



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL  
PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS

NÁDIA VICÊNCIA DO NASCIMENTO MARTINS

APRESENTAÇÃO CLÍNICA, ETIOLOGIA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA  
DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR NO MUNICÍPIO DE SANTARÉM, PARÁ,  
BRASIL

SANTARÉM – PA  
2012

NÁDIA VICÊNCIA DO NASCIMENTO MARTINS

APRESENTAÇÃO CLÍNICA, ETIOLOGIA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA  
DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR NO MUNICÍPIO DE SANTARÉM,  
PARÁ, BRASIL

Dissertação de Mestrado apresentada à banca examinadora do Programa de Pós –  
Graduação em Medicina Tropical do Núcleo de Medicina Tropical, da Universidade Federal  
do Pará, para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientadora: Marília Brasil Xavier  
Co-orientadora: Lourdes Maria Garcez

SANTARÉM – PARÁ  
2012

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Biblioteca Prof. José Maria Araújo da UEPA, Santarém – PA**

---

MARTINS, Nádia Vicência do Nascimento

Apresentação clínica, etiologia e distribuição geográfica da leishmaniose tegumentar no município de Santarém, estado do Pará, Brasil. Nádia Vicência do Nascimento Martins; orientadora Dra Marília Brasil Xavier; Co-orientadora: Lourdes Maria Garcez, Santarém-Pa, 2012.

79 fls.

Dissertação (Mestrado em Doenças Tropicais) – Núcleo de Medicina Tropical – Universidade Federal do Pará.

---

1. Leishmaniose Tegumentar    2. Etiologia    3. *Leishmania*  
I. Martins, Nádia Vicência do Nascimento    II. Título

CDD 616.9364

---

NÁDIA VICÊNCIA DO NASCIMENTO MARTINS

APRESENTAÇÃO CLÍNICA, ETIOLOGIA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA  
DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR NO MUNICÍPIO DE SAMTARÉM,  
PARÁ, BRASIL

Dissertação de Mestrado apresentada para obtenção do título de Mestre em  
Doenças Tropicais.

Aprovada em: \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

Conceito:

Banca Examinadora

---

Prof. Dra. Marília Brasil Xavier  
(Orientadora) NMT / UFPA / UEPA

---

Prof. Dra. Lourdes Maria Gracez  
(Co-orientadora) IEC / UEPA

---

Prof. Dra. Tereza Cristina Oliveira Corvelo  
NMT / UFPA

---

Prof. Dra. Maria da Conceição Nascimento Pinheiro  
NMT / UFPA

---

Prof. Dr. Givago da Silva Souza  
NMT / UFPA

Aos meus pais Everaldo de Souza Martins (in memorian) e Maria Cícera Gomes do Nascimento, aos meus queridos e amados esposo Silas Corrêa e filhos Debora, Leonardo, Samuel e André como forma de reconhecimento da importância de cada um de vocês em  
minha vida.

## AGRADECIMENTOS

A Deus que me concedeu a vida, a sabedoria, a serenidade e o discernimento necessário para o desenvolvimento desta pesquisa.

A Dra. Marília Brasil Xavier e Lourdes Maria Garcez pela orientação e direcionamento na consolidação desta pesquisa.

Ao Núcleo de Medicina Tropical por disponibilizar a grandiosidade do Mestrado em Doenças Tropicais aos docentes da Universidade do Estado do Pará.

A Universidade do Estado do Pará pelo empenho em qualificar seu quadro docente, sem medir esforços para a consolidação de uma realidade.

Ao Instituto Evandro Chagas por permitir o rico aprendizado no período da pesquisa, obrigada Daniela Soares e Raquel Gonçalves sempre prestativas e atenciosas.

Aos docentes que contribuíram de forma brilhante com seus conhecimentos a cada módulo do mestrado.

As Faculdades Integradas do Tapajós pelo apoio e estímulo empenhado na capacitação de seus docentes.

A FIDESA pelo apoio financeiro imprescindível através da bolsa de auxílio ao mestrado.

A Secretaria Municipal de Saúde de Santarém, Divisão de Vigilância em Saúde e setor de Leishmaniose Tegumentar pelo apoio na logística durante toda a pesquisa.

Aos alunos de graduação pela compreensão em momentos de dificuldade durante a construção da pesquisa.

Aos colegas de mestrado e doutorado pela convivência, partilha, energia positiva e momentos de descontração.

Ao professor Rodrigo Ferreira pelo auxílio na análise estatística.

A minha família, meu porto seguro pela compreensão nos momentos de ausência durante a construção e consolidação deste sonho.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram na construção desta pesquisa.

Muito obrigada.

## RESUMO

MARTINS, N.V.N. **Apresentação clínica, etiologia e distribuição geográfica da Leishmaniose Tegumentar Americana no município de Santarém, Pará, Brasil.** Dissertação (Mestrado em Doenças Tropicais) – Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará. Santarém – Pará. 2012.

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença infecciosa que atinge pele e mucosas e que vem apresentando um aumento significativo em sua incidência nas últimas décadas, tem uma prevalência global de aproximadamente 1,5 milhões de casos anuais em todo o mundo. O presente estudo tem uma abordagem analítica, descritiva, transversal, com objetivo de estabelecer perfil clínico epidemiológico e correlações etiológicas da leishmaniose tegumentar em uma série de casos na região oeste do Pará. Na pesquisa foram incluídos 102 indivíduos apresentando manifestações clínicas de LTA, selecionados no período de outubro de 2009 a novembro de 2011, atendidos no Centro de Controle de Zoonoses no município de Santarém, estado do Pará. As variáveis foram analisadas a partir da aplicação do teste qui-quadrado de aderência, e apresentadas através de figuras e tabelas. Os resultados demonstram que prevaleceram as infecções em indivíduos do sexo masculino 85,29%, na faixa etária de 30 a 40 anos 32,35%, trabalhadores e moradores da área rural que exercem ocupações na sua maioria de lavradores 21,57%, apresentaram lesões únicas 63,72%, do tipo ulceradas 77,45%, localizadas nos membros inferiores em 58,82% dos casos, com tempo de evolução da doença em média de 02 meses 74,50%. Conclusão: Seis espécies de *Leishmania* foram identificadas, sendo o subgênero *Viannia* mais prevalente e a espécie predominante a *L (V). braziliensis*.

Palavras-chaves: Leishmaniose Tegumentar. Etiologia. *Leishmania*.

## ABSTRACT

MARTINS, N.V.N. **Clinical presentation, etiology and geographic distribution of American tegumentary leishmaniasis in the municipality of Santarém, Pará, Brazil.** Master's thesis (MSc in Tropical Diseases) - Center for Tropical Medicine, Universidade Federal do Pará. Santarém – Pará. 2012.

American tegumentary leishmaniasis (ATL) is an infectious disease affecting skin and mucosa, which has shown a significant increase in incidence in recent decades, has an overall prevalence of approximately 1.5 million cases annually worldwide. The present study is an analytic approach, descriptive, cross-sectional profile with the objective of establishing clinical and epidemiological correlations etiologies of cutaneous leishmaniasis in a series of cases in western Pará In the survey included 102 individuals presenting clinical manifestations of ATL, selected in from October 2009 to November 2011, attended the Center for Zoonosis Control in the city of Santarém, state of Pará variables were analyzed from the application of the chi-square tack and presented through figures and tables. The results demonstrate that prevailed infections in males 85.29%, aged 30 to 40 years 32.35%, workers and residents of rural areas engaged in occupations mostly peasants 21.57%, showed single lesions 63.72%, 77.45% ulcerated type, located in the lower limbs in 58.82% of cases, with time to disease progression of 02 months on average 74.50%. Conclusion: Six *Leishmania* species were identified, and the subgenus *Viannia* more prevalent and predominant species E (V). *braziliensis*.

**Keywords:** American tegumentary leishmaniasis. Etiology. *Leishmania*

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01</b>	Formas clínica da Leishmaniose Tegumentar Americana.....	31
<b>Figura 02</b>	Exame diagnóstico da Leishmaniose Tegumentar Americana Parasitológico direto e Formas amastigotas.....	34
<b>Figura 03</b>	Técnica de aplicação e leitura da Reação Intradérmica de Montenegro.....	35
<b>Figura 04</b>	Tipo de lesão em pacientes portadores de LTA atendidos no Centro de Controle de Zoonoses.....	50
<b>Figura 05</b>	Tipo de lesão e tipos de lesão em pacientes portadores de LTA atendidos no Centro de Controle de Zoonoses.....	51
<b>Figura 06</b>	Localização de lesões em pacientes portadores de LTA atendidos no Centro de Controle de Zoonoses.....	51
<b>Figura 07</b>	Tempo de lesões em pacientes portadores de LTA atendidos no Centro de Controle de Zoonoses.....	52
<b>Figura 08</b>	Distribuição geográfica de casos de LTA em 82 pacientes atendidos no CCZ de outubro de 2009 a novembro de 2011.	53
<b>Figura 09</b>	Distribuição de 82 casos com etiologia esclarecida entre subgênero <i>Leishmania</i> e <i>Viannia</i> .....	54

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 01	Agentes Etiológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana e seus respectivos vetores.....	22
Tabela 01	Perfil demográfico de 102 pacientes com Leishmaniose Tegumentar Americana atendidos no Centro de Controle de Zoonoses.....	49
Tabela 02	Correlação entre subgêneros de <i>Leishmania</i> e variáveis demográficas pesquisadas.....	55
Tabela 03	Correlação entre subgêneros de <i>Leishmania</i> e variáveis clínicas pesquisadas.....	55

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCZ	Centro de Controle de Zoonoses
DIVISA	Divisão de Vigilância em Saúde
ELISA	Enzyme linked Immunosorbent Assay / ensaio imunoenzimático
G6PD	Enzima Glicose-6-fosfato-desidrogenase
IDM	Intradérmico de Montenegro
IEC	Instituto Evandro Chagas
IFI	Imunofluorescência Indireta
IL	Interleucina
INF $\gamma$	Interferon gama
LC	Leishmaniose Cutânea
LCD	Leishmaniose Cutânea Disseminada
LCL	Leishmaniose Cutânea Localizada
LDA	Leishmaniose Difusa Anérgica
LMC	Leishmaniose Muco-cutânea
LT	Leishmaniose Tegumentar
LTA	Leishmaniose Tegumentar Americana
<i>Lu.</i>	<i>Lutzomya</i>
mRNA	Ácido Ribonucléico mensageiro
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
PD	Parasitológico Direto
Sbv	Antimônio Pentavalente
SEMSA	Secretaria Municipal de Saúde
SFM	Sistema Fagocitário Mononuclear
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SUS	Sistema Único de Saúde
TNF $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral alfa
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	18
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	20
3.1	OBJETIVO GERAL.....	20
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
<b>4</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	21
4.1	EPIDEMIOLOGIA.....	21
4.2	AGENTE ETIOLÓGICO E VETORES.....	21
4.3	INFECÇÃO HUMANA E APRESENTAÇÃO CLÍNICA.....	22
4.4	IMUNIDADE.....	24
4.5	FORMAS CLÍNICAS.....	26
4.6	DIAGNÓSTICO.....	33
4.7	TRATAMENTO.....	36
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODO</b> .....	39
5.1	PRINCÍPIOS ÉTICOS.....	39
5.2	DESENHO DO ESTUDO.....	39
5.3	CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO.....	40
5.4	COLETA DE DADOS.....	41
5.5	EXAME DIAGNÓSTICO.....	41
5.5.1	EXAME PARASITOLÓGICO DIRETO.....	41
5.5.2	REAÇÃO INTRADERMICA DE MONTENEGRO.....	41
5.5.3	BIÓPSIA E EXTRAÇÃO DE DNA DE FRAGMENTO DE PELE...	42
5.5.4	PCR RIBOSSOMICA.....	43
5.5.5	PCR G6PD.....	44
5.5.6	REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE.....	45
5.5.7	ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE.....	46
5.6	VARIÁVEIS INVESTIGADAS NO BANCO DE DADOS.....	46
5.7	GERAÇÃO DE MAPAS.....	46
5.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	47
<b>6</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	48

6.1	PERFIL CLÍNICO EPIDEMIOLÓGICO.....	48
6.2	DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DAS ESPÉCIES DE <i>Leishmanias</i> IDENTIFICADAS.....	52
6.3	RELAÇÃO ENTRE PERFIL CLÍNICO E DEMOGRÁFICO DE 82 CASOS E ETIOLOGIA ESCLARECIDA SEGUNDO SUBGÊNERO.....	53
6.3.1	CORRELAÇÃO ENTRE SUBGÊNEROS DE <i>LEISHMANIA</i> E VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS PESQUISADAS.....	55
6.3.2	CORRELAÇÃO ENTRE SUBGÊNEROS DE <i>LEISHMANIA</i> E VARIÁVEIS CLÍNICAS PESQUISADAS.....	55
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>57</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>65</b>
	<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>66</b>
	<b>ANEXOS</b> .....	<b>73</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença infecciosa que atinge pele e mucosas que vem apresentando aumento significativo na incidência nas últimas décadas. Fato este, que pode estar ligado às mudanças ecológicas e no habitat natural do vetor ocasionado pelo desflorestamento, urbanização, migração e conflitos fundiários, podendo ainda ser justificado pela adoção de medidas inadequadas de controle de vetores, reservatórios e notificação de resistência a drogas leishmanicidas. (REITHINGER, et al, 2007; CLEM, 2010; GOTO; LINDOSO, 2010).

A LTA tem uma prevalência global com aproximadamente cerca de 1 a 1,5 milhões de casos anuais em todo o mundo. Atualmente há registro em 88 países dos continentes americano, europeu, asiático e africano (WHO, 2010). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) a LTA está classificada entre as seis mais importantes doenças infecciosas, em razão do elevado registro de casos e capacidade de produzir deformidades (WHO, 2010). Nas Américas a LTA distribui-se de forma ampla presente desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina. No Brasil há registros em todas as unidades federativas.

Na região Amazônica a transmissão da LTA é caracterizada por um padrão silvestre, ocorrendo em focos naturais nos ecossistemas florestais onde existem transmissores e reservatórios das diferentes espécies de agentes da doença (LAINSON et al., 1994).

A LTA é causada por uma variedade de espécies de *Leishmania* dermatrópicas que se associam a diferentes formas clínicas da doença. A maior diversidade que se conhece é encontrada na região amazônica. Sete espécies infectam seres humanos, sendo seis do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania*: *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (V.) guyanensis*, *Leishmania (V.) lainsoni*, *Leishmania (V.) shawi*, *Leishmania (V.) naiffi*, *Leishmania (V.) linderbergi* e *Leishmania (Leishmania) amazonensis*.

Todas as espécies citadas tem registro no estado do Pará, região norte do Brasil (BRASIL, 2007).

Dentre as sete espécies mencionadas, duas estão associadas às formas graves e desfigurantes da LTA em humanos: *L. (V.) braziliensis* e *L. (L.) amazonensis*, causadoras da leishmaniose cutâneo-mucosa e cutâneo-difusa, respectivamente. A primeira distribuiu-se em todo o Brasil e a segunda em apenas alguns estados brasileiros. As outras cinco espécies associam-se comumente apenas à forma cutâneo-localizada (LC), apresentação mais comum da LTA, quando se observa uma ou mais lesões ulceradas, com bordas elevadas e fundo granuloso, no local da picada do inseto (SILVEIRA et al., 2002).

A LTA é considerada uma doença negligenciada, estando entre as cinco (05) doenças parasitárias mais citadas em todo o mundo, vale ressaltar que a LTA é uma doença de notificação compulsória em apenas 32 países, alertando para o alto índice de subnotificação o que epidemiologicamente pode significar que a real incidência é bem maior do que a expressada (HOLZMULLER, et al, 2006; CLEM, 2010).

No Estado do Pará a ocorrência da doença revelou índices crescentes nos últimos anos. Segundo a Secretaria Estadual de Saúde Pública do Estado (SESPA) no ano de 2011 foram registrados 3.861 casos novos de LTA, sendo que na região que compete a 9ª Regional de Saúde e compreende os municípios pertencentes à Mesorregião do Baixo Amazonas como: Santarém, Oriximiná, Alenquer, Monte Alegre, Itaituba, Juruti, etc, no ano de 2011 registrou 926 casos de LTA o que contribuiu com 23,98% dos casos de LTA registrados no Estado do Pará. Dentre esses municípios, Santarém se destaca por ser o município pólo em saúde para 19 municípios da região oeste. De acordo com o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) no ano 2011, foram registrados 160 casos novos de LTA no município de Santarém o que corresponde a 17,2% do número de casos registrados na 9ª Regional de Saúde e 3,86% do número de casos do Estado do Pará.

Diante disto, revestem-se de grande importância as medidas de controle, centradas no diagnóstico e tratamento precoce, assim como na redução da população de flebotomíneos que apresentam hábitos domiciliares, e em atividade de educação para a saúde. Em virtude das características epidemiológicas peculiares da LTA, as estratégias de controle devem ser flexíveis e adequadas a cada região brasileira.

## 2 JUSTIFICATIVA

As mudanças no ambiente têm impacto direto na ocorrência e distribuição da LTA, pois afetam a dinâmica das populações de flebotomíneos, alteram sua composição, hábitos e o comportamento das diferentes espécies do inseto (ARIAS & FREITAS, 1982). A capacidade vetorial é também determinada pela densidade da espécie, pela sua habilidade em colonizar ambientes transformados pelo homem e, sobretudo, pela sua capacidade de se alimentar do sangue humano (GOMES et al, 1989). Como agravante, a diversidade de espécies de flebotomíneos sugere também diversidade de espécies de *Leishmania* que podem infectar seres humanos e estimular seu sistema imunológico de diferentes maneiras, o que poderia levar a apresentações clínicas distintas.

No Pará, merece destaque a região Oeste do estado, bacia do rio Tapajós, onde se observam a ocupação desordenada dos territórios, expressivas transformações ambientais e rápido crescimento populacional, consequências do seu grande potencial minerário. O município de Santarém, terceira cidade mais populosa do Pará (IBGE, 2010), sedia o maior centro notificador de LTA no oeste do estado, o Centro de controle de zoonoses (CCZ), que atende a 19 municípios: Alenquer, Almeirim, Aveiro, Belterra, Curuá, Faro, Itaituba, Jacareacanga, Juruti, Monte Alegre, Novo Progresso, Óbidos, Oriximiná, Placas, Prainha, Rurópolis, Santarém, Terra Santa, Trairão. A área de cobertura do CCZ de Santarém é de 527.956 km<sup>2</sup>, equivalente a 42,09% do Estado do Pará.

Na Amazônia, a predominância de *L. (V.) braziliensis* infectando seres humanos é comum por ocasião da abertura de frentes de trabalho na floresta primária, tendo em vista a alta competência dos vetores, *Lutzomyia wellcomei* e *Lu. complexa*, que são muito abundantes, altamente antropofílicos e se alimentam de dia e de noite mesmo fora da floresta, hábito raro entre os flebotomíneos na Amazônia.

A complexidade e a diversidade de fatores envolvidos nos ciclos de transmissão da LTA dificultam o controle da doença na região amazônica. Dadas as frequentes mudanças no ambiente e na população e a possibilidade de circulação de diversas espécies de *Leishmania* infectando seres humanos no município de Santarém, é importante se conhecer a apresentação clínica e o perfil epidemiológico dos casos novos da doença, além de investigar possíveis associações do status clínico com o agente etiológico. Esse conhecimento poderia auxiliar o manejo clínico por contribuir na formulação de um bom prognóstico aos pacientes e na prevenção de formas graves. Não obstante, é também de grande valor a identificação das áreas de ocorrência dos casos novos de LTA, o que orientaria ações de vigilância epidemiológica no município.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

- Estabelecer perfil clínico epidemiológico e correlações etiológicas da leishmaniose tegumentar em uma série de casos na região oeste do Pará.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conhecer a frequência de casos autóctones e alóctones e a distribuição geográfica dos casos novos com etiologia esclarecida.
- Investigar etiologia segundo gênero, subgênero e espécie dos casos incluídos e estabelecer correlações com variáveis clínicas e epidemiológicas.

## 4 REFERENCIAL TEÓRICO

### 4.1. EPIDEMIOLOGIA

A LTA está presente no continente americano desde o Canadá até o norte da Argentina e atualmente se tem registro de pelo menos onze espécies dermatrópicas que causam a doença em humanos, porém várias outras foram encontradas em animais. Mais de 40 espécies de mamíferos silvestres já foram encontradas parasitadas com o protozoário, especialmente pequenos roedores, marsupiais, edentados, além primatas e carnívoros (WHO, 2010).

No Brasil, é encontrada em todas as unidades federativas e três padrões epidemiológicos de transmissão são relatados: o silvestre, ocupacional ou recreacional, rural ou periurbano. No primeiro, a transmissão ocorre em área de vegetação primária, sendo restritamente uma zoonose. O ser humano pode ser acometido quando entra em contato com o ambiente silvestre onde existe um ciclo de transmissão enzoótico de espécies do gênero *Leishmanias*. O padrão ocupacional ou recreacional caracteriza-se pela transmissão associada à exploração desordenada das florestas e derrubada de matas para a construção de usinas, extração de madeira, instalações de assentamentos populacionais e turismo. O padrão rural ou periurbano caracteriza-se pela transmissão do parasito associada a processos migratórios, ocupação de áreas de matas secundárias ou residuais (BRASIL, 2007).

### 4.2 AGENTES ETIOLÓGICOS E VETORES

Os agentes etiológicos são protozoários do gênero *Leishmania*, ordem *Kinetoplastida*, família *Trypanosomatidae*, subgênero *Leishmania* e *Viannia*, transmitidos aos seres humanos pela picada de insetos flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). São popularmente conhecidos na Amazônia como tatuquira (LAINSON & SHAW 1992; LAINSON et al, 1994). As principais espécies envolvidas na transmissão da LTA no Brasil são: *Lutzomyia flaviscutellata*, *Lu. whitmani*, *Lu. intermedia*, *Lu. wellcomei* e *Lu. migonei*. No estado do Pará os vetores conhecidos são

mencionados no QUADRO 01. A *Leishmania (Viannia) braziliensis* é o agente etiológico mais prevalente no Brasil encontrando-se distribuído em todas as regiões brasileiras. (LAINSON & SHAW 1994; LAINSON et al, 2005).

QUADRO 01: Agentes etiológicos da leishmaniose tegumentar americana e seus vetores respectivos.

LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA	
AGENTES	VETORES
1. <i>Leishmania (Leishmania) amazonensis.</i>	<i>Lutzomyia flaviscutellata, Lu. reducta, Lu. olmeca nociva.</i>
2. <i>Leishmania (Viannia) braziliensis.</i>	<i>Lutzomyia complexa, Lu. wellcomei, Lu. whitmani, Lu neivai, Lu. intermédia.</i>
3. <i>Leishmania (Viannia) guyanensis.</i>	<i>Lu. umbratilis, Lu. anduzei.</i>
4. <i>Leishmania (Viannia) lainsoni.</i>	<i>Lu. ubiquitalis.</i>
5. <i>Leishmania (Viannia) shawi.</i>	<i>Lu. whitmani.</i>
6. <i>Leishmania (Viannia) naiffi.</i>	<i>Lu. ayrozai, Lu. paraensis, Lu. squamiventris.</i>
7. <i>Leishmania (Viannia) lindembergi.</i>	<i>Lu. antunesi (provável vetor)</i>

Fonte: RANGEL & LAINSON, 2003.

Todas as formas de LTA são conhecidas como zoonoses, isto é, os parasitos associados à doença no homem, tendo primeiramente como hospedeiros os animais silvestres. Por isso, mudanças ambientais devido à utilização de terras florestais para desenvolvimento e exploração de novos recursos naturais e agricultura modificam a epidemiologia da doença e novas áreas endêmicas são relatadas.

#### 4.3 INFECÇÃO HUMANA E APRESENTAÇÃO CLÍNICA

A *Leishmania* é um parasito intracelular obrigatório das células do Sistema Fagocitário Mononuclear (SFM) que se apresenta sob duas formas, em razão de estar parasitando os meios intracelular ou extracelular. A forma promastigota, é alongada, com flagelo livre e longo sendo encontrada no tubo

digestivo do inseto vetor, já a forma denominada amastigota, é arredondada ou ovalada com flagelo internalizado que se alojam nos fagossomos dos monócitos, histiócitos e macrófagos são observados nos tecidos dos animais vertebrados (WHO, 2010).

Durante o repasto sanguíneo o inseto vetor flebotomíneo inocula na derme formas promastigotas que são internalizadas por células fagocitárias e transforma-se em amastigotas, que por sua vez se replicam inúmeras vezes até provocarem lise celular, sendo novamente fagocitada. O ciclo de transmissão continua quando o inseto fêmea do flebotomíneo ingere sangue com macrófagos parasitados. No vetor os macrófagos parasitados se rompem e liberam formas amastigotas que no intestino do flebotomíneo se transformam em promastigotas metacíclicas, quando em um novo repasto sanguíneo serão inoculados as formas promastigotas e o ciclo é reiniciado (NEVES, 2005; LIPOLDOVA, et al, 2006).

Contudo, trata-se de uma doença de curso crônico que pode evoluir a formas graves (FALQUETO & SESSA, 2002).

Para amadurecer seus ovos e realizar a ovoposição, as fêmeas dos flebotomíneos precisam se alimentar de sangue. A transmissão para o homem e outros vertebrados ocorre durante o repasto sanguíneo, quando o vetor inocula as formas promastigotas na derme do novo hospedeiro. Os macrófagos, células alvo das *leishmanias*, fagocitam o parasito que internalizado, assume a forma amastigota. As *leishmanias* evadem do estresse oxidativo gerado pela célula hospedeira e se replicam até o rompimento dos macrófagos, quando serão novamente fagocitadas. Quando a fêmea do flebotomíneo realiza um novo repasto no hospedeiro infectado, junto com o sangue ingere também macrófagos parasitados. No intestino do vetor os macrófagos se rompem e liberam as formas amastigotas que, após sucessivas diferenciações, transformam-se em promastigotas metacíclicas no intestino do flebotomíneo. Estas são as formas infectantes que serão inoculadas em um hospedeiro vertebrado no próximo repasto sanguíneo, reiniciando o ciclo (BASANO; CAMARGO, 2004).

#### 4.4 IMUNIDADE

No momento em que o parasito é inoculado no hospedeiro vertebrado, atrai diferentes células do SFM. Estas, como componentes da resposta imune inata, estabelecem o primeiro contato com o antígeno e realizam a fagocitose na tentativa de degradá-lo e apresentá-lo às células moduladoras da resposta imune, os linfócitos T (SCOTT & FARREL, 1998).

Entre as células dessa primeira linha de defesa, as células de Langerhans possuem um importante papel na apresentação de antígenos. Estas células permanecem em estado estacionário nos tecidos, funcionando principalmente no monitoramento e identificando sinais de presença de antígenos. Quando estimuladas, se tornam células maduras e adquirem a habilidade de migrar da epiderme para os linfonodos regionais, onde estimulam a diferenciação das células T (GUERMONPREZ et al, 2002).

Ativados, os linfócitos T promovem e regulam uma resposta imune através da produção de citocinas. O perfil de citocinas do tipo Th1, é composto por interferon gama (INF- $\gamma$ ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 2 (IL-2) e interleucina 12 (IL-12). Este perfil está relacionado com a imunidade protetora e resistência à doença. A IL-12 é o principal indutor fisiológico da produção de IFN- $\gamma$  através da ativação das células *natural killers* (NK) e das células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>. Uma vez que o INF- $\gamma$  é necessário para a diferenciação de células T em Th1, a expressão diferencial do receptor de IL-12 é um importante fator para o estabelecimento de uma resposta imune efetiva (HONDOWICZ et al,2000; ROGERS et al, 2002).

Durante a apresentação de antígenos às células T, algumas condições ainda não esclarecidas, induzem os linfócitos à produção de uma resposta imune do tipo Th2. Nesse caso, o perfil de citocinas produzidas compreendem a interleucina 4 (IL-4), interleucina 5 (IL-5), interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10) e fator de crescimento tumoral beta (TGF- $\beta$ ). Esta resposta está associada à susceptibilidade à infecção. Em trabalhos experimentais, linhagens susceptíveis de BALB/c (camundongos) apresentaram aumento na

expressão de mRNA para IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, também apresentaram doença progressiva e severa (HIMMELRICH *et al.*, 2000). A IL-4 tem sido atribuída à propriedade de diminuir a regulação da expressão de alguns receptores para IL-12 nas células Th1, o que leva à supressão de INF- $\gamma$  e ao consequente estabelecimento da resposta do tipo Th2 (CARRERA *et al.*, 1996).

As células T helper CD4<sup>+</sup> têm uma função central no sistema imune: promover as respostas adaptativas adequadas aos patógenos específicos por meio das citocinas. Podem ser separadas em duas subpopulações: T *helper* 1 (Th1) e T *helper* 2 (Th2). (BARCELLAR *et al.*, 2002; KEDZIERSKI, 2010; REIS, 2006). Para o controle da infecção é necessário a predominância da resposta imune celular com características do tipo 1, envolvendo linfócitos CD4<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> e citocinas como IL-12, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , linfotoxinas e algumas quimiocinas produzidas por macrófagos. Esta resposta resulta na ativação de macrófagos, tornando-os capazes de eliminar o parasito e controlar a infecção, o que leva a redução da resposta imune; inicia a cicatrização, o controle do processo inflamatório, a produção de fibrose e tecido de cicatrização (MACHADO, *et al.* 2004).

Segundo estudos de Silveira *et al.* (2002; 2008), foi observado através de uma análise imunocitoquímica maior prevalência de linfócitos T CD8<sup>+</sup> do que T CD4<sup>+</sup> em pacientes infectados com *L. (V.) braziliensis* e *L. (L.) amazonensis*. A resposta imune Th 1 é mais intensa nos pacientes com espécies ligadas a esses subgêneros.

Silveira *et al.* (2002), demonstraram um aumento da expressão de mRNA, de IFN $\gamma$  em biópsias de lesões cutâneas de pacientes infectados com *L.(V.) braziliensis*, considerando que nenhuma expressão foi observado para o mRNA para IL-4 nas mesmas amostras. Por outro lado, os doentes infectados com *L.(L.) amazonensis* mostraram um aumento da expressão de mRNA e de IL-4 em suas lesões. Os níveis dessa citocina foram, no entanto, notavelmente mais baixos que os de IFN $\gamma$  e correspondiam a apenas cerca de um décimo dos níveis de IFN $\gamma$ . Isso sugere que mesmo baixos níveis de

IL-4 podem ser capazes de diminuir a resposta imune Th1 CD4<sup>+</sup> nesses pacientes (SILVEIRA et al, 2002;NYLÉN & GAUTAM, 2010).

#### 4.5 FORMAS CLÍNICAS

Pode acontecer de alguns indivíduos serem naturalmente resistentes (assintomáticos) a infecção por *Leishmania* e outros apresentarem diferentes graus de susceptibilidade à infecção (sintomáticos). Dependendo da espécie do agente etiológico da resposta imunológica do indivíduo infectado, podem ocorrer variações na apresentação clínica, seja na pele ou na mucosa (BRASIL, 2009).

A principal característica da LTA é a sua diversidade de aspectos clínicos, as quais permitem sua classificação em:

Formas que produzem exclusivamente lesões cutâneas é denominada leishmaniose cutânea, e pode ser classificada em cutânea localizada, esta é uma lesão primária, geralmente ulcerada, que pode se apresentar com lesões únicas ou múltiplas, com tendência à cura espontânea, que na maioria dos casos apresenta boa resposta ao tratamento. Na região norte do Brasil as lesões múltiplas são frequentemente causadas pela *L.(V). guyanensis* e aparentemente estão relacionadas a picada do vetor *Lutzomyia umbratilis*. A forma localizada pode ser acompanhada de linfadenopatia regional e de linfangite nodular, com resultado do Teste de Montenegro positivo (GOTO; LINDOSO, 2010).

A forma cutânea disseminada é considerada rara e pode corresponder a 2% dos casos. É caracterizada por lesões múltiplas, papulares de aparência acneiforme que podem acometer vários segmentos corporais, porém é mais frequente na região da face e no tronco. O número de lesões é elevado, podendo alcançar as centenas. As lesões iniciam-se de forma gradual com uma ou várias lesões com características clássicas, a adenomegalia satélite raramente é detectada e quando ocorre é de forma discreta. Após o

aparecimento das lesões primárias, provavelmente acontece à disseminação do parasito por via hemática ou linfática, se estabelecendo de forma aguda que varia de 24 horas até poucos dias, o que pode culminar com o aparecimento de lesões distantes do local da picada. Pode-se destacar também nesta forma clínica o acometimento mucoso concomitante, registrando uma média de 30% dos casos e manifestações sistêmicas como febre, mal estar geral, mialgias, emagrecimento, anorexia entre outros (GOTO; LINDOSO, 2010).

As chances de encontro do parasito na lesão da forma disseminada são baixas se comparadas à forma difusa. Há registros de títulos elevados de anticorpos séricos anti – *Leishmania*. A resposta é variável ao Teste de Montenegro podendo ser positiva ou negativa. Outro aspecto relevante é o comprometimento folicular no exame histopatológico, que corresponde ao aspecto acneiforme encontrado clinicamente. As formas atípicas consistem em lesões cutâneas pouco comuns que podem apresentar-se como nódulos inseridos profundamente na hipoderme ou em pequenas pápulas. Com a evolução aumentam de tamanho, profundidade e ulcerações no vértice. Relatam-se também lesões vegetantes de aspecto papilomatoso, úmida e de consistência mole; ou ainda lesões verrucosas caracterizadas por superfície seca, áspera com pequenas crostas e descamação. A lesão é primária ou evolui para úlceras ao redor da lesão principal, levando a surgir endureções subcutâneas, pápulas satélites que evoluem para placas e novas lesões a partir de traumas na pele íntegra. (PISCOPO; MALLIA, 2006).

A forma recidiva cútis é a forma de LTA caracterizada por evoluir pela cicatrização espontânea ou medicamentosa da úlcera, com reativação da borda da lesão. O Teste de Montenegro geralmente é positivo e a resposta terapêutica geralmente é ineficaz. A forma cutânea difusa é caracterizada por lesão única e insidiosa no início. Apresenta má resposta ao tratamento, evoluindo lentamente para formações em placas e nodulações não ulceradas, atingindo grande extensão cutânea, geralmente o Teste de Montenegro é negativo (PISCOPO; MALLIA, 2006).

Formas que se complicam frequentemente com o aparecimento de lesões destrutivas nas mucosas do nariz, boca e faringe, são designadas como leishmaniose mucocutânea ou leishmaniose cutâneo - mucosa, que podem ser classificadas como forma mucosa ou mucocutânea. Estima-se que de 3 a 5% dos casos de LTA desenvolvam lesão mucosa clinicamente destrutiva das vias aéreas superiores. Esta forma clínica surge de maneira secundária à lesão cutânea e acredita-se que ocorre disseminação hematogênica e linfática, resultando em lesão metastática. Geralmente, ocorre após o diagnóstico de cura da leishmaniose cutânea, de maneira insidiosa e sem sintomas. Indivíduos do sexo masculino, adulto / jovem são os mais acometidos, o que provavelmente é devido ao seu caráter de complicação secundária.

Na maioria dos casos os pacientes apresentam cicatriz de lesão cutânea anterior, enquanto outros apresentam simultaneamente lesões cutâneas e mucosas. No entanto há casos em que a lesão mucosa é uma extensão da lesão cutânea adjacente, caracterizando lesão contígua. Geralmente a lesão é indolor, com início no septo nasal anterior, próximo ao intróito nasal, favorecendo a visualização da lesão. A progressão da LTA para lesão de mucosa vem após um período de latência consequente de disseminação hematogênica e ou linfática do parasito e está associada a *L. braziliensis* (GONTIJO & CARVALHO, 2003).

Nas lesões mucosas, o diagnóstico diferencial deve ser feito com outras infecções fúngicas (paracoccidioidomicose, esporotricose e cromomicose) e bacterianas (tuberculose, sífilis e úlcera tropical) e outras doenças inflamatórias (REY, 2001).

Em pacientes que ocorrem à evolução da leishmaniose cutânea para a leishmaniose mucosa, 90% dos casos chegam a evoluir dentro de 10 anos, destes, 50% apresentam lesões mucosas nos 02 primeiros anos após a cicatrização da leishmaniose cutânea (BRASIL, 2007).

A leishmaniose mucosa apresenta uma sintomatologia relacionada à obstrução nasal, eliminação de crostas, epistaxe, disfagia, odinofagia, rouquidão, dispneia e tosse. Muito raramente há relatos de dor ou prurido nasal. Porém, quando associada a sinusites ou infecções secundárias, pode apresentar dor local e cefaleia (BRASIL, 2007).

Sugere-se um exame físico cauteloso, pois na maioria das vezes as lesões mucosas inicialmente são assintomáticas.

As lesões cutâneas apresentam-se na forma localizada, através de lesões em áreas expostas do corpo, variando de 1 a 10 lesões, na forma disseminada, são numerosas lesões pleomórficas em partes contínuas do corpo ou não, variando de 10 a 300 lesões e na forma difusa / anérgica apresentam lesões nodulares ou papulosas sobre todo o corpo sendo grave, causa deformidade e é de difícil cura clínica.

Leishmaniose Cutânea Localizada (LCL) é representada pelo acometimento primário da pele, sendo descrita como lesões características, são ulceradas, com bordas elevadas, endurecidas, com fundo granuloso, comumente localizada nos membros inferiores, podem ser única ou múltiplas. (BASANO e CAMARGO, 2004; GONTIJO & CARVALHO, 2003; BRASIL 2007).

Leishmaniose difusa anérgica (LDA) é caracterizada pelo aparecimento de lesões múltiplas pleomórficas, em duas ou mais áreas do corpo, e ocorre quase que exclusivamente dentro das regiões Norte e Nordeste do Brasil (GRIMALDI & TESH, 1993). A espécie responsável é a *Leishmania (L.) amazonensis*, sendo que a doença está associada a uma resposta imunológica antígeno específica ineficiente. Na maioria dos casos é apenas controlável, sem ocorrer à cura (LAINSON e SHAW, 1978).

Leishmaniose cutânea disseminada (LCD) foi descrita por Silveira et al. (2004, 2005) como forma intermediária entre a LCL e os pólos extremos patogênicos LMC e Leishmaniose Difusa Anérgica (LDA) é causada pela

espécie *L. (L.) amazonensis*, parasito também responsável pelas formas clínicas LT. A evolução da doença é um processo rápido, podendo ocorrer em dois ou três meses, com 100 ou mais pápulas eritromatosas (lesão acneiforme), lesões ulceradas podem aparecer.

Durante a disseminação do parasito o teste de hipersensibilidade tardia ao antígeno de *Leishmania* e os ensaios de proliferação de linfócitos são geralmente negativos, refletindo alguma inibição dos mecanismos imunes mediados por célula T nos pacientes. Apresenta polimorfismo das lesões, sendo possível encontrar formas impetigóide, liquenóide, tuberculóide ou lupóide, nodular, vegetante e ectimatóide, devido às múltiplas picadas do flebotomíneo ou à disseminação do parasito *Leishmania (V.) braziliensis*. As lesões surgem após um período de incubação variável de 10 dias a 03 meses, iniciam como uma pápula eritematosa que progride lentamente para nódulo. Acompanha-se de adenopatia regional, com ou sem linfangite, em 12 a 30% dos casos (FUNASA, 2007).

É considerada uma forma rara de leishmaniose tegumentar e se encontra distribuída em alguns países das Américas, África e Ásia. Apresenta aspectos clínicos, imunológicos, parasitológicos, anatomopatológicos e terapêuticos diferentes das outras formas de leishmaniose cutânea, existindo duas possibilidades para explicar estas adversidades: (i) as diferenças seriam devido a uma deficiência imunológica específica dos hospedeiros; (ii) representam duas entidades diversas, causadas por subespécies diferentes de *Leishmanias* capazes de induzir imunodepressão específica no hospedeiro infectado (FIGUEIRA et al, 2008).

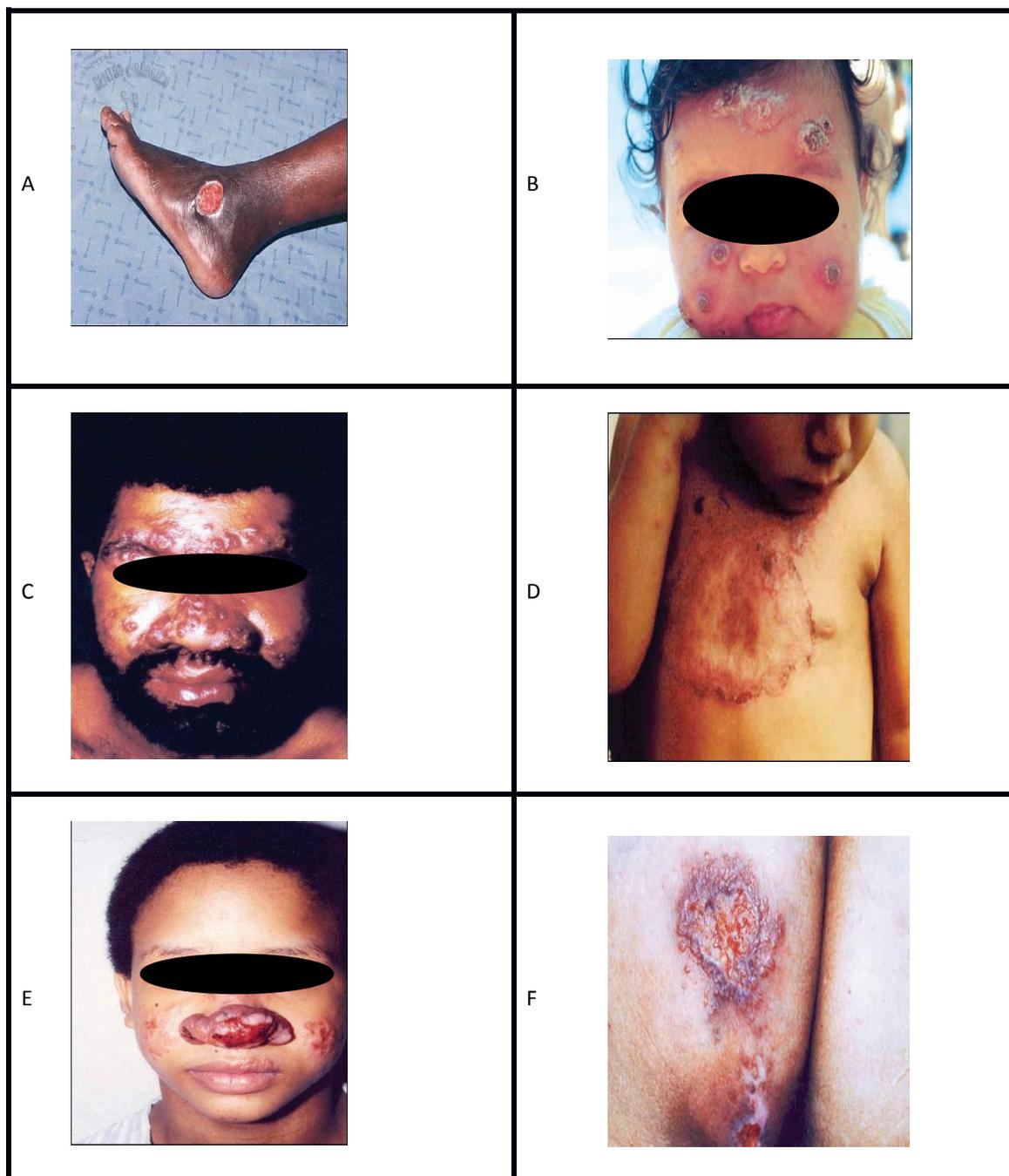


Figura 01: Formas clínicas de LTA. (A) Forma cutânea localizada lesão única. (B) Forma cutânea localizada lesões múltiplas. (C) Forma cutânea disseminada. (D) Forma recidiva cútis. (E) Forma cutânea difusa. (F) Forma Atípica. FONTE: BRASIL, 2007; Manual de Vigilância Epidemiológica.

Leishmaniose mucocutânea (LMC) forma mais agressiva e mutilante, apresenta lesões infiltradas, com ulcerações e destruição dos tecidos da cavidade nasal, faringe e laringe (GOTO; LINDOSO, 2010; PISCOPO; MALLIA, 2006), comum em áreas de transmissão de *Leishmania* (V.)

*braziliensis*, e normalmente acontecem meses ou anos depois da leishmaniose cutânea (LAINSON et al,1986). No Brasil a LMC tem sido assinalada em todos os Estados, constituindo uma das afecções dermatológicas que merece maior atenção, devido à magnitude da doença, pelo risco de ocorrência de deformidades, bem como pelo envolvimento psicológico, com reflexos no campo social e econômico por ser considerada uma doença ocupacional (FUNASA, 2007).

Segundo Piscopo, Lindoso (2006) a leishmaniose mucosa pode apresentar-se como as seguintes formas clínicas:

**Mucosa tardia:** é a forma mais comum, podendo ter seu início após muitos anos depois da cicatrização da lesão cutânea. Está associada a lesões cutâneas múltiplas ou de longa duração, as curas espontâneas ou aos tratamentos ineficientes das leishmanioses cutâneas.

**Forma mucosa de origem indeterminada:** é caracterizada como leishmaniose mucosa isolada, sem associação a leishmaniose cutânea prévia. Provavelmente está associada às infecções subclínicas ou lesões muito pequenas, não ulceradas, de evolução rápida e que passaram despercebidas.

**Mucosa concomitante:** é caracterizada pelo aparecimento de lesão cutânea e lesão mucosa simultaneamente, porém distantes umas das outras.

**Mucosa contígua:** localizada próxima a orifícios naturais. Ocorre geralmente por propagação direta da lesão cutânea e pode estar cicatrizada ou em atividade no diagnóstico.

**Mucosa primária:** é característica das áreas de mucosa, como lábios e genitais que eventualmente estavam expostas no momento da picada pelo vetor.

#### 4.6 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da LTA pode ser realizado através da associação de exames epidemiológicos, dados clínicos e exames laboratoriais (BRASIL, 2007). O diagnóstico de dados epidemiológicos busca averiguar a existência de casos de LT na região, procedência de área endêmica (viagem de lazer ou trabalho, residência anterior); referência de cães ou equinos com lesões, residindo nas proximidades; inserção em áreas florestais. O diagnóstico clínico é realizado pelo profissional médico com base nas características da lesão, associados a uma anamnese detalhada. Nas lesões cutâneas, os dados epidemiológicos referidos são recentes (em média 02 meses); no caso de lesão mucosa é essencial buscar também a história progressiva de ulceração de pele de longa duração, além da existência de cicatriz e utilização de medicamentos para leishmaniose (BRASIL, 2007).

Além dos achados clínicos e da epidemiologia, a informação pode ser confirmada com exames laboratoriais. A identificação da espécie favorece a adoção de medidas profiláticas para o controle da doença e contribui no manejo clínico do paciente. O método parasitológico, que consta da demonstração direta do parasito, é ainda hoje o diagnóstico de primeira escolha pela simplicidade de execução. Porém, o encontro do parasito na lesão examinada está relacionado diretamente com o tempo da lesão, tornando-se raro o achado decorrido um (01) ano de lesão ativa. Há relação também com a infecção secundária, que se presente, irá contribuir para a diminuição da sensibilidade da técnica, devendo esta ser tratada previamente (ARRUDA, 2009).

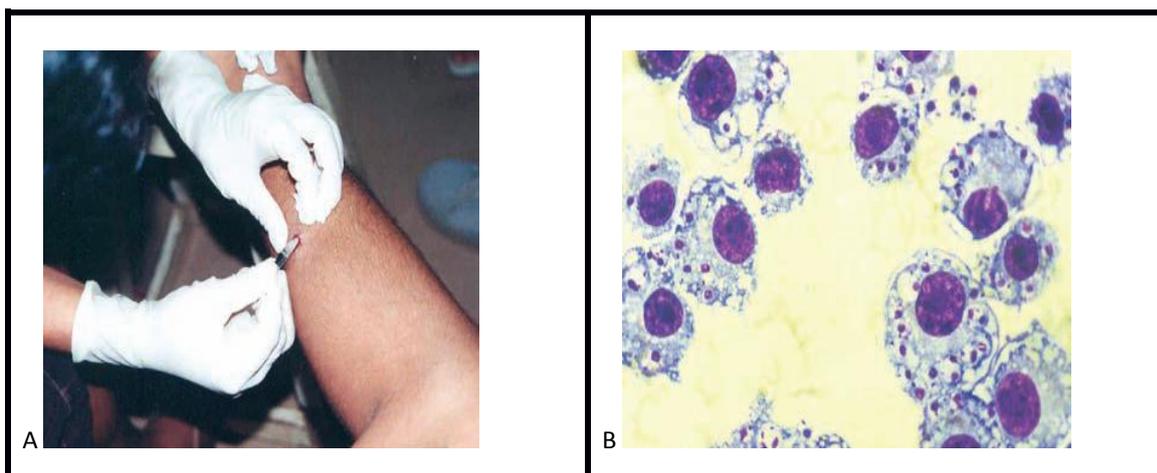


Figura 02: A - Exame diagnóstico Parasitológico Direto / B - Formas amastigotas.  
Fonte: BRASIL, 2007.

Entre os métodos imunológicos, o isolamento em cultivos *in vitro* (meios de cultura, NNN E SCHNEIDER'S) é o método diagnóstico pelo qual se pode confirmar o agente etiológico, pois permite posterior identificação da espécie envolvida de *Leishmania*.

A Reação Intradérmica de Montenegro (RIM) gera uma reação que é caracterizada pela visualização da hipersensibilidade celular retardada mediada por células T e normalmente é positiva em lesões cutâneas ou mucocutâneas. O teste é regularmente negativo em casos de leishmaniose difusa anérgica - LDA (LAINSON et al, 1994). Persiste positivo após o tratamento, ou cicatrização da lesão cutânea tratada ou curada espontaneamente, podendo negativar em indivíduos fraco – retores e nos precocemente tratados (BRASIL, 2007, 2009). O teste IDM utiliza o antígeno de *Leishmania* é um importante método para diagnóstico da leishmaniose tegumentar, amplamente empregado em estudos epidemiológicos para a identificação de indivíduos expostos e sem doença e de indivíduos curados de infecção causada pela *Leishmania* (JOSÉ et al, 2001).

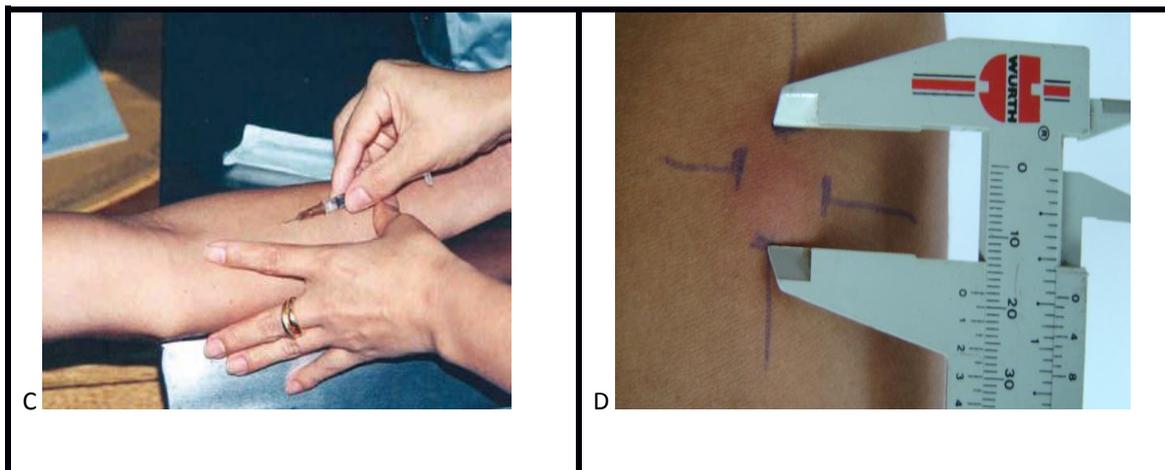


Figura 03: C - Aplicação da reação intradérmica de Montenegro D - Leitura com paquímetro da reação intradérmica de Montenegro, após 48 horas da aplicação. Fonte: BRASIL, 2007.

O diagnóstico sorológico é realizado por imunofluorescência indireta (IFI) e pelo teste imunoenzimático (ELISA), que expressam os níveis de anticorpos circulantes. As reações IFI e ELISA são úteis principalmente nos casos com lesões extensas e múltiplas ou de lesões mucosas. Em pacientes com a forma cutânea observam-se anticorpos da classe IgM em casos com evolução inferior a 4 meses. Títulos elevados de IgG são encontrados em pacientes com mais de uma lesão. A IFI apresenta reação cruzada com *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* e com *Trypanosoma cruzi*, entre outros. Após o tratamento e cura em ambas as formas de doença, os títulos podem cair ou desaparecer em alguns meses (FUNASA, 2004).

Coleta de fragmento de pele (biópsia) é realizada por profissional médico, após assepsia da lesão com punch de 5mm descartável e estéril, sendo a área escolhida previamente anestesiada.

Com o avanço da tecnologia, o diagnóstico molecular constitui o método mais sensível entre os convencionalmente utilizados. O advento da utilização da reação em cadeia de polimerase (PCR) permite a amplificação de sequências a partir de oligonucleotídeos (iniciadores) pareados especificamente nas margens da região alvo do DNA de diversos patógenos, viabilizando um instrumento específico para o diagnóstico de diversas doenças infecciosas (ANDRESEN et al, 1996; RAMOS et al, 1996; SINGH 1997; GOMES et al, 1999).

Amplamente utilizado em pesquisas, essas abordagens não contemplam a rotina do sistema público de saúde. Diversos protocolos tem sido propostos para diagnóstico molecular, entre eles a amplificação de sequências gênicas da subunidade menor do ribossomo (SSUrDNA) e da enzima glicose-6-fosfato-desidrogenase G6PD (ULIANA et al, 1994; CASTILHO et al, 2003).

A subunidade menor do ribossomo possui regiões com sequências conservadas e variáveis, permitindo a identificação de gênero e subgênero (ULIANA et al, 1994). Segundo proposta de Castilho et al (2003), a técnica para amplificação das sequências de G6PD é carregada por reações de PCR Semi-Nested em duas etapas. Na primeira etapa são utilizadas sondas capazes de identificar as amostras de agentes do subgênero *Viannia* (ISVA-ISVC), enquanto que na segunda etapa são utilizadas sondas para distinguir entre as espécies do subgênero *L.V.* não *braziliensis* (ISVC-ISVG) e espécie *L.V. braziliensis* (ISVC-ISVB).

#### 4.7 TRATAMENTO

A LTA na maioria dos casos não é uma doença letal, o tratamento medicamentoso é realizado para acelerar a cura, reduzir as cicatrizes e prevenção da forma disseminada e mucosa da doença. As drogas utilizadas no tratamento têm como objetivo a partir da cicatrização das lesões a eliminação dos parasitos pela destruição direta e / ou aumento da capacidade do hospedeiro em cicatrizar já que o êxito no tratamento depende da resposta imune mediada pela interação parasito hospedeiro.

Apesar de vários esforços dedicados na tentativa de desenvolvimento de novas drogas para tratamento da LTA, há várias décadas são utilizados como droga de primeira escolha os antimoniais, entre os quais o mais utilizado é o antimonial pentavalente, disponibilizado sob duas formas: antimoniato de N-metilglucamina e o stilbogluconato de sódio. É a medicação de primeira

escolha para o tratamento de todas as formas clínicas das leishmanioses. Este medicamento foi utilizado em 1912 pelo médico paraense Gaspar Vianna e apresentam graves efeitos colaterais sobre as células cardíacas, renais, hepáticas não podendo ser administrado em gestantes. A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que a dose dessa droga seja calculada em  $\text{mg Sb}^{+5}/ \text{Kg} / \text{dia}$ . O Ministério da Saúde do Brasil (MS) distribui gratuitamente esse medicamento na forma de antimoniato de N-metilglucamina comercializado pelo nome de Glucantime®. A administração se dá por via parental e as injeções podem ser intramusculares ou endovenosas. (BRASIL, 2007, 2009).

São chamadas de drogas leishmanicidas, pois interferem na bioenergética das formas amastigotas de *leishmanias*. Tanto a glicólise quanto a oxidação dos ácidos graxos, são inibidos através da redução dos  $\text{Sbv}$  a sua forma trivalente (III) ativa (CROFT et al, 2006; BRASIL, 2007).

Não havendo resposta satisfatória com o tratamento pelo antimonial pentavalente, podem ser utilizadas as drogas de segunda escolha (COSTA et al, 2009).

O desoxicolato de Anfotericina B é um antibiotico polienico com excelente atividade *in vitro* na destruição de *Leishmania* intracelular e extracelular. É considerada como droga de primeira escolha no tratamento de gestantes e de segunda escolha quando não se obtém resposta ao tratamento com o antimonial pentavalente ou na impossibilidade de seu uso. No inicio a dose recomendada é de  $1\text{mg/kg/dia}$  diariamente ou em dias alternados sem, contudo, ultrapassar a dose de  $50\text{mg}$  em cada aplicação (BRASIL 2007; 2009). Anfotericina B lipossomal é uma nova formulação em que a anfotericina B é incorporada dentro de lipossomas feitos com fosfatidilcolina, colesterol e disterolfosfatidilglicerol. Nessa formulação, a droga atinge níveis plasmáticos mais elevados que o desoxicolato de anfotericina B. Entretanto, a meia-vida é mais curta, pois a droga é rapidamente sequestrada pelos macrófagos no fígado e baço, onde atinge

elevadas concentrações de 1 a 4 mg/kg/dia deve ser administrada diariamente por infusão venosa, em dose única. (BRASIL, 2007).

As Pentamidinas são diamidinas aromáticas que vem sendo utilizadas como drogas de segunda escolha no tratamento da leishmaniose tegumentar em áreas endêmicas dos continentes americano, asiático e africano. São comercializadas para uso em humanos nas seguintes formulações: Isotionato (Di-B-Hidroxietano Sulfonato) e Mesilato (Di-B-Hidroximetil-Sulfonato). Poucos estudos foram realizados nas Américas utilizando a pentamidina como terapêutica da LTA. Classicamente a dose recomendada é de 4mg/kg/dia, por via intramuscular profunda, de dois em dois dias, recomendando-se não ultrapassar a dose total de 2g (BRASIL, 2007, 2009).

A eficácia do tratamento envolve fatores como: tipo de *leishmania spp* infectante e o seu subtipo; fatores do hospedeiro, como localização e cronicidade das lesões; presença de infecções concomitantes. Sendo assim fatores que podem vir a influenciar a escolha e a eficácia do tratamento são: falhas terapêuticas anteriores, disponibilidade local das drogas, custo dos medicamentos, localização e quantidade de lesões e potencial para disseminação (AMEEN 2010; GOTO e LINDOSO, 2010).

O tratamento da LTA é um desafio para os médicos, porque as drogas disponíveis apresentam elevada toxicidade e sérios efeitos adversos. A recidiva, a falha terapêutica em pacientes imunodeprimidos e a resistência ao tratamento são fatores que motivam a busca de uma droga ideal (LIMA et al, 2007). Apesar disso, a droga de primeira escolha para o tratamento de todas as formas clínicas desta doença mesmo em casos de co-infecção *Leishmania*-HIV, é ainda o antimonial pentavalente. Além desse fármaco, o Ministério da Saúde recomenda os medicamentos anfotericina B (na apresentação desoxicolato e lipossomal) e pentamidina, como drogas de segunda escolha para o tratamento da LTA, conforme descrito anteriormente (BRASIL, 2007).

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 PRINCÍPIOS ÉTICOS

Este trabalho é parte integrante de dois projetos aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto Evandro Chagas (IEC) sob o protocolo CEP/IEC – N° 018/09, CEP/IEC – N° 024/09, ambos coordenados pela Dra. Lourdes Maria Garcez (UEPA e IEC), conforme apresentado nos Anexos A e B. A mestrandia participou como membro da equipe em ambos e todos os procedimentos que afetam os sujeitos da pesquisa aqui descritos foram realizados previamente. Portanto, o objeto desta dissertação de mestrado foi informações registradas em um banco de dados previamente coletados.

### 5.2 DESENHO DO ESTUDO

Estudo descritivo, transversal e analítico sobre o perfil clínico-epidemiológico e etiologia da LTA em uma série de casos novos da doença, notificados de outubro de 2009 a novembro de 2011 no Centro de Controle de zoonoses da Santarém.

Segundo o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) no período da pesquisa foram registrados 315 casos novos de LTA, destes foram selecionados e incluídos na pesquisa 102 indivíduos que apresentavam manifestações clínicas sugestivas de LTA e aceitaram participar da pesquisa, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (Anexo C). Tiveram diagnóstico confirmado pelo exame parasitológico direto 85,29%, 2,94% pelo diagnóstico clínico-epidemiológico e 67% pela Reação Intradérmica de Montenegro. Pacientes de ambos os sexos, representavam os casos novos da doença, eram maiores de seis anos de idade, possuíam uma ou mais lesões cutâneas primárias de, no mínimo, duas semanas de existência, e não relataram tratamento medicamentoso prévio para a doença. Foram excluídos do estudo menores de seis anos, portadores de lesões cutâneas ou mucosas tardias (resultantes de reativação) e mulheres grávidas.

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

O município de Santarém constitui um pólo para o atendimento em saúde nesta região do estado. É um dos centros notificadores com maior registro de casos novos de LTA em todo o Pará, incluindo os autóctones e aqueles provenientes de outras áreas de transmissão em diferentes estados amazônicos e países de fronteira com o Brasil.

Santarém localiza-se na mesorregião do baixo amazonas e abrange uma área de 22.887 Km<sup>2</sup>. Faz limite ao norte com os municípios de Óbidos, Monte Alegre e Curuá, a leste com os municípios de Prainha e Uruará, ao sul com os municípios de Rurópolis, Aveiro, Placas e Belterra e a oeste com o município de Juruti, está dividida em oito (08) distritos uma área que contempla 474 comunidades, das quais 267 localizam-se nas regiões de rios e várzea e 207 estão na zona de planalto. O núcleo urbano está dividido em 48 bairros em uma área de aproximadamente 77 Km<sup>2</sup> entre as coordenada 02° 26' 18" S e 54° 42' 00" na porção centro norte do município na junção dos rios Amazonas e Tapajós, fato que contribui para a dificuldade no acompanhamento dos casos de leishmaniose tegumentar devido às grandes distância e dispersão demográficas, assim como dificuldades de acesso e comunicação.

A população de Santarém, estimada em 2010, segundo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, foi de 291.122 habitantes. O clima predominante é o quente e úmido o que é favorável ao desenvolvimento de criadouros de vetor. A precipitação pluvial varia de acordo com os períodos de inverno regional (dezembro a maio) e de verão regional (junho a novembro) favorecendo traçar um paralelo entre o número de casos registrados e o período de ocorrência.

A Secretaria Municipal de Saúde (SEMSA) de Santarém desenvolve ações de prevenção, promoção e recuperação da saúde pautada nos princípios do Sistema Único de Saúde – SUS. A leishmaniose tegumentar é

um problema de saúde emergencial dada à elevada taxa de detecção da doença.

Na SEMSA, está localizada a Divisão de Vigilância em Saúde – DIVISA e nesta o Centro de Controle de Zoonoses - CCZ, que além da demanda local atende os 18 municípios da região oeste do estado do Pará, no CCZ são realizados os exames de rotina no diagnóstico de leishmaniose tegumentar, ofertados pelo SUS (Parasitológico direto, Reação Intradermica de Montenegro), procedimentos diagnóstico que permitem a detecção do parasito, e a hipersensibilidade tardia respectivamente, mas não o esclarecimento da etiologia dos casos de leishmaniose tegumentar, associada a sete (07) espécies de *leishmania* circulante no estado do Pará. O diagnóstico etiológico da LTA ajuda a esclarecer a epidemiologia local e auxilia a determinação do prognóstico, sendo essencial ao manejo clínico em casos de reativação (COSTA et al, 1996).

#### 5.4 COLETA DE DADOS

A ficha de investigação utilizada foi à mesma para notificação de casos no SINAN, que inclui os dados epidemiológicos (dados clínicos, laboratoriais, tratamento) (BRASIL, 2007). Durante o exame clínico, informações adicionais sobre a forma clínica, tipo e localização e número de lesões, que não constam na ficha de investigação, foram registradas na ficha elaborada para esse estudo (Anexo D). Foi realizada ainda uma investigação cuidadosa sobre o provável local de infecção, através de uma anamnese detalhada no momento da consulta.

#### 5.5 EXAMES DE DIAGNÓSTICO

##### 5.5.1 Exame Parasitológico direto:

Os pacientes que apresentavam lesões suspeitas de LTA foram submetidos ao exame parasitológico direto, no centro de controle de zoonoses no município de Santarém. Para composição da lâmina, o exsudato foi obtido por meio da escarificação da borda da lesão e estendido em

lâminas de vidro, devidamente identificadas, coradas pelo método de Giemsa e examinadas em microscópio óptico, com objetiva de 100x, em imersão, para a pesquisa de formas amastigotas de *Leishmania* livres ou no interior de macrófagos, essa detecção confirma o diagnóstico positivo para LTA.

### 5.5.2 Reação Intradérmica de Montenegro

Da mesma forma os pacientes com lesões suspeitas para LTA, foram submetidos à reação intradérmica de Montenegro, no centro de controle de zoonoses no município de Santarém. Foi inoculado por via intradérmica o volume de 0,1 ml do antígeno de *Leishmania* fornecido pelo Ministério da Saúde na face ventral do antebraço do paciente. Após 48 horas, o local foi examinado e a presença de edema e endureção igual ou superior a 05 mm indicam o resultado positivo para LTA.

### 5.5.3 Biópsia e extração de DNA do fragmento de pele

A partir da aceitação em participar da pesquisa e assinatura do TCLE, no centro de controle de zoonoses no município de Santarém, foi realizado a assepsia da lesão, e preparação para a biópsia que consiste na retirada de um fragmento de pele da borda da lesão com utilização de um punch de 5mm descartável e estéril, sendo a área escolhida previamente anestesiada por um profissional médico. O fragmento de pele foi dividido com lâmina de bisturi estéril e a metade conservada em solução NET (0,15mM NaCl; 50mM EDTA e 0,1M Tris-HCl) sob refrigeração a 4°C até o momento de uso para extração de DNA e diagnóstico molecular, as amostras foram encaminhadas ao Instituto Evandro Chagas. Ao final da técnica, o paciente recebeu um curativo e, quando diagnosticada a LTA, o tratamento, conforme recomenda o Ministério da Saúde.

A biópsia preservada em NET à temperatura de 4°C foi lavada três vezes com 500 µL de solução salina tamponada com fosfato-PBS 1X (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 7 mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 26 mM, NaCl 130 mM [pH- 7,2]) e centrifugada por cinco minutos a 12.000 rpm. O sobrenadante foi descartado e outros 200 µL da mesma solução foram adicionados para macerar a biópsia com ajuda de

pistilo e vórtex. Em seguida se adicionou 20 µL de solução de duodecil sulfato de sódio a 1% (SDS) e 1µL de proteinase K a 20mg/mL, para incubação por 2 horas em banho-maria a 42°C. Após esse período, 200µL de fenol saturado foram acrescentados e centrifugados a 12.000 rpm por 5 minutos para recuperação da fase aquosa. Adicionou-se à fase aquosa 100µL da solução de fenol: clorofórmio: álcool isoamílico (24: 24: 1) com mais uma centrifugação de 5 minutos a 12.000 rpm. A fase aquosa obtida após a centrifugação foi recuperada, acrescentando-se 200 µL de clorofórmio para centrifugação de 5 minutos a 12.000 rpm. A fase aquosa obtida foi precipitada com solução de acetato de sódio a 3M, pH 7,0 e 400µL de etanol absoluto gelado (-20°C) após centrifugação de 10 minutos a 12.000 rpm (Uliana et al, 1991). O sobrenadante foi desprezado e 500µL de solução de álcool a 70% foram acrescentados para retirada do excesso do sal formado e hidratação da fita de DNA, com centrifugação por 5 minutos a 12.000 rpm. Esta etapa foi repetida por mais uma vez e em seguida o tubo foi colocado em estufa a 37°C por 30 minutos, para total evaporação do álcool. O DNA extraído foi ressuspenso com 50 a 100µL de água destilada estéril e armazenado a - 20 ° C (BRASIL, 2009).

#### 5.5.4 PCR ribossômica

Todas as técnicas de Biologia molecular descritas a seguir foram realizadas no Instituto Evandro Chagas no município de Ananindeua, Pará.

O ensaio da PCR executado para pesquisa do SSUrDNA emprega Taq DNA polimerase 0,02 U/µL, solução de MgCl<sub>2</sub> a 2,0 mM, dNTPS a 0,2 Mm de cada, solução tampão 1x com cloreto de potássio (Invitrogen, catálogo 10966-030), sondas S4 (5' GAT CCA GCT GCA GGT TCA CC 3') e S12 (5' GGT TGA TTC CGT CAA CGG AC3'), S17 (5' CCA AGC TGC CCA GTA GAA T 3') e S18 (5' TCG GGC GGA TAA AAC ACC 3') a uma concentração de 0,2 mM cada, 2,0 µL de amostra e o volume da reação completado para 50 µL com água.

A reação foi processada em termociclador master cycler gradiente eppendorf, com temperatura de desnaturação de 94°C por 5 minutos, seguindo-se 30 ciclos de 94°C por 1 minuto para desnaturação, anelamento

de 1 minuto a 55°C, temperatura de extensão de 72°C por 45 segundos. A extensão final foi de 10 minutos a 72°C.

Utilizou-se como controle positivo para os ensaios, 50ng/μL de DNA gênomico extraído da cepa de *Leishmania (Leishmania)* com registro no criobanco da Organização Mundial de Saúde de MCER/BR /1981/M6445. O produto da PCR gerou fragmentos de 520 pares de bases que foram visualizados por eletroforese em gel de agarose (BRASIL, 2009).

#### 5.5.5 PCR G6PD:

Amostras com resultado positivo no PCR ribossômico foram submetidas aos ensaios que tinham como alvo o *locus* da enzima glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD). As sondas ISVA-ISVC (5' GTC GGT TAT CCT ATT CGG GTC 3' - 5' ATC ACA ATG ATG GTCAACGCAC3') foram utilizadas para distinguir organismos do subgênero *Leishmania (Viannia)*, as sondas ISVC-ISVG para espécies do subgênero *Leishmania (Viannia) não braziliensis* (5' ATC ACA ATG ATG GTCAACGCAC3' - 5' TAC TCG CCA TGT CGT CG 3') e as sondas ISVC-ISVB (5' ATC ACA ATG ATG GTCAACGCAC3'- 5' TAC TCG CCA TGT CGG AGG A 3') para a espécie *Leishmania (Viannia) braziliensis* (Castilho et al, 2003).

O ensaio da PCR emprega Taq DNA polimerase 0,02 U/μL, solução de MgCl<sub>2</sub> a 2,0 mM, dNTPS a 0,2 Mm de cada, solução tampão 1x com cloreto de potássio da (Invitrogen, catalogo 10966-030), 5% de dimetilsulfóxido (DMSO) e sondas de ISVA-ISVC a uma concentração 0,2 mM cada, 2,0 μL de amostra e o volume da reação completado para 50 μL com água. A reação foi processada em termociclador master cycler gradiente eppendorf, com temperatura de desnaturação de 94°C por 5 minutos, seguindo-se 30 ciclos de 94°C por 1 minuto para desnaturação, anelamento de 1 minuto a 60°C, temperatura de extensão de 72°C por 45 segundos. A extensão final foi de 10 minutos a 72° C.

Utilizou-se como controle positivo para os ensaios 50ng/μL de DNA gênomico extraído da cepa de *Leishmania (Viannia) braziliensis* (MHOM/BR/1975/M2903), *Leishmania (Viannia) guyanensis*

(MHOM/BR/1975/M4147) e controles negativos *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum chagasi* (MCER/BR /1981/M6445) e *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* (MHOM/BR/1973/M2269).

Essa reação gerou um produto de 333 pares de bases. Em seguida esse produto foi utilizado para duas reações de Semi-Nested PCR com as sondas ISVC-ISVG e ISVC-ISVB separadamente, mas nas mesmas condições do ensaio da PCR acima citado. A temperatura de desnaturação foi de 94°C por 5 minutos, seguindo-se 30 ciclos de 94°C por 1 minuto para desnaturação, anelamento de 1 minuto a 68°C para as sondas ISVC – ISVG e de 67°C para as sondas ISVC-ISVB, temperatura de extensão de 72°C por 45 segundos. A extensão final foi de 10 minutos a 72° C (DUJARDIN, 2002).

O produto da PCR gerou fragmentos de 238 e 234 pares de bases para as sondas ISVC-ISVG e ISVC-ISVB, respectivamente, que foram visualizados por eletroforese em gel de agarose.

#### 5.5.6 Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)

A maioria dos espécimes (S01 a S82) foi submetida às PCRs SSUrDNA e G6PD que, em conjunto, identificaram gênero, subgênero e a espécie *L. (V.) braziliensis*. Para a PCR-SSUrDNA, os procedimentos foram os mesmos descritos previamente por (CASTILHO, GARCEZ, et al 2009). Resumidamente, utilizaram-se os oligonucleotídeos S4 - 5' GAT CCA GCT GCA GGT TCA CC 3' e S12 - 5' GGT TGA TTC CGT CAACGG AC 3' com o objetivo de identificar a família Trypanosomatidae por meio da amplificação de um produto de 540pb. Com este produto, realizou-se um *Nested* PCR (S17 - 5' CCA AGC TGC CCA GTA GAA T 3' e S18 - 5' TCG GGC GGA TAA AAC ACC 3') nas mesmas condições da reação anterior, a fim de se identificar o gênero *Leishmania* (520 pb). Na PCR-G6PD adotaram-se condições semelhantes àquelas descritas para a PCR-SSUrDNA (CASTILHO, GARCEZ et al, 2009). Contudo, a primeira etapa foi específica para o subgênero *Viannia* (ISVC - 5' ATC ACA ATG ATG GTCAACGCAC3' e ISVA - 5' GTC GGT TAT CCT ATT CGG GTC 3'). O produto amplificado (333 pb) foi então usado na segunda etapa para duas reações *Semi-Nested* PCR, que

identificam o subgênero *Viannia* não *L. (V.) braziliensis* (ISVC - 5' ATC ACA ATG ATG GTCAACGCAC3' e ISVG - 5' TAC TCG CCA TGT CGT CG 3') pela presença do fragmento de 238 pb, e a espécie *L. (V.) braziliensis* (ISVC - 5' ATC ACA ATG ATG GTCAACGCAC3' e ISVB - 5' TAC TCG CCA TGT CGG AGG A 3'), quando presente o fragmento de 234pb. (GARCEZ et al, 2009).

#### 5.5.7 Eletroforese em gel de agarose.

Fragmentos de DNA amplificados pelas PCRs SSUrDNA, G6PD, *hsp70*-234 pb e ITS1rDNA foram separados por eletroforese em gel de agarose (1,5% em Tris-acetato 40mM/EDTA 1mM) com brometo de etídio (5µL, 10mg/mL) e visualizados sob luz ultravioleta. Utilizaram-se controles de diferentes espécies de *Leishmania* (50ng/uL) e de água destilada, além do marcador de peso molecular (100 pb, Invitrogen).

#### 5.6 VARIÁVEIS INVESTIGADAS NO BANCO DE DADOS

Investigou-se o número de lesões (se únicas ou múltiplas), tipo e tempo de lesão no momento do diagnóstico (em intervalos de 02 meses). Os tipos de lesão estavam assim codificados no banco de dados: (1) placa (2); verrucosa (3); vegetante (4); papulosa (5); nodular (6); cicatricial; (7) crosta; (8) recidiva; (9) outro, especificar.

Foram ainda investigadas as variáveis como “provável local de infecção”, “sexo”, “idade”, “localização da lesão: membros superiores, inferiores, cabeça” “diagnóstico em lâmina”, “reação intradérmica de Montenegro”, “diagnóstico molecular”.

#### 5.7 Geração de mapas

Os mapas gerados no Laboratório de Geoprocessamento do Instituto Evandro Chagas (IEC) destacaram a distribuição geográfica dos casos notificados no período de estudo e os respectivos agentes etiológicos de LTA.

#### 5.8 Análise Estatística

Os resultados foram registradas em bancos de dados e analisadas com auxílio dos programas Excel 2010 e BioEstat 5.0. O teste do qui-quadrado

( $X_2$ ) aderência foi utilizado para avaliar a prevalência do número de casos de Leishmaniose e as variáveis demográficas (faixa-etária, ocupação e local provável de infecção), assim como foi utilizado para comparar as proporções da ocorrência das variáveis (“gênero” “tipo de lesão”, e ou outras investigadas “tempo de doença”, “número de lesões”, “localização das lesões” etc) em relação às espécies de *Leishmania* encontradas na população estudada e ainda o teste exato de Fischer.

Na análise da distribuição geográfica dos casos novos com etiologia esclarecida se utilizou a estatística descritiva, com os resultados apresentados sob a forma de diagramas e cartogramas (cartas geográficas, para representar os dados geográficos, históricos e demográficos resultantes da pesquisa).

O nível de significância (alfa) em todas as análises estatísticas foi estabelecido em 5% (valor  $P \leq 0,05$ ). Os dados foram apresentados em tabelas e figuras segundo as normas vigentes, e, salvo expresse o contrário, todos os valores das variáveis paramétricas foram apresentados sob a forma de média  $\pm$  erro padrão da média (Jeckel, 2004).

## 6 RESULTADOS

### 6.1 Perfil Clínico-Epidemiológico

De acordo com o Sistema de Informação de Notificação e Agravos (SINAN) o município de Santarém registrou 315 casos novos de LTA no período de outubro de 2009 a novembro de 2011. Destes, 102 foram incluídos na pesquisa, o que corresponde a 32,38% do total de casos registrados no período de estudo.

A análise das variáveis pesquisadas nesta série de casos destacou um perfil clínico, epidemiológico e demográfico apresentado a seguir:

As pessoas mais atingidas foram aquelas do sexo masculino 85,29% seguido de 14,71% do sexo feminino, quando comparados estatisticamente tendo o nível de significância estabelecido em ( $p \leq 0,05$ ) obtivemos  $p = < 0,0001$  sendo analisada estatisticamente como significativa na comparação da ocorrência de casos de Leishmaniose entre os gêneros (Tabela 1).

Os indivíduos entre 30 e 40 anos representaram maior prevalência na série de casos 32,35% seguidos por jovens e adultos jovens entre 20 e 30 anos 29,41% e 10 e 20 anos 19,60%. Aqueles indivíduos nos extremos de idades foram menos frequentes  $\leq 18,63\%$  culminando com o momento da aplicação do teste estatístico qui-quadrado de aderência que obtivemos um valor do teste  $p = < 0,0001$  apresentando um valor de significância estatística (Tabela 1).

As ocupações predominantes foram Lavradores 21,57%, seguido de estudantes 9,81% e operadores de máquinas pesadas 9,81% quando comparados estatisticamente a ocupação mais prevalente e cada uma demais ocupações citadas obtivemos significância estatística ( $p = < 0,0001$ ) no teste qui-quadrado de aderência (Tabela 2).

Relacionado ao local provável de infecção 51,96% dos indivíduos pesquisados relataram proceder do município de Santarém, quando comparado estatisticamente o local provável de infecção mais prevalente a cada um dos demais locais citados obtivemos um nível de significância ( $p = < 0,0001$ ) (Tabela 1).

Tabela 01: Perfil demográfico de 102 pacientes atendidos no CCZ de outubro 2009 a novembro de 2011.

Variáveis	N	%	p valor
<b>Sexo</b>			< 0,0001
Masculino	87	85,29	
Feminino	15	14,71	
<b>Total</b>	102	100	
<b>Faixa etária (em anos)</b>			< 0,0001
0 —  10	1	0,98	
10 —  20	20	19,61	
20 —  30	30	29,41	
30 —  40	33	32,35	
40 —  50	13	12,75	
50 —  60	3	2,94	
60 —  70	2	1,96	
<b>Total</b>	102	100	
<b>Ocupação</b>			< 0,0001
Lavrador	22	21,57	
Operador de Máquinas	10	9,81	
Estudante	10	9,81	
Serviços Gerais	6	5,88	
Encarregado	3	2,94	
Vendedor	5	4,9	
Pescador	5	4,9	
Outras ocupações	41	40,19	
<b>Total</b>	102	100	
<b>Procedência</b>			< 0,0001
Santarém	53	51,96	
Prainha	24	23,53	
Belterra	9	8,82	
Amazonas	2	1,96	
Anapú	1	0,98	
Guiana Francesa	2	1,96	
Guiana Inglesa	1	0,98	
Outros municípios	10	9,81	
<b>Total</b>	102	100	

Fonte: Protocolo da pesquisa.

NOTA: Teste Qui-Quadrado de aderência.

Lesões únicas e ulceradas localizadas no membro inferior foram as que prevaleceram na pesquisa fig. 04 E, e as múltiplas, ulceradas, localizadas no membro inferior com menor prevalência de casos descritos na fig. 04 F.

Quando da aplicação do teste Qui-quadrado na comparação entre a ocorrência de lesões ulceradas e os demais tipos de lesão, na presença de lesões únicas, revelou um valor significativo ( $p \leq 0,0001$ ). O teste Qui-quadrado aplicado na comparação entre a ocorrência de lesões ulceradas e as demais, na presença de lesões múltiplas culminou no resultado ( $p \leq 0,0001$ ).



Figura 04: E - Lesão única, ulcerada em membro inferior / F - Lesões Múltiplas, ulceradas em membros inferiores.

Fonte: Banco de dados da pesquisa.

Quanto ao número de lesões as mesmas foram classificadas em únicas que somaram 63,72% e múltiplas que se apresentaram em (36,27%) dos casos analisados. As lesões foram classificadas em ulceradas que se apresentaram em 71,56% dos casos e em outros tipos que se enquadram como papulosas, crostosas, vegetante, essas variações apresentaram-se em 28,43% dos casos analisados fig. 05.

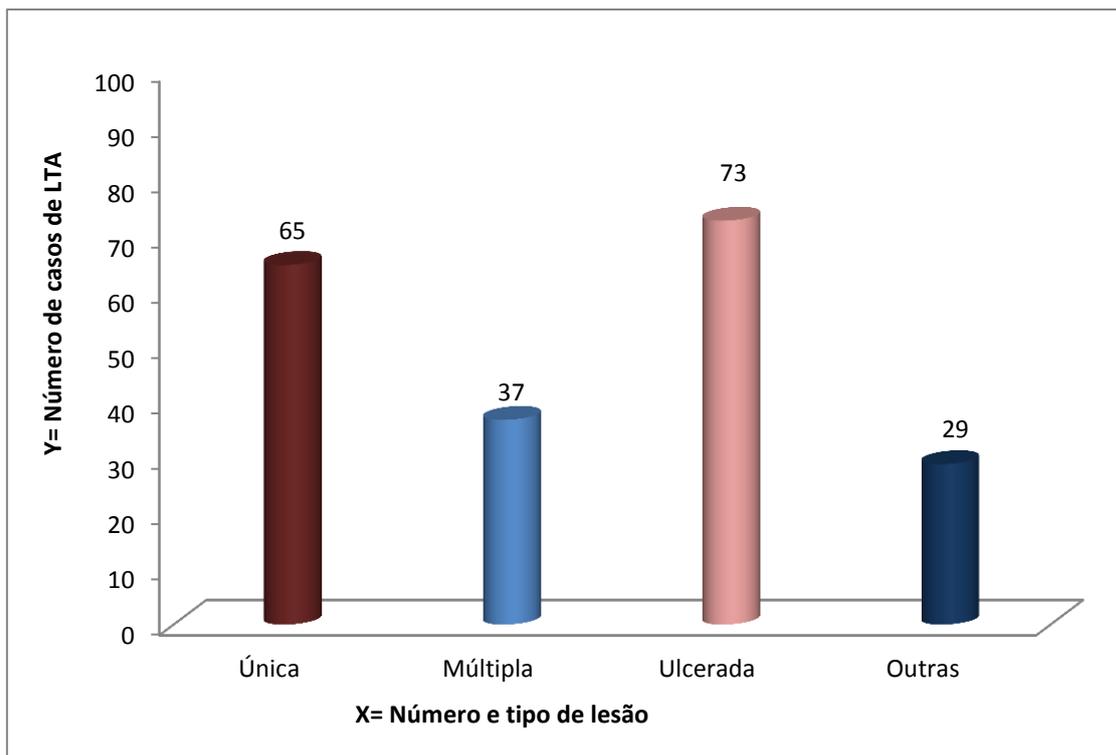


Figura 05: Número de lesões ( $\chi^2$   $p < 0,0056$ ) e tipo de lesão ( $\chi^2$ ;  $p < 0,0001$ ) em pacientes portadores de leishmaniose cutânea atendidos no Centro de Controle de Zoonoses de Santarém de outubro de 2009 a novembro de 2011.

Fonte: Protocolo da pesquisa.

A partir dos tipos de lesões identificados, é importante conhecer a localização anatômica mais frequente dessas lesões, no presente trabalho 58,82% dos casos acometeram os membros inferiores, seguido de 22,54% nos membros superiores fig. 06.

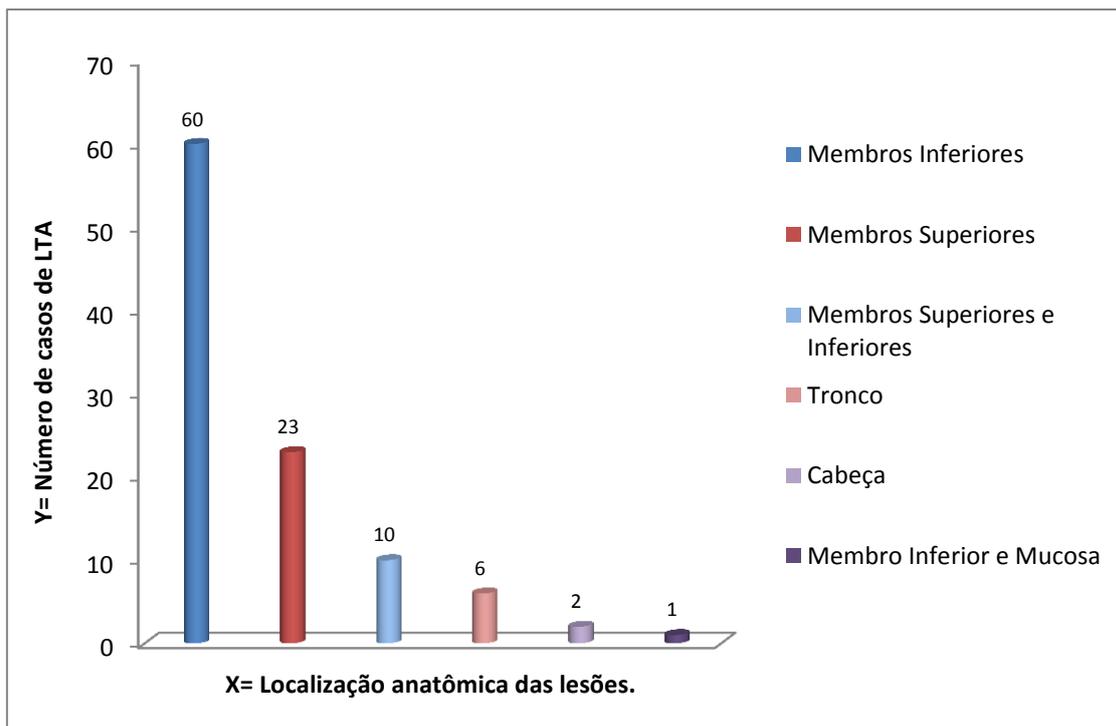


Figura 06: Localização da lesão de pacientes portadores de leishmaniose cutânea atendidos no CCZ de outubro de 2009 a novembro de 2011.

Fonte: Protocolo da pesquisa. ( $\chi^2$   $p < 0,0001$  na comparação entre membros inferiores e demais localizações das lesões).

Observa-se na fig. 07 o tempo decorrente entre o aparecimento da lesão até a procura pelo serviço de saúde para diagnóstico e tratamento oportuno, destacando que 74,50% dos casos realizaram o diagnóstico no período de 0 a 02 meses.

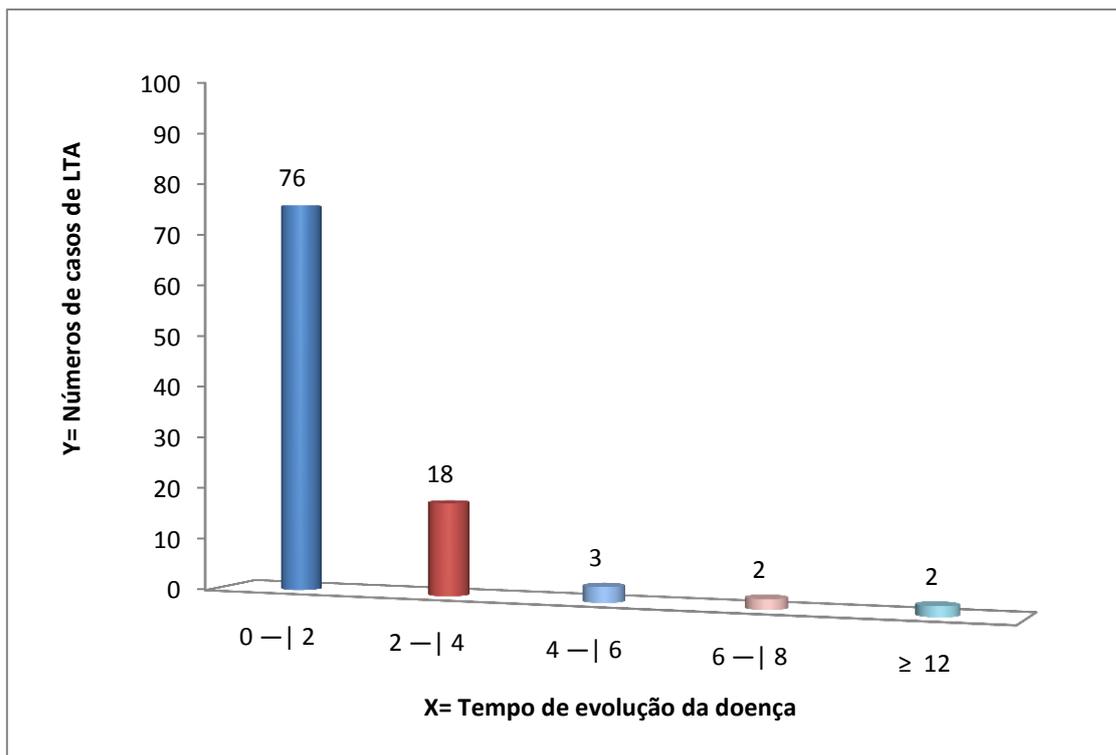


Figura 07: Tempo de lesão de pacientes portadores de leishmaniose cutânea atendidos no CCZ de outubro de 2009 a novembro de 2011.

Fonte: Protocolo da pesquisa. ( $\chi^2$   $p < 0,0001$ ).

## 6.2 Distribuição geográfica de 82 casos de LTA de acordo com as espécies de *Leishmania* identificadas

No Laboratório de Geoprocessamento (LabGeo) do Instituto Evandro Chagas (IEC) foi elaborado um mapa para apresentar os achados etiológicos dos casos de LTA da região, dessa forma fica expresso os locais prováveis de infecção relatados pelos pacientes no momento da primeira consulta e preenchimento da Ficha de Notificação que tiveram a etiologia esclarecida através de técnicas de biologia molecular fig 08.

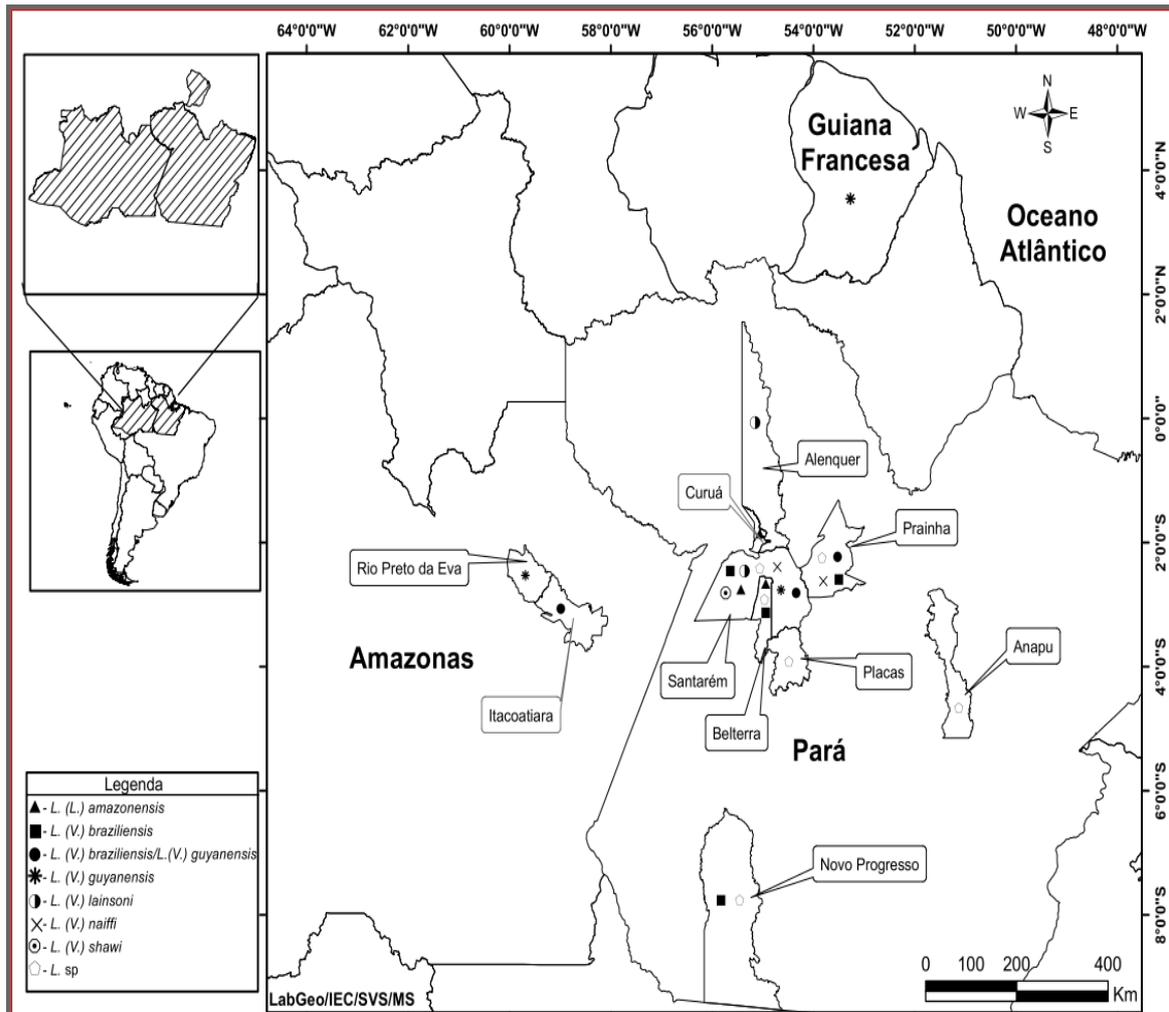


Figura 08. Distribuição geográfica de casos de LTA em 82 pacientes atendidos no CCZ de outubro de 2009 a novembro de 2011, com etiologia esclarecida.

Fonte: Protocolo da pesquisa.

### 6.3 Relação entre perfil clínico e demográfico de 82 casos e etiologia esclarecida segundo subgênero.

#### 6.3.1 Subgênero *Leishmania* X Subgênero *Viannia*.

Nesta pesquisa foram inclusos 102 indivíduos com diagnóstico de LTA, esses foram confirmados por exames de parasitológico direto e reação intradérmica de Montenegro, porém, apenas 80,4% desses tiveram etiologia esclarecida através de técnicas de biologia molecular referente ao subgênero, ficando distribuídos entre subgênero *Leishmania* 42,68% e subgênero *Viannia* 57,31% fig 09.

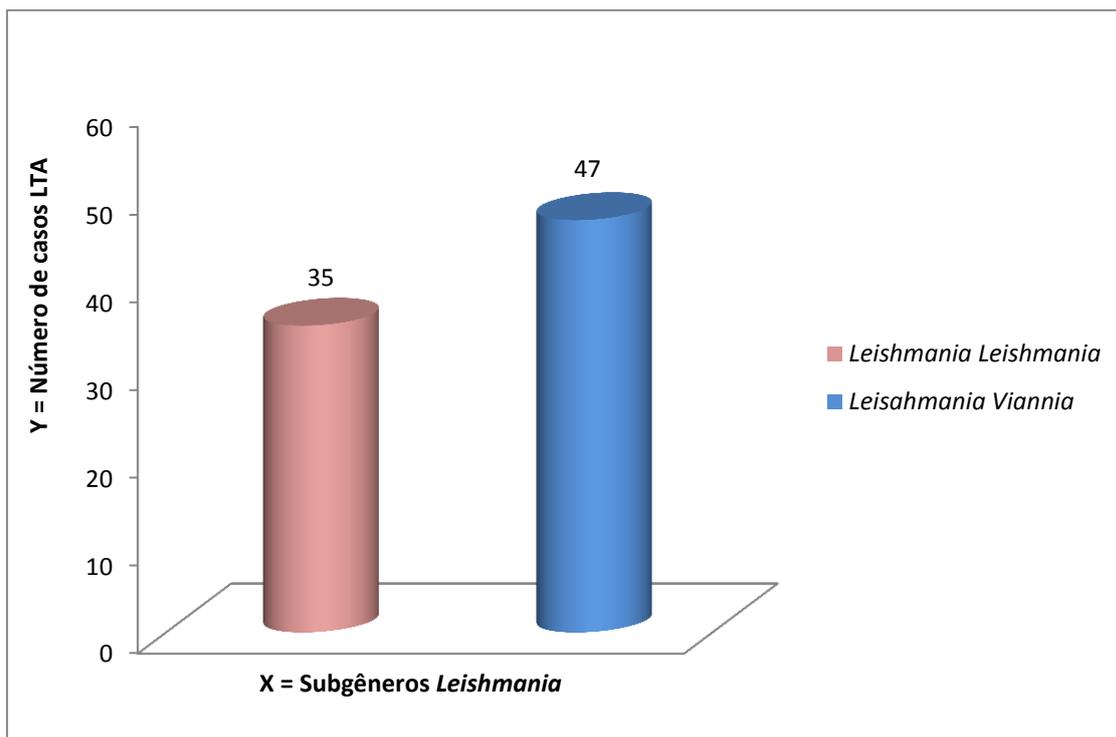


Figura 09: Distribuição de 82 casos com etiologia esclarecida entre subgênero *Leishmania* e *Viannia*.

Fonte: Protocolo da pesquisa.

### 6.3.2 Correlação entre subgêneros de *Leishmania* e variáveis pesquisadas.

Na tabela 02 observa-se a correlação entre o subgênero *Leishmania* e *Viannia* e as variáveis demográficas pesquisadas, através do teste qui-quadrado de aderência não obtivemos significância estatística quando comparados os subgêneros e as variáveis sexo, faixa etária e local de infecção.

Tabela 02: Correlação entre subgêneros de *Leishmania* e variáveis demográficas pesquisadas.

Variáveis	L. ( <i>Leishmania</i> )	L. ( <i>Viannia</i> )	Teste Qui Quadrado	Correção de Yates
<b>Sexo</b>				
Masculino	27	42	0,071	0,091
Feminino	08	05	0,405	0,579
<b>Faixa etária (em anos)</b>				
0 —  20	03	11	0,032	0,061
20 —  40	25	29	0,586	0,683
40 —  60	07	07	1	-
<b>Local de Infecção</b>				
Santarém	18	24	0,354	0,440
Outros locais de Infecção	17	23	0,342	0,429

Fonte: Protocolo de Pesquisa.

Na tabela 03 observa-se a correlação entre o subgênero *Leishmania* e *Viannia* e as variáveis clínicas pesquisadas, através do teste qui-quadrado de aderência não obtivemos significância estatística quando comparados os subgêneros e as variáveis tipo de lesão, tempo de lesão, número de lesão e localização das lesões.

Tabela 03: Correlação entre subgêneros de *Leishmania* e variáveis clínicas pesquisadas.

Variáveis	L. ( <i>Leishmania</i> )	L. ( <i>Viannia</i> )	Teste Qui Quadrado	Correção de Yates
<b>Tipo de lesão</b>				
Ulcerada	25	35	0,196	0,245
Não ulcerada	10	12	0,669	0,831
<b>Tempo de lesão (em meses)</b>				
0 —  02	24	35	0,152	0,193
02 —  04	06	10	0,317	0,453
04 —  06	02	01	1***	-
06 —  08	01	01	1***	-
<b>Número de lesão</b>				
Única	25	32	0,353	0,427
Múltipla	10	15	0,317	0,424
<b>Localização anatômica da lesão</b>				
Membros Inferiores	19	30	0,116	0,153
Membros Superiores	08	09	0,808	1
Outras localizações	08	08	0,0001	-

Fonte: Protocolo de Pesquisa.

\*\*\* Teste Exato de Fischer.

## 7 DISCUSSÃO

A leishmaniose tegumentar americana é uma doença que pode se apresentar em diferentes aspectos, suas manifestações clínicas variam de acordo com a espécie de *Leishmania* envolvida na infecção, culminando desde grandes variações entre tamanhos, número e localização de lesões cutâneas, até o envolvimento linfático.

As *Leishmanias* são protozoários patogênicos responsáveis por um diverso espectro de doença no homem. Variados estudos já foram desenvolvidos com intuito de buscar mecanismos para esclarecer as diferenças entre susceptibilidade e resistência à leishmaniose, mesmo assim, ainda não se chegou a uma relação bem definida e ou esclarecida a respeito.

Neste estudo caracterizamos a apresentação clínica de lesões leishmanióticas relacionando-as com a etiologia e distribuição geográfica. Ressalta-se ainda que a maioria dos casos são provenientes de áreas endêmicas para LTA, oriundos da região oeste do estado do Pará.

Certos de que as lesões por LTA apresentam similaridades com as manifestações clínicas de outras enfermidades, o diagnóstico precoce e preciso torna-se fundamental (GONTIJO; CARVALHO, 2003; REINTHINGER et al, 2007). A doença é diagnosticada a partir de uma análise clínica, epidemiológica e laboratorial.

Verifica-se uma grande expansão geográfica da área de ocorrência da LTA, no estado do Pará a incidência tem se mantido elevada, sendo o município de Santarém pólo notificador da região oeste do estado, registra-se que no período de estudo os casos incidentes somaram segundo o SINAN 315 casos, porém para esse estudo foram selecionados 102 casos, estando esta amostra representada em sua maioria por indivíduos do sexo masculino 85,29%. Estudos de Chagas et al (2006) no estado do Amazonas destacou que 86% dos casos foram registrados em homens, corroborando com outros

estudos descritivos que demonstraram resultados semelhantes, pois apontam maior exposição do sexo masculino a doença (ÁVILA et al, 2004; HARMS et al, 2005; SOCCOL, 2009 apud PADILHA et al, 2010).

Estudos de (DOMINGOS; VIANA, 2012) apontam a prevalência de infecção entre indivíduos do sexo masculino 78,05% e 63,45% respectivamente. Em contrapartida divergem de estudos realizados por Vélez et al (2001) na Colômbia que observaram a igualdade de infecção entre homens e mulheres, assim como, estudos no estado de Minas Gerais que também aponta proximidade de infecção entre homens (17,49 por 100 mil homens) e mulheres (14,39 por 100 mil mulheres) (MIRANDA, 2011).

É importante considerar que hábitos de vida diários podem fazer com que os homens estejam mais expostos aos riscos de infecção em locais de habitat natural do inseto vetor, assim como em atividades laborais.

Ocupações como lavradores foram registrados em 21% dos casos que podem ser exercidos por indivíduos de ambos os sexos e inclusive crianças e adolescentes que estão representados nesta pesquisa pela ocupação de estudantes que somaram 10% dos casos o que corrobora com achados de Ávila, (2004) que identificaram perfil semelhante na cidade de Ribeirão Preto, SP, onde a ocorrência de LTA foi detectada em destaque na faixa etária que corresponde de 10 a 50 anos de idade que juntos somam em média 90% da amostra estudada, semelhante a resultados observados por Silveira et al (1999) que em trabalhos realizados no estado do Paraná assinalaram 38% de lavradores e 61,2% do sexo masculino e ainda 70,8% na faixa etária de 15 a 49 anos. Portanto é relevante destacar o acometimento de homens em idade reprodutiva, laborativa e trabalhadores de área rural como principal foco da LTA.

Esse aspecto também foi observado nesta pesquisa, e pode ser associado a ocupações como operador de máquinas pesadas que somam 10% dos casos, o que pode estar associado diretamente à abertura de

estradas em área de mata fechada e a extração de madeira, ocupação esta exercida preferencialmente por indivíduos do sexo masculino.

A procedência dos pacientes quando se refere ao provável local de infecção mostram que 51,96% dos casos citaram o município de Santarém com distribuição variada por diversas áreas do município, seja de região de rios e várzea e ou de região de planalto, achado que pode confirmar o município como centro notificador na região oeste do estado do Pará.

No presente trabalho, podemos destacar 1,96% dos casos provenientes do estado do Amazonas, sendo um do município de Rio Preto da Eva e outro do município Itacoatiara, isto é, estes pacientes foram infectados no estado do Amazonas, porém tiveram diagnósticos e tratamento no município de Santarém, por se tratar de local de residência dos pacientes.

Estes municípios de procedência no estado do Amazonas são citados em trabalhos de Figueira et al (2008) que demonstraram como área de circulação das espécies de *Leishmania (V) braziliensis*, *L.(V) guyanensis* e ainda especificamente em Rio Preto da Eva (AM) *Leishmania (L) amazonensis* informação semelhante aos achados nesta pesquisas que indicam presença dos subgênero *Viannia* e espécies *L (V) braziliensis* e *L (V) guyanensis* nas amostras oriundas de tais municípios.

Ainda como local provável de infecção 2,94% dos casos relataram ser procedentes de área de garimpo não identificados nominalmente pertencentes a países fronteiriços com o Brasil, Guiana Inglesa e Guiana Francesa citados em estudos como área endêmica para LTA, isto é, foram infectados nos países citados, porém receberam diagnóstico e tratamento no município de Santarém por se tratar de município de residência dos pacientes.

Os demais casos concentraram-se em municípios da região oeste do estado do Pará, merecendo destaque o município de Santarém com 51,96% dos casos analisados, o município de Prainha com 23,53% dos casos que se

limita a leste com o município de Santarém e por dispersão geográfica e até mesmo acesso mais facilitado por meio terrestre migram para Santarém para receberem diagnóstico e tratamento. É presumível que esse elevado percentual de casos no município de Prainha se deve a exploração de madeira na área do Rio Curuatinga que atrai trabalhadores, que adentram as matas fechadas para prática laborativa e permanecem expostos dias e noites por um período ininterrupto de em média 30 dias, permanecendo expostos ao vetor por tempo integral, seja durante o trabalho ou período de descanso. Outros municípios citados como Belterra, Placas, Novo Progresso e outros configuram os casos ligados a outras ocupações como vendedores, professores, comerciantes que desenvolvem seus trabalhos visitando os municípios, assim como lavradores, domésticas, estudantes que residem nestes municípios que compõem toda uma região endêmica para LTA.

A LTA na Amazônia brasileira representa um grande desafio quanto ao conhecimento sobre essa protozoonose, este fato decorre da complexa interação entre as múltiplas espécies de *Leishmanias* que atuam como agentes etiológicos da doença e representam a resposta imune do homem infectado (SILVEIRA, et al. 2008).

Relacionado ao tipo de lesão, estudos de Veronesi (2002); Stoef (1993) citam que 80% dos casos analisados apresentam lesões do tipo ulceradas, resultado semelhante ao desta pesquisa onde 77% dos casos analisados apresentaram lesões ulceradas e 23% com outras designações como lesões crostosas, papulosas, vegetantes dentre outras, divergindo de achados de Valência et al (2012) que indicaram apenas 32% de sua amostra com lesões ulceradas.

Na forma cutânea da LTA a expressão da doença dá-se tanto por meio de lesões únicas e múltiplas, assim como apresentam características de úlceras, pápulas, crosta dentre outras, representando a maioria dos casos, isto é, a forma mais frequente da doença (SILVEIRA et al, 2004), 63,72% dos casos apresentaram lesões únicas e 36,27% lesões múltiplas divergindo de

Ávila et al (2004) que em seu estudo citam que 70% da amostra analisada tiveram lesões múltiplas.

A localização anatômica das lesões pode variar de acordo com a área de exposição. Corte (1990) demonstrou que 58,82% dos casos examinados tinham lesões localizadas nos membros superiores (MMSS) o que se diferencia da pesquisa atual que demonstrou a localização das lesões em 59% nos membros inferiores (MMII) e apenas 22,54% nos (MMSS) e corroboram com resultados de Domingos et al (2012) que demonstraram lesões nos membros inferiores em 41, 46% dos casos e ainda em estudos de Valência et al (2012) que apresentam 38% dos casos com lesões nos membros inferiores e 34,90% nos membros superiores .

Estudos de Silveira (1999) e Ávila (2004) apud Silva et al (1999) reportam ao tempo de evolução da doença e conseqüentemente a procura ao serviço de saúde para o diagnóstico da doença e tratamento, estes estudos citam como tempo médio de evolução o período de 03 até 10 meses, o que corrobora com estudos de Valência (2012) no Peru, que apontam tempo médio de evolução em 3 meses, achados que divergem da presente pesquisa que mostra o tempo mínimo em 74% dos casos de 0 a 2 meses de evolução e o máximo de 12 meses que somam 2% dos casos.

Relacionado ao diagnóstico realizado no município de Santarém o presente trabalho, demonstrou que 85,2% dos resultados foram positivos para o exame parasitológico direto (PD), divergindo de estudos realizados que sugerem que o PD tem baixa sensibilidade com percentuais entre 15 – 30 % de positividade (GOTO; LINDOSO, 2010). No entanto é válido destacar o tempo de lesão, pois quanto maior o tempo de evolução da lesão, menores são as chances de encontrar parasitas na amostra examinada. O resultado de 85,2% reflete o fato de que 74% das amostras tiveram tempo de evolução em até dois meses, período em que as lesões estão altamente parasitadas.

A reação intradérmica de Montenegro apresentou 69% de positividade nos casos em estudo, este teste é apontado por apresentar em média 80 a

90% de sensibilidade, e é utilizado para presumir a infecção, pois reflete a resposta de hipersensibilidade tardia e pode persistir positivo após cicatrização de lesões espontaneamente e ou tratadas (VÉGA-LOPES, 2003; BRASIL, 2007), o resultado apresentado nesse estudo se aproxima de achados de Viana (2012) que apresentou a reação intradérmica de Montenegro positiva em 64,35 dos casos analisados.

Segundo Silveira et al (2008) atualmente são reconhecidas sete espécies de *Leishmanias* circulantes no Brasil sendo seis do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania* é válido considerar o amplo espectro das manifestações seja de natureza clínica, histopatológica e imunopatológica da LTA. Como exemplo temos a *Leishmania Viannia braziliensis* associada ao pólo imunológico hiperrreativo, com forte hipersensibilidade celular e a *Leishmania Leishmania amazonensis* com pólo imunológico hiporreativo, com fraca ou mesmo ausente hipersensibilidade celular.

Baseado nessas informações ressaltamos que os achados nesta pesquisa reafirmam que no estado do Pará está circulante a maior diversidade de espécies causadoras da LTA no Brasil, pois em 82 casos com etiologia esclarecida foi possível confirmar a presença do subgênero *Leishmania (Leishmania)* com a representação de sua espécie *L. (L) amazonensis* e do subgênero *Leishmania (Viannia)* com representação de cinco das seis espécies citadas *L. (V) braziliensis*, *L. (V) guyanensis*, *L. (V) shawi*, *L. (V) lisoni* e *L. (V) naiffi*, não sendo identificadas apenas a espécie *L. (V) lindenbergi*, fato que pode ser justificado devido a pequena amostra examinada e que tiveram sua etiologia esclarecida e ressaltando a importância de ser realizadas novas pesquisas com intuito de se conhecer todas as espécies circulantes na região oeste do estado do Pará. Desta forma podemos construir um perfil clínico etiológico de uma série de casos na região oeste do estado do Pará que tiveram sua etiologia esclarecida segundo técnicas de biologia molecular.

Fica demonstrado nesta pesquisa que as *Leishmania* do subgênero *Viannia* foram identificadas em 57,31% dos casos e entre as espécies houve predomínio da *L. (V) braziliensis* somando 20,58% dos casos na região.

Portanto é imprescindível destacar a importância do diagnóstico não só clínico epidemiológico associado à reação intradérmica de Montenegro e parasitológico direto se fazem também necessário o conhecimento da espécie envolvida para melhor se estabelecer a epidemiologia da região, favorecendo o tratamento precoce e a diminuição de agravamento e possíveis sequelas.

Detectar lesões suspeitas de LTA, diagnosticar e tratar precocemente, aliados a conhecimentos de áreas de endemização, meios de transmissão e conseqüentemente redução do contato homem vetor é de fato uma das medidas de prevenção mais acessíveis, haja vista, que ainda não dispomos até o momento de vacinas que nos auxiliem nessa difícil tarefa que é prevenir a LTA.

A partir dos achados nesta pesquisa torna-se possível através da elaboração de um plano de ação que envolva não só o poder público por meio das secretarias municipais de saúde dos municípios que compõem a região, mais também de toda a comunidade, de forma a abraçar uma política pública de saúde voltada para o controle da LTA, tendo como norte a diminuição nos índices de casos novos, assim como, nos índices de reinfecção na região. É importante ressaltar que para o êxito dessa estratégia é necessário pensar na educação para a saúde como ponto de partida, buscando parcerias entre a comunidade, equipes de vigilância em saúde, estratégias de agentes comunitários de saúde, agentes de endemias e estratégias saúde da família para favorecer o reconhecimento de lesões clássicas da LTA e referenciar o mais precocemente possível para elucidação do diagnóstico e tratamento necessário.

Através da educação para a saúde é possível tornar todos os comunitários multiplicadores no reconhecimento de meios de transmissão, de áreas endêmicas e a prática de uma saúde ambiental, coletiva e individual

ativa, com ênfase na qualidade de vida de todo cidadão que reside na região oeste do estado do Pará.

## 8 CONCLUSÃO

De acordo com os objetivos propostos neste estudo e os resultados encontrados podemos concluir que:

O subgênero de *Leishmania* mais prevalente é o subgênero *Viannia*.

Foi observada a circulação de seis espécies de *Leishmania* na região oeste do Pará das sete circulantes no Brasil.

A *Leishmania Viannia braziliensis* foi a espécie mais prevalente nas amostras analisadas.

Nos casos de Leishmaniose Tegumentar Americana houve predominância em indivíduos adultos do sexo masculino.

Predominaram no estudo Lesões únicas, ulceradas, localizadas nos membros inferiores, com tempo de evolução da doença em até 02 meses.

Prevaleram os casos autóctones do município de Santarém quando comparados aos casos de outros municípios registrados no estudo.

## 9 REFERENCIAS

BRASIL, BASANO, S.A. & CAMARGO, L.M.A. **Leishmaniose tegumentar americana: Manual de controle da leishmaniose tegumentar americana**. Brasília, Ministério da Saúde, 2007. p. 1-179.

BRASIL. BASANO, S.A. & CAMARGO, L.M.A. **Leishmaniose Tegumentar Americana: histórico, epidemiologia e perspectiva de controle**. Revista Brasileira de Epidemiologia, São Paulo, v.07, p. 328-37, 2004.

BRASIL. ARRUDA. Mauro Maciel. **Leishmanioses**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. Brasília. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de recomendações para diagnóstico, tratamento e acompanhamento de pacientes com co-infecção leishmania-hiv**. Série A, normas e manuais, 1ª edição. Brasília. 106 p. 2011.

BRASIL. **Manual de controle da leishmaniose tegumentar americana**. Brasília, Ministério da Saúde, 2007. p. 1-179.

BRASIL, Caderno de Atenção Básica nº 22, Ministério da Saúde. **Vigilância em Saúde**. Zoonoses. Brasília – DF. 2009.

BRASIL, Instituto Oswaldo Cruz. **Manual Molecular Procedures**. Rio de Janeiro. 2009.

CARRERA, L.; Gazzinelli, R.T.; Badolato, R.; hieny, S.; Muller, W.; Kuhn, R.; sacks, D.L. **Leishmania promastigotas inibir seletivamente a indução interleucina 12 em derivadas da medula óssea de ratinhos susceptíveis macrófagos e resistência**. J Exp Med 183: 515-526,1996.

CARVALHO, E. M. et al. **Characterization of the imune response in subjects with self healing cutaneous leishmaniasis**. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, Northbrook, v. 53, n. 3, p. 273-277, 2006.

CASTILHO, T.M., SHAW, J.J., FLOETER-WINTER, L.M. **Novo ensaio de PCR usando desidrogenase de glucose-6-fosfato para a identificação de espécies de Leishmania**. Journal of Clinical Microbiology, 41: 540-546, 2003.

CLEM, A. **A current perspective on leishmaniasis patients**. Journal of global infectious diseases, Mumbai, v. 2, n. 2, p. 124-126, 2010.

CORTE, A A., NOZAWA, M R., FERREIRA, M C., PIGNATTI, M G., RANGEL, O., LACERRA, S S. **Aspectos eco-epidemiológicos da leishmaniose tegumentar no município de Campinas**. Caderno de Saúde Pública. Brasil. 1996.

COSTA, JACKSON. M.L, SALDANHA. ANA CRISTINA. R, NASCIMENTO. DIEGO, SAMPAIO. GILMARA, CARNEIRO. FRANKLIN, LISBOA. EDUARDO, SILBA. LORENA. M, BARRAL. ALDINA. **Modalidades clínicas, diagnóstico e abordagem terapêutica da leishmaniose tegumentar no Brasil**. Gazeta Médica da Bahia, 2009.

CROFT, S. L; SUNDAR, S; FAIRLAMB, A. **Drug resistance in leishmaniasis**. Clinical microbiology reviews, Washington, v. 19, n. 1, p. 111-126, 2006.

CUPOLILLO, E.GRIMALDI JR G., MOMEN, H. **A classificação geral da Leishmania usando taxonomia numérica**. J. Trop. Med., v.50, p.296-311, 1994. Diagnóstico clínico e diferencial. Brasília, Ministério da Saúde, p.136, 2006. Epidemiologia, 7(3): 328-337, 2004.

D' ÁVILA, Solange C.G.P; SILVA. J.; MEDOLA, BRUNO O.; SHIBUKAWA. **Estudo retrospectivo dos casos de leishmaniose tegumentar americana diagnosticados no laboratório de Patologia do Hospital de Base FAMERP nos anos de 1995-2000, com enfoque clínico e anatomopatológico**. Arq. Ciências Saúde 2004. 2004.

DOMINGOS, P L B, VIANA, A G, FRAGA, C A C, BONAN, P R F. **Ox 40 + T lymphocytes and IFN $\gamma$  are associated with American Tegumentary leishmaniasis pathogenesis**. Anais Brasileiros de Dermatologia. Montes Claros-MG. 2012.

DUJARDIN. J.C, VICTOR. K. DE DONKER. S, GUERBOUJ. S, AREVALO. J, LE RAY. D. **Epidemiologia molecular e diagnóstico de leishmania: O que aprendemos da estrutura do genoma, dinâmica e função?** Trans. Rev. Soc. Trop. Med. 2002.

FALQUETO, A.; SESSA, PA. **Leishmaniose tegumentar americana**. In: VERONESI R. e FOCCACIA PA, org Tratado de Infectologia. São Paulo: Editora Atheneu p. 1241-1253, 2002.

FIGUEIRA. L. P. ZANOTTI, M. PINHEIRO. F. G. FRANCO. A. M. R. **Caracterização isoenzimática de isolados humanos de *leishmania sp* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) dos municípios Rio Preto da Eva e Manaus, Estado do Amazonas**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 41(5):512-514, set-out.2008.

FIOCRUZ. **Estudo da leishmaniose tegumentar na terra indígena Xakribá: o parasito, os hospedeiros e os vetores. Minas Gerais**. Acesso em: <http://arca.icict.fiocruz.br/handle/icict/5505>. 2012.

FUNASA, Fundação Nacional de Saúde. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Ministério da Saúde, 2ª edição, Brasília. 2007.

GOTINJO, Bernardo. CARVALHO, Maria de Lourdes Ribeiro de. **Leishmaniose Tegumentar Americana**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 36(1): 71-80, jan-fev. 2003.

GOTO, H.; LINDOSO, J.A.L. **Diagnóstico e tratamento atual da leishmaniose cutânea e mucocutânea**. Expert Review of anti therapy, Londres, v.08, p. 419-433, 2010.

GUERMONPREZ, P.; Valladeau, J.; Zitvogel, L.; Thery, C.; Amigorena, S. 2002. **Antigen presentation and cell stimulation by dendritic cells**. Annu. Rev. Immunol. 20, 261-667.

GUIMARÃES. M.C.S, CELESTE. B.J, CAMARGO. M.E, DINIZ. J.M.P 1983. **Soroepidemiologia da leishmaniose cutânea do Vale Ribeira do Iguape. Os anticorpos IgM e IgG etected por meio de um ensaio imunoenzimático (ELISA)**. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 25: 108-112. Histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. Revista Brasileira de Medicina Tropical.

HOLZMULLER P, SERENO D, LEMESRE J L. **Lower nitric oxide susceptibility of trivalente antimony-resistant amastigotes of *Leishmania infantum***. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49: 4406-4409.

HOLZMULLER P., BRAS-GONÇALVES, R., LEMESRE, J.R. **Phenotypical characteristics, biochemical pathways, molecular targets and putative role of nitric oxide-mediated programmed cell death in *Leishmania***. Parasitology, London, v. 132, p. S19-S32, 2006.

HARMS G, FRAGA F, BATROFF B, OLIVEIRA F, FELDMEIER H. **Cutaneous leishmaniasis associated with extensive lymphadenopathy during na epidemic in Ceará State, northeast Brasil**. Acta Trop. 2005 Mar; 93(3):303-10.

HONDOWICZ, BD; Park, AY; Elloso, MM; Scott, P. 2000. **Manutenção de IL-12-responsivos células T CD4 +, durante uma resposta Th2 em *Leishmania major* camundongos infectados**. Eur J immunol. 30, 2007-2014.

ISHIKAWA, E.O.Y., SILVEIRA, F.T., MAGALHÃES, A.L.P., GUERRA-JR, R.B., MELO, M.N., GOMES, R., SILVEIRA, T.G.V., SHAW, J.J. **Genetic Variation In Populations Of *Leishmania* Species In Brasil**. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene,96 (1): 111-121, 2002.

JECKEL, J F., **Epidemiologia, Bioestatística e Medicina Preventiva**. 2ª ed. Artmed. 2004.

JONES TC, JOHNSON WD, BARRETO AC, LAGO E, BADARO R, CERF B. **Epidemiology of american cutaneous Leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis braziliensis***. The Journal of Infectious Diseases 156:73-83, 1987.

KEDZIERSKI, L. **Leishmaniasis Vaccine: Where are we today?** Journal of global infectious diseases, Mumbai, v.02, p. 177-185, 2010.

LAINSON, R., SHAW, J.J., SILVEIRA, F.T, SOUZA, M.A., BRAGA, R.R., ISHIKAWA, E.A.Y. **The Dermal leishmaniasis of Brazil, with Special Reference to the Eco-epidemiology of the Disease in Amazônia**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 89 (3): 435-443, 1994.

LAISON R, SHAW JJ, **Leishmaniasis in the New World**. In L Collier, A Balows, M Sussuman (eds), *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. 10<sup>a</sup>ed. Vol 5. Parasitology, Arnold, London 2005; 313-349.

LIMA, E.B., PORTO, C., MOTTA, J.O.C., SAMPAIO, R.N.R. **Tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Anais Brasileiro de Dermatologia 82 (2): 111-24, 2007.

LIPOLDOVÁ, M.; DEMANT, P. **Genetic susceptibility to infectious disease: lessons from mouse models of leishmaniasis**. Nature Reviews Genetics, Londres, v. 7, p. 294-305, 2006.

MACHADO. P. R. L, CARVALHO, L. ARAÚJO, M. I.A. S, CARVALHO, E. **Mecanismos de resposta imune às infecções**. Educação médica continuada, Anais Brasileiro de dermatologia, Rio de Janeiro, 79 (6): 647-664, nov/dez.2004.

MAGALHÃES. A.V, MORAES. M.A.P, RAICK. N.A, LLANOS-CUENTAS. E.A, COSTA. J.M.L, CUBA. C.C, MARSDEN. P.D 1986. **Histopatologia da leishmaniose tegumentar por *Leishmania braziliensis braziliensis***. Rev Inst Med Trop São Paulo 28: 253-262. métodos, problemas, perspectivas. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 21(2):361-378, mar-abr, 2005.

NEVES, D P. **Parasitologia Humana**. 11. Ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

NUNES V, DORVAL M, OSHIRO E, NOGUCHI R, ARÃO L, HANS G, ESPÍNDOLA M. **Estudo epidemiológico sobre leishmaniose tegumentar (LT) no município de Corguinho MS – Estudos na população humana**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 28: 185-193. 1995.

NYLÉN, S.; GAUTAM, S. **Immunological Perspectives of Leishmaniasis**. Journal of global infectious diseases, Mumbai, v.2, n.2, p.135-146.2010.

PISCOPO, T.V. MALLIA, A.C. **Leishmaniasis postgraduate medical journal**, Londres, v.82, p. 649-657. 2006.

RAMOS, SA, et al, **Detection and identification of human pathogenic *Leishmania* and *Trypanosoma* species by hybridization of PCR-amplified**

**mini-exon repeats.** Experimental Parasitology. Virginia, v. 82, p. 242-250.1996.

RANGEL, E. F.; LAISON, R. **Flebotomíneos do Brasil.** 1ª edição. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, 2003.

REIS, L.C. **Mecanismos imunológicos na resposta celular e humoral na Leishmaniose Tegumentar Americana.** Revista de Patologia Tropical, São Paulo, v.35, n.2, p. 103-115, 2006.

REITHINGER R. Dujardin JC, Louzir H, Pirmez C, Alexander B, Brooker S. **Cutaneous leishmaniasis Lancet Infect Dis.** 2007 Sep; 7(9): 581-96.

REINER, S.L. & LOCKS-LEY, R.M. **The Regulation of Immunity to Leishmania major.** Annual Review of Immunology. 13: 151-177, 1995.

REY, L. **Parasitologia.** 2ª edição. Editora Guanabara Koogan, 2001.

ROGERS, K.A.; Dekrey, G.K. Mbow, M.L.; Gillespie, R.D.; Brodskyn, C.I.; Titus, R.G. **Type 1 and type 2 responses to Leishmania major. FEMS Microbiol Lett** 209: 1-7, 2002.

SINGH N. **Drug resistance mechanisms in clinical isolates of Leishmania donovani.** Indian J Med Res. 2006; 123(3) 411-22.

SINGH, B. **Molecular methods for diagnosis and epidemiological studies of parasitic infections.** International Journal for Parasitology, Australia, v.27, p. 1135-1145, 1997.

SCOTT, P. & FARREL, J.P. **Experimental cutaneous leishmaniasis: induction and regulation of T Cells following infection of mice with Leishmania major in mice.** J Exp Med 178: 567-577, 1993.

SOCCOL VT, CASTRO EA, SCHNELL e SCHUHLI G, CARVALHO Y, MARQUES E, PEREIRA EF, et al. **A new focus of cutaneous leishmaniasis in the central área of Paraná state, southeen Brasil.** Acta Tropical. 2009 Sep; 111 (3): 308-15.

SILVA, N S., VIANA A B., CORDEIRO, J A., CAVASINI, S A. **Leishmaniose Tegumentar Americana no estado do Acre.** Brasil. Revista de Saúde Pública, 1999.

SILVEIRA, F.T., LAINSON, R., CORBETT, C.E.P. **Clinical and Immunopathological Spectrum of American Cutaneous Leishmaniasis with Special Reference to the Disease in Amazonian Brazil - A Review.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 99(3): 239-251, 2004.

SILVEIRA, F.T., MULLER, SILVIA. R., SOUZA, ADELSON. A. A, LAINSON, RALPH, GOMES, MARCIA. D. LAURENTI, CORBETT. CARLOS

E.P. **Revisão sobre Patogenia da leishmaniose tegumentar americana na Amazônia, com ênfase à doença causada por *Leishmania (V) braziliensis* e *Leishmania (L) amazonensis*.** Revista Paraense de Medicina. V.22 n. 1. Belém. Mar.2008.

SILVEIRA, T G., ARRAES, S M., BERTOLINI, D A., TEODORO, U., LONARDONI, M V., ROBERTO, A C. **Observações sobre o diagnóstico laboratorial e a epidemiologia da leishmaniose tegumentar no estado do Paraná.** Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 1999.

SILVEIRA FT, ISHIKAWA EAI, DE SOUZA AAA, LAINSON R. **An outbreak of cutaneous leishmaniasis Among soldieres in Belém, Pará State, Brasil.** Caused by *Leishmania (viannia) lindenbergi n. sp.*, a new leishmanial parasite of man in the Amazon region. Parasite 2002; 9: 43-50.

SOARES, D. C., MIRANDA, J. F., ZAMPIERI, R. A., Nunes, H.M, SHAW, J. J., FLOETER-WINTER, GARCEZ, LM. **Etiologia da leishmaniose tegumentar humana determinada pela PCR-glicose-6-fosfato desidrogenase no município de Juruti, Pará** In: 44° Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2008, Porto Alegre.

ULIANA, S.R.B.; Nelson, K.; Beverley, S.M.; Camargo, E.P.; Floeter-Winter, L. Discrimination amongst leishmania by polymerase chain reaction and hybridization with small subunit ribosomal DNA derived oligonucleotides. J Euk Microbiol 41 (4): 324-30, 1994.

VALLI. L.C.P, PASSOS. V.M.A, DIETZE. R, CALLAHAN. H.L. 1999. **Respostas imunes humorais em pacientes com leishmaniose de mucosas e cutânea causada por *Leishmania braziliensis*.** *J Parasitol* 85: 1076-1083. Vigilância Epidemiológica. Atlas de leishmaniose tegumentar americana.

VALÊNCIA, B M, VELAND, N, ADANIV, U S. **Non-Invasive cytology Brush PCR. For the diagnosis and causative Species, indentification of American cutaneous leishmaniasis in Peru.** National library of mrdicine V. 7(11), 2012.

VÉGA-LOPEZ F. **Diagnosis of cutaneous leishmaniasis.** Curr Opin Infect Dis. 2003 Apr; 16(2):97-101.

VELEZ, ID.; HENDRICKX, E.; ROBLEDO, SM.; AGUSELO, SP. **Leishmaniosis cutânea em Colombia y género.** Cadernos de Saúde Pública, v. 17, n.1, p. 171-180, 2001.

VERONESI R. Focaccia R. **Tratado de Infectologia, In: Falqueto A, Sessa PA, editores. Leishmania tegumentar americana. 2ª edição.** São Paulo: Atheneu; 2002. P. 1241-53.

VIANA AG, SOUZA, F V; DE PAULA, A M B; SILVEIRA, M F; BOTELHO, A C  
C. **Aspectos clínicos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar em  
Montes Claros – MG. Ver. Med. MG. 2012; 22(1): 1-129.**

WHO, World Health Organization. **Controle de Leishmaniose.** Who Technical  
Report Series. 949, Geneva, 22-26 march 2010.

## ANEXO A:



**Parecer de Aprovação nº 007/2010**  
Protocolo CEP/IEC - Nº 018/09  
CAAE: 0021.0.072.000-09

Ananindeua/PA, 26 de fevereiro de 2010.

### COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM HUMANOS- CEP

Projeto: **“Bases epidemiológicas para vigilância e controle da leishmaniose tegumentar no município de Santarém, estado do Pará.”**

Pesquisador Responsável: Lourdes Maria Garcez dos Santos

Conforme decisão do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, cientificamos que o projeto em epígrafe foi considerado **aprovado**.

Recomendamos a coordenação que mantenha atualizados todos os documentos pertinentes ao projeto.

Este CEP se incumbirá dos procedimentos de acompanhamento preconizados pela Resolução 196/96 e suas complementares, do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde.

Deverá ser encaminhado relatório anual e, ao final, elaborado um relatório consolidado, incluindo os resultados finais da pesquisa, em um prazo máximo de 60 (sessenta) dias, após a finalização da pesquisa.

Atenciosamente,

  
MANOEL DO CARMO PEREIRA SOARES  
Coordenador do CEP/IEC

## ANEXO B:



**Parecer de Aprovação nº 002/2010**  
Protocolo CEP/IEC - Nº 024/09  
CAAE: 0030.0.072.000-09

Ananindeua/PA, 20 de janeiro de 2010.

### COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM HUMANOS

Projeto: **“Etiologia da leishmaniose tegumentar em dois municípios no Oeste do Pará: diversidade e relação com o perfil clínico-epidemiológico e com a resposta ao tratamento.”**

Pesquisador Responsável: **LOURDES MARIA GARCEZ DOS SANTOS**

Conforme decisão do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, cientificamos que o projeto em epígrafe foi considerado **aprovado**. Recomendamos a coordenação que mantenha atualizados todos os documentos pertinentes ao projeto.

Este CEP se incumbirá dos procedimentos de acompanhamento preconizados pela Resolução 196/96 e suas complementares, do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde.

Deverá ser encaminhado relatório anual e, ao final, elaborado um relatório consolidado, incluindo os resultados finais da pesquisa, em um prazo máximo de 60 (sessenta) dias, após a finalização da pesquisa.

Atenciosamente,

  
MANOEL DO CARMO PEREIRA SOARES  
Coordenador do CEP/IEC

MS - SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE


**INSTITUTO  
EVANDRO  
CHAGAS**

 MS - SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE  
 INSTITUTO EVANDRO CHAGAS

**ETIOLOGIA DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR EM DOIS MUNICÍPIOS DO OESTE DO PARÁ:  
 PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO, DIVERSIDADE GENÉTICA E RESPOSTA AO  
 TRATAMENTO" E "BASES PARA A VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DA  
 LEISHMANIOSE TEGUMENTAR NO MUNICÍPIO DE SANTARÉM, PARÁ**
**FICHA DE ACOMPANHAMENTO**

Nº TCLE \_\_\_\_\_

Reg. nº \_\_\_\_\_

Data do atendimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**DADOS PESSOAIS**

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

Sexo:  (1) Masculino  (2) Feminino

Idade: \_\_\_\_\_ anos

Data do Nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Endereço atual: \_\_\_\_\_

Bairro: \_\_\_\_\_

Município: \_\_\_\_\_

UF: \_\_\_\_\_ Fone: ( ) \_\_\_\_\_

Naturalidade: \_\_\_\_\_

Ocupação principal: \_\_\_\_\_

**INFORMAÇÕES EPIDEMIOLÓGICAS**
Ausentou-se do local que mora nos últimos 60 dias?  (1) Sim  (2) Não

Se afirmativo. Qual a localidade? \_\_\_\_\_

UF: \_\_\_\_\_

Tempo de ausência: \_\_\_\_\_

Início: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Término: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

duração: \_\_\_\_\_

Local de exposição à doença:  (1) Rural-residência  (2) Rural-floresta ou entorno  (4) Urbana  (5) Outro

Local de contágio \_\_\_\_\_

Exerce atividades de:  (1) Caça  (2) Pesca  (4) Militar (5) Agricultura  (6) mineração  (7) Outros \_\_\_\_\_Com que frequência?  (1) diária  (2) Semanal  (4) Quinzenal  (5) MensalInício da Lesão:  (1) Picada de inseto  (2) Trauma  (4) Carrapato  (5) Não sabe  (6) Outros \_\_\_\_\_
**INFORMAÇÕES CLÍNICAS**
Forma clínica da Lesão:  (1) Cutânea  (2) Mucosa  (4) Difusa  (5) DisseminadaTipo:  (1) Ulcerosa  (2) Placa  (4) Verrucosa  (5) Vegetante  (6) Papulosa  (7) Nodular  (8) Cicatricial  (9) CrostaLocal e N° das Lesões:  (1) Membros superiores \_\_\_\_\_  (2) Membros inferiores \_\_\_\_\_  (4) Cabeça \_\_\_\_\_ (5)  Tronco \_\_\_\_\_

Diâmetro das lesões (mm): 1- \_\_\_\_\_ 2- \_\_\_\_\_

Tempo da doença: \_\_\_\_\_

**ASPECTO DA LESÃO:**
**Se múltiplas, o aspecto da lesão principal (Marque com X os aspectos presentes):**
 Formato regular Formato irregular Borda elevada Borda infiltrada Fundo granuloso Exsudato Eritema Enduração Infecção secundária Linfangite visível Linfangite palpável Lesões satélites Linfadenopatia

Observações sobre os itens marcados: \_\_\_\_\_

**PASSADO MÓRBIDO PESSOAL**
Presença de co-morbidades:  (1) Sim  (2) NãoSe afirmativo, tipos de co-morbidades:  (1) AIDS:  (2) Diabetes  (4) hipertensão arterial  (5) Cardiopatia  (6) Hepatite (7) Doença reumática  (8) Tuberculose  (9) Doença renal  (10) Outras: \_\_\_\_\_Foi tratado (a) para LTA?  (1) Sim  (2) Não  (4) Não lembraSe afirmativo. Tipo de tratamento:  (1) Caseiro. Qual \_\_\_\_\_ (2) Prescrito pelo médico. Qual \_\_\_\_\_
**EXAMES REALIZADOS**
**Exames de rotina para LTA**
Parasitológico Direto:  Positivo  Negativo  Não realizadoReação de Montenegro:  Positivo  Negativo  Não realizado

Diâmetro (mm): \_\_\_\_\_

**Histopatológico:**  Encontro do Parasita  Compatível
 Não Compatível  Não realizado

Descrição: \_\_\_\_\_

**Exames Pré-tratamento**Exames Laboratoriais:  Sim  NãoHemograma:  Sim  Não Resultado:  Normal  AlteradoRenal:  Sim  Não Resultado:  Normal  Alterado Outra \_\_\_\_\_Hepática:  Sim  Não Resultado:  Normal  Alterado

paciente: \_\_\_\_\_

ECG (cardiopatas e/ou > 45 anos):  Sim  Não Resultado:  Normal  Alterado

Obs: \_\_\_\_\_

**Tratamento**Droga:  Glucantime  Anfotericina B  PentamidiDose:  15mg/Kg/Sb<sup>+5</sup>/dia

Peso do \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura/carimbo do médico (a):**Exames realizados no IEC/UEPA****Cultura:** Positivo  Negativo  Não realizadoCriopreservação:  Sim  Não  Código: \_\_\_\_\_**Análise Molecular do Fragmento de Pele:**PCR\_SSUrDNA:  Positivo  Negativo  Não realizado

Seqüenciamento: \_\_\_\_\_

PCR\_G6PD/ISVB:  Positivo  Negativo  Não realizadoPCR\_G6PD /ISVG:  Positivo  Negativo  Não realizadoPCR\_G6PD /ISVSP:  Positivo  Negativo  Não realizadoPCR\_G6PD /ISVNL:  Positivo  Negativo  Não realizado**Análise Molecular do Isolado:**PCR\_SSUrDNA:  Positivo  Negativo  Não realizado

Seqüenciamento: \_\_\_\_\_

PCR\_G6PD/ISVB:  Positivo  Negativo  Não realizadoPCR\_G6PD /ISVG:  Positivo  Negativo  Não realizadoPCR\_G6PD /ISVSP:  Positivo  Negativo  Não realizadoPCR\_G6PD /ISVNL:  Positivo  Negativo  Não realizado

RAPD: \_\_\_\_\_

**Análise Bioquímica:** Anticorpos Monoclonais: \_\_\_\_\_ Eletroforese de Isoenzimas: \_\_\_\_\_**ACOMPANHAMENTO CLÍNICO**

1º retorno em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ (Um mês após o término do tratamento)

Grau de epitelação:  Completa  Incompleta  Sem alteração (..... x .....mm)

Nº do arquivo de fotos

Localização da endureção:  Ausente  Apenas na borda  Toda a cicatriz**Alterações laboratoriais:**

cicatriz

Hemograma:  Sim  Não Resultado:  Normal  AlteradoRenal:  Sim  Não Resultado:  Normal  Alterado

Linfadenopatia

Hepática:  Sim  Não Resultado:  Normal  Alterado**Distribuição do eritema:** Ausente  Borda  Centro da**Outras manifestações:** Pápulas perilesionais  OutrosO tratamento foi:  Regular ( $\leq 72$ h entre duas doses)  Irregular ( $> 72$ h entre duas doses)O paciente relata queixas de reações adversas:  Sim  Não

Obs: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura/carimbo do médico (a):

2º retorno em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ (Dois meses após o término do tratamento)

Nº do arquivo de fotos

**Grau de epitelação:** Completa  Incompleta  Sem alteração (..... x .....mm)

cicatriz

**Localização da endureção:**

perilesionais

 Ausente  Apenas na borda  Toda a cicatriz**Distribuição do eritema:** Ausente  Borda  Centro da**Outras manifestações:**  Pápulas Linfadenopatia  Outros

Obs: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura/carimbo do médico (a):

**3º retorno em:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ (três meses após o término do tratamento)  
fotos \_\_\_\_\_

**Grau de epitelação:**

Completa  Incompleta  Sem alteração (..... x .....mm)  
cicatriz

**Localização da endureção:**

Ausente  Apenas na borda  Toda a cicatriz

Linfadenopatia

Abandono do Tratamento (paciente não comparece no 3º. retorno):  Não  Sim

Evolução do caso:  curado  não curado

Obs: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura/carimbo do médico (a):

**Nº do arquivo de**

**Distribuição do eritema:**

Ausente  Borda  Centro da

**Outras manifestações:**

Pápulas perilesionais

Outros

**Se curado, 4º retorno em:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ (seis meses após o término do tratamento)  
fotos \_\_\_\_\_

**Grau de epitelação:**

Completa  Incompleta  Sem alteração (..... x .....mm)  
cicatriz

**Localização da endureção:**

Pápulas perilesionais

Ausente  Apenas na borda  Toda a cicatriz

Obs: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura/carimbo do médico (a):

**Nº do arquivo de**

**Distribuição do eritema:**

Ausente  Borda  Centro da

**Outras manifestações:**

Linfadenopatia  Outros

Se não curado, repetir o mesmo esquema terapêutico e mesmos critérios de acompanhamento clínico e observar:

**CONCLUSÃO:**

Curado após o 1º esquema terapêutico

Curado após 1º esquema, mas com reativação após \_\_\_\_\_ meses

Não curado após o 1º esquema

Paciente não retornou

Obs: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura/carimbo do médico (a):

FICHA DE INVESTIGAÇÃO **LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA****CASO CONFIRMADO:**

**Leishmaniose cutânea:** todo indivíduo com presença de úlcera cutânea, com fundo granuloso e bordas infiltradas em moldura, com confirmação por diagnóstico laboratorial ou clínico epidemiológico.

**Leishmaniose mucosa:** todo indivíduo com presença de úlcera na mucosa nasal, com ou sem perfuração ou perda do septo nasal, podendo atingir lábios e boca (palato e nasofaringe), com confirmação por diagnóstico laboratorial ou clínico epidemiológico.

Dados Gerais	1 Tipo de Notificação 2 - Individual		3 Data da Notificação	
	2 Agravado/doença <b>LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA</b>		Código (CID10) <b>B 5 5.</b>	
	4 UF	5 Município de Notificação	Código (IBGE)	
	6 Unidade de Saúde (ou outra fonte notificadora)		Código	7 Data do Diagnóstico
Notificação Individual	8 Nome do Paciente			9 Data de Nascimento
	10 (ou) Idade 1 - Hora 2 - Dia 3 - Mês 4 - Ano	11 Sexo M - Masculino F - Feminino I - Ignorado	12 Gestante 1-1º Trimestre 2-2º Trimestre 3-3º Trimestre 4- Idade gestacional Ignorada 5-Não 6- Não se aplica 9-Ignorado	13 Raça/Cor 1-Branca 2-Preta 3-Amarela 4-Parda 5-Indígena 9- Ignorado
	14 Escolaridade 0-Analfabeto 1-1ª a 4ª série incompleta do EF (antigo primário ou 1º grau) 2-4ª série completa do EF (antigo primário ou 1º grau) 3-5ª a 8ª série incompleta do EF (antigo ginásio ou 1º grau) 4-Ensino fundamental completo (antigo ginásio ou 1º grau) 5-Ensino médio incompleto (antigo colegial ou 2º grau) 6-Ensino médio completo (antigo colegial ou 2º grau) 7-Educação superior incompleta 8-Educação superior completa 9-Ignorado 10- Não se aplica			
	15 Número do Cartão SUS		16 Nome da mãe	
Dados de Residência	17 UF	18 Município de Residência	Código (IBGE)	19 Distrito
	20 Bairro		21 Logradouro (rua, avenida,...)	
	22 Número		23 Complemento (apto., casa, ...)	
	24 Geo campo 1		25 Geo campo 2	
	26 Ponto de Referência		27 CEP	
	28 (DDD) Telefone		29 Zona 1 - Urbana 2 - Rural 3 - Periurbana 9 - Ignorado	
	30 País (se residente fora do Brasil)			
	<b>Dados Complementares do Caso</b>			
Antec. Epidem.	31 Data da Investigação		32 Ocupação	
	33 Presença de Lesão 1 - Sim 2 - Não Cutânea Mucosa		34 Em Caso de Presença de Lesão Mucosa, Há Presença de Cicatrizes Cutâneas 1 - Sim 2 - Não	
Dados Clínicos	35 Co-infecção HIV 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado			
	36 Parasitológico Direto 1 - Positivo 2 - Negativo 3 - Não Realizado		37 IRM 1 - Positivo 2 - Negativo 3 - Não Realizado	
Dados Labor.	38 Histopatologia 1 - Encontro do Parasita 2 - Compatível 3 - Não Compatível 4 - Não Realizado			
	39 Tipo de Entrada 1 - Caso Novo 2 - Recidiva 3-Transferência 9- Ignorado		40 Forma Clínica 1 - Cutânea 2 - Mucosa 9- Ignorado	
Tratamento	41 Data do Início do Tratamento		42 Droga Inicial Administrada 1 - Antimonial Pentavalente 2 - Anfotericina b 3 - Pentamidina 4 - Outras 5 - Não Utilizada	
	43 Peso Kg		44 Dose Prescrita em mg/kg/dia Sb <sup>+5</sup> 1 - Menor que 10 2 - Maior ou igual a 10 e menor que 15 3 - igual a 15 4 - Maior que 15 e menor que 20 5 - Maior ou igual a 20	
	45 Nº Total de Ampolas Prescritas Ampolas		46 Outra Droga Utilizada, na Falência do Tratamento Inicial 1 - Anfotericina b 2 - Pentamidina 3 - Outros 4 - Não Se Aplica	

