica, mas também devido as possibilidades de assumirem formas que podem levar a lesões destrutivas, desfigurantes, ocasionando repercussões importantes, inclusive no campo psicossocial do doente (Organization; Herwaldt, 1999; Gontijo e De Carvalho, 2003). A forma cutânea é mais prevalente na floresta Amazônica e regiões de Mata Atlântica (Alvar *et al.*, 2012). Geralmente a LT em regiões de Mata Atlântica, afeta agricultores, trabalhadores rurais domiciliados ou próximo de áreas florestais (Gontijo e De Carvalho, 2003; Alvar *et al.*, 2012).

A elevada incidência de LT têm sido observadas em praticamente todos os estados do país, influenciando diretamente na ocorrência de surtos epidêmicos nas regiões Sudeste, Centro-Oeste, Nordeste e na região Amazônica, fator esse considerado como fruto do processo predatório e de ocupação humana em áreas de mata virgem (Gontijo e De Carvalho, 2003; Cardim *et al.*, 2016; Castro *et al.*, 2016).

No sul do Brasil, mais especificamente no Estado do Paraná, estudos realizados em 2008 e 2009 mostraram um aumento de casos de leishmaniose cutânea, contrariando a expectativa relacionadas a eliminação dos focos naturais dos vetores a medida que a ocupação humana fosse efetiva (Monteiro *et al.*, 2008; Monteiro *et al.*, 2009; Cella *et al.*, 2011).

As espécies *L. (Viannia) braziliensis*, *L. (Viannia) guyanensis*, *L. (Viannia) lainsoni* e *L. (Leishmania) amazonensis*, são responsáveis pela forma cutânea, a qual apresenta uma lesão típica ulcerada indolor, com bordas elevadas e fundo granuloso, com apresentação única ou múltiplas (Murback *et al.*, 2011).

Em 2009 a construção de um gasoduto no Estado de Mato Grosso do Sul trouxe como uma de suas consequências a destruição da vegetação de cerrado, corroborando para expansão dos vetores da leishmaniose (Brazuna *et al.*, 2012)..

2.5. Diagnósticos das Leishmanioses

No diagnóstico das leishmanioses deve-se levar em consideração aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais através da pesquisa parasitológica e diagnóstico imunológico sendo associação de algum desses métodos imprescindíveis para elucidação do caso (Gontijo e De Carvalho, 2003; Conter *et al.*, 2015).

Apesar de assumirem escalas diferentes de gravidade conforme manifestações clínicas (Biswas *et al.*, 2017), o diagnóstico breve da doença e a identificação da espécie, são de grande relevância para a prescrição do melhor tratamento (Neitzke-Abreu, Reinhold-Castro, *et al.*, 2014; Neitzke-Abreu, Venazzi, *et al.*, 2014; Conter *et al.*, 2015; Gualda *et al.*, 2015). A ciência dispõe de métodos de biologia molecular cada vez mais sensíveis para fornecer esse suporte na elucidação das suspeitas diagnosticas, como é o caso da PCR (Conter *et al.*, 2015; Gualda *et al.*, 2015; Sharifi-Rad *et al.*, 2016). No entanto seus ajustes, para identificação das espécies circulantes em determinadas regiões geográficas confere aos profissionais diagnóstico rápido, e ao paciente a possibilidade de intervenções terapêuticas assertivas, bem como o acompanhamento da cura (Neitzke-Abreu *et al.*, 2013; Souza *et al.*, 2013; Sharifi-Rad *et al.*, 2016).

No diagnóstico parasitológico da LV, o método para a identificação do parasita pode ser realizado em material de biopsia ou punção aspirativa de órgãos como baço, fígado, medula óssea ou linfonodos, quase sempre as punções hepáticas têm resultados questionáveis devido à baixa quantidade de parasitas, outrossim que a função do baço oferece eminente risco de ruptura do órgão (Franceschini *et al.*, 2016).

Os testes sorológicos, no caso do método ELISA, o qual permite a realização de grandes números de exames em pouco tempo, é frequentemente o mais utilizado como imunodiagnóstico, considerado sensível, porém tem precisão limitada em caso subclínicos ou assintomáticos, e a Reação de Imunoflorescência Indireta (RIFI) tem pouca especificidade (Gontijo e De Carvalho, 2003; Gontijo e Melo, 2004b; Alvar *et al.*, 2012).

Nos casos suspeitos de LV, uma das alternativas para o diagnóstico é o uso do teste imunocromatográfico rápido através do antígeno recombinante rK39 “Kinesin-related protein”, o qual, é um método frequentemente utilizado para o diagnóstico imunológico, especialmente por se tratar de um exame não invasivo, de fácil e rápido acesso, relativamente pouco dispendioso no tocante ao custo financeiro, no entanto, a sua principal limitação reside em sua eficácia variável conforme a região de origem do

indivíduo, assim como baixa positividade, especialmente em casos de coinfeção com outras doenças como HIV (Varani *et al.*, 2017; Bangert *et al.*, 2018).

A detecção do parasita em amostras de sangue depende de diversos fatores tais como o tempo da coleta, a competência imune do indivíduo e a disseminação do parasita na corrente sanguínea (Conter *et al.*, 2015). A baixa positividade histopatológica é frequente pois a mesma depende do número de parasitas contidos em uma amostra, sendo sua utilidade limitada, dependente da existência de lesões nos pacientes e o tempo das mesmas (Gontijo e De Carvalho, 2003).

Para o diagnóstico, nos casos da LT, existem diferentes técnicas parasitológicas de pesquisa direta e indireta, para tal é necessária a identificação do parasito. Nesse sentido o exame mais simples a ser executado é a pesquisa direta das formas amastigotas em material adquirido da lesão por escarificação, aspiração ou biópsia da borda. Embora a técnica seja simples, as chances de encontrar o parasito é inversamente proporcional ao tempo de duração da lesão (Gontijo e De Carvalho, 2003).

Os testes sorológicos são relativamente fáceis de serem executados porém apresentam como limitação baixa positividade quando há existência de única lesão ou ulcerações com menos de 180 dias (Gontijo e De Carvalho, 2003).

O teste Intradermorreação de Montenegro (IDRM) mostra-se bastante limitado quando aplicados em pacientes HIV-positivos devido à baixa resposta imune contra antígenos dos parasitas (Gontijo e De Carvalho, 2003).

O uso da PCR para o diagnóstico das leishmanioses, tanto para LV quanto para LT, tem mostrado resultados positivos, principalmente devido a sua sensibilidade de até 100% e aplicabilidade em diferentes amostras biológicas (Franceschini *et al.*, 2016), o que deve ser levado em consideração principalmente por diminuir o sofrimento ocasionado por vezes na coleta de amostras biológicas por método de punção aspirativa (Franceschini *et al.*, 2016).

O diagnóstico diferencial do parasita, possível através da PCR, é indispensável para o planejamento de estratégias tanto das terapias a serem utilizadas quanto na identificação através de estudos epidemiológicos das diferentes espécies responsáveis pela infecção em determinadas regiões (Herwaldt, 1999; Gontijo e De Carvalho, 2003; Gualda *et al.*, 2015; Sharifi-Rad *et al.*, 2016; Rai *et al.*, 2017).

2.6. Tratamento e critérios de cura das Leishmanioses

Sendo as leishmanioses moléstias infecciosas listadas nas relações das doenças tropicais negligenciadas em todo o mundo, especialmente pela indústria farmacêutica (Alvar *et al.*, 2012; Hakkour *et al.*, 2016; Traoré *et al.*, 2016; Want *et al.*, 2017), observa-se poucas alternativas de terapêuticas para as diferentes formas da doença (Mohammadpour *et al.*, 2017).

Os compostos antimoniais pentavalentes, como o antimoniato de meglumina (Glucantime®) e estiboglucato de sódio (Pentostam®) tem sido as medicações de escolha para o tratamento de todas as formas de leishmanioses nos últimos 60 anos. Tal constatação comprova o baixo interesse da indústria farmacêutica na busca de novos fármacos com maior eficácia terapêutica e menor toxicidade, fatores estes preocupantes (Mohammadpour *et al.*, 2017).

No Brasil, a Anfotericina B lipossomal é a droga de segunda escolha, utilizada quando não há êxito no tratamento com antimonial ou não possibilidade do seu uso (Gontijo e De Carvalho, 2003). Náuseas, vômitos, febre, hipopotassemia, insuficiência renal, anemia e problemas cardíacos são os efeitos colaterais mais comuns ao tratamento, os quais inviabilizam seu uso fora do ambiente hospitalar (Gontijo e De Carvalho, 2003).

Na LV a cura da infecção é clínica, com acompanhamento do paciente recomendado mensalmente durante 3 meses, segmento de até 12 meses após o fim da terapêutica.

Na LT a cura é definida levando em consideração o aspecto das lesões tais como: reepitelização das lesões ulceradas ou não, regressão total das infiltrações e eritema por um período de até 90 dias da conclusão do tratamento. A cura da forma mucosa é verificada após a regressão total de todos os sinais comprovado por exame otorrinolaringológico até 180 dias do fim do tratamento (Herwaldt, 1999; Gontijo e De Carvalho, 2003; WHO, 2010).

3. OBJETIVOS

GERAL

- Determinar o perfil epidemiológico e molecular das leishmanioses no sul de Mato Grosso do Sul.

ESPECÍFICOS

- Descrever os casos humanos confirmados de leishmaniose segundo a data do diagnóstico, distribuição geográfica, sexo, faixa etária e expressão clínica da doença, no sul de Mato Grosso do Sul.
- Realizar PCR em amostras de pacientes confirmados e/ou suspeitos de leishmaniose;
- Conhecer a epidemiologia das leishmanioses no sul de Mato Grosso do Sul.
- Comparar os diferentes testes de diagnóstico para as leishmanioses utilizados no sul de Mato Grosso do Sul.
- Relatar o desfecho de um diagnóstico tardio de LV em paciente internado em um Hospital Universitário no sul de Mato Grosso do Sul.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALVAR, J. et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS One**, v. 7, n. 5, p. e35671, 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22693548> >.
2. ANTONIOU, M. et al. Leishmania donovani leishmaniasis in Cyprus. **Lancet Infect Dis**, v. 9, n. 2, p. 76-7, Feb 2009. ISSN 1473-3099. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19179221> >.
3. AWASTHI, A.; MATHUR, R. K.; SAHA, B. Immune response to Leishmania infection. **Indian J Med Res**, v. 119, n. 6, p. 238-58, Jun 2004. ISSN 0971-5916. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15243162> >.
4. BANGERT, M. et al. Validation of rK39 immunochromatographic test and direct agglutination test for the diagnosis of Mediterranean visceral leishmaniasis in Spain. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 12, n. 3, p. e0006277, Mar 2018. ISSN 1935-2735. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29494596> >.
5. BAÑULS, A. L. et al. Clinical pleiomorphism in human leishmaniasis, with special mention of asymptomatic infection. **Clin Microbiol Infect**, v. 17, n. 10, p. 1451-61, Oct 2011. ISSN 1469-0691. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21933304> >.
6. BISWAS, S. et al. Optimal combinations of control strategies and cost-effective analysis for visceral leishmaniasis disease transmission. **PLoS One**, v. 12, n. 2, p. e0172465, 2017. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28222162> >.
7. BOGDAN, C. et al. Fibroblasts as host cells in latent leishmaniosis. **J Exp Med**, v. 191, n. 12, p. 2121-30, Jun 2000. ISSN 0022-1007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10859337> >.
8. BRASIL, M. D. S. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral** SAÚDE, M. D. Brasil: Nucom/SVS/MS. 1 . 120 p. p. 2014.
9. BRAZUNA, J. C. et al. Profile and geographic distribution of reported cases of visceral leishmaniasis in Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul, Brazil, from 2002 to 2009. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 45, n. 5, p. 601-6, Oct 2012. ISSN 1678-9849. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23152344> >.
10. CARDIM, M. F. et al. Visceral leishmaniasis in the state of Sao Paulo, Brazil: spatial and space-time analysis. **Rev Saude Publica**, v. 50, p. 48, Aug 2016. ISSN 1518-8787. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27533364> >.
11. CASTRO, L. S. et al. Leishmania infantum AS A CAUSATIVE AGENT OF CUTANEOUS LEISHMANIASIS IN THE STATE OF MATO GROSSO DO SUL, BRAZIL. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 58, p. 23, 2016. ISSN 1678-9946. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27007566> >.

12. CELLA, W. et al. [Sandflies in rural localities in northwest Paraná State, Brazil]. **Cad Saude Publica**, v. 27, n. 12, p. 2461-8, Dec 2011. ISSN 1678-4464. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22218588> >.
13. CONTER, C. C. et al. Detection of Leishmania (Viannia) DNA in leucocytes from the blood of patients with cutaneous leishmaniasis. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 48, n. 5, p. 626-8, 2015 Sep-Oct 2015. ISSN 1678-9849. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26516978> >.
14. DANTAS-TORRES, F. et al. Sand fly population dynamics and cutaneous leishmaniasis among soldiers in an Atlantic forest remnant in northeastern Brazil. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 11, n. 2, p. e0005406, Feb 2017. ISSN 1935-2735. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28241005> >.
15. DESJEUX, P. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 95, n. 3, p. 239-43, 2001 May-Jun 2001. ISSN 0035-9203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11490989> >.
16. DINIZ, L. F. B.; SOUZA, C. D. F.; CARMO, R. F. D. Epidemiology of human visceral leishmaniasis in the urban centers of the lower-middle São Francisco Valley, Brazilian semiarid region. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 51, n. 4, p. 461-466, 2018 Jul-Aug 2018. ISSN 1678-9849. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30133628> >.
17. FRANCESCHINI, E. et al. Clinical and Microbiological Characteristics of Visceral Leishmaniasis Outbreak in a Northern Italian Nonendemic Area: A Retrospective Observational Study. **Biomed Res Int**, v. 2016, p. 6481028, 2016. ISSN 2314-6141. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27999807> >.
18. GONTIJO, B.; DE CARVALHO, M. E. L. [American cutaneous leishmaniasis]. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 36, n. 1, p. 71-80, 2003 Jan-Feb 2003. ISSN 0037-8682. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12715066> >.
19. GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. **Visceral Leishmaniasis in Brazil: current status, challenges and prospects**. *Biblioteca Virtual em Saúde Brasil*. 7(3): 338-349 p. 2004.
20. GUALDA, K. P. et al. NEW PRIMERS FOR DETECTION OF Leishmania infantum USING POLYMERASE CHAIN REACTION. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 57, n. 5, p. 377-83, 2015 Sep-Oct 2015. ISSN 1678-9946. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26603223> >.
21. HAKKOUR, M. et al. New epidemiological aspects of visceral and cutaneous leishmaniasis in Taza, Morocco. **Parasit Vectors**, v. 9, n. 1, p. 612, Nov 2016. ISSN 1756-3305. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27899126> >.
22. HERWALDT, B. L. Leishmaniasis. **Lancet**, v. 354, n. 9185, p. 1191-9, Oct 1999. ISSN 0140-6736. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10513726> >.
23. MAIA-ELKHOURY, A. N. et al. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. **Cad Saude Publica**, v. 24, n. 12, p. 2941-7, Dec 2008. ISSN 1678-4464. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19082286> >.

24. MARGONARI, C. et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis through spatial analysis, in Belo Horizonte municipality, state of Minas Gerais, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 1, p. 31-8, Feb 2006. ISSN 0074-0276. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16699707> >.
25. MOHAMMADPOUR, I. et al. Lip leishmaniasis: a case series with molecular identification and literature review. **BMC Infect Dis**, v. 17, n. 1, p. 96, Jan 2017. ISSN 1471-2334. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28122496> >.
26. MONTEIRO, W. M. et al. [Geographic distribution and epidemiological features of American tegumentary leishmaniasis in old rural settlements in Paraná State, Southern Brazil]. **Cad Saude Publica**, v. 24, n. 6, p. 1291-303, Jun 2008. ISSN 0102-311X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18545755> >.
27. MURBACK, N. D. et al. American cutaneous leishmaniasis: clinical, epidemiological and laboratory studies conducted at a university teaching hospital in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **An Bras Dermatol**, v. 86, n. 1, p. 55-63, 2011 Jan-Feb 2011. ISSN 1806-4841. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21437523> >.
28. NEITZKE-ABREU, H. C. et al. [Poles of American tegumentary leishmaniasis production in northern Paraná State, Brazil]. **Cad Saude Publica**, v. 25, n. 5, p. 1083-92, May 2009. ISSN 1678-4464. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19488493> >.
29. NEITZKE-ABREU, H. C. et al. Detection of *Leishmania* (*Viannia*) *IN Nyssomyia neivai* and *Nyssomyia whitmani* by multiplex polymerase chain reaction, in Southern Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 56, n. 5, p. 391-5, 2014 Sep-Oct 2014. ISSN 1678-9946. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25229218> >.
30. NEITZKE-ABREU, H. C. et al. Detection of DNA from *Leishmania* (*Viannia*): accuracy of polymerase chain reaction for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis. **PLoS One**, v. 8, n. 7, p. e62473, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23976920> >.
31. NEITZKE-ABREU, H. C. et al. Cutaneous leishmaniasis with atypical clinical manifestations: Case report. **IDCases**, v. 1, n. 3, p. 60-2, 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26955529> >.
32. ORGANIZATION, W. H. **Clinical Forms of Leishmaniasis**. http://www.who.int/leishmaniasis/clinical_forms_leishmaniasis/en/. Acessado em 14 de abril de 2016.:
33. ORGANIZATION, W. H. **Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases**. Geneva, 22-26 March, p.202. 2010
34. RAI, K. et al. Single locus genotyping to track *Leishmania donovani* in the Indian subcontinent: Application in Nepal. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 11, n. 3, p. e0005420, Mar 2017. ISSN 1935-2735. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28249021> >.

35. RAVEL, C. et al. First report of genetic hybrids between two very divergent *Leishmania* species: *Leishmania infantum* and *Leishmania major*. **Int J Parasitol**, v. 36, n. 13, p. 1383-8, Nov 2006. ISSN 0020-7519. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16930606> >.
36. RITTIG, M. G.; BOGDAN, C. *Leishmania*-host-cell interaction: complexities and alternative views. **Parasitol Today**, v. 16, n. 7, p. 292-7, Jul 2000. ISSN 0169-4758. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10858648> >.
37. ROIKO, M. S. et al. An unusual presentation of leishmaniasis in a human immunodeficiency virus-positive individual. **JMM Case Rep**, v. 3, n. 1, p. e005011, Feb 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28348746> >.
38. SHARIFI-RAD, M. et al. *Leishmania major*: Genetic Profiles of the Parasites Isolated from Chabahar, Southeastern Iran by PPIP-PCR. **Iran J Parasitol**, v. 11, n. 3, p. 290-295, 2016 Jul-Sep 2016. ISSN 1735-7020. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28127333> >.
39. SOUZA et al. **Testes diagnósticos para Leishmaniose Visceral – Atualidade e perspectiva.** Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. <http://faef.revista.inf.br/site/c/medicina-veterinaria.html>: São Paulo, Julho. 21 2013.
40. TRAORÉ, B. et al. Prevalence of Cutaneous Leishmaniasis in Districts of High and Low Endemicity in Mali. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 10, n. 11, p. e0005141, Nov 2016. ISSN 1935-2735. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27898671> >.
41. VARANI, S. et al. Serological and molecular tools to diagnose visceral leishmaniasis: 2-years' experience of a single center in Northern Italy. **PLoS One**, v. 12, n. 8, p. e0183699, 2017. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28832646> >.
42. WANT, M. Y. et al. Nanoliposomal artemisinin for the treatment of murine visceral leishmaniasis. **Int J Nanomedicine**, v. 12, p. 2189-2204, 2017. ISSN 1178-2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28356736> >.

5 APÊNDICES

Artigo 1: Asian Pacific Journal of Tropical Medicine (Qualis B2)

Link com as normas da revista: <http://www.apjtm.org/contributors.asp>

CHALLENGE IN EPIDEMIOLOGICAL STUDIES OF LEISHMANIASIS AGAINST
UNDERREPORTING IN BRAZIL

Type of article: Original

Title of the article: Challenge in epidemiological studies of leishmaniasis against underreporting in Brazil

Running title: Underreporting of leishmaniasis in Brazil

Contributors: Jaciel de Oliveira Clementino¹; Valkiria Silva Bittencourt²; Kelly Mari Pires de Oliveira^{1,3}; Manoel Sebastião da Costa Lima Junior⁴; Herintha Coeto Neitzke-Abreu^{1,5}

Department(s) and institutions:

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), 79804-070, Dourados, MS, Brazil.

²Departamento de Vigilância em Saúde da Grande Dourados, Dourados MS, Brazil.

³Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), 79804-070, Dourados, MS, Brazil.

⁴Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Instituto Aggeu Magalhães, Recife, PE, Brazil.

⁵Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), 79804-070, Dourados, MS, Brazil.

Corresponding Author: Herintha Coeto Neitzke-Abreu. Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), 79804-070, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil. Phone numbers: +55 67 3410 2320. Facsimile numbers: +55 67 3410 2321. E-mail address: herintha@yahoo.com.br.

Total number of pages: 15

Word counts

for abstract: 150

for the text: 2,334

Source(s) of support: Universidade Federal da Grande Dourados.

Conflicting Interest: There are no potential conflict of interest.

1 **ABSTRACT**

2 **Objective:** Leishmaniasis is a anthropozoonosis with significant lethality in humans. The
3 aim was to characterize the epidemiology of leishmaniasis and to estimate underreporting
4 of cases in south of Mato Grosso do Sul State using the data Information System.

5 **Methods:** Observational epidemiological study of human cases of visceral leishmaniasis
6 (VL) and cutaneous leishmaniasis (CL) from January 2007 to June 2017. **Results:** None
7 notification file was complete. Were reported 62 cases of VL: 67.86% had the urban area
8 as a site of infection; in 8.06% there was co-infection with HIV; Amphotericin B was
9 used in 55.56% and 11.11% died. For CL, 50 cases were reported: 52.0% were the
10 mucosal form; in 13.33% there was co-infection with HIV and the cure was in 100%.

11 **Conclusions:** This underreporting minimizes the severity of the health problem in south
12 of MS and in Brazil. The need for specific public health measures for this region is
13 evident.

14 **KEY-WORDS:** Leishmaniasis; Epidemiology; Co-infection; Transmission.

15

16 **1. Introduction**

17 Leishmaniasis is characterized as one of the six most important infectious diseases
18 in the world, and it is considered neglected diseases due the disadvantaged socioeconomic
19 of the affected populations. In Brazil, leishmaniasis is present in all states. In Mato Grosso
20 do Sul (MS), the transmission occurs mainly in urban areas and secondary in wild areas,
21 one of the Brazilian states with the greatest number of cases^[1]. The lethality in MS is from
22 7 to 18.4% with an increase of 21.6% in co-infected with HIV^[2,3]. This shows the need
23 of public health measures for improvement, agility in diagnosis and access to treatment.

24 To inform the classification of municipalities in risk categories, to prioritize disease
25 control measures, the Secretaria de Vigilância em Saúde of Brazil's Ministry of Health

26 (SVS/MH) uses retrospective human cases. Studies suggest that the reported cases may
27 underestimate the risks, especially in areas with intense transmission^[1].

28 The knowledge of the leishmaniasis epidemiology provides subsidies for the
29 planning of assertive public health actions, as it takes into account the regional reality in
30 order to propose interventions aimed at prevention and control of the diseases in the
31 community. Thus, the present study aimed to characterize the epidemiological profile of
32 leishmaniasis and to estimate underreporting of cases in southern of MS using the data
33 Information System.

34

35 **2. Material and methods**

36 The MS is located in the Center-West Region of Brazil (**Figure 1**), it has territory
37 of 357,145,534 km² and an estimated population of 2,713,147 inhabitants. The Campo
38 Grande (20°26'34''S, 54°38'47''W) is the capital of MS, being one of the 79
39 municipalities. This state borders with the São Paulo, Paraná, Mato Grosso, Minas Gerais,
40 and Bolivia and Paraguay.

41 This is a observational epidemiological study of the human cases of visceral
42 leishmaniasis (VL) and cutaneous leishmaniasis (CL) reported from January 2007 to June
43 2017. The information was obtained from the Information System on Notifiable Diseases
44 (SINAN) of the Departamento de Vigilância Epidemiológica of Dourados. The research
45 was approved by the Human Research Ethics Committee of the Universidade Federal da
46 Grande Dourados (protocol number 2.071.873).

47 The variables studied were: notification year of the disease, residence municipality,
48 residence area, cases frequency, age, sex, clinical and/or laboratory diagnostic criteria,
49 parasitological test for direct research (PD) of *Leishmania* amastigotes, serological test
50 for anti-*Leishmania* antibodies [rK39 rapid test or indirect immunofluorescence (IIF)],

51 Montenegro Intradermal Reaction (MIR), clinical manifestations, drugs used in
52 treatment, failure of treatment and outcome of cases. Data were tabulated using a
53 descriptive analysis.

54

55 **3. Results**

56 The number of human cases reported was 112 (**Table 1** and **Figure 1**). It is
57 important to note that not all the notification files had complete information, so it was not
58 possible to obtain all the information for each patient.

59 Of VL, 62 cases was reported (**Table 1**). The greatest number of cases was in 2014;
60 the residence municipalities with the highest number of cases were Ponta Porã and
61 Dourados; the highest prevalence was in Antonio João, Ponta Porã and Jateí
62 municipalities; the majority of the cases occurred in the urban zone and were
63 autochthonous; the male sex was the most affected; the majority were white or brown;
64 the almost all were new cases (**Table 2**). The most cases have been confirmed by
65 laboratory tests. Co-infections with HIV was reported. Regarding the treatment,
66 Amphotericin B and Liposomal Amphotericin B were the most used. The majority
67 evolved to cure, but 3 cases evolved to death by VL in 2008, 2013 and 2017. In 33 files
68 there was information about the clinical data of which fever and splenomegaly occurred
69 in 29 cases (87.87%); weakness, weight loss and hepatomegaly in 28 cases (84.84%);
70 pallor in 23 cases (69.69%); diarrhea in 11 cases (33.33%); infection in 7 cases (21.21%);
71 edema, jaundice and cough in 5 cases (15.15%); hemorrhagic phenomena in 3 cases
72 (9.09%); and dyspnoea, vomiting, abdominal pain, anemia, leucopenia and pancytopenia
73 were reported in only one case (3.03%).

74 Of CL, 50 cases was reported (**Table 1**). There were more cases in 2007, 2013 and
75 2014; Dourados was the residence municipality with the highest number of cases; the

76 highest prevalence was in Laguna Caarapã, Deodópolis and Dourados municipalities;
77 56.0% were imported; there was predominance in males; the most were white and brown
78 (**Table 2**). Regarding the presence of lesions, 42.0% (21) were cutaneous, 52.0% (26)
79 mucous and 6.0% (3) cutaneous and mucous simultaneously. In the mucosal form, the
80 presence of cutaneous scar was reported in 24 files, of which 50.0% (12) of the cases had
81 cutaneous scar. The most were new cases and had a confirmatory laboratory diagnosis.
82 For histopathological examination, 24 files had this information, 62.50% (15) had
83 compatible findings and 37.50% (9) the parasite was encountered. Co-infection with HIV
84 was reported. Pentavalent Antimonial was the most used and all evolved to cure.

85

86 **4. Discussion**

87 It is important to note that not all the notification files had complete information.
88 The underreporting of leishmaniasis demonstrated occurs in all Brazilian states^[1,4], due
89 to the lack of updating in the databases programs and training of health professionals.

90 This is the first descriptive epidemiological study conducted in the south of MS, in
91 which a frequent occurrence of new cases of leishmaniasis was verified. The VL had an
92 increase in cases between 2014 and 2015, and in 2014 the number of cases was 133.33%
93 higher than in 2013. In contrast, the largest number of cases in MS occurred in 2012 (287)
94 and 2013 (215), followed by 2014 (130), 2015 (95) and 2016 (85). For CL cases, a
95 significant increase was observed in the south of MS between 2012 and 2016, which
96 corresponds to a total increase of notifications in MS (610).

97 In the present study, Ponta Porã had the highest number of VL cases, corroborating
98 with a study that the main vector, *Lutzomyia longipalpis*, were found abundantly in
99 peridomiciliary^[3]. Ponta Porã is a border municipality with Paraguay, the second country
100 with the highest number of VL cases in the Americas. In Dourados there was a greater

101 number of CL cases, as well as a study in Bela Vista (MS), where *Lutzomyia whitmani*,
102 abundant in the state, was a major vector of the *L. amazonensis*^[5]. In Brazil, the etiologic
103 agent of VL is *L. infantum* and CL are the species *L. braziliensis* and *L. amazonensis*.
104 Recently, in MS, the *L. infantum* was also described as an etiological agent of CL^[6], as it
105 also occurs in Europe and the Americas. According to the Ministry of Health^[7], Dourados
106 and Ponta Porã municipalities are classified as moderate and sporadic transmission,
107 respectively.

108 The first autochthonous cases of VL and CL of the southern of MS occurred in 2007
109 in Bela Vista and Dourados, respectively. In 2006, a spatial distribution study of VL
110 showed the MS became endemic in 1998, with occurrence of human cases in Corumbá
111 municipality. Its expansion occurred due due the construction of the Bolivia - Brazil
112 railroad and pipeline and the migratory movement of workers to Campo Grande and Três
113 Lagoas, the opposite region of the state^[8].

114 The cases of VL were similar to other studies performed in Brazil and the world,
115 due to their higher frequency in children 0-4 years and in young adult males. The greatest
116 number of VL cases connected to males has not yet been elucidated, however, it is
117 correlated with the fact that a greater body exposure of men in daily activities and
118 hormonal factors related to sex^[9]. The presence of the vectors in the peridomicile, linked
119 to socioeconomic factors, malnutrition and immaturity of the immune system are
120 described as the main causes of VL infection in children^[9,10]. The considerable prevalence
121 of VL cases in children shows the evidence of the endemic disease in south of MS.

122 CL cases were more frequent in male adults, with the highest percentage of patients
123 aged 41-59 years. These results corroborate with a study conducted at Campo Grande^[11],
124 as well as in a study conducted in São Paulo at dermatology outpatient clinic, whose
125 patients were on average of 43 years old, considering the male sex^[12].

126 Regarding race, the majority of patients diagnosed with VL were white, different
127 from those found in Ceará and Minas Gerais, where the respective findings were 79.19%
128 and 47.7% in brown patients^[13,14]. For CL cases, the white race was also predominant,
129 different from the results found in Tocantins, in 2017, where 69.1% of the affected
130 population belonged to brown race^[15].

131 Concerning schooling, low education is observed, as well as studies in Minas Gerais
132 and Ceará^[13,16]. The low schooling concomitant to the purchasing manager are important
133 associated factors, which consequently influence in the social vulnerability of the
134 individuals, increasing up to eight times the chances of infection. In the cases of VL
135 patients, the absence of almost all schooling can be attributed to the fact that part of the
136 affected population is children, who are preschool-aged, as found in Minas Gerais^[14].

137 The heterogeneity of the professional occupations found, for the cases of VL, shows
138 the urbanization of the disease^[9]. The retired population corresponded to the largest
139 number of CL cases, different from the results described in the literature, which outlined
140 the work in agriculture of greater vulnerability to the disease^[12].

141 The clinical manifestations with are more prevalent in the VL cases presented in
142 this study are in line with those described: fever, enlargement of the spleen and liver,
143 weight loss and weakness^[2,10,17]. It is very important that professionals suspect VL in
144 cases where there is fever and hepatomegaly, especially in patients from endemic and/or
145 epidemic areas^[10].

146 For CL cases, the most observed clinical form was the mucosa, almost twice as
147 large as that found in Campo Grande (27%)^[11]. This serious condition is a matter of
148 concern due to its ability to cause permanent disfiguring lesions, usually attributed to
149 incorrect therapy and treatment-refractory cases.

150 In south of MS, cases of leishmaniasis are referred in an University Hospital of the
151 Universidade Federal da Grande Dourados, an infectious disease outpatient clinic, where
152 the first patient care is performed, serology and, when necessary, bone marrow aspirate
153 for PD and sent to the Laboratorio Central de Saúde Pública (LACEN), located in Campo
154 Grande, and the result is available in up to six days.

155 The IIF was the most performed exam for the diagnosis of VL, corroborating with
156 the findings described in other studies^[10], despite its low sensitivity and high specificity
157 compared to ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay).

158 For CL cases, MIR was the test that obtained positivity similar to those found in the
159 literature^[11], this result is worrisome as this test presents several limitations, such as late
160 positivity (up to four months after the onset of skin lesions), not distinguishing disease
161 and infection, being invasive and proving negative in diffuse cutaneous forms and
162 immunosuppressed patients.

163 The use of Amphotericin B and Pentavalent Antimony was prevalence in the
164 treatment of VL and CL cases respectively. The Pentavalent Antimony, although it has a
165 high degree of toxicity, some authors dispute its efficiency, mainly by the intrinsic
166 resistance of some species of *Leishmania*, reaffirming the negligence of the public
167 authorities and the pharmaceutical industry worldwide. In Brazil, the Pentavalent
168 Antimony is the drug of first choice and amphotericin B of second choice. However,
169 treatment for VL has criteria such as age, presence of pregnancy, comorbidities and
170 toxicity of the drugs, and is contraindicated in patients using beta-blockers and
171 antiarrhythmic drugs with renal or hepatic failure.

172 The outcome of VL cases for cure are similar to those found in Tres Lagoas^[10]. In
173 another study conducted in Northwest Ethiopia the results for cure ranged from 80.2% to
174 96.7%, and the best result was related to the use of higher doses of Liposomal

175 Amphotericin B^[18]. The death cases were two elderly (61 and 75 years) and one
176 indigenous child (one year). Low age is a risk factor because malnutrition and immune
177 immaturity, while high mortality in elderly is related: wrong or late diagnosis; low
178 education level; drug toxicity and the presence of comorbidities including co-infection
179 with HIV. The evolution of CL cases corroborate with other results.

180 The percentage of co-infection with HIV in this study, which was twice the national
181 rate, reflects the increased susceptibility in these patients, especially in endemic
182 regions^[2,17]. Co-infections present in patients diagnosed with leishmaniasis are always of
183 concern, especially in HIV patients, due to their association with relapses resulting from
184 immunosuppression. In this sense, Liposomal Amphotericin B is strongly recommended
185 even for prophylaxis at the end of treatment^[2,17].

186 The absence of information relevant to the study is the result of notifications with
187 ignored data or unfilled fields. In general, studies based on secondary data are impaired
188 due to lack of information^[1]. This reality is of concern as it reverts to under-notifications
189 and/or incomplete and inconsistent notifications with the actual picture of the disease in
190 the region. Adequacy of the leishmanial notification forms is necessary to improve the
191 detail of the cases.

192 This study made it possible to trace the epidemiological profile of leishmaniasis
193 based on information from SINAN. It is estimated that the numbers of cases of
194 leishmaniasis in the southern of MS are much larger than described here, due to
195 underreporting and death related to the disease, mainly the visceral form.

196 The varieties and similarity of the clinical manifestations presented by
197 leishmaniasis, mainly in areas classified as non-endemic, ranging from prolonged fever,
198 cough, hepatomegaly, anemia, thrombocytopenia, weight loss and splenomegaly,
199 becomes worrisome as they can be confused with schistosomiasis, Chagas' disease,

200 malaria, typhoid fever and tuberculosis in cases of VL, whereas in CL cases, similarity
201 may be with traumatic ulcers, lower limb ulcer due to sickle cell anemia, pyoderma,
202 paracoccidioimycosis, cutaneous neoplasia, syphilis, cutaneous tuberculosis, virchowian
203 leprosy, among others.

204 Thus, this underreporting minimizes the severity of the health problem in south of
205 MS and in Brazil. The need for specific public health measures for this region is evident.
206 The lack of public health measures so far may cause this moderate zone to become an
207 intense transmission zone, aggravating the prevalence of leishmaniasis in the region. The
208 fact that other regions are more endemic does not allow the neglect of zones of moderate
209 transmission.

210

211 **Conflict of interests:** The authors declare no potential conflict of interest.

212

213 **Financial support:** Financial support was provided by Universidade Federal da Grande
214 Dourados.

215

216 **References**

217 [1] Machado G, Alvarez J, Bakka HC, Perez A, Donato LE, de Ferreira Lima Júnior FE, Alves
218 RV, Del Rio Vilas VJ. Revisiting area risk classification of visceral leishmaniasis in Brazil.
219 *BMC Infect Dis* 2019; **19**(1): 19.

220 [2] Druzian AF, Souza AS, Campos DN, Croda JR, Higa MG, Dorval ME, et al. Risk factors
221 for death from visceral leishmaniasis in an urban area of Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* 2015;
222 **9**(8): e0003982.

223 [3] Almeida PS, Minzão ER, Minzão LD, Silva SR, Ferreira AD, Faccenda O, et al. Ecological
224 aspects of Phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in the urban area of Ponta Porã
225 municipality, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2010; **43**(6):
226 723-727.

- 227 [4] Maia-Elkhoury AN, Carmo EH, Sousa-Gomes ML, Mota E. Analysis of visceral
228 leishmaniasis reports by the capture-recapture method. *Rev Saúde Pública* 2007; **41**:931-
229 937.
- 230 [5] Dorval ME, Oshiro ET, Cupollilo E, Castro AC, Alves TP. Occurrence of American
231 tegumentary leishmaniasis in the Mato Grosso do Sul State associated to the infection for
232 *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. *Rev Soc Bras Med Trop* 2006; **39**(1): 43-46.
- 233 [6] Castro LS, França AEO, Ferreira EEC, Hans Filho G, Higa Júnior MG, Gontijo CM, et al.
234 *Leishmania infantum* as a causative agent of cutaneous leishmaniasis in the state of Mato
235 Grosso do Sul, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2016; **58**: 23.
- 236 [7] Brazil. Ministério da Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral,
237 2014.
- 238 [8] Correa Antonialli SA, Torres TG, Paranhos Filho AC, Tolezano JE. Spatial analysis of
239 American visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul State, Central Brazil. *J Infect* 2007;
240 **54**(5): 509-514.
- 241 [9] Botelho AC, Natal D. First epidemiological description of visceral leishmaniasis in Campo
242 Grande, State of Mato Grosso do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop* 2009; **42**(5): 503-508.
- 243 [10] Oliveira AL, Paniago AM, Dorval ME, Oshiro ET, Leal CR, Sanches M, et al. Emergent
244 outbreak of visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul State. *Rev Soc Bras Med Trop*
245 2006; **39**(5): 446-450.
- 246 [11] Murback ND, Hans Filho G, Nascimento RA, Nakazato KR, Dorval ME. American
247 cutaneous leishmaniasis: clinical, epidemiological and laboratory studies conducted at a
248 university teaching hospital in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. *An Bras*
249 *Dermatol* 2011; **86**(1): 55-63.
- 250 [12] Martins AL, Barreto JA, Lauris JR, Martins AC. American tegumentary leishmaniasis:
251 correlations among immunological, histopathological and clinical parameters. *An Bras*
252 *Dermatol* 2014; **89**(1): 52-58.

- 253 [13] Oliveira LS, Neto RVD, Braga PET. Perfil epidemiológico dos casos de leishmaniose
254 visceral em Sobral, Ceará no período de 2001 a 2010. *Rev de Políticas Públicas* 2013;
255 **12**(1): 13-19.
- 256 [14] Oliveira EN, Pimenta AM. Epidemiological profile of people with visceral leishmaniasis
257 in the municipality of Paracatu, Brazil from 2007 to 2010. *Rev Mineira de Enfermagem*
258 2014; **18**(2): 371- 375.
- 259 [15] Gosch CS, Marques CP, Resende BS, Souza JDS, Rocha RADS, Lopes DSS, et al.
260 American tegumentary leishmaniasis: epidemiological and molecular characterization of
261 prevalent *Leishmania* species in the State of Tocantins, Brazil, 2011-2015. *Rev Inst Med*
262 *Trop Sao Paulo* 2017; **59**: e91.
- 263 [16] Bruhn FRP, Morais MHF, Bruhn NCP, Cardoso DL, Ferreira F, Rocha CMBM. Human
264 visceral leishmaniasis: factors associated with deaths in Belo Horizonte, Minas Gerais
265 state, Brazil from 2006 to 2013. *Epidemiol Infect* 2018: 1-6.
- 266 [17] Santos Marques LH, Rocha IC, Reis IA, Cunha GM, Oliveira E, Pfeilsticker TR, et al.
267 *Leishmania infantum*: illness, transmission profile and risk factors for asymptomatic
268 infection in an endemic metropolis in Brazil. *Parasitology* 2017; **144**(4): 546-556.
- 269 [18] Tamiru A, Tigabu B, Yifru S, Diro E, Hailu A. Safety and efficacy of liposomal
270 amphotericin B for treatment of complicated visceral leishmaniasis in patients without
271 HIV, North-West Ethiopia. *BMC Infect Dis* 2016; **16**(1): 548.
- 272

273 **Table 1:** Number of visceral leishmaniasis and cutaneous leishmaniasis cases in the
 274 southern of Mato Grosso do Sul State from 2007 to 2017.

Year	Deaths	Municipalities with cases (number of cases)
Visceral leishmaniasis		
2007	0	Bela Vista (1)
2008	1	Antônio João (1), Ponta Porã (1)
2009	0	Ponta Porã (1)
2010	0	Antônio João (2), Ponta Porã (5), Bela Vista (2)
2011	0	-
2012	0	Amambaí (1), Coronel Sapucaia (1), Dourados (2), Ponta Porã (3)
2013	1	Antônio João (2), Dourados (1), Fátima do Sul (2), Nova Andradina (1)
2014	0	Bela Vista (1), Dourados (8), Ponta Porã (4), Rio Brillhante (1)
2015	0	Dourados (5), Jateí (1), Ponta Porã (3), Rio Brillhante (1)
2016	0	Antônio João (2), Deodápolis (1), Dourados (2), Ponta Porã (2)
2017	1	Anaurilândia (1), Dourados (1), Itaquiraí (1), Ponta Porã (2)
Total	3	13 (62)
Cutaneous leishmaniasis		
2007	0	Laguna Caarapã (4), Dourados (4)
2008	0	Dourados (2)
2009	0	Itaporã (2), Dourados (3)
2010	0	Amambaí (1), Dourados (2), Mundo Novo (1)
2011	0	Dourados (3)
2012	0	Dourados (1)
2013	0	Dourados (6), Deodápolis (1), Laguna Caarapã (2), Paranhos (1) Caarapó (1)
2014	0	Dourados (6), Angélica (1), Ponta Porã (1)
2015	0	Dourados (4), Ponta Porã (1), Fátima do Sul (1)
2016	0	Dourados (2), Ponta Porã (1), Deodápolis (1)
2017	0	Amambaí (1)
Total	0	11 (50)

275

276 **Table 2:** Epidemiological and clinical characteristics of visceral
 277 leishmaniasis (VL) and cutaneous leishmaniasis (CL) cases in the
 278 southern of Mato Grosso do Sul State from 2007 to 2017.

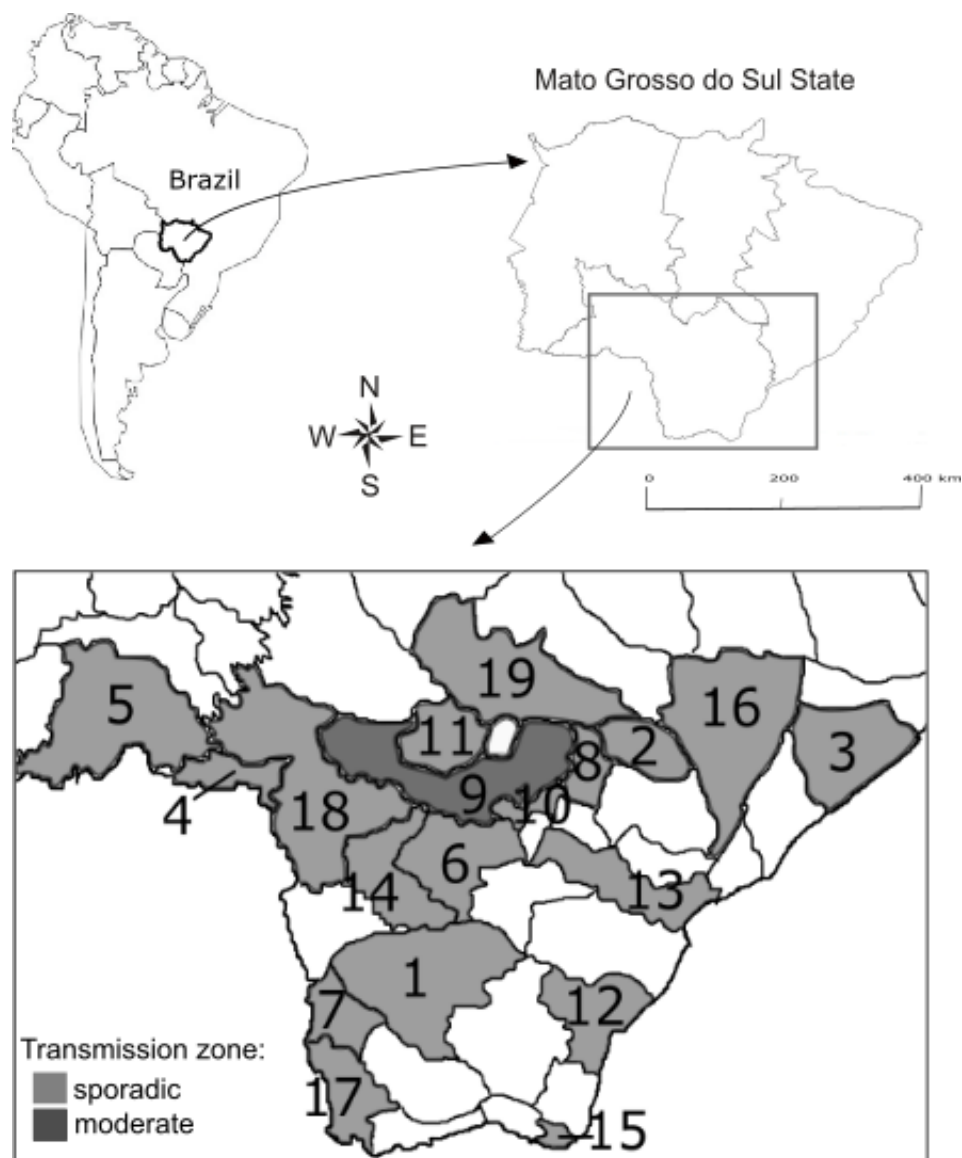
Variable	VL	CL
Probable site of infection	26*	50*
Autochthonous	21	10
Alóctones	2	28
Undetermined	3	12
Locality	28*	48*
Rural	9	7
Urban	19	41
Genre	62*	50*
Male	42	36
Female	20	14
Age in years	62*	50*
0-9	24	0
11-20	3	4
21-30	9	7
31-40	10	9
41-50	5	4
51-60	4	11
61-70	6	7
≥71	1	8
Race/color	62*	50*
White	29	22
Brown	19	15
Indigenous	11	9
Black	1	3
Yellow	-	2
Uninformed	2	0
Scholarity	62*	50*
Complete primary education	-	3
Incomplete elementary school	1	17
Complete high school	-	3
Incomplete high school	-	2
Graduated	-	4
Incomplete higher	-	1
Illiterate	-	3
Not applicable	60	-
Uninformed	1	17
Occupation/Job	33*	21*
Hair stylist	1	-
Masseur	1	-
Inmate	1	-
Retired	-	5
Underage students	1	4
Home appliances	-	3
Rural workers	-	2
Masons	1	2
Administrators	-	1
Administrative assistant	-	1
Dental surgeon	-	1
Teachers	1	1
Production manager	-	1
Uninformed	28	0
Input Type	27*	50*
New cases	26	46
Recurrences	1	2
Transfer	-	1
Uninformed	-	1
Diagnosis	31*	50*

Laboratorial	28	45
Clinical-epidemiological	3	5
Parasitological Diagnosis (PD)	18*	50*
Positive	12	6
Negative	6	3
Did not perform	-	41
Immunological Diagnostics	33 (IIF†)*	50 (MIR‡)*
Positive	18	21
Negative	6	4
Did not perform	9	25
Co-infection with HIV	33*	50*
Yes	5	4
No	24	26
Uninformed	4	20
Treatment	27*	50*
Amphotericin B	15	-
Liposomal Amphotericin B	9	10
Pentavalent Antimony	3	35
Pentamidine	-	4
Evolution of cases	27*	15*
Cure	22	13
Transferred	2	1
Abandonment	-	1
Deaths	3	0

*number of files with information; †IIF: Indirect Immunofluorescence; ‡MIR: Montenegro Intradermal Reaction.

279
280
281

282



283

284 **Figure 1: Classification of municipalities according to the risk of transmission of**

285 **leishmaniasis in the southern of the Mato Grosso do Sul State from 2007 to 2017.**

286 Municipalities: 1-Amambaí; 2-Angélica; 3-Anaurilândia; 4-Antônio João; 5-Bela Vista; 6-

287 Caarapó; 7-Coronel Sapucaia; 8-Deodápolis; 9-Dourados; 10-Fátima do Sul; 11-Itaporã; 12-

288 Itaquiraí; 13-Jateí; 14-Laguna Caarapã; 15-Mundo Novo; 16-Nova Andradina; 17-Paranhos; 18-

289 Ponta Porã; 19-Rio Brilhante.

Artigo 2: The Brazilian Journal of Infectious Diseases (Qualis B2)

Link com as normas da revista: <https://service.elsevier.com/app/answers/list/c/10528-/suppothub/publishing/>

Coinfection and delayed diagnosis of visceral leishmaniasis: predecessors factors for death

Jaciel O. Clementino^{a,*}, Daniel G. M. Abrahão^b, Manoel S. C. Lima Junior^c, Herintha C. Neitzke-Abreu^{a,d}

^a Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), 79804-070, Dourados, MS, Brazil

^b Hospital Universitário, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), 79823-501, Dourados, MS, Brazil

^c Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Instituto Aggeu Magalhães, 50740-465, Recife, PE, Brazil

^d Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), 79804-070, Dourados, MS, Brazil

* Corresponding Author. Herintha C. Neitzke-Abreu, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS, Brazil. E-mail: HerinthaAbreu@ufgd.edu.br. Phone number: +55 67 3410-2320.

Conflict of interest: There are no conflicts of interest.

1 **Abstract**

2 Visceral leishmaniasis (VL) is an anthroponosis caused by *Leishmania*
3 *infantum* in most Brazilian states and is known for its significant lethality resulting
4 from improper diagnosis and treatment. VL is difficult to diagnose because its
5 clinical manifestations and laboratory abnormalities are analogous to several
6 other pathologies. We report a case of a 54-year-old man, negative HIV, with VL
7 who was initially diagnosed with anemia, consumptive syndrome, pneumonia,
8 chronic obstructive pulmonary disease, and septic shock and died due to a
9 delayed diagnosis of VL.

10 **Keywords:** diagnosis; immunosuppression; clinic bacterial sepsis

11

12 **Introduction**

13 Visceral leishmaniasis (VL) is one of the six most neglected tropical
14 diseases worldwide, and it is a significant public health problem in several regions
15 of the world.¹ Its occurrence is potentially fatal especially when undiagnosed and
16 treated early, being the second largest cause of death by parasites in the world,
17 after malaria.²

18 The most frequent clinical manifestations include chronic fever, paleness,
19 anorexia, inappetence, hepatosplenomegaly, cough and diarrhea. In some cases
20 infected individuals may be oligo-symptomatic carriers because they have few
21 clinical manifestations, which is a bias for diagnosis since they may be confused
22 with other diseases.³ For the diagnosis must be considered epidemiological,
23 clinical and laboratory aspects. Parasitological and serological tests should be
24 associated.² The hematological and biochemical abnormalities predictive of the

25 disease refer to anemia, thrombocytopenia, leukopenia and
26 hypergammaglobulinemia.⁴

27 In this context, the present study aimed to report a VL human case with
28 severe immunosuppression and malnutrition, multiresistant bacterial pneumonia,
29 exacerbated chronic obstructive pulmonary disease, septic shock, *Leishmania*
30 dissemination and death, as a consequence of the late diagnosis of VL, in
31 Dourados Municipality, Mato Grosso do Sul State, classified as an intense
32 transmission zone of VL.

33

34 **Case report**

35 A 54-year-old Caucasian man was admitted to a public hospital in
36 Dourados on May 22, 2017, with symptoms of anemia resulting from daily nasal
37 epistaxis. His history showed that he had hypertension and was a smoker since
38 the age of 14 years. In 2016, he lived in Campo Grande City in Mato Grosso do
39 Sul. The patient experienced daily nasal epistaxis for approximately 2 years, and
40 an otolaryngologist observed the presence of intranasal vessels. He did not have
41 any gastrointestinal bleeding but was repeatedly hospitalized in the 4-month
42 period when he lived in Campo Grande. During one such hospitalization, he was
43 transfused with red blood cells and underwent colonoscopy without any change
44 in his condition. He lost 26 kg of body weight in < 1 year due to the loss of appetite.
45 He was prescribed an anti-hemorrhagic drug, tranexamic acid, at a dose of 1.5
46 g/day to manage the nasal bleeding.

47 Eight months after the current hospitalization (January 21, 2018), the
48 patient was treated at another hospital in Dourados for respiratory difficulty,
49 hemoptysis and pulmonary spasms, overall poor condition, and loss of appetite

50 with significant weight loss. Due to suspicions of pulmonary tuberculosis (PT), 2
51 sputum smears were examined using the Ziehl-Neelsen method; however, the
52 results were negative. Laboratory findings indicated anemia (hematocrit level,
53 24.60%; hemoglobin level, 7.70 mg/dL), leukopenia (3,100 white blood
54 cells/mm³), and thrombocytopenia (90,000 platelets/mm³). His urea and
55 creatinine levels were 156.0 mg/dL and 1.9 mg/dL, respectively. Two units of
56 packed red blood cells were transfused, and ceftriaxone (2 g/day) and
57 levofloxacin (1 g/day) antibiotic therapy was initiated. Nonetheless, his pulmonary
58 infection worsened, leading to hemodynamic instability, pallor, dehydration,
59 pulmonary auscultation, vesicular murmurs, sparse snores, and painless
60 palpation without visceromegaly. His extremities showed unclassified edemas,
61 but his wrists and calves showed no signs of deep vein thrombosis.

62 On January 24, 2018, the patient was transferred to the intensive care
63 unit (1st hospitalization day) of a public hospital specializing in infectious
64 diseases. The patient required mechanical ventilation of the orotracheal tube
65 because of acute respiratory failure. He presented with hypotension (arterial
66 pressure, 66 × 43 mmHg), tachycardia (heart rate, 117 bpm), no fever
67 (temperature, 36.8 °C), acyanosis due to weight loss, and respiratory infection.
68 He was suspected to have exacerbated chronic obstructive pulmonary disease
69 and PT. His subsequent laboratory tests during the hospitalization demonstrated
70 severe anemia, leukopenia, thrombocytopenia, hypoalbuminemia,
71 hypergammaglobulinemia, inversion of the albumin-globulin pattern, and high C-
72 reactive protein level, suggesting an infectious disease (**Table 1**). However, nasal
73 and rectal swabs and blood and urine cultures showed the absence of
74 microorganisms, eliminating any possible colonization by multiresistant

75 pathogens. The patient experienced febrile episodes (37.9–40 °C) from the 4st
76 to the 11th hospitalization day, even with the use of broad-spectrum antibiotics
77 (ceftriaxone and clarithromycin from the 1st to the 4th hospitalization day,
78 piperacillin/tazobactam and teicoplanin from the 4th to the 12th hospitalization day).

79 On the 6th hospitalization day, radiography of the anteroposterior chest
80 showed bilaterally ill-defined alveolar opacities, but the cardiac area showed
81 normal patterns and the mediastinum and pulmonary filaments showed no signs
82 of nodules or masses. On the 7th hospitalization day, chest computed
83 tomography showed emphysematous blisters in the upper lobes of the lungs,
84 which were more evident in the right lung. Additionally, multiple noncalcified
85 centrilobular nodular “budding diffuse” opacities with bilateral pulmonary
86 parenchyma that tended to confluence and form consolidations in irregular areas,
87 notably in the lower left lobe, were observed. Furthermore, irregular areas
88 showing frosted glass attenuation were observed in the middle and upper lobes
89 of the right lung, which may correspond to the overlapping secondary infection.
90 We also observed pulmonary parenchyma with diffusely heterogeneous density,
91 which assumed a mosaic perfusion pattern; multiple lymph nodes of borderline
92 dimensions in the mediastinum; and enlargement of the right pulmonary hilum,
93 which measured approximately 1.7 × 1.5 cm. Moreover, the increase in the size
94 of the liver was evident; hepatosplenomegaly (**Fig. 1**). The diagnosis of PT was
95 rejected based on the results of 2 smear microscopy tests of tracheal secretions
96 (on the 3rd and 6th hospitalization day) and the diagnosis of HIV I and II was
97 rejected based on the results of antibody tests performed using the rapid test
98 (immunochromatography).

99 On the 10th hospitalization day, a hemogram showed anisocytosis (++),
100 hypochromia (+), polychromasia (+), red cells in rouleaux formation, and
101 cytoplasmic inclusions in blood neutrophils (++)), confirming amastigote forms that
102 are suggestive of *Leishmania* spp. Therefore, the patient was started on
103 intravenous antibiotic therapy with liposomal amphotericin B (3 mg/kg body
104 weight) for 2 consecutive days.

105 On the 11th hospitalization day, tracheal secretion culture showed the
106 presence of multiresistant *Acinetobacter baumannii* that was sensitive only to
107 colistin. A subsequent hemoculture was positive for *Moraxella (Branhamella)*
108 *catarrhalis* with 2 positive samples in a span of 5 h. An antibiogram could not be
109 performed due to technical problems.

110 Although drug therapy was administered from the 1st hospitalization day
111 to treat the pulmonary infection, the patient died on the 12th hospitalization day
112 in the intensive care unit (2nd day of VL treatment) due to malnutrition,
113 pneumonia, chronic obstructive pulmonary disease, shock septic, and VL.

114 On the day after the patient died, the diagnosis of VL was confirmed in
115 the laboratory (biological material collected on the 10th hospitalization day) by
116 reactive indirect immunofluorescence (titer \geq 1:160) and direct testing of the bone
117 marrow aspirate, which showed amastigotes of *Leishmania*.

118

119 **Discussion**

120 In South America, Brazil has the highest number of VL cases. VL occurs
121 in all states of Brazil, including several municipalities in Mato Grosso do Sul;^{2,5}
122 some cities like Dourados have a moderate transmission rate of VL, whereas
123 others like Campo Grande have a high transmission rate. In places with moderate

124 transmission, VL is not usually suspected in patients with a history of fever,
125 cough, abdominal discomfort, leucopenia, anemia, pancytopenia, weight loss,
126 and inversion of the albumin-globulin pattern.⁶

127 The biochemical and hematological findings of the current patient
128 resulted from a parasitic infection and are usually present in cases of VL.⁷
129 Degenerative progression of the nutritional status due to loss of appetite, with
130 marked weight loss, characterizes a consumptive syndrome that is aggravated
131 by anemia and progressive immunosuppression and susceptible to opportunistic
132 infections.^{6,8} A consumptive syndrome is defined as involuntary weight loss of >
133 10% basal weight, and it is essential to investigate all such cases with laboratory
134 and imaging tests. This syndrome can be caused by multiple conditions such as
135 hyperthyroidism, diabetes mellitus, malabsorption syndrome, gastrointestinal
136 fistulas, paraneoplastic syndrome, neoplasms, acquired immuno-deficiency
137 syndrome, and VL. The current patient reported severe weight loss of 32.5% body
138 weight, which is much higher than that reported in previous studies on VL.⁶

139 The increase in the liver size is evident in VL cases. Changes in the size
140 of organs such as the spleen and liver due to VL are caused by hypertrophy and
141 hyperplasia of the macrophage system that constrains the circulation of
142 capillaries, leading to congestion and infarction. Immunosuppression
143 concomitant with underlying immunosuppressive diseases is a determining factor
144 of the prognosis of VL.¹ It is important to emphasize that despite being a non-HIV
145 patient the high parasitemia in peripheral blood evidences the weakness of the
146 immune system which favored the hospital infection and the clinical
147 complications. The growth of *A. baumannii* reflected the body's vulnerability due
148 to malnutrition, immunosuppression, invasive procedures, antibiotic and

149 corticosteroid use, and hospitalization.⁹ One of the reasons for our patient's
150 worsening respiratory condition was the presence of *M. (B.) catarrhalis*, which is
151 a seasonal microorganism responsible for otitis and respiratory tract infections
152 and is often responsible for exacerbation of chronic obstructive pulmonary
153 disease.¹⁰

154 In our case, the high parasitemia, reflected by the presence of the
155 parasite in peripheral blood, suggested that *Leishmania* dissemination was
156 strongly related to the disease severity due to the lack of specific treatment and
157 late diagnosis. The opportunistic condition caused by high parasitemia was
158 responsible for the growth of multiresistant microorganisms and septic shock,
159 which was evident by the presence of fever, tachycardia, leucopenia, anemia,
160 and thrombocytopenia.^{3,8} Although treatment with liposomal amphotericin B was
161 started because of the severity of the patient's clinical condition and the high
162 toxicity of pentavalent antimonials, the patient death due to malnutrition,
163 pneumonia, chronic obstructive pulmonary disease, septic shock, and VL on the
164 2nd day of treatment.

165 Owing to its clinical similarities with other diseases, VL diagnosis was
166 delayed in our patient. This case serves as a warning to health professionals,
167 especially in regions with low and moderate transmission of VL. Although the
168 current patient returned from a region of high *Leishmania* transmission, his history
169 was not considered when deciding his diagnosis and treatment plan. It is
170 essential to consider VL in patients with a history of fever, weight loss, cough,
171 abdominal pain, anemia, pancytopenia, and hypergammaglobulinemia.^{3,4}

172 Failure to diagnose VL can lead to serious consequences such as the
173 risk of transmission, exposure of patients to unnecessary procedures and

174 diagnoses, and even death. Diagnosis may be delayed due to low sensitivity of
175 the tests and the absence of clinical suspicion of such infection. In our case, the
176 clinical signs and laboratory evidence were not noticed by the health care
177 professionals, suggesting the need for health care professionals to be more
178 careful.

179 In conclusion, it is evident the importance of early diagnosis for endemic
180 diseases in the patient's origin area, even without the characteristic symptoms of
181 the pathology, in order to identify the possible co-infections and their due
182 treatment. It is important to emphasize that neglect in Brazilian public health is
183 the main cause of death, thus necessitating greater preparation of health care
184 professionals.

185

186 **Funding**

187 Financial support was provided by Conselho Nacional de Desenvolvimento
188 Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do
189 Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT),
190 and Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

191

192 **Conflicts of interest**

193 The authors declare no conflicts of interest.

194

195 REFERENCES

- 196 1. Araújo VE, Moraes MH, Reis IA, Rabello A, Carneiro M. Early clinical
197 manifestations associated with death from visceral leishmaniasis. PLoS
198 Negl Trop Dis. 2012;6(2):e1511.

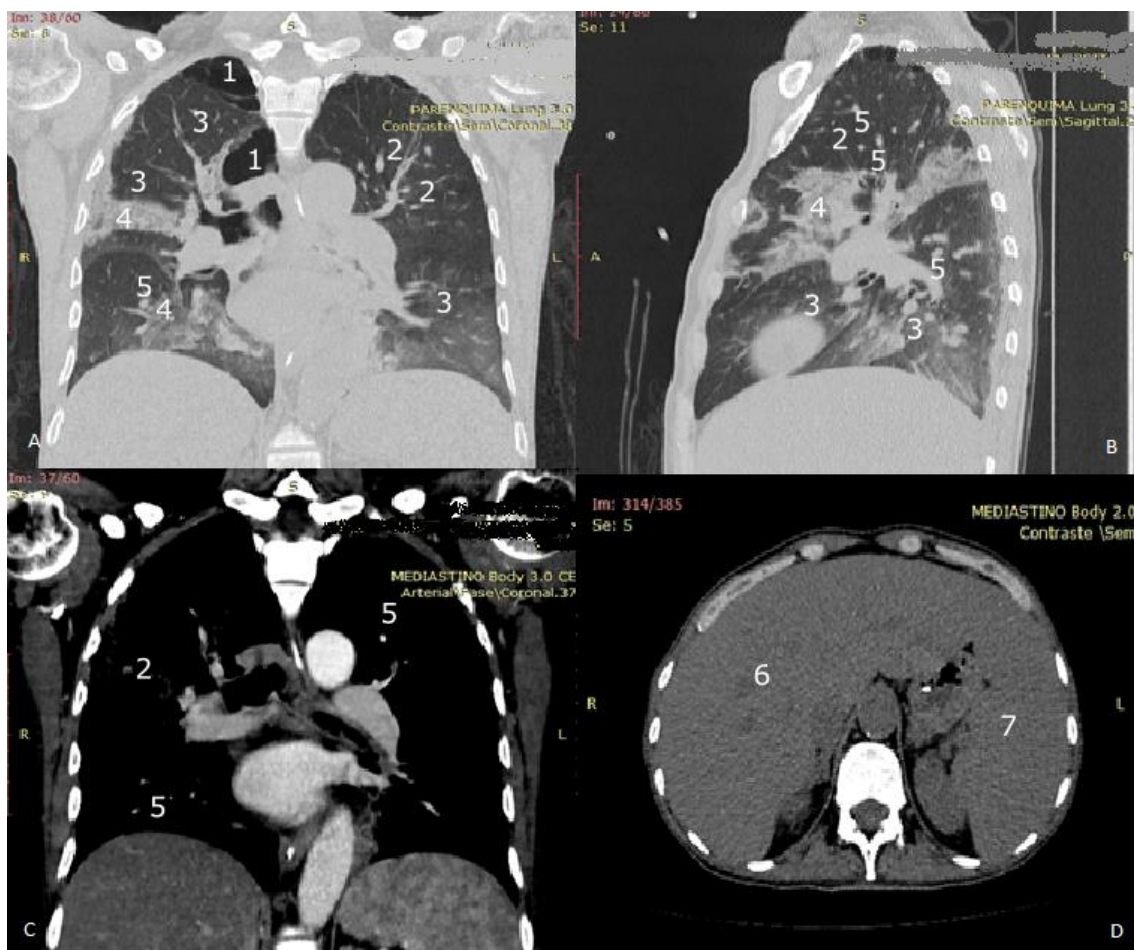
- 199 2. Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, Jannin J, den Boer
200 M. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PLoS
201 One. 2012;7(5): e35671.
- 202 3. van Griensven J, Diro E. Visceral leishmaniasis. Infect Dis Clin North Am.
203 2012;26(2):309-22.
- 204 4. Castro-Júnior JG, Freire ML, Campos SP, Scopel KK, Porrozzi R, Silva ED,
205 Colombo FA, Silveira RCV, Marques MJ, Coimbra E. Evidence of
206 *Leishmania (Leishmania) infantum* infection in dogs from Juiz de Fora,
207 Minas Gerais State, Brazil, based on immunochromatographic dual-path
208 platform (DPP®) and PCR assays. Rev Inst Med Trop Sao Paulo.
209 2014;56(3):225-9.
- 210 5. Correa Antonialli SA, Torres TG, Paranhos Filho AC, Tolezano JE. Spatial
211 analysis of American visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul State,
212 Central Brazil. J Infect. 2007;54(5): 509-14.
- 213 6. Gupta N, Kant K, Mirdha BR. Clinical and laboratory analysis of patients with
214 leishmaniasis: a retrospective study from a tertiary care center in New
215 Delhi. Iran J Parasitol. 2017;12(4):632-7.
- 216 7. Chufal SS, Pant P, Chachra U, Singh P, Thapliyal N, Rawat V. Role of
217 haematological changes in predicting occurrence of leishmaniasis - a
218 study in Kumaon region of Uttarakhand. J Clin Diagn Res.
219 2016;10(5):EC39-43.
- 220 8. Endris M, Takele Y, Woldeyohannes D, Tiruneh M, Mohammed R, Moges F,
221 Lynen L, Jacobs J, van Griensven J, Diro E. Bacterial sepsis in patients
222 with visceral leishmaniasis in Northwest Ethiopia. Biomed Res Int.
223 2014:361058.

- 224 9. Ardoino I, Zangirolami F, Iemmi D, Lanzoni M, Cargnelutti M, Biganzoli E,
225 Castaldi S. Risk factors and epidemiology of *Acinetobacter baumannii*
226 infections in a university hospital in Northern Italy: A case-control study.
227 Am J Infect Control. 2016;44(12):1600-5.
- 228 10. Murphy TF, Parameswaran GI. *Moraxella catarrhalis*, a human respiratory
229 tract pathogen. Clin Infect Dis. 2009;49(1):124-31.

230 **Table 1 - Laboratory examinations of the patient during hospitalization days at a public hospital of Dourados (from January 24**
 231 **to February 3, 2018).**

Parameter	Reference values	Days of hospitalization										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Hemoglobin	14 – 16 g/dL	6,40	6,60	6,80	6,70	8,50	8,70	8,20	8,80	8,10	8,70	8,40
Hematocrit	40 – 54%	20,40	21,60	22,00	22,90	28,00	28,20	26,70	29,30	26,28	27,80	28,90
MCV	82 – 92 fL	87,55	89,25	89,43	89,80	90,03	89,52	88,41	90,71	88,74	85,80	91,16
MCH	27 – 32 pg	27,46	27,27	27,64	26,27	27,33	27,61	27,15	27,40	26,82	26,85	26,49
MCHC	32 – 36 g/dL	31,37	30,55	30,90	29,25	30,35	30,85	30,71	30,03	30,22	31,29	29,06
RDW	11 – 15%	17,40	17,50	17,80	18,10	17,00	17,40	17,40	17,80	17,90	17,50	17,90
WBC	5.000 – 10.000/mm ³	3.330	2.900	3.110	3.900	3.570	4.230	4.960	16.070	17.690	4.420	7.520
Platelets	150.000 –	82.000	81.000	97.000	95.000	95.000	79.000	64.000	68.000	76.000	71.000	78.00
TAP	9,8 – 12,1"	14,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18,5
TTPA	<33,0"	31,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	36,3
Na⁺	136 – 145 mmol/L	131,95	135,47	138,37	139,68	137,85	137,95	141,97	138,14	134,93	135,13	129,8
K⁺	3,5 – 5,5 mmol/L	3,62	4,08	4,01	3,98	4,53	4,44	4,21	5,24	5,30	3,77	4,52
Ca⁺⁺	8,6 – 10,2 mg/dL	7,9	7,8	7,80	7,9	8,50	8,1	7,8	9,00	8,60	9,10	8,40
Mg⁺⁺	1,7 – 2,6 mg/dL	1,87	2,04	2,22	2,25	2,45	2,35	2,45	2,70	2,64	2,22	2,37
Urea	10 – 50 mg/dL	137,2	154,3	183,8	167,00	174,90	199,20	269,40	338,00	274,90	169,10	128,5
Creatinine	0,5 – 1,2 mg/dL	2,01	1,82	1,95	1,84	2,57	2,56	3,70	5,78	5,51	4,19	4,01
C-reactive	0 – 5,0 mg/L	39,9	71,0	68,6	148,1	147,80	-	-	-	-	-	-
Direct bilirubin	<0,3 mg/dL	0,15	-	-	-	-	0,20	-	-	-	-	0,69
Indirect bilirubin	<1,0 mg/dL	0,63	-	-	-	-	0,70	-	-	-	-	0,42
AST (TGO)	<40U/L	32,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	42,70
ALT (TGP)	<41U/L	16,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12,40
Total proteins	6,5 – 8,7 g/dL	-	-	-	-	-	9,60	-	-	-	-	7,70
Albumin	3,5 – 5,0 g/dL	2,23	-	-	-	-	2,40	-	-	-	-	1,60
Globulin	2,0 – 4,0 g/dL	-	-	-	-	-	7,20	-	-	-	-	6,10

232 MCV: mean corpuscular volume; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean concentration of corpuscular hemoglobin;
 233 RDW: red cell distribution range; WBC: white blood cell count; TAP: prothrombin time; APTT: activated partial thromboplastin
 234 time; AST: aspartate aminotransferase; TGO: glutamic-oxalacetic transaminase; ALT: alanine aminotransferase; TGP: glutamic-
 235 pyruvic transaminase.



236

237 **Fig. 1 - Chest computed tomography, with technique of volumetric**
 238 **acquisition of the data in a multidetector device, with posterior**
 239 **reconstructions, performed on the seventh day of hospitalization. 1)**
 240 **emphysematous blisters; 2) multiple noncalcified centrilobular nodular “budding**
 241 **diffuse” opacities; 3) irregular areas with frosted glass attenuation; 4) pulmonary**
 242 **parenchyma with diffusely heterogeneous density, which assumed a mosaic**
 243 **perfusion pattern; 5) multiple lymph nodes of borderline dimensions in the**
 244 **mediastinum; and enlargement of the right pulmonary hilum, which measured**
 245 **approximately 1.7 × 1.5 cm; 6) hepatomegaly; 7) splenomegaly.**

246

Artigo 3: Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (Qualis B2)

Link com as normas da revista: <http://www.scielo.br/revistas/mioc/pinstruc.htm>

EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DAS LEISHMANIOSES NO SUL DE MATO GROSSO DO SUL

Jaciel de Oliveira Clementino¹; Laísa Vieira Gnutzmann¹; Leticia Surian Batalini²; Silvana de Oliveira Castro²; Herintha Coeto Neitzke-Abreu^{1,3}; Manoel Sebastião da Costa Lima Junior⁴

Afiliação institucional:

¹Pós Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), 79804-070, Dourados, MS, Brasil.

²Discente do curso de Medicina, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), 79804-070, Dourados, MS, Brasil.

³Faculdade de Ciências da saúde, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), 79804-070, Dourados, MS, Brasil.

⁴FIOCRUZ, Instituto Aggeu Magalhães, Recife, PE, Brasil.

RESUMO

247 As leishmanioses são antropozoonoses com duas formas clínicas principais resultantes de
248 diferentes espécies de *Leishmania* e da competência imune do hospedeiro. Assim, pode
249 se manifestar através de lesões cutâneas ou acometer vísceras, sendo essa a sua forma
250 mais grave, pois quando não diagnosticada e tratada oportunamente possui mortalidade
251 elevada. Diferentes testes diagnósticos têm sido utilizados, incluindo a PD (pesquisa
252 direta), testes sorológicos (teste rápido rK39 e RIFI) e PCR (reação em cadeia da
253 polimerase). A PCR devido a sua alta sensibilidade e especificidade, tem sido utilizada
254 para elucidar o diagnóstico dessas doenças, principalmente nos casos de difícil resolução
255 pelos exames tradicionais. Portanto o presente estudo teve por objetivo pesquisar
256 *Leishmania* spp. em diferentes amostras biológicas de pacientes com suspeita clínica
257 atendidos no HU/UFGD, bem como analisar os prontuários em busca de comorbidades,
258 afim de determinar o perfil epidemiológico e molecular das leishmanioses no período de
259 janeiro/2017 a abril/2018. Foram analisadas amostras biológicas (sangue periférico,
260 biopsia de lesão e/ou sangue medular) de 100 pacientes. Para 55% dos casos o sexo foi
261 masculino, a média de idade foi de 42,57 anos, 50% dos casos eram de Dourados, a febre
262 estava presente 32% dos casos. Em 6,0% dos casos havia coinfeção com HIV. A PCR
263 foi positiva no sangue periférico de 15,0% (15) dos casos, sendo que em dois pacientes
264 coinfectados com HIV apenas a PCR foi positiva. O teste rápido foi positivo em 12,0%
265 (12) dos casos. A PD foi positiva em 6,0% (6). Em 7,0% (7) dos casos apenas o teste
266 rápido foi positivo. Em 8,0% (8) dos casos só a PCR foi positiva. A PD e a PCR foram
267 positivas simultaneamente em 4,0% (4) dos casos e em apenas 5,0% (5) dos casos, tanto
268 o teste rápido quanto a PCR, tiverem resultados positivos e o óbito ocorreu em 6,0% dos
269 casos.

270 **Palavras-chave:** Leishmaniose; Reação em cadeia da polimerase; coinfeção;
271 Epidemiologia.

272

273 **Fonte de financiamento:** FUNDECT - Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do
274 Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul.

275

276

277 **INTRODUÇÃO**

278 As leishmanioses são doenças causadas por protozoários do gênero *Leishmania*,
279 na qual os indivíduos são infectados a partir da picada de flebotomíneos. Existem dois
280 tipos de enfermidades: leishmaniose cutânea ou tegumentar (LT), a qual representa a
281 forma cutânea e mucocutânea, além da leishmaniose visceral (LV) que acomete
282 principalmente o fígado e linfonodos (Gontijo e Melo, 2004; Organization, 2010).
283 Segundo a Organização Mundial da Saúde, 350 milhões de pessoas são expostas ao risco
284 de aquisição da antropozoonose, com registro aproximado de 2 milhões de novos casos
285 das diferentes formas de leishmaniose a cada ano (Brasil, 2007).

286 De acordo com o Manual de Vigilância de Leishmaniose, existem três perfis
287 epidemiológicos da doença: a) Silvestre, na qual a transmissão ocorre em áreas de
288 vegetação primária, a partir de flebotomíneos silvestres; b) Ocupacional ou lazer, em que
289 a contaminação está associada ao desmatamento de áreas florestais para a construção,
290 desenvolvimento de atividades agropecuárias e ecoturismo; c) Rural ou periurbana,
291 ocorrendo em áreas de colonização ou em casos de adaptação do vetor ao modo de vida
292 da sociedade instalada na região (Brasil, 2007).

293 A LV vem crescendo em importância no Brasil devido a sua alta incidência e
294 ampla distribuição territorial, podendo assumir formas ainda mais graves que a LT. Trata-
295 se de uma doença crônica grave, com taxa de 10% de letalidade quando não se institui o

296 tratamento adequado (Gontijo e Melo, 2004). Esta ampla distribuição epidemiológica
297 possui relação com as mudanças ambientais e adaptação do vetor (*Lutzomya longipalpis*)
298 ao ambiente urbano (Maia-Elkhoury *et al.*, 2008).

299 A LT possui registros de casos autóctones em todos os Estados do Brasil. Não
300 apenas no Brasil, a LT é vista como um problema de saúde pública devido não somente
301 a sua alta incidência e ampla distribuição geográfica, mas também a possibilidade de
302 assumir formas que podem determinar lesões desfigurantes e até mesmo, incapacitantes
303 no campo psicossocial do indivíduo (Gontijo e De Carvalho, 2003). É de suma
304 importância o diagnóstico rápido, tendo em vista o risco de evolução da doença para a
305 forma mucosa, que é ainda mais grave (Neitzke-Abreu *et al.*, 2013).

306 Devido ao fato de Dourados estar localizada em área de risco para as
307 leishmanioses, foi realizado um estudo com diferentes técnicas de diagnóstico, incluindo
308 a PD (pesquisa direta), testes sorológicos (teste rápido rK39 e RIFI) e PCR (reação em
309 cadeia da polimerase) com o objetivo de pesquisar *Leishmania* spp. em diferentes
310 amostras biológicas de pacientes suspeitos atendidos no HU/UFGD, bem como analisar
311 os prontuários dos pacientes em busca de comorbidades.

312

313 MATERIAIS E MÉTODOS

314 **Identificação dos pacientes:** foram analisadas amostras biológicas (biopsia de
315 lesões cutâneas, sangue periférico e/ou sangue medular) obtidas de pacientes com
316 suspeita de LV e LT atendidos no HU/UFGD.

317 **Teste rápido rK39:** Parte do sangue periférico foi utilizado para obtenção de
318 soro para pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania*, realizado pelo HU-UFGD.

319 **Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI):** A presença de anticorpos IgG
320 anti-*Leishmania* no soro também foi avaliada pelo Laboratório Central do Estado do Mato

321 Grosso do Sul (LACEN). Os títulos $\geq 1/80$ foram considerados reagentes; 1/40:
322 Indeterminado e $< 1/40$: Não reagente.

323 **Pesquisa direta (PD):** As amostras de lesões cutâneas foram coletadas por
324 biópsia das bordas internas, e as amostras de medula óssea foram obtidas através de
325 aspirados. Após coletadas, foram fixados e corados em lâminas e analisadas por meio da
326 microscopia óptica comum com a finalidade de pesquisar formas amastigotas
327 de *Leishmania* sp, parte realizado pelo LACEN.

328 **Obtenção do DNA:** O DNA foi obtido com SDS 20% (Araújo et al., 2009) e
329 ressuspendido em 50 μ L de tampão TE (TRIS 10mM; EDTA 1mM; pH 8,0). Para cada
330 grupo de extração foram incluídos controles positivos (sangue de indivíduo sem
331 leishmaniose acrescido de promastigotas de *Leishmania infantum*) e negativos (sangue
332 de indivíduos sem leishmaniose).

333 **PCR para pesquisa de *Leishmania* spp.:** Após a obtenção do DNA, as
334 amostras foram submetidas a PCR utilizando os iniciadores 13A (5-GTG GGG GAG
335 GGG CGT TCT-3) e 13B (5-ATT TTA CAC CAA CCC CCA GTT-3) (OLIVEIRA et
336 al., 2011) que amplificam 120-pb do kDNA de *Leishmania* spp. A reação final (volume
337 25 μ L) foi composta por 0,4 μ M de cada iniciador (Sigma), 1,5 mM de $MgCl_2$, 0,2 mM
338 de dNTP (Invitrogen), 1,5U de Taq DNA Polimerase (Phoneutria), 1X tampão da enzima
339 e 2 μ L do DNA. A amplificação foi realizada em Termociclador (BIORAD, T100
340 Thermal Cycler) a 95°C durante 5 min, seguido por 35 ciclos: 95°C por 30 seg, 61°C por
341 30 seg, 72°C por 30 seg, e finalmente 72°C por 10 min. O produto foi mantido a 4°C até
342 à eletroforese. Oito microlitros do produto amplificado foram submetidos à eletroforese
343 em gel de agarose a 2%, corados com brometo de etídio (10 mg/mL). Um controle
344 positivo (DNA de *L. infantum*) e um controle negativo (água) foram adicionados. A
345 presença de bandas foi observada em Transiluminador (Loccus Biotecnologia).

346 **PCR para controle interno:** As amostras com resultado negativo na PCR para
347 *Leishmania* foram submetidas a uma nova PCR utilizando os iniciadores GH20 (5'-GAA
348 GAG CCA AGG ACA GGT-3') e PC04 (5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3')
349 que amplificam um fragmento de 268-pb presente no gene da β -globina do DNA humano.
350 A reação final (volume 25 μ L) foi composta por 0,4 μ M de cada iniciador (Sigma), 1,5
351 mM de $MgCl_2$, 0,2 mM de dNTP (Invitrogen), 1U de Taq DNA Polimerase (Phoneutria),
352 1X tampão da enzima e 2 μ L do DNA. A amplificação foi realizada em Termociclador
353 (BIORAD, T100 Thermal Cycler) a 95°C durante 5 min, seguido por 40 ciclos: 95°C por
354 1 min, 58°C por 1 min, 72°C por 1 min, e finalmente 72°C por 10 min. O produto foi
355 mantido a 4°C até à eletroforese. Oito microlitros do produto amplificado foram
356 submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2%, corados com brometo de etídio (10
357 mg/mL). Um controle negativo (água) foi adicionado. A presença de bandas foi observada
358 em Transiluminador (Loccus Biotecnologia).

359 **Análise de prontuários:** os prontuários dos pacientes foram analisados em
360 busca de comorbidades associadas e para fins epidemiológicos.

361

362 **RESULTADOS**

363 A população do estudo foi constituída por 100 pacientes, sendo 55,0% (55)
364 homens e 45,0% (45) mulheres com idade média de 42,57 anos (**Tabela 1**). Dos sujeitos,
365 17,0% (17) tinham entre oito meses a 18 anos de idade, 41,0% (41) tinham entre 30 e 48
366 anos; 33,0% (33) tinham entre 53 a 69 anos; 9,0% (9) tinham idade superior a 70 anos. O
367 paciente mais novo tinha oito meses e o mais velho 82 anos de idade (**Tabela 1**).

368 Os municípios de origem dos casos suspeitos foram: 50,0% (50) de Dourados;
369 10% (10) de Ponta Porã; 6,0% (6) de Caarapó; 8,0% (8) de Naviraí e Tacuru; 4,0% (4) de
370 Ivinhema; 10% (10) de Coronel Sapucaia, Fátima do Sul, Jateí, Mundo Novo e Paranhos,

371 2 casos por município; 14,0% (14) de Amandina, Amambaí, Aral Moreira, Bela Vista,
372 Deodápolis, Douradina, Eldorado, Itaporã, Laguna Carapã, Montese, Nova Andradina,
373 Rio Brilhante, Sete Quedas e Taquarussu, 1 caso por município.

374 Os sinais e sintomas encontrados foram: febre em 32,0% (32) dos casos; tosse,
375 pancitopenia, diarreia e quadro infeccioso em 26,0% (26); perda ponderal em 22,0% (22);
376 anemia em 17,0% (17); cefaleia, vômitos, plaquetopenia em 15,0% (15) e leucopenia,
377 neutropenia, dor torácica e fraqueza em 9,0% (9) dos casos.

378 As comorbidades diagnosticadas foram: HIV em 6,0% (6) dos casos; Diabetes
379 mellitus e Hipertensão arterial em 6,0% (6); Insuficiência renal aguda (IRA) em 4,0% (4);
380 Insuficiência renal crônica (IRC) em 3,0% (3); Sífilis em 3,0% (3); Artrite reumatoide
381 em 2,0% (2). A taxa geral de óbitos foi de 6,0% (6), sendo 3 pacientes coinfectados com
382 HIV.

383 A PCR foi positiva no sangue periférico de 15,0% (15) dos casos, sendo que em
384 dois pacientes coinfectados com HIV apenas a PCR foi positiva. O teste rápido foi
385 positivo em 12,0% (12) dos casos. A PD foi positiva em 6,0% (6). A RIFI foi positiva em
386 4,0% (4) e indeterminada em 3,0% (3) dos casos. Em 7,0% (7) dos casos apenas o teste
387 rápido foi positivo. Em 8,0% (8) dos casos só a PCR foi positiva. A PD e a PCR foram
388 positivas simultaneamente em 4,0% (4) dos casos e em apenas 5,0% (5) dos casos, tanto
389 o teste rápido quanto a PCR, tiverem resultados positivos (**Tabela 1**).

390

391

392 **Tabela 1.** Paciente com suspeita de leishmaniose atendidos pelo HU/UFMG de janeiro/2017 a abril/2018.

Paciente	Idade	Sexo	Testes de diagnóstico			
			Teste rK39	RIFI	PD	PCR
1	54	F	N	N	-	N
2	44	M	P	-	N	P
3	65	M	P	-	-	N
4	63	M	N	-	-	N
5	5	F	N	-	-	N
6	15	F	N	-	-	N
7	59	F	N	-	-	N
8	5	M	P	-	-	N
9	2	M	N	-	-	N
10	63	M	P	-	-	N
11	30	M	N	-	-	N
12	63	F	P	-	-	-
13	58	M	P	-	-	N
14	11	M	P	-	-	N
15	8m	F	-	-	-	-
16	34	M	N	-	-	-
17	56	F	P	-	-	N
18	21	M	-	-	-	-
19	39	F	-	-	-	P
20	25	F	N	-	-	P
21	62	F	N	-	N	P
22	47	M	P	-	P	P
23	59	M	P	-	-	P
24	15	F	N	-	-	N
25	64	M	N	-	-	N
26	75	M	N	-	N	P
27	48	M	P	-	N	P
28	44	F	N	I	-	-
29	33	M	N	N	N	P
30	54	M	-	-	-	N
31	36	F	N	-	-	-
32	5	F	P	-	-	P
33	53	F	-	-	-	-
34	59	F	-	-	-	-
35	5	F	-	-	-	N
36	48	M	-	-	-	-
37	37	M	N	-	N	-
38	26	F	-	-	P	P
39	68	F	-	-	P	P
40	4	F	-	-	-	N
41	45	F	N	N	-	N
42	25	F	-	-	N	N
43	18	M	-	N	-	N
44	29	F	-	-	P	N
45	67	M	-	N	N	N
46	11	F	-	-	-	N
47	69	M	-	-	-	N
48	26	M	-	N	N	N
49	79	M	-	N	N	N
50	78	M	-	-	-	N

393 Tabela 1. Continuação.

Paciente	Idade	Sexo	Testes de diagnóstico			
			Teste rK39	RIFI	PD	PCR
51	33	M	-	N	N	N
52	46	M	-	N	N	N
53	48	M	-	N	-	N
54	30	F	-	-	-	N
55	68	F	N	P	-	N
56	15	F	-	P	N	N
57	8	F	-	-	-	N
58	33	F	-	N	-	N
59	34	M	-	N	-	N
60	12	F	-	N	-	N
61	34	M	-	I	-	P
62	63	M	-	-	-	N
63	70	M	-	-	-	N
64	60	M	-	-	-	N
65	73	M	-	P	P	P
66	43	M	-	N	-	N
67	56	M	-	-	-	N
68	37	M	-	-	-	N
69	59	M	-	-	-	N
70	35	F	-	-	-	N
71	18	F	-	N	-	N
72	21	F	-	-	-	N
73	33	M	-	-	-	N
74	3	F	-	N	-	N
75	29	M	-	-	-	N
76	42	M	-	-	-	N
77	67	F	-	-	-	N
78	44	F	-	-	-	N
79	32	M	-	-	-	N
80	18	M	-	-	-	N
81	53	M	-	-	-	N
82	55	M	-	N	N	N
83	69	M	-	-	-	N
84	59	F	-	I	N	N
85	64	F	-	N	-	N
86	61	M	-	N	-	N
87	1	M	-	N	-	N
88	44	M	-	N	-	N
89	70	F	-	N	-	N
90	36	F	N	N	-	N
91	29	F	-	-	-	N
92	76	M	-	-	-	N
93	67	F	-	-	-	N
94	77	F	-	-	-	N
95	82	M	-	-	-	N
96	63	M	N	-	-	N
97	64	F	-	-	-	N
98	33	F	N	-	-	N
99	34	M	N	-	-	N
100	54	H	N	P	P	P

394 **RIFI:** Reação de imunofluorescência indireta; **PD:** Pesquisa direta; **PCR:** Reação em cadeia da
395 polimerase; **M:** Masculino; **F:** Feminino; **N:** Negativo; **P:** Positivo; **I:** Indeterminado; **AP:**
396 Aguardando processamento; (-): sem amostra ou não realizado.

397

398 DISCUSSÃO

399 A expansão dos casos de leishmaniose humana atualmente atinge todo os
400 Estados brasileiros, inclusive a forma visceral, que é a manifestação clínica mais grave
401 da doença devido a sua significativa letalidade, sobretudo quando não diagnosticada e
402 tratada em tempo oportuno. Constituindo-se como um problema de saúde pública em
403 diversas regiões do Brasil, inclusive em Mato Grosso do Sul (Gontijo e Melo, 2004;
404 Araujo *et al.*, 2016; Castro *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2016; Dos Santos Marques *et al.*,
405 2017).

406 A utilização da PCR para o diagnóstico das leishmanioses tem sido descrita
407 como seguro e eficaz principalmente por proporcionar a identificação da espécie de
408 *Leishmania* responsáveis pela infecção, sendo esse um fator relevante para a prescrição
409 do tratamento adequado (Lima Junior *et al.*, 2009; Neitzke-Abreu *et al.*, 2013; Neitzke-
410 Abreu *et al.*, 2014; Conter *et al.*, 2015; Gualda *et al.*, 2015).

411 A predominância do sexo masculino identificada nesse estudo assemelha-se com
412 os achados em Minas Gerais, onde os casos ocorrem 56,2% no sexo masculino (Oliveira
413 e Pimenta, 2014). A suscetibilidade masculina ainda não se encontra totalmente
414 elucidada, no entanto atribui-se a questões sociais, comportamentais e a fatores
415 hormonais (Borges *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2010; Martins *et al.*, 2014).

416 A infecção em crianças, principalmente em áreas endêmicas, ocorre devido à
417 presença peridomiciliar dos vetores aliada a imaturidade imune e a desnutrição (Botelho
418 e Natal, 2009; Hasker *et al.*, 2010). Nesse sentido, os resultados aqui encontrados, diferem
419 dos descritos também em Mato Grosso do Sul, onde 42% dos casos ocorreram em
420 crianças menores de cinco anos enquanto que nesse estudo a maior ocorrência foi em
421 adultos jovens (Oliveira *et al.*, 2006). Um estudo realizado em Campo Grande assinalou
422 a PCR de sangue periférico como uma ferramenta viável para o diagnóstico de LV em

423 crianças, principalmente por ser um método menos invasivo e de alta sensibilidade (Fraga
424 *et al.*, 2010).

425 Os sinais clínicos da LV encontrados nos pacientes desse estudo corroboram
426 com a literatura, uma vez que cita febre, perda ponderal e hepatoesplenomegalia como
427 principais evidências da doença (Oliveira *et al.*, 2006; Brazuna *et al.*, 2012; Druzian *et*
428 *al.*, 2015).

429 A coinfeção com HIV encontrada nesse estudo foi superior a descrita em
430 Pernambuco 14,5% (Araujo *et al.*, 2016) e inferior ao encontrado em Mato Grosso do Sul
431 36,6% dos casos (Druzian *et al.*, 2015). Os pacientes coinfectados com HIV possuem o
432 risco superior a 100 vezes de desenvolverem LV, inclusive com chances de recidivas da
433 doença entre 10 a 60% (Ezra *et al.*, 2010; Druzian *et al.*, 2015), sendo imprescindível uma
434 atenção especial, no que concerne ao diagnóstico e tratamento adequado, principalmente
435 devido ao fato de maiores falhas terapêuticas e recidivas, associada a atividade
436 imunossupressora da referida comorbidade (Alvar *et al.*, 2008).

437 A PCR mostrou-se fundamental para efetuar o diagnóstico em dois casos de
438 pacientes coinfectados com HIV que tiveram resultados negativos pelo teste rápido e pela
439 RIFI. Na Espanha, a sensibilidade encontrada para os métodos de diagnóstico tradicionais
440 (Teste rápido rK39 e RIFI) em pacientes coinfectados com HIV foram respectivamente
441 67,3 e 79,4%, nesse sentido o uso da PCR deve ser considerada tendo em vista a sua maior
442 sensibilidade bem como a viabilidade da caracterização molecular inerente ao método
443 (Bangert *et al.*, 2018).

444 A RIFI possui baixa especificidade, devido a reações cruzadas com doença de
445 chagas, malária, esquistossomose e tuberculose não sendo viável o seu uso em estudos
446 epidemiológicos (Gontijo e Melo, 2004; Neitzke-Abreu *et al.*, 2013; Varani *et al.*, 2017;
447 Bangert *et al.*, 2018).

448 Os achados descritos nesse estudo evidenciam que a PCR de sangue periférico é
449 um método alternativo eficiente no diagnóstico das leishmanioses devido a sua elevada
450 sensibilidade e principalmente por exigir métodos menos invasivos para obtenção das
451 amostras biológicas, minimizando a exposição do paciente a procedimentos invasivos
452 extremamente dolorosos, os quais oferecem maiores riscos de efeitos adversos (Fraga *et*
453 *al.*, 2010; Neitzke-Abreu *et al.*, 2013).

454 Embora a PD seja considerada como padrão ouro para o diagnóstico das
455 leishmanioses, possui como limitações a baixa positividade devido à escassez de parasitas
456 em aspirados de medula óssea e lesão, assim como depende de profissional devidamente
457 qualificado para executar a técnica (Gontijo e De Carvalho, 2003; Al-Jawabreh *et al.*,
458 2006; Neitzke-Abreu *et al.*, 2013). Em nosso estudo em apenas 6,0% das amostras houve
459 o encontro do parasito.

460 O teste rápido rK39, embora nesse estudo tenha demonstrado sensibilidade
461 significativa, a sua principal limitação emergiu devido a sua baixa positividade quando
462 realizados em pacientes coinfectados com HIV corroborando com outros autores (Lima
463 *et al.*, 2017; Varani *et al.*, 2017; Bangert *et al.*, 2018).

464 O diagnóstico diferencial através da PCR constitui-se uma ferramenta
465 importante para implementação de estratégias mais adequadas no tocante a terapêutica,
466 assim como é uma poderosa ferramenta para os estudos epidemiológicos, uma vez que
467 permite a detecção e identificação da espécie de *Leishmania* responsável pela ocorrência
468 de determinadas formas clínicas, em uma determinada região (Neitzke-Abreu *et al.*, 2013;
469 Lima *et al.*, 2017; Bangert *et al.*, 2018).

470 Os achados aqui descritos evidenciam que a PCR de sangue periférico é um
471 método alternativo eficiente no diagnóstico das leishmanioses, principalmente em
472 pacientes coinfectados com HIV, devido a sua elevada sensibilidade e principalmente por

473 exigir métodos menos invasivos para obtenção das amostras biológicas, minimizando a
474 submissão do paciente a procedimentos invasivos extremamente dolorosos, os quais o
475 expõem a maiores riscos de eventos adversos.

476 Portanto o estudo pretende contribuir para o aprimoramento do diagnóstico das
477 leishmanioses no sul do Mato Grosso do Sul, visto que nos últimos anos observa-se uma
478 maior frequência de casos humanos da doença mostrando uma nova fotografia do cenário
479 epidemiológico, sobretudo para os casos de LV, forma mais grave da doença, devido a
480 sua significativa mortalidade quando não diagnosticada e tratada corretamente. Assim, a
481 PCR deve ser considerada como um método alternativo para o diagnóstico das
482 leishmanioses devido a sua maior sensibilidade.

483

484 **AGRADECIMENTOS**

485 Aos profissionais médicos Daniel Abrahão e Daniel Esteinbaum, enfermeiro Fuad,
486 técnica em enfermagem Rosangela e técnica de laboratório Alina do HU/UFMG pelo
487 apoio nas coletas das amostras biológicas, informações dos dados dos pacientes e
488 separação das amostras. Ao Laboratório Central de Mato Grosso do Sul (LACEN) pela
489 realização dos exames de RIFI e PD.

490

491 **REFERÊNCIAS**

492

493 1. AL-JAWABREH, A. et al. Clinical diagnosis of cutaneous leishmaniasis:
494 a comparison study between standardized graded direct microscopy and ITS1-PCR of
495 Giemsa-stained smears. **Acta Trop**, v. 99, n. 1, p. 55-61, Aug 2006. ISSN 0001-706X.
496 Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16920056> >.

497 2. ALVAR, J. et al. The relationship between leishmaniasis and AIDS: the
498 second 10 years. **Clin Microbiol Rev**, v. 21, n. 2, p. 334-59, table of contents, Apr

- 499 2008. ISSN 1098-6618. Disponível em: <
500 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18400800> >.
- 501 3. ARAUJO, A. E. C. et al. VISCERAL LEISHMANIASIS IN
502 PETROLINA, STATE OF PERNAMBUCO, BRAZIL, 2007-2013. **Rev Inst Med**
503 **Trop Sao Paulo**, v. 58, p. 29, 2016. ISSN 1678-9946. Disponível em: <
504 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27074323> >.
- 505 4. ARAÚJO, FR; RAMOS CAN; LUÍZ, HL; PÉRES, IAHFS; OLIVEIRA,
506 RHM; SOUZA, IIF; RUSSI, LS. Avaliação de um protocolo de extração de DNA
507 genômico a partir de sangue total. Embrapa. Campo Grande/MS, 2009.
- 508 5. BANGERT, M. et al. Validation of rK39 immunochromatographic test
509 and direct agglutination test for the diagnosis of Mediterranean visceral leishmaniasis
510 in Spain. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 12, n. 3, p. e0006277, Mar 2018. ISSN 1935-2735.
511 Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29494596> >.
- 512 6. BORGES, B. K. et al. [Assessment of knowledge and preventive attitudes
513 concerning visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil]. **Cad**
514 **Saude Publica**, v. 24, n. 4, p. 777-84, Apr 2008. ISSN 0102-311X. Disponível em: <
515 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18392354> >.
- 516 7. BOTELHO, A. C.; NATAL, D. [First epidemiological description of
517 visceral leishmaniasis in Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul]. **Rev Soc Bras**
518 **Med Trop**, v. 42, n. 5, p. 503-8, 2009 Sep-Oct 2009. ISSN 1678-9849. Disponível em:
519 < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19967231> >.
- 520 8. BRASIL, Ministério da Saúde, Secretária de Vigilância em Saúde, Manual
521 de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. 2ª edição. Série A, normas e
522 manuais técnicos, 2007.
- 523 9. BRAZUNA, J. C. et al. Profile and geographic distribution of reported
524 cases of visceral leishmaniasis in Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul, Brazil,
525 from 2002 to 2009. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 45, n. 5, p. 601-6, Oct 2012. ISSN
526 1678-9849. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23152344> >.
- 527 10. CASTRO, L. S. et al. Leishmania infantum AS A CAUSATIVE AGENT
528 OF CUTANEOUS LEISHMANIASIS IN THE STATE OF MATO GROSSO DO
529 SUL, BRAZIL. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 58, p. 23, 2016. ISSN 1678-9946.
530 Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27007566> >.

531 11. CONTER, C. C. et al. Detection of Leishmania (Viannia) DNA in
532 leucocytes from the blood of patients with cutaneous leishmaniasis. **Rev Soc Bras**
533 **Med Trop**, v. 48, n. 5, p. 626-8, 2015 Sep-Oct 2015. ISSN 1678-9849. Disponível em:
534 < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26516978> >.

535 12. DORVAL, M. E. et al. [Occurrence of American tegumentary
536 leishmaniasis in the Mato Grosso do Sul State associated to the infection for
537 Leishmania (Leishmania) amazonensis]. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 39, n. 1, p. 43-
538 6, 2006 Jan-Feb 2006. ISSN 0037-8682. Disponível em: <
539 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16501765> >.

540 13. DOS SANTOS MARQUES, L. H. et al. Leishmania infantum: illness,
541 transmission profile and risk factors for asymptomatic infection in an endemic
542 metropolis in Brazil. **Parasitology**, v. 144, n. 4, p. 546-556, Apr 2017. ISSN 1469-
543 8161. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27894365> >.

544 14. DRUZIAN, A. F. et al. Risk Factors for Death from Visceral
545 Leishmaniasis in an Urban Area of Brazil. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 9, n. 8, p.
546 e0003982, 2015. ISSN 1935-2735. Disponível em: <
547 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26274916> >.

548 15. EZRA, N.; OCHOA, M. T.; CRAFT, N. Human immunodeficiency virus
549 and leishmaniasis. **J Glob Infect Dis**, v. 2, n. 3, p. 248-57, Sep 2010. ISSN 0974-8245.
550 Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20927287> >.

551 16. FRAGA, T. L. et al. Polymerase chain reaction of peripheral blood as a
552 tool for the diagnosis of visceral leishmaniasis in children. **Mem Inst Oswaldo Cruz**,
553 v. 105, n. 3, p. 310-3, May 2010. ISSN 1678-8060. Disponível em: <
554 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20512245> >.

555 17. GONTIJO, B.; DE CARVALHO, M. E. L. [American cutaneous
556 leishmaniasis]. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 36, n. 1, p. 71-80, 2003 Jan-Feb 2003.
557 ISSN 0037-8682. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12715066>
558 >.

559 18. GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. **Visceral Leishmaniasis in Brazil:**
560 **current status, challenges and prospects.** Biblioteca Virtual em Saúde Brasil. 7(3):
561 338-349 p. 2004.

562 19. GUALDA, K. P. et al. NEW PRIMERS FOR DETECTION OF
563 Leishmania infantum USING POLYMERASE CHAIN REACTION. **Rev Inst Med**

- 564 **Trop Sao Paulo**, v. 57, n. 5, p. 377-83, 2015 Sep-Oct 2015. ISSN 1678-9946.
565 Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26603223> >.
- 566 20. HASKER, E. et al. Management of visceral leishmaniasis in rural primary
567 health care services in Bihar, India. **Trop Med Int Health**, v. 15 Suppl 2, p. 55-62,
568 Jul 2010. ISSN 1365-3156. Disponível em: <
569 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20591081> >.
- 570 21. LIMA, E. C. B. et al. Characterization of Leishmania (L.) infantum
571 chagasi in visceral leishmaniasis associated with hiv co-infection in Northeastern
572 Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 59, p. e48, Aug 2017. ISSN 1678-9946.
573 Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28902293> >.
- 574 22. LIMA JUNIOR, M. S. et al. [Identification of Leishmania species isolated
575 in human cases in Mato Grosso do Sul, by means of the polymerase chain reaction].
576 **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 42, n. 3, p. 303-8, 2009 May-Jun 2009. ISSN 1678-9849.
577 Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19684979> >.
- 578 23. MAIA-ELKHOURY, A. N. et al. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends
579 and challenges. **Cad Saude Publica**, v. 24, n. 12, p. 2941-7, Dec 2008. ISSN 1678-
580 4464. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19082286> >.
- 581 24. MARTINS, A. L. et al. American tegumentary leishmaniasis: correlations
582 among immunological, histopathological and clinical parameters. **An Bras Dermatol**,
583 v. 89, n. 1, p. 52-8, 2014 Jan-Feb 2014. ISSN 1806-4841. Disponível em: <
584 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24626648> >.
- 585 25. NEITZKE-ABREU, H. C. et al. Detection of Leishmania (Viannia) IN
586 Nyssomyia neivai and Nyssomyia whitmani by multiplex polymerase chain reaction,
587 in Southern Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 56, n. 5, p. 391-5, 2014 Sep-
588 Oct 2014. ISSN 1678-9946. Disponível em: <
589 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25229218> >.
- 590 26. _____. Detection of DNA from Leishmania (Viannia): accuracy of
591 polymerase chain reaction for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis. **PLoS One**, v.
592 8, n. 7, p. e62473, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: <
593 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23976920> >.
- 594 27. OLIVEIRA, A. L. et al. [Emergent outbreak of visceral leishmaniasis in
595 Mato Grosso do Sul State]. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 39, n. 5, p. 446-50, 2006 Sep-

596 Oct 2006. ISSN 0037-8682. Disponível em: <
597 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17160321> >.

598 28. OLIVEIRA, A. M. et al. Dispersal of *Lutzomyia longipalpis* and
599 expansion of canine and human visceral leishmaniasis in São Paulo State, Brazil. **Acta**
600 **Trop**, v. 164, p. 233-242, Dec 2016. ISSN 1873-6254. Disponível em: <
601 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27640322> >.

602 29. OLIVEIRA, E. N.; PIMENTA, A. M. Epidemiological Profile of People
603 With Visceral Leishmaniasis in the Municipality of Paracatu, Brazil from 2007 to
604 2010. **Rev Mineira de Enfermagem**, v. 18, n. 2, p. 371- 5, 2014 abril/junho 2014.
605 ISSN 2316-9389. Disponível em: < [http://www.dx.doi.org/10.5935/1415-](http://www.dx.doi.org/10.5935/1415-2762.20140028)
606 [2762.20140028](http://www.dx.doi.org/10.5935/1415-2762.20140028) >. Acesso em: 28/12/2017.

607 30. OLIVEIRA, J. M. et al. [Mortality due to visceral leishmaniasis: clinical
608 and laboratory characteristics]. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 43, n. 2, p. 188-93, 2010
609 Mar-Apr 2010. ISSN 1678-9849. Disponível em: <
610 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20464151> >.

611 31. ORGANIZATION, W. H. **Report of a meeting of the WHO Expert**
612 **Committee on the Control of Leishmaniases**. Geneva, 22-26 March, p.202. 2010.

613 32. VARANI, S. et al. Serological and molecular tools to diagnose visceral
614 leishmaniasis: 2-years' experience of a single center in Northern Italy. **PLoS One**, v.
615 12, n. 8, p. e0183699, 2017. ISSN 1932-6203. Disponível em: <
616 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28832646> >.

617 33. YARZON, R. M. et al. [American leishmaniasis in Mato Grosso do Sul,
618 Brazil]. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 36 Suppl 2, p. 41-2, 2003. ISSN 0037-8682.
619 Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15719775> >.

620

621

6 CONCLUSÕES

A expansão dos casos de LV para regiões previamente consideradas de baixa ou moderada transmissão, dispara um alerta para os órgãos de vigilância e comunidade local, no sentido de intervir de forma imediata e progressiva para a quebra do processo saúde-doença, com medidas educativas e comportamentais imediatas, tendo em vista a alta letalidade como desfecho dessa doença, quando não diagnosticada e instaurada terapêutica oportunamente.

Esse estudo também permitiu traçar o perfil epidemiológico das leishmanioses com base nas informações do SINAN. Estima-se que os números dos casos das leishmanioses na região sul do Mato Grosso do Sul sejam bem maiores do que descritos aqui, devido as subnotificações e óbitos relacionados a doença, principalmente a forma visceral.

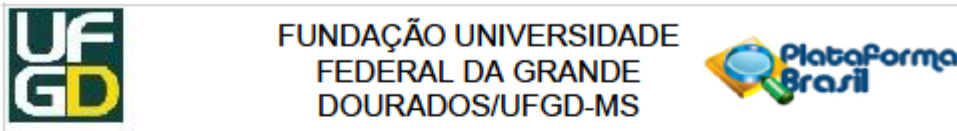
A variedade de sintomatologias tais como febre prolongada, tosse, hepatomegalia, anemia, trombocitopenia, perda ponderal e esplenomegalia apresentadas pelas leishmanioses, sobretudo em regiões classificadas como não endêmicas, torna-se preocupante, pois podem ser confundidas com doenças como esquistossomose, Doença de Chagas, malária, febre tifoide e tuberculose nos casos de LV, enquanto que em casos de LT, similaridade pode ser com úlceras traumáticas, úlceras de membros inferiores por anemia falciforme, pioderma, paracoccidioomicose, neoplasia cutânea, sífilis, tuberculose cutânea, lepra virchowiana, entre outros.

Os achados aqui descritos demonstram também que a PCR de sangue periférico é um método alternativo eficiente no diagnóstico das leishmanioses, principalmente em pacientes coinfetados com HIV, devido a sua elevada sensibilidade e principalmente por exigir métodos menos invasivos para obtenção das amostras biológicas, minimizando a submissão do paciente a procedimentos invasivos extremamente dolorosos, os quais o expõem a maiores riscos de eventos adversos.

É evidente a necessidade de medidas de saúde pública específicas para essa região. A falta de medidas de saúde pública até então, pode fazer com que essa área moderada se torne uma área de transmissão intensa, agravando a prevalência das leishmanioses na região. O fato de outras regiões apresentarem maior endemicidade não permite o negligenciamento das áreas de transmissão moderada.

7 ANEXOS

7.1 PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Diagnóstico das leishmanioses e identificação das espécies de Leishmania

Pesquisador: Herintha Coeto Neitzke Abreu

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 55550918.2.0000.5160

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências da Saúde

Patrocinador Principal: FUND. DE APOIO E DE DESENV. DO ENSINO, CIENCIA E TECN. DO ESTADO DO MS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.662.728

Apresentação do Projeto:

1. A pesquisa focará em técnicas de diagnóstico de leishmaniose, cuja letalidade pode alcançar 10% quando não se institui o tratamento adequado;
2. É um projeto bem delimitado e delineado e que apresenta organização adequada e em linguagem acessível, ainda que técnica;
3. Trata-se de estudo de corte transversal envolvendo pacientes encaminhados ao HU/UFMS com suspeita de leishmaniose tegumentar ou visceral de idade variada e de ambos os sexos
4. Haverá análise de amostras humanas (biopsia de lesão, sangue periférico e medular) que serão obtidas de pacientes com suspeita de leishmaniose tegumentar ou visceral

Objetivo da Pesquisa:

Realizar o diagnóstico de leishmanioses, por diferentes metodologias, caracterizando as espécies de Leishmania spp. nos pacientes encaminhados.

Endereço: Rua Melvin Jones, 940
 Bairro: Jardim América CEP: 79.803-010
 UF: MS Município: DOURADOS
 Telefone: (67)3410-2853 E-mail: cep@ufgd.edu.br



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE
FEDERAL DA GRANDE
DOURADOS/UFMS



Continuação do Parecer: 1.662.728

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS

A coleta de sangue, da lesão e da medula será realizada somente se solicitada pelo médico, pela equipe do HU na rotina para o diagnóstico da doença. Durante a coleta pode haver sangramento, dor e desconforto;

2. BENEFÍCIOS

Ao participar da pesquisa não haverá nenhum benefício direto aos participantes. Contudo, as informações geradas sobre as leishmanioses no Mato Grosso do Sul podem gerar benefícios à população local. O pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos, o que poderá aprimorar as técnicas de diagnóstico de leishmaniose.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta-se de forma clara, objetiva e ética, podendo aprimorar o diagnóstico de leishmaniose com redução de tempo, custo e aumento de precisão diagnóstica.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O TCLE foi adequado seguindo as recomendações do CEP.

Recomendações:

Aprovar

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

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_P ROJETO_656552.pdf	17/06/2016 10:40:45		Aceito
Outros	Alteracoes_realizadas.pdf	17/06/2016 10:39:16	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	TCLE.pdf	17/06/2016 10:37:16	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito

Endereço: Rua Melvin Jones, 940
 Bairro: Jardim América CEP: 79.803-010
 UF: MS Município: DOURADOS
 Telefone: (67)3410-2853 E-mail: cep@ufgd.edu.br



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE
FEDERAL DA GRANDE
DOURADOS/UFMS



Continuação do Parecer: 1.662.728

Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	17/08/2016 10:37:16	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa.pdf	17/08/2016 10:37:04	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Declaração do Patrocinador	Declaracao_de_compromisso_Herintha.PDF	27/04/2016 16:13:14	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	27/04/2016 16:12:37	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Resolucao_projeto_pesquisa_parecer_5_2.PDF	26/04/2016 13:02:00	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Outros	Termo_de_compromisso_HU.PDF	26/04/2016 13:00:32	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Outros	Instrumento_coleta_de_dados.pdf	26/04/2016 12:59:43	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Outros	Infraestrutura_HU.PDF	26/04/2016 12:59:05	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Orçamento	Orcamento_detalhado.pdf	26/04/2016 12:57:43	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Manuseio_material_biologico.pdf	26/04/2016 12:56:14	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Infraestrutura_LPCS_UFGD.PDF	26/04/2016 12:55:20	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto.PDF	26/04/2016 12:54:19	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

DOURADOS, 03 de Agosto de 2016

Assinado por:
Leonardo Ribeiro Martins
(Coordenador)

Endereço: Rua Melvin Jones, 940
Bairro: Jardim América CEP: 79.803-010
UF: MS Município: DOURADOS
Telefone: (67)3410-2853 E-mail: cep@ufgd.edu.br



UFGD - UNIVERSIDADE
FEDERAL DA GRANDE
DOURADOS / UFGD-MS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Diagnóstico das leishmanioses e identificação das espécies de Leishmania

Pesquisador: Herintha Coeto Neitzke Abreu

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 55550916.2.0000.5160

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências da Saúde

Patrocinador Principal: FUND. DE APOIO E DE DESENV. DO ENSINO, CIENCIA E TECN. DO ESTADO DO MS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.071.873

Apresentação do Projeto:

O projeto está escrito em linguagem clara e objetiva, justificando adequadamente a importância do mesmo, com descrição de materiais e métodos suficientemente detalhada para tomarem reprodutíveis os resultados.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo deste projeto é realizar o diagnóstico de leishmanioses, por diferentes metodologias, caracterizando as espécies de Leishmania spp. em pacientes com suspeita de LT e LV.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os benefícios suplantam de forma significativa os riscos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Foram realizadas alterações relativamente pequenas, que melhoram o escopo do projeto e não alteram significativamente os aspectos éticos já considerados anteriormente pelo colegiado, as referidas alterações estão descritas abaixo:

-No Projeto:

-Item 05 – METODOLOGIA, subitem "Identificação de pacientes suspeitos de infecção por Leishmania spp."

-No TCLE (ajustes sobre o escopo do projeto)

Endereço: Rua Melvin Jones, 940

Bairro: Jardim América

CEP: 79.803-010

UF: MS

Município: DOURADOS

Telefone: (67)3410-2853

E-mail: cep@ufgd.edu.br



UFGD - UNIVERSIDADE
FEDERAL DA GRANDE
DOURADOS / UFGD-MS



Continuação do Parecer: 2.071.873

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentados adequadamente.

Recomendações:

Sem recomendações

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Conclui-se pela APROVAÇÃO do referido protocolo de pesquisa.

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_898437_E1.pdf	13/04/2017 15:48:05		Aceito
Outros	Emenda_Projeto.pdf	13/04/2017 15:47:34	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Outros	Alteracoes_realizadas.pdf	17/08/2016 10:39:16	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	17/08/2016 10:37:16	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa.pdf	17/08/2016 10:37:04	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Declaração do Patrocinador	Declaracao_de_compromisso_Herintha.PDF	27/04/2016 16:13:14	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	27/04/2016 16:12:37	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Resolucao_projeto_pesquisa_parecer_52.PDF	26/04/2016 13:02:00	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Outros	Termo_de_compromisso_HU.PDF	26/04/2016 13:00:32	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Outros	Instrumento_coleta_de_dados.pdf	26/04/2016 12:59:43	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Outros	Infraestrutura_HU.PDF	26/04/2016 12:59:05	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Orçamento	Orcamento_detalhado.pdf	26/04/2016 12:57:43	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Declaração de Manuseio Material	Manuseio_material_biologico.pdf	26/04/2016 12:56:14	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito

Endereço: Rua Melvin Jones, 940

Bairro: Jardim América

CEP: 79.803-010

UF: MS

Município: DOURADOS

Telefone: (67)3410-2853

E-mail: cep@ufgd.edu.br



UFGD - UNIVERSIDADE
FEDERAL DA GRANDE
DOURADOS / UFGD-MS



Continuação do Parecer: 2.071.873

Biológico / Biorepositório / Biobanco	Manuseio_material_biologico.pdf	26/04/2016 12:56:14	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Infraestrutura_LPCS_UFGD.PDF	26/04/2016 12:55:20	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito
Folha de Rosto	Folho_de_Rosto.PDF	26/04/2016 12:54:19	Herintha Coeto Neitzke Abreu	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

DOURADOS, 18 de Maio de 2017

Assinado por:
Leonardo Ribeiro Martins
(Coordenador)

Endereço: Rua Melvin Jones, 940
 Bairro: Jardim América CEP: 79.803-010
 UF: MS Município: DOURADOS
 Telefone: (67)3410-2853 E-mail: cep@ufgd.edu.br