

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

SILVIA CRISTINA DA SILVA PINHEIRO

PREVALÊNCIA DA CO-INFECÇÃO *Leishmania*/HIV EM PACIENTES ATENDIDOS
EM UNIDADES DE REFERÊNCIA DO MUNICÍPIO DE BELÉM

BELÉM-PARÁ

2009

SILVIA CRISTINA DA SILVA PINHEIRO

**PREVALÊNCIA DA CO-INFECÇÃO *Leishmania*/HIV EM PACIENTES ATENDIDOS
EM UNIDADES DE REFERÊNCIA DO MUNICÍPIO DE BELÉM**

Dissertação de Mestrado apresentada a banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, área de concentração Patologia das Doenças Tropicais, do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientadora: Prof^a Dr^a Edna Aoba Yassui Ishikawa.

BELÉM-PARÁ

2009

SILVIA CRISTINA DA SILVA PINHEIRO

**PREVALÊNCIA DA CO-INFECÇÃO *LEISHMANIA*/HIV EM PACIENTES
ATENDIDOS EM UNIDADES DE REFERÊNCIA DO MUNICÍPIO DE BELÉM**

Dissertação de mestrado apresentada para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais

Aprovada em:

Conceito:

Banca Examinadora:

Prof^a Dr^a Edna Aoba Yassui Ishikawa
Orientador/UFPA

Prof. Dr. Juarez Antonio Simões Quaresma
Membro/UFPA

Prof^a Dr^a Rita Catarina Medeiros Sousa
Membro/UFPA

Prof^a Dr^a Patrícia Karla Ramos
Membro IEC

BELÉM-PARÁ

2009

RESUMO

Com o objetivo de investigar a prevalência da co-infecção *Leishmania*/HIV em pacientes sorologicamente positivos para o HIV, sem histórico da co-infecção, foi realizado um estudo transversal através de análise de ficha clínico-epidemiológica aplicada aos pacientes registrados nas unidades de referência para aids em Belém: CASA DIA e URE – DIPE, no período de julho a outubro de 2008. Foram coletadas amostras de sangue de 377 pacientes que concordaram em participar da pesquisa, por análise de IFI e PCR e em 55 deles foi realizada a IDRM. A média de idade foi de 38,2 anos e 59% dos pacientes era do sexo feminino. A Carga viral média entre os 249 pacientes que apresentaram informações completas a respeito desta variável, foi de 30952,2. A IFI foi positiva em 08 pacientes e a PCR foi positiva em 22. Um total de 314 pacientes encontrava-se em tratamento com TARV. Foram registrados 218 pacientes com episódios de doenças associados à condição HIV positivos. Cinco pacientes relataram episódio de co-infecção *M. leprae*/HIV, e nenhum deles apresentou resultado positivo para *Leishmania* pela PCR. O uso de drogas intravenosas foi relatado por 27 pacientes, porém apenas um apresentou PCR positivo, indicando que a transmissão não foi do tipo inter-humana. Dentre os pacientes que foram submetidos à IDRM, nenhum apresentou reação positiva. No presente trabalho, a técnica de PCR foi mais sensível que a reação de IFI, 6% e 2%, respectivamente.

Palavras-chave: Leishmaniose, HIV, Co-infecção.

ABSTRACT

In order to investigate the prevalence of *Leishmania* infection in HIV seropositive patients without co-infection history, a cross-sectional study by analyzing clinical and epidemiological data from patients enrolled in AIDS Reference Units in Belém: CASA DIA and URE-DIPE were carried out between July and October 2008. Blood samples were collected from 377 patients that agreed to participate in the study for IFI and PCR assay and 55 of them were submitted to skin test, IDR. The mean age was 38.2 years and 59% were female. The viral-load medians among 249 patients who had complete information about this variable were 30952.2. IFI was positive in 08 patients and PCR was positive in 22. A total of 314 patients were treated with HAART. We recorded 218 patients with episodes of diseases associated to HIV condition. Five patients related *M. leprae* / HIV co-infection, and none of them showed positive results by PCR for *Leishmania*. The intravenous drug use was related by 27 patients but the PCR was positive for *Leishmania* in only one patient, indicating that the transmission type was not inter-human. Among the patients who were submitted to IDR, none of them showed positive reaction. In the present study, the PCR technique was more sensitive than IFI reaction, 6% and 2% respectively.

Keywords: Leishmaniasis, HIV, Co-infection.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Desenho esquemático do ciclo evolutivo das leishmanioses.....	17
FIGURA 2 - Distribuição mundial da leishmaniose e dos países que reportaram co-infecção <i>Leishmania</i> /HIV no ano de 2000.....	19
FIGURA 3 - Densidade de casos, circuitos de LTA por município. Brasil, 2004 a 2006 e casos em 2007.....	22
FIGURA 4 - Distribuição de casos autóctones de LV, segundo município, Brasil, 2002.....	25
FIGURA 5 - Desenho esquemático do vírus HIV.....	29
GRÁFICO 1 - Número de casos e coeficiente de detecção de casos autóctones de LTA. Brasil 1989 a 2008 ^a	21
GRÁFICO 2 - Casos e incidência de leishmaniose visceral, Brasil 1999 a 2008 ^a	27
QUADRO 1 - Frequência e percentual do resultado da PCR dos 377 pacientes atendidos.....	46
QUADRO 2 - Doenças diagnosticadas em associação ao HIV no grupo do estudo.....	89
QUADRO 3 - Diagnóstico de infecção por <i>Leishmania</i> em pacientes com HIV, utilizando técnicas de PCR, IFI e IDRM.....	90
QUADRO 4 - Relação dos resultados de PCR, IFI e IDRM e dos principais fatores que podem estar associados a maior probabilidade de testes positivos.....	97

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Frequência e percentual da associação entre PCR e gênero dos 377 pacientes.....	47
TABELA 2 - Frequência e percentual da associação entre PCR e sorologia dos 377 pacientes....	48
TABELA 3 - Frequência e percentual da associação entre PCR e TARV.....	48
TABELA 4 - Frequência e percentual da associação entre PCR e doenças associadas.....	49
TABELA 5 - Frequência e percentual entre a associação PCR e co-infecção com hanseníase.....	49
TABELA 6 - Frequência e percentual da associação entre PCR e procedência dos pacientes.....	50
TABELA 7 - Frequência e percentual da associação entre PCR e procedência ou não procedência de região hiperendêmica de hanseníase dos 377pacientes.....	51
TABELA 8 - Relação entre PCR e procedência de região endêmica de leishmaniose.....	51
TABELA 9 - Relação entre PCR e transfusão de sangue dos 377 pacientes estudados.....	52
TABELA 10 - Associação entre PCR e uso de drogas intravenosas.....	53
TABELA 11 - Medidas descritivas da relação entre a variável idade e a PCR.....	53
TABELA 12 - Medidas descritivas da CV inicial e atual.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	- síndrome da imunodeficiência adquirida
AMO	- aspirado de medula óssea
°C	- graus Celsius ou graus centígrados
CD	- grupo de diferenciação
dATP	- desoxiadenosinatrifosfato
dCTP	- desoxicitidinatrifosfato
dGTP	- desoxiguanosinatrifosfato
dNTP	- desoxinucleotidiotrifosfato
dTTP	- desoxitimidinatrifosfato
DNA	- ácido desoxirribonucléico
DST	- doença sexualmente transmissível
EDTA	- ácido etilenodiaminotetracético
HAART	- terapia anti-retroviral altamente eficaz
Hcl	- ácido clorídrico
HIV	- vírus da imunodeficiência humana
IFN- γ	- interferon gama
IDRM	- intradermorreação de Montenegro
IL-	- interleucina
IL-2R	- receptor de IL-2
Kcl	- cloreto de potássio
kDNA	- DNA do cinetoplasto
LCAD	- leishmaniose cutânea anérgica difusa
LCDB	- leishmaniose cutânea disseminada boderline
LCDP	- leishmaniose cutânea difusa primária
LCL	- leishmaniose cutânea localizada
LMC	- leishmaniose mucocutânea
LPG	- lipofosfoglicano
LTPK	- leishmaniose tegumentar pós-kalazar
LVA	- leishmaniose visceral americana
M	- molar

MS	- ministério da saúde
Mgcl ₂	- Cloreto de Magnésio
mL	- mililitro
mM	- milimolar
μL	- microlitro
μM	- micromolar
ng	- nanograma
OMS	- organização mundial de saúde
pb	- pares de bases
PCR	- reação em cadeia da polimerase
pH	- potencial hidrogeniônico
RNA	- ácido ribonucléico
rpm	- rotações por minuto
SESPA	- Secretaria de Estado de Saúde Pública do Estado do Pará
SFM	- sistema fagocítico mononuclear
SINAN	- sistema de informação de agravos de notificação
SVS	- secretaria de vigilância em saúde
TBE	- tris-borato-EDTA
TE	- tris EDTA
TNF-α	- fator de necrose tumoral alfa
UNAIDS	- programa de HIV/AIDS das Nações Unidas (do inglês: Joint United Nations Programme on HIV/AIDS)
URE	- unidade de referência especializada
UV	- ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 JUSTIFICATIVA	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REVISÃO DA LITERATURA	16
4 METODOLOGIA	38
4.1 TIPO DE ESTUDO	38
4.2 POPULAÇÃO DE ESTUDO	38
4.3 TAMANHO DA AMOSTRA	38
4.4 CRITÉRIO DE INCLUSÃO	39
4.5 CRITÉRIO DE EXCLUSÃO	39
4.6 COLETA DE DADOS	39
4.7 COLETA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS	39
4.7.1 Sangue	39
4.8 MÉTODOS LABORATORIAIS	40
4.8.1 Intradermorreação de Montenegro (IDRM)	40
4.8.2 Sorologia pela Reação de Imunofluorescência Indireta (IFI)	40
4.8.3 Extração de DNA	41
4.8.4 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	41
4.8.5 Eletroforese em gel de agarose	43
4.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	43
4.10 ASPECTOS ÉTICOS	44

5 RESULTADOS	45
6 DISCUSSÃO	55
7 CONCLUSÃO	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
ANEXOS	85

1 INTRODUÇÃO

A co-infecção *Leishmania*/HIV vem emergindo como uma nova e terrível doença. Nos últimos 25 anos, o avanço da pandemia de HIV/aids, tem modificado a história natural da leishmaniose, causando mudanças no espectro clínico e epidemiológico da mesma, tornando-se cada vez mais freqüente, acarretando ainda implicações diagnóstica e quimioterapêutica (Desjeux, 1996). Desde meados dos anos 80, quando o primeiro caso de co-infecção *Leishmania*/HIV foi publicado (De La Roma, 1985), esta incidência vem crescendo e atualmente é detectada em 35 países (OMS, 2000a; 2007b).

Em um cenário sombrio, a disseminação da infecção pelo HIV aumenta o risco de desenvolvimento da leishmaniose visceral (LV) entre 100 e 1000 vezes em áreas endêmicas, reduz a probabilidade de resposta terapêutica, e aumenta fortemente a probabilidade de recidivas (OMS, 2007). A infecção pelo HIV está ainda ampliando as áreas de ocorrência e modificando a epidemiologia da LV, estas duas enfermidades co-existem e se agravam (Desjeux & Alvar, 2003). Várias formas de leishmaniose cutânea (LC) têm sido relatadas em associação com a aids, como a leishmaniose cutânea localizada, difusa e mucocutânea (Daudén *et al.*, 1996). Apresentações atípicas de leishmanioses são descritas em pacientes HIV-positivos, incluindo visceralização de LC e envolvimento cutâneo em LV (OMS, 2007).

Até o momento, a maioria dos casos de co-infecção *Leishmania*/HIV descritos procede de países mediterrâneos. De mais de 2.000 casos notificados à Organização Mundial de Saúde (OMS) até o ano 2000, 90% origina-se de quatro países: Espanha, Itália, França e Portugal. Do início da pandemia de aids até a era da HAART, entre 25 a 70% dos casos de LV em adultos nestes países foram associados à infecção pelo HIV e 1,5 a 9% das pessoas com aids sofrem de LV reativada ou recentemente adquirida (OMS, 2000a; Desjeux, 1999).

A maioria dos casos de co-infecção leishmaniose e HIV, observados na Europa, ocorreu em usuários de drogas ilícitas intravenosas. Diversos trabalhos da literatura sugerem a possibilidade de transmissão inter-humana desta protozoose através de contato com seringas contaminadas com sangue infectado por *Leishmania*. De fato, este ciclo alternativo do parasita entre os viciados em drogas é possível, uma vez que mais de 50% dos pacientes co-infectados mostram a presença de amastigotas nos monócitos do sangue periférico (Alvar *et al.*, 1997; Mattos *et al.*, 1998.).

Na América do Sul, a maioria dos casos de co-infecção registrados ocorreu no Brasil, onde a incidência de aids aumentou de 0,8 para 20,7 casos por 100.000 habitantes de 1986 a 2003 (Rabello *et al.*, 2003; OMS, 2006).

1.2 JUSTIFICATIVA

A subnotificação de casos de leishmaniose, que ocorre principalmente em áreas onde a infecção é endêmica, como o Brasil, dificulta a obtenção de dados sobre a real incidência da doença nestas áreas. Este quadro tende a agravar-se ainda mais com o desenvolvimento da pandemia de HIV/aids, deflagrada na década de 80, e que já ocasionou modificações no espectro clínico e epidemiológico das leishmanioses. Desde 1985, quando De La Roma publicou o primeiro caso de co-infecção *Leishmania*/HIV, os números vêm aumentando, e nos dias atuais, 35 países, incluindo o Brasil, apresentam detecção de casos de co-infecção.

A co-infecção *Leishmania*/HIV já foi reportada em nosso meio e descrita por diversos pesquisadores. No entanto, até o momento, a maioria dos casos de co-infecção estudados procede dos países mediterrâneos. Não obstante, o real impacto da co-infecção é

subestimado em escala mundial devido às deficiências nos sistemas de vigilância. O fato das leishmanioses não serem consideradas uma condição definidora de aids torna esta situação ainda mais preocupante, portanto é de máxima importância determinar a prevalência da co-infecção *Leishmania*/HIV referente tanto à forma cutânea quanto à visceral para contribuir com a identificação precoce destas entidades e evitar a simples transposição de aspectos de estudos europeus para a realidade brasileira, o que servirá para nortear os profissionais de saúde, especialmente no estado do Pará que é endêmico para a leishmaniose.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a prevalência da co-infecção *Leishmania*/HIV entre pacientes atendidos em unidades de referência para aids em Belém.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i.** Caracterizar geneticamente os subgêneros da *Leishmania* através da PCR utilizando diferentes marcadores moleculares, e verificar se a infecção é causada pelo parasita causador de LTA ou LVA.

- ii.** Avaliar a resposta imunológica celular através da Intradermorreação de Montenegro (IDRM), associando aos níveis de LTCD4+ dos pacientes.

3 REVISÃO DA LITERATURA

A leishmaniose é uma doença infecciosa, de natureza parasitária, causada por diferentes espécies do protozoário *Leishmania* (Ross, 1903). Este é um parasito intracelular obrigatório que infecta preferencialmente células do sistema fagocítico mononuclear (SFM) do hospedeiro vertebrado (Alexander *et al.*, 1999), podendo acometer o homem e outros vertebrados.

Pertencente a Ordem Kinetoplastida e a família Trypanosomatidae, as espécies de *Leishmania* são transmitidas aos mamíferos por insetos vetores denominados flebotomíneos, que nas Américas pertencem aos gêneros *Psychodopygus* e *Lutzomyia* (Ordem Díptera, Família Psychodidae). Esta transmissão é feita exclusivamente pela fêmea do inseto, uma vez que os machos alimentam-se apenas do açúcar dos sucos vegetais (Rebelo, 1999).

Biologicamente, *Leishmania* são protozoários digenéticos que se reproduzem por divisão binária. As formas promastigotas e paramastigotas são encontradas no trato digestivo do vetor e as amastigotas no interior dos macrófagos, monócitos e histiócitos da derme e mucosas dos hospedeiros vertebrados, mas especialmente em macrófagos localizados na pele, na leishmaniose tegumentar (LT), e nas células do SFM dos tecidos (células de Kupffer do fígado, células reticulares e macrófagos do baço, medula óssea e linfonodos), na LV (MS, 2006a; 2006b). Morfologicamente, as formas evolutivas de *Leishmania* podem revelar diferenças sutis ou discrepantes, relacionadas à espécie do parasita (Lainson, 1997).

Após inoculação das formas promastigotas pelo inseto vetor no animal vertebrado, ocorre a transformação para amastigotas. Quando repleto de amastigotas o macrófago se rompe, liberando-as na circulação, onde irão infectar novos macrófagos localizados na pele,

sangue e/ou alguns órgãos internos do hospedeiro, tornando-o uma fonte de infecção para um outro flebotomíneo (Pimenta *et al.*, 1992; Alexander & Russel, 1992). O ciclo evolutivo da *Leishmania* esta representado no esquema abaixo (Figura 1).

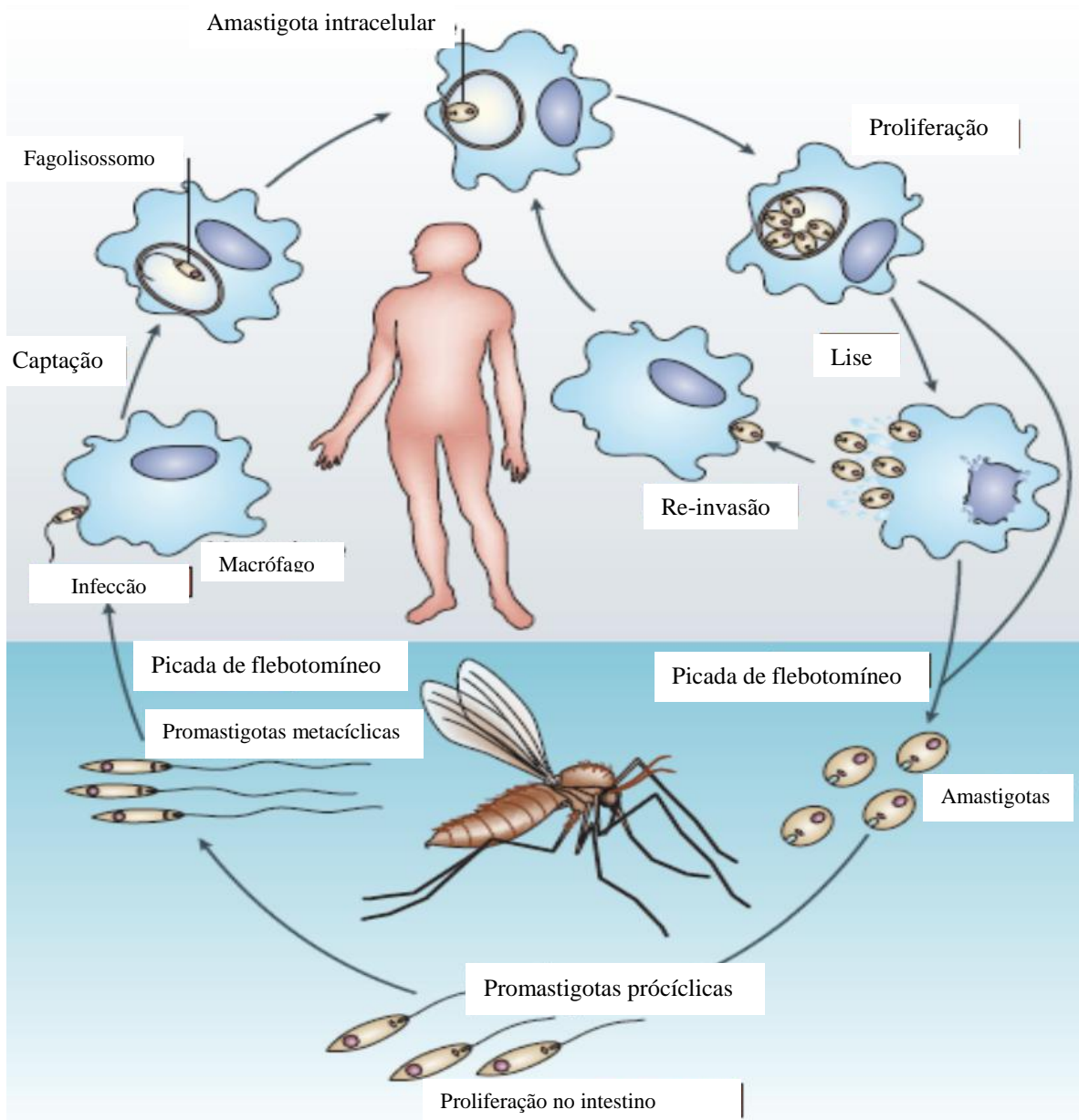


Figura 1: Desenho esquemático do ciclo evolutivo das leishmanioses.
Fonte: Chappuis *et al.*, 2007.

As leishmanioses podem exibir diferentes manifestações clínicas que dependem não somente da espécie do parasito responsável pela infecção, como também da resposta imunológica do indivíduo infectado. Seu amplo espectro clínico vai desde formas assintomáticas à formas mais graves e desfigurantes de LC, até uma forma que acomete os órgãos do indivíduo infectado denominada LV ou calazar, que quando não tratada adequadamente é potencialmente fatal na maioria dos casos (Grimaldi & Tesh, 1993).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (1990) a leishmaniose ocupa o segundo lugar dentre as doenças tropicais que mais acometem o homem, perdendo somente para a malária que ocupa o primeiro lugar em incidência, constituindo assim um grave problema de saúde pública.

A real incidência da leishmaniose é incerta, devido aos inúmeros casos não notificados nas áreas onde a infecção é endêmica (Pearson & Souza, 1996). Entretanto, acredita-se que 350 milhões de pessoas vivem em áreas de risco, e que 12 milhões estão infectadas por leishmanias no mundo todo. A doença é encontrada em cinco continentes e é endêmica nas regiões tropical e subtropical de 88 países: 16 são países desenvolvidos, 72 países em desenvolvimento e 13 estão entre os menos desenvolvidos (Figura 2). A OMS estima que ocorram aproximadamente 2 milhões de novos casos por ano, com a incidência da LC sendo estimada em 1,5 milhões de casos por ano, e da LV em 500.000 novos casos anuais (90% deles ocorrendo no Afeganistão, Argélia, Brasil, República Islâmica do Irã, Peru, Arábia Saudita e Sudão) (OMS, 2000a, 2000b, 2007).

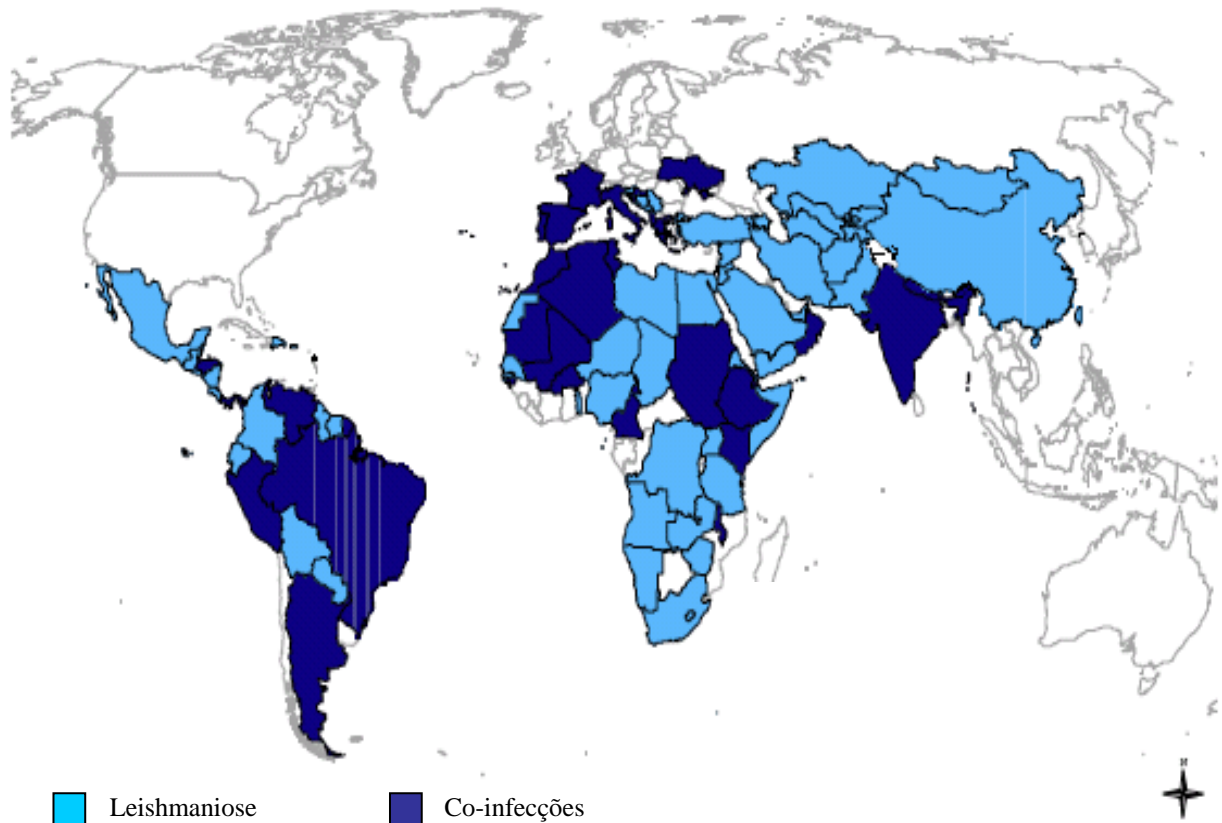


Figura 2. Distribuição mundial da leishmaniose e dos países que reportaram co-infecção *Leishmania*/HIV no ano de 2000.
 Fonte: OMS/UNAIDS, 2000.

A LT é uma zoonose de alta frequência de grande importância entre infecções dermatológicas, pelos danos que pode acarretar, e pelas dificuldades na terapêutica (MS, 1998). A LT é encontrada em quatro continentes (Américas, Europa, África e Ásia) (MS, 2007), em regiões tais como grande parte da América Latina, Bacia Mediterrânea, Sudão e parte oriental da África, bem como no Oriente Médio e na Ásia, Paquistão, Índia, Rússia e China (Lainson, 1997). Uma pessoa é infectada por LT a cada 20 segundos. A doença é endêmica em 82 países e 10 milhões de pessoas sofrem de LT atualmente (OMS, 2007).

Nas Américas, a LT que é conhecida como leishmaniose tegumentar americana (LTA), tem sido registrada desde o extremo sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina, com exceção do Chile e Uruguai. Na Região Amazônica a incidência da LTA tem se mantido

elevada devido inúmeros fatores, como abertura de novas estradas, instalação de núcleos residenciais em áreas de mata e treinamentos militares (Guerra *et al.*, 2003).

A partir da década de 90, o Ministério da Saúde notificou uma média anual de 32 mil novos casos de LTA. Segundo dados do Boletim estatístico da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) foram notificados, em 2002, 31.633 casos em todo território brasileiro, dos quais 11.116 ocorreram na Região Norte, que exibe a expressão máxima da doença, o que corresponde a 35% do total da casuística nacional (MS, 2006a; 2006c).

Analisando-se a evolução da doença no Brasil, observou-se uma expansão geográfica no início dos anos 80, quando se registrou casos em 19 unidades federadas e, em 2003, todos os estados registraram autoctonia. A região Norte contribuiu com o maior número de casos (cerca de 36,0% do total de casos registrados, no período) e com os coeficientes médios mais elevados (85,4 casos por 100.000 habitantes), seguida das regiões Nordeste (43,5 casos por 100.000 habitantes) e Centro-oeste (37,5 casos por 100.000 habitantes). No período de 1988 a 2007, a LTA apresentou média anual de 27.736 casos autóctones registrados e coeficiente de detecção médio de 17,3 casos por 100.000 habitantes. Ao longo desse período, observou-se uma tendência no crescimento da endemia, registrando os coeficientes mais elevados nos anos de 1994 e 1995, quando atingiram níveis de 22,83 a 22,94 casos por 100.000 habitantes, respectivamente (MS, 2006a; 2009) (Gráfico 1).

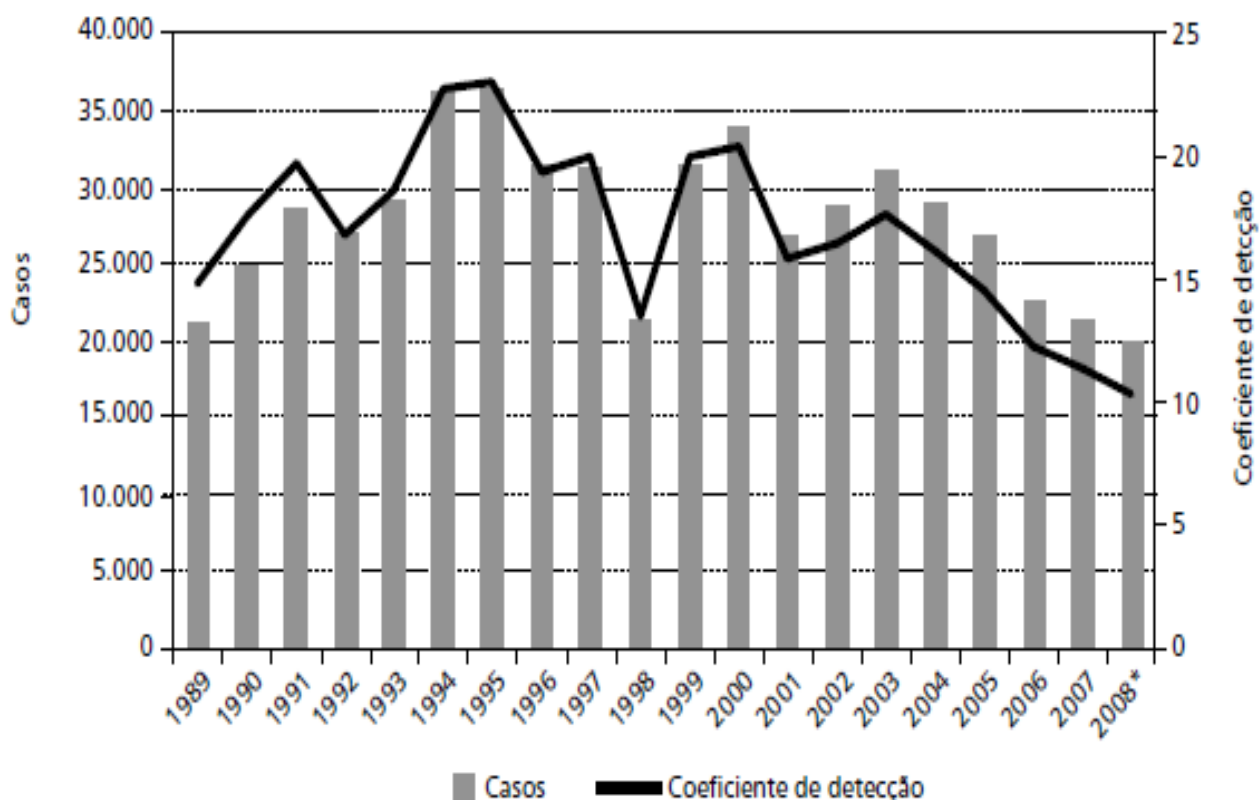


Gráfico 1. Número de casos e coeficiente de detecção de casos autóctones de LTA. Brasil 1989 a 2008^a.

a) Dados sujeitos a revisão

Fonte: SVS/MS, 2009.

Analisando-se os dados pertinentes a LTA no Brasil em 2003, verificou-se que a Região Norte notificou aproximadamente 45% dos casos, destacando-se os estados do Pará, Amazonas e Rondônia; a Região Nordeste, 26% dos casos, principalmente no Maranhão, Bahia e Ceará; a Região Centro-Oeste, 15% dos casos, com maior frequência em Mato Grosso; a Região Sudeste, 11% dos casos, predominantemente em Minas Gerais; e a Região Sul, 3,0%, destacando-se o Paraná (MS, 2006a). A partir do indicador da densidade de casos, identificou-se, no período de 2004 a 2006, 26 circuitos de produção da doença de importância epidemiológica, os quais foram responsáveis por 56,9% do total de casos registrados em 2007, distribuídos em 663 municípios do total de 1.803 que apresentaram casos em todo o país (SVS/MS, 2009) (Figura 3).

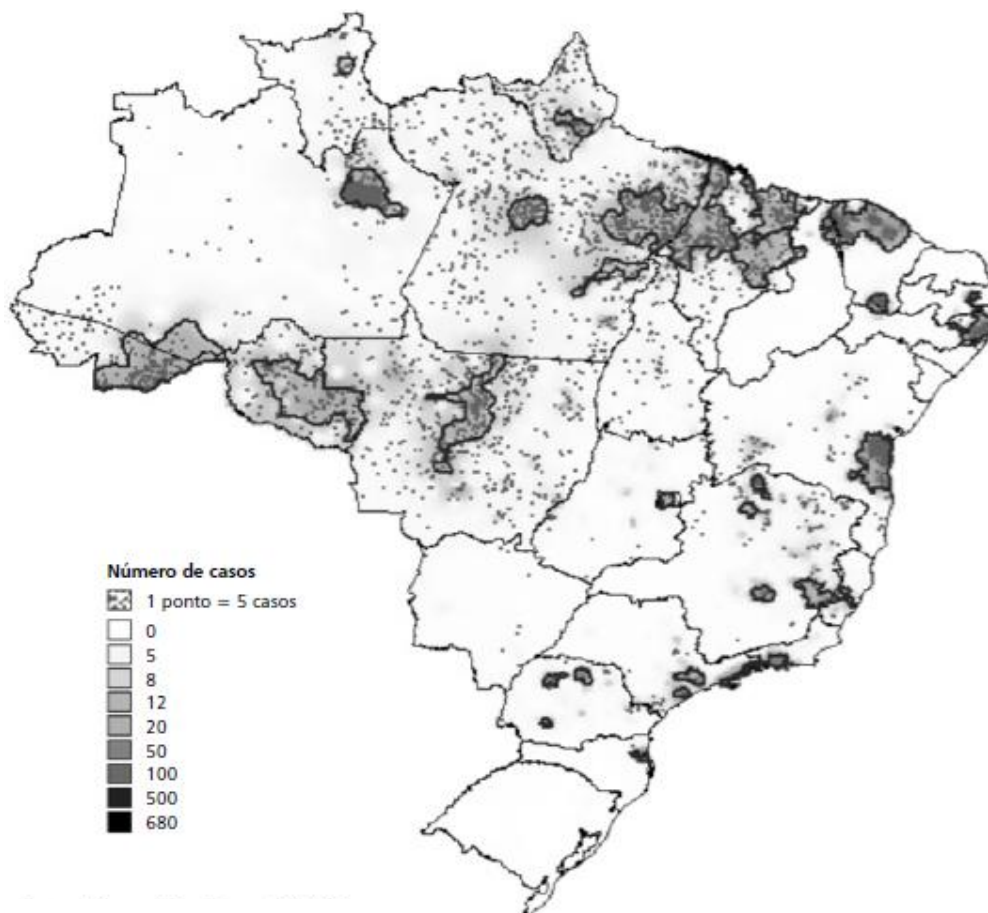


Figura 3. Densidade de casos, circuitos de LTA por município. Brasil, 2004 a 2006 e casos em 2007

Fonte: Fiocruz/Ensp/Desp, SVS/MS, 2009

No tocante ao estado do Pará, em 2003 a incidência da LTA foi de 83 casos/100 mil habitantes, o maior registro de casos da doença no país (5.479) (SVS, 2005). Segundo boletim estatístico da SVS, entre 1990 e 2008, foram registrados cerca de 79.174 casos de LTA, sendo que 22.892 foram detectados no período de 1994 a 1997, esses dados reforçam o interesse e a importância do estudo dessa moléstia no estado do Pará (Sinan/SVS/MS, 2009a).

A LTA é capaz de produzir uma variedade de formas clínicas que acometem isoladamente ou em associação à pele e mucosas do nariz, boca, faringe e laringe, gerando o espectro das quatro formas clínicas da doença: a leishmaniose cutânea localizada (LCL) provocada por diversas espécies de *Leishmania*, a leishmaniose mucocutânea (LMC)

associada principalmente à *Leishmania (Viannia) braziliensis*, a leishmaniose cutânea anérgica difusa (LCAD) associada à *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, e a leishmaniose cutânea disseminada borderline (LCDB) associada às duas espécies (Silveira *et al.*, 2004).

A “úlcera leishmaniótica”, que é a forma clássica de LCL, e a mais comum da doença, caracteriza-se por ser indolor, quando não há presença de infecção secundária, com bordas elevadas ou em moldura. Pode ainda manifestar-se como placas verrucosas, nodulares–infiltrativas, denominadas LCAD, um tipo de manifestação mais rara que produz lesões multilantes extensas nos pacientes, e se mostra resistentes a todas as terapias conhecidas até então (Silveira *et al.*, 1991).

A forma mucosa, secundária a cutânea, caracteriza-se por infiltração, ulceração e destruição dos tecidos mucosos dos pacientes, como cavidade nasal, faringe e laringe. O comprometimento mucoso pode surgir meses ou anos após a cicatrização da lesão de pele inicial, que pode sofrer metástase e disseminar-se por via hematogênica e atingir o tecido mucoso nasobucofaríngeo. Normalmente, na LTA não há o comprometimento de órgãos internos (Lainson & Shaw, 1998; MS, 2007).

A etiologia de LTA inclui uma multiplicidade de espécies dos subgêneros *Viannia* (Lainson & Shaw, 1987) e *Leishmania* (Ross, 1903). São conhecidas cerca de 31 espécies de *Leishmania* no mundo inteiro, das quais 22 são encontradas nas Américas. Destas, apenas 14 são incriminadas como agentes etiológicos de LTA (Silveira *et al.*, 2004). Até a década de 60 a *Leishmania braziliensis* foi a espécie considerada como única responsável pelos casos de LTA ocorridos no Brasil. No entanto, estudos epidemiológicos realizados pelo Instituto Evandro Chagas, situado em Belém, estado do Pará, indicaram outras espécies de *Leishmania* infectando o homem na Região Amazônica (Lainson *et al.*, 1994).

Atualmente na Região Amazônica são conhecidas 7 espécies de *Leishmania* causadoras de LTA humana, sendo estas: *Leishmania (Viannia) brasiliensis* (Vianna, 1911), *Leishmania (V.) guyanensis* (Floch, 1954), *Leishmania (V.) lainsoni* (Silveira *et al.*, 1987), *Leishmania (V.) naiffi* (Lainson & Shaw, 1989), *Leishmania (V.) shawi* (Lainson *et al.*, 1989), *Leishmania (V.) lindenbergi* (Silveira *et al.*, 2002) e *Leishmania (L.) amazonensis* (Lainson & Shaw, 1972) (Lainson & Shaw, 1998; Silveira *et al.*, 2002).

A LV, mais grave que a LTA, que acomete alguns órgãos internos de mamíferos, é uma protozoose sistêmica de evolução crônica causada, no Brasil, pela *Leishmania (L.) chagasi* (Cunha & Chagas, 1937). É transmitida ao hospedeiro vertebrado por flebotomíneos da espécie *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912), que era a única espécie transmissora conhecida até 1998, quando no Mato Grosso do Sul, incriminou-se o *Lutzomyia cruzi* também como vetor (Santos *et al.*, 1998). A doença tem ampla distribuição, ocorrendo na Ásia, Europa, Oriente Médio, África e Américas, onde é denominada leishmaniose visceral americana (LVA) (MS, 2006b).

Na América Latina, a doença já foi descrita em pelo menos 12 países, com 90% dos casos tendo ocorrido no Brasil. Desde o primeiro registro da doença no país, em 1913 (Alencar *et al.* 1991), sua transmissão vem sendo descrita em vários municípios de todas as regiões, exceto na região Sul, e especialmente na região Nordeste que, na década de 90 albergava 90% das notificações. Porém, à medida em que a doença se expande para outras regiões, esta situação se modifica, verificando-se que no período de 2000 a 2002 essa região representou 77% dos casos do país. A doença é conhecida em todos os estados litorâneos, do Pará à Bahia, além de outros mais ao centro como Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso do Sul (Silveira *et al.*, 1997; MS, 2006b).

O padrão de transmissão, inicialmente característico de ambientes rurais e periurbanos, têm apresentado mudanças importantes, ocorrendo atualmente também em centros urbanos, destacando-se os surtos ocorridos no Rio de Janeiro (RJ), Belo Horizonte (MG), Araçatuba (SP), Santarém (PA), Corumbá (MS), Teresina (PI), Natal (RN), São Luís (MA), Fortaleza (CE), Camaçari (BA) e mais recentemente as epidemias ocorridas em Três Lagoas (MS), Campo Grande (MS), e Palmas (TO), entre outros. Atualmente, no Brasil, a LV está registrada em 19 dos 27 estados da Federação, com cerca de 1.600 municípios apresentando transmissão autóctone (MS, 2006b) (Figura 4).

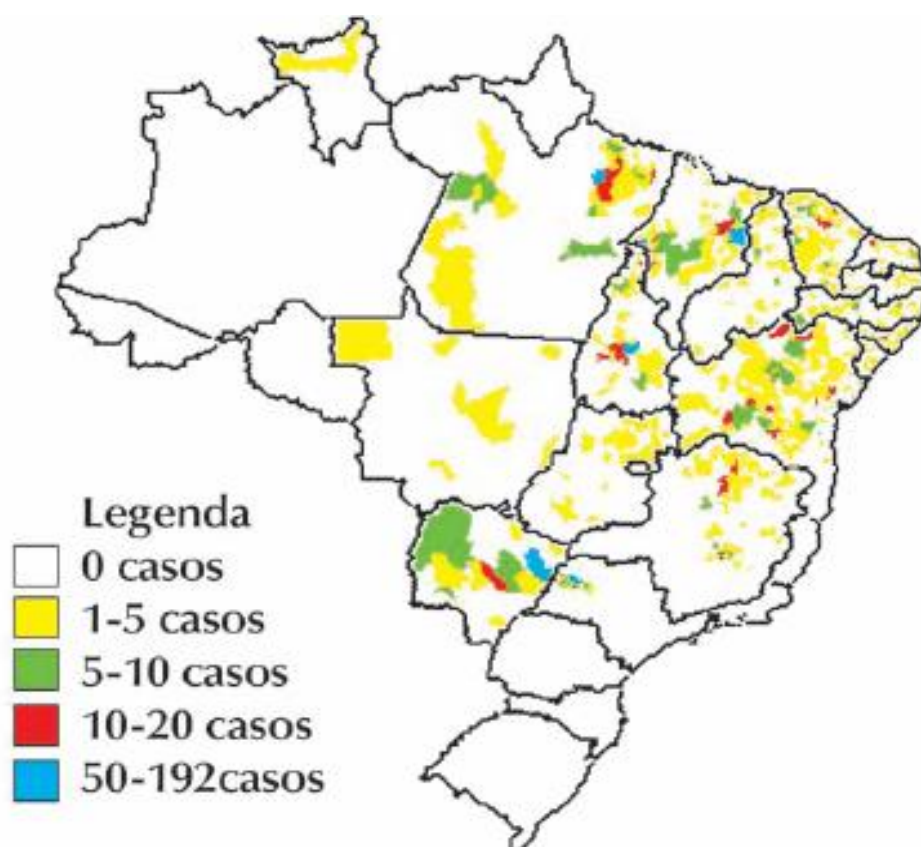


Figura 4. Distribuição de casos autóctones de LV, segundo município, Brasil, 2002.
Fonte: SINAN-COVEV/CGDT/DEVEP/SVS/MS, 2006.

Esta doença foi inicialmente caracterizada com caráter eminentemente silvestre, característica de ambientes rurais, que afeta, sobretudo, pessoas que trabalham ou penetram na

mata, haja vista que nessa área, fatores ecológicos como clima e vegetação abundante, propiciam a presença do vetor (Silveira *et al*, 1997).

Transformações ambientais, provocadas pelo intenso processo migratório, por pressões econômicas ou sociais, a pauperização conseqüente de distorções na distribuição de renda, o processo de urbanização crescente, o esvaziamento rural e as secas periódicas levaram à expansão das áreas endêmicas e ao aparecimento de novos focos. Este fenômeno leva a uma redução do espaço ecológico da doença, facilitando a ocorrência de epidemias. O ambiente característico e propício à ocorrência da LV é aquele de baixo nível socioeconômico, pobreza, promiscuidade, muito presente no meio rural e na periferia das grandes cidades (MS, 2006b).

Segundo dados do Ministério da Saúde, no Brasil, em 19 anos (1984-2002), a LVA somou 48.455 casos, com aproximadamente 66% ocorrendo nos estados da Bahia, Ceará, Maranhão e Piauí. Nos últimos dez anos (1999-2008), a média anual foi de 3.379 casos e a incidência de 1,9 casos/100.000 habitantes (MS, 2009) (Gráfico 2). A doença é mais freqüente em menores de 10 anos (54,4%), com 41% dos casos registrados em menores de 5 anos. O sexo masculino é o mais afetado (60%). A maior susceptibilidade das crianças é explicada pela relativa imaturidade imunológica celular, agravada pela desnutrição, comum nas áreas endêmicas, além da maior exposição ao vetor no peridomicílio. Por outro lado, o envolvimento do adulto tem repercussão significativa na epidemiologia da LVA, pelas formas frustras (oligossintomáticas) ou assintomáticas, além das com expressão clínica (MS, 2006b).

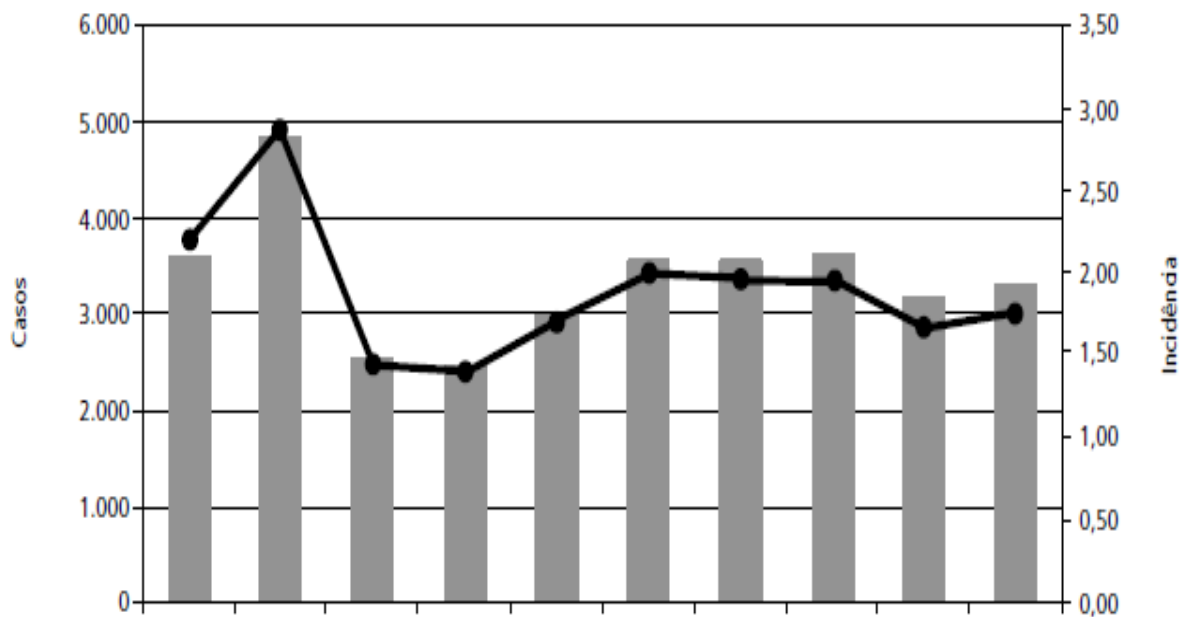


Gráfico 2: Casos e incidência de leishmaniose visceral, Brasil 1999 a 2008^a.

a) Dados preliminares

Fonte: SVS-MS

O comportamento epidemiológico da LV é cíclico, com elevação dos casos em períodos médios de cinco anos, além de uma tendência crescente, se considerado o período de 1980 a 1998. O aumento do número de casos registrados é acompanhado de uma tendência de modificação do padrão de ocorrência geográfica da doença, com o registro de casos em grandes centros urbanos. Alterações ecológicas, na sua maioria em áreas rurais, na periferia de grandes cidades indicam claramente a evolução de um ciclo de transmissão secundário ocorrendo no ambiente peridoméstico (Lainson & Shaw, 1998).

Na Amazônia brasileira, a LVA só é encontrada nos estados do Pará e de Roraima. Em Roraima houve isolamento recente de focos, fato que atribui ao Brasil um perfil epidemiológico da doença endêmico-epidêmica (Marzochi *et al*, 2001). Os focos localizam-se na região de fronteiras com a Venezuela, acometendo principalmente índios Yanomamis. Já no Pará, a LVA tem sido considerada emergente, pois até início dos anos 80 poucos casos

foram notificados, porém, a partir desse período, a situação se alterou bastante, com ocorrência de surto epidêmico em Santarém e aumento progressivo de casos em todo o estado. De acordo com dados do MS, entre 1990 e 1998 ocorreram 316 casos da doença. De 1999 a 2004 foram notificados 1196 casos. A maioria dos casos ocorridos em 2004 (n= 358) se concentrou nos municípios de Barcarena (n=49, 47,6%) e Cametá (n=92). Em 2005 foram confirmados 471 casos de LVA no Pará, com 26 óbitos e uma incidência de 6,8 casos/100mil habitantes. Aproximadamente 50% dos casos foram registrados nos municípios de Cametá, Tomé-Açú, Santarém e Mojú. De 2006 a 2008 foram confirmados 1.206 casos de LVA no Pará (SVS, 2005; MS, 2009; Sinan/SVS/MS, 2009b; 2009c; 2009d).

A LVA leva a um quadro clínico caracterizado por febre irregular prolongada, hepatoesplenomegalia, pancitopenia, perda de peso, desnutrição e imunossupressão, frequentemente levando o paciente a óbito se não submetido a tratamento específico (Silveira *et al.*, 1997). A LV é uma doença infecciosa não contagiosa de evolução crônica, com altos índices de morbidade.

A LVA pode ocorrer de forma assintomática e subclínica. As pessoas mais atingidas por ela são as crianças, que na sua maioria são representadas pela população de baixa renda que não possui acesso ao diagnóstico e tratamento. A prevalência da LV parece estar aumentando em áreas suburbanas, onde o cão doméstico é considerado o principal reservatório de infecção para o homem (Peter, 2000).

O Vírus HIV é um membro do gênero *Lentivírus* da família *Retroviridae* que pode ser do tipo HIV-1 e HIV-2 (Barre-Sinoussi *et al.*, 1983; Clavel *et al.*, 1986). Trata-se de um vírus envelopado, composto por duas fitas simples e idênticas de RNA (ácido ribonucléico),

encerrados no núcleo juntamente às enzimas transcriptase reversa, integrase e protease (Figura 5) (Nadler, 2004).

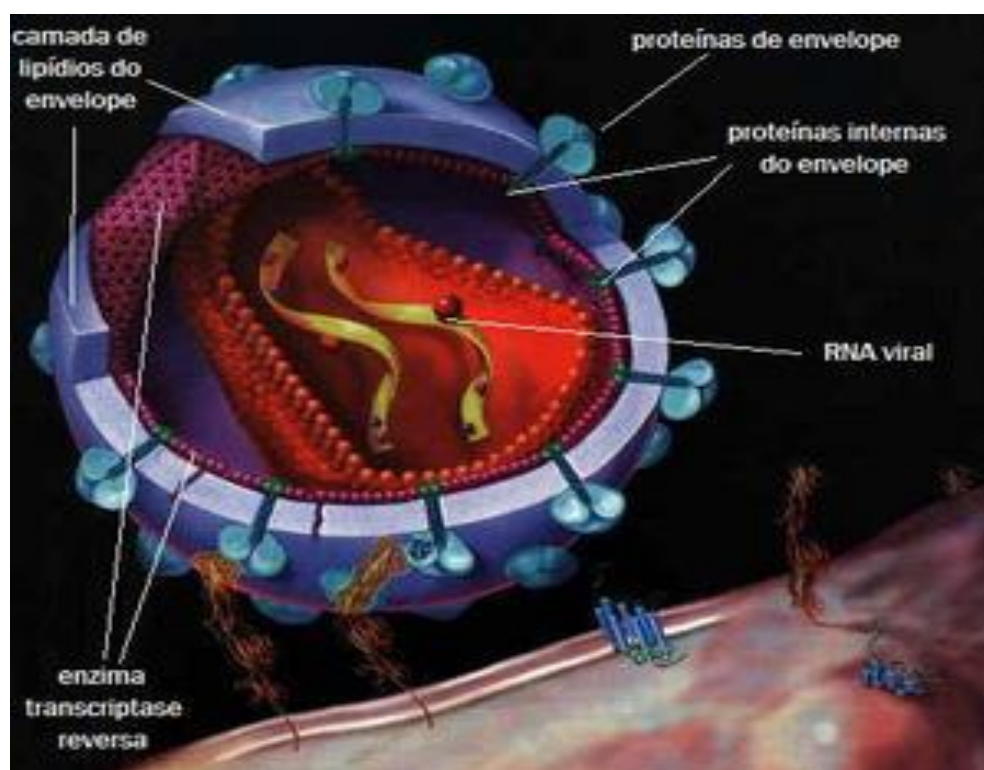


Figura 5: Desenho esquemático do vírus HIV.

Fonte: <http://insightpublicidade.wordpress.com/2008/04/29/>

O HIV infecta linfócitos T, principalmente o linfócito T CD4+ (LT CD4+), e macrófagos (incluindo células dendríticas) onde o seu RNA é transcrito para DNA (ácido desoxirribonucleíco), que é transportado e integrado ao genoma do linfócito, iniciando o processo de replicação viral. As novas partículas virais lisam a célula e se envelopam. A destruição dos LT CD4+ é acompanhada de disfunção generalizada do sistema imunológico, sobretudo na resposta celular, verificada pela queda paulatina das contagens de LT CD4+ e diminuição da função dos linfócitos restantes, por ativação monoclonal e por mecanismos ainda não totalmente elucidados (Gea-Banacloche & Lane, 1999; Dybul *et al.*, 2006).

A UNAIDS, órgão da Organização das Nações Unidas que combate a aids em todo o globo, estimou que desde o início da epidemia de HIV/aids, quase 60 milhões de

peessoas foram infectadas com HIV e 25 milhões de pessoas morreram de causas relacionadas ao HIV, no ano de 2008, cerca de 33,4 milhões de pessoas estavam infectadas pelo HIV em todo o mundo, ocorreram aproximadamente 2,7 milhões de novas infecções e mais ou menos 2,0 milhões de pessoas morreram de doenças relacionadas à aids (OMS, 2009).

Em relação ao Brasil, em 2005 a taxa de pessoas vivendo com HIV/AIDS foi de 18 casos / 100.000 habitantes, variando de 6,6 em Tocantins a 33,2 no Rio de Janeiro. Cerca de 433 mil casos de aids foram notificados desde a identificação do primeiro caso, em 1980, até junho de 2006. A taxa de incidência foi crescente até meados da década de 90, alcançando, em 1998, cerca de 19 casos por 100 mil habitantes (OMS, 2006). O Sudeste é a região mais atingida desde o início da epidemia e, apesar da alta taxa de incidência, mostra moderada estabilização desde 1998. Em 2007, estimou-se que cerca de 710.000 pessoas, acima de 15 anos, viviam com HIV/aids, sendo 240 mil mulheres e 470 mil homens (OMS, 2009).

Tem sido relatada a ocorrência de LTA em pacientes portadores do vírus HIV. Nos casos publicados, têm-se observado uma diversidade clínica, quadros mais graves, disseminação, comprometimento de órgãos internos e refratariedade aos tratamentos habituais.

A leishmaniose puramente tegumentar em pacientes co-infectados com HIV tende a estar associada com os estágios iniciais da infecção viral e/ou graus mínimos de imunossupressão, e, semelhante aos indivíduos imunocompetentes com LT, estes pacientes geralmente respondem bem ao tratamento antimonial intralesional (Durand *et al.*, 1998).

Em alguns pacientes HIV-infectados, a LT desenvolve-se como pápulas isoladas ou placas em áreas expostas, que são indistinguíveis, em achados clínicos ou histopatológico,

de lesões similares que se desenvolvem em pacientes imunocompetentes (Gonzalez-Ruperez *et al.*, 1997). Padrões clínicos raros incluem máculas pigmentadas lineares nos dedos e palmas das mãos, um padrão eritrodérmico, LT generalizada parecida com LCDA e psoriasiforma ou dermatomiosites semelhantes a erupções. Parece que a forma recidiva de LT nunca foi relatada em um paciente HIV-infectado, possivelmente porque esta variante clínica é extremamente rara em LT causada por *L. infantum*, espécie de *Leishmania* responsável por muitos casos de co-infecções *Leishmania*/HIV relatados na Europa (Puig & Pradinaud, 2003).

A forma disseminada, também denominada leishmaniose cutânea difusa primária (LCDP) desenvolve-se em indivíduos anérgicos quando nódulos e máculas difundem-se, sem ulceração ou envolvimento visceral. Esta variante é caracterizada por uma resposta parcial ao tratamento e recidivas frequentes, e a mais frequente espécie causadora é a *L. amazonensis* e, raramente, *L. aethiopica*. Esta apresentação, com múltiplas pápulas e nódulos que podem ser úlcerados, é bastante comum em pacientes com co-infecção *Leishmania*/HIV, independente da espécie de *Leishmania* envolvida (Puig & Pradinaud, 2003).

A leishmaniose puramente mucosa ou muco-cutânea associada à infecção por HIV é uma ocorrência excepcional em pacientes europeus (Chaudhry *et al.*, 1999; Grasa *et al.*, 2000), e pode ser o primeiro sinal da infecção pelo HIV. Esta parece ser a mais freqüente em casos de leishmaniose adquirida na América do Sul (De Souza e Souza *et al.*, 1998) e no norte da África (Bastuji-Garin *et al.*, 1991), presumidamente devido o tropismo das espécies infectantes de *Leishmania*. Nesta ocasionalmente ocorre relato de LTA em associação com aids; ainda que a mais freqüente apresentação seja a LCL, havendo nesta uma marcada variabilidade nos achados clínicos (Cnudde *et al.*, 1994; Nogueira-Castanon *et al.*, 1996).

Em trabalho realizado por Rabello *et al.*, em 2003 no Brasil, foram diagnosticados 18% de casos de leishmanioses antes, 41% após, e 46% ao mesmo tempo que o diagnóstico de infecção por HIV. As porcentagens correspondentes a LT (formas mucosa, cutânea ou mucocutânea) foram 18%, 46% e 36%, respectivamente, enquanto que para LV foram 14%, 57% e 29%, respectivamente.

Mundialmente, a LV ocorre principalmente em indivíduos HIV negativos, mais em pacientes pediátricos (Cascio *et al.*, 2002), entretanto, dada sua incidência e alta letalidade, principalmente em indivíduos não tratados e crianças desnutridas, esta doença vem sendo também considerada emergente em indivíduos portadores do HIV, tornando-se uma das doenças mais importantes da atualidade (MS, 2006b). A associação de *Leishmania* com HIV tem levado à uma mudança significativa na idade das pessoas em risco (Belazzoug S., 1992). Em geral, leishmaniose clínica ocorre em pacientes HIV infectados profundamente imunossuprimidos (Sinha *et al.*, 2005).

A aids e a LV estão localizadas em um círculo vicioso de reforço mútuo. A LV promove a progressão clínica do HIV e o desenvolvimento das condições definidoras de aids, além de diminuir a expectativa de vida de pessoas HIV-infectadas, e o HIV estimula a expansão da LV. Este círculo fechado produz deficiência cumulativa da resposta imunológica, uma vez que a *Leishmania* e o HIV destroem as mesmas células e juntas, elas exercem um efeito danoso sinérgico sobre a resposta imunológica celular, aumentando exponencialmente a severidade e as conseqüências da doença (Desjeux, 1996; OMS, 2007).

Nos países mediterrâneos, mais de 70% dos casos de LV em adultos está associada à infecção pelo HIV. Fato digno de nota é que 50 a 90% destes pacientes são usuários de drogas intravenosas. Alvar *et al* (1997) aventaram a possibilidade de um ciclo

antropo-nótico artificial através do compartilhamento de agulhas e seringas, o que definiria uma nova via de transmissão da *Leishmania*. Em trabalho realizado na Espanha, houve amplificação de DNA de *Leishmania* spp em 32-52% de seringas descartadas em programas de redução de danos para usuários de drogas intravenosas (Cruz *et al.*, 2002).

Formas amastigotas de *Leishmania* têm sido encontradas na pele de pacientes HIV-positivos com LV (Yebra *et al.*, 1988; Dauden *et al.*, 1996). A demonstração dessas formas em células fagocíticas do sangue periférico de HIV-positivos reflete a incapacidade dos mecanismos imunológico celular dos pacientes de erradicar os parasitas. Nesses co-infectados, hipervascularização e a presença de células inflamatórias nas lesões podem explicar a intensa concentração de amastigotas em sarcomas de Kaposi (Del Giudice, 1996; Abajo *et al.*, 1997).

Alguns pacientes co-infectados desenvolvem lesões cutâneas, ou associadas com LV ou com manifestações clínicas somente desta doença. A disseminação cutânea em LV tem, ocasionalmente, sido relatada em hospedeiros imunocompetentes, porém é muito mais comum na população HIV-infectada (Puig & Pradinaud, 2003). A exemplo, Postigo *et al.* (1997), observaram isto em 06 pacientes de um grupo de 32 HIV-positivos com LV.

Quando tal disseminação ocorre, as lesões de pele não apresentam uma aparência uniformemente ou específica, ainda que tendam a localizar-se simetricamente em zonas acrais. Estas consistem de pápulas eritematosas e máculas hipopigmentadas no dorso das mãos, pés e braços, pequenos nódulos subcutâneos nas coxas e violáceos eritematosos, placas escamadas na face. Em muitos casos, estas lesões associam-se a outros sintomas e/ou sinais de LV, com respostas variáveis ao tratamento antileishmanial, e é algumas vezes o primeiro

indicador de recidiva de leishmaniose. De muitas maneiras esta apresentação é similar a LT pós-kalazar (LTPK) (Rios-Buceta *et al.*, 1996).

Naqueles infectados com HIV, lesões cutâneas são às vezes o primeiro sinal de envolvimento visceral (Mondain-Miton *et al.*, 1995) e são bastante variáveis: máculas, pápulas, placas, nódulos, múltiplas pápulas e nódulos, e úlceras encrostadas são mais freqüentes (Puig & Pradinaud, 2003).

Pacientes que estão infectados com HIV e tem febre, hepatoesplenomegalia, ou aumento de linfonodos e anemia, deve ter seu histórico de viagens verificado sobre qualquer visita a áreas endêmicas de leishmaniose. Similarmente, pacientes com LV, que não respondem aos tratamentos, que apresentam recidivas da doença, ou que desenvolvem doenças oportunistas, devem ser investigados para HIV (Desjeux, 1996).

Em estudo recente observou-se que a recorrência da leishmaniose em pacientes co-infectados é freqüente, onde 24% dos pacientes (n=37/228) apresentaram mais de um episódio da doença (Pasquau *et al.*, 2005). A contagem de LT CD4+ é igual ou menor que 200 células/mm³ em 62-92% dos co-infectados com HIV/LV e menor ou igual a 50 em 42% deles (Desjeux & Alvar, 2003; Cruz *et al.*, 2006). Berhe *et al.* (1999), sugeriram pior resposta terapêutica em pacientes co-infectados com carga viral (CV) elevada antes do tratamento. Considerando que a resposta celular é fator crucial para o desenvolvimento da LV, duas possibilidades (não excludentes) são aventadas para o surgimento da co-infecção: reativação de infecção latente ou progressão rápida para a doença em casos de primo-infecção (Kubar *et al.*, 1998). Molina *et al.* (2003), através de projeções matemáticas baseadas na incidência de aids e LV, sugeriram que na Sicília os casos de co-infecção provavelmente se devem a infecções novas e não reativação. A reativação foi demonstrada em pacientes portadores de

infecção pelo HIV e com anticorpos anti-leishmania detectados por técnica de Western Blot, que após queda da linfometria CD4+ exibiram quadro clínico de LV (Kubar *et al.*, 1998).

O número de casos da co-infecção *Leishmania*/HIV, tende a aumentar no Sul da Ásia, no Sub-Saara Africano, na América do Sul e no Sul da Europa, devido à expansão simultânea de ambas as doenças e da acentuada superposição da distribuição geográfica das mesmas, com a urbanização da LV e a ruralização de HIV/aids. A Índia é particularmente vulnerável, apresentando metade do número de casos de LV diagnosticados no mundo inteiro, e com a infecção por HIV/aids estando em franca expansão. O Leste da África também é uma região de grande interesse, com expansão contínua da aids e endemias esporádicas de LV (Desjeux, 1999). No sudoeste da Europa, 75% de pacientes soronegativos e 80-83% dos HIV-positivos diagnosticados com LV são homens (Pintado *et al.*, 2001; OMS, 2001). Na América do Sul, a maioria das co-infecções registradas ocorreu no Brasil, onde a incidência de aids aumentou de 0,8 casos por 100.000 habitantes em 1986 para 20,7 em 2003 (Rabello *et al.*, 2003; OMS, 2006).

A presença de HIV e *Leishmania* na mesma célula tem implicações na expressão e disseminação de ambas. Estas infecções modificam a resposta celular de predomínio Th0 ou Th1 para Th2, através de um mecanismo mediado por um complexo de citocinas levando a uma resposta humoral. Sabe-se que há redução da produção de IFN- γ , o que reduz a capacidade macrofágica de combater as leishmanias (Wolday *et al.*, 1994), impedindo a eliminação de amastigotas por ação tóxica do óxido nítrico.

A depleção de LT CD4+, relacionada ao vírus HIV, diminui o número destas células capazes de reconhecer a *Leishmania* e de estimular os linfócitos B/plasmócitos, provável razão do grande número de pacientes com testes sorológicos falso-negativos (Da Cruz *et al.*, 1992), aproximadamente 40% dos casos, especialmente no estágio avançado ou

durante recidivas da doença, o que torna a detecção da *Leishmania* em material de biópsia crucial (Desjeux, 1996). A inversão da relação CD4+/CD8+ possivelmente contribui para a instalação da doença (Da Cruz *et al.*, 1992).

A maioria dos pacientes que tem leishmaniose localizada e mucocutânea auto-limitada, por exemplo, tem boa resposta proliferativa a antígenos de *Leishmania* e produzem grandes quantidades de IL-2 e IFN- γ , mesmo na fase ativa da doença. Em contraste, a susceptibilidade à infecção leishmaniótica e a exacerbação da doença está associada, em imunocompetentes, com um padrão de citocinas do tipo Th2, no qual IL-4, IL-5 e grande quantidade de IL-10 predominam (Pirmez *et al.*, 1993; Scott, 1993). A indução da expressão do HIV tem sido sugerida pela observação do aumento progressivo na carga de RNA HIV-1 em pacientes co-infectados em paralelo ao aumento nos níveis de IL4, IL6 e IL10 (Cacopardo *et al.*, 1996; Blackwell JM., 1999).

A infecção pela *Leishmania* aumenta a replicação do HIV *in vivo* e *in vitro* em indivíduos co-infectados (Cacopardo *et al.*, 1996; Wolday *et al.*, 1999), principalmente devido à ativação crônica do sistema imunológico provocada pela aids. O perfil de citocinas tipo Th2 na co-infecção *Leishmania*/HIV (com altos níveis de IL-4, IL-6 e IL-10) difere significativamente daquele visto em monoinfectados pelo HIV (Preiser *et al.*, 1996). Ocorre ainda aumento de TNF- α e de IL-2, IL-4, IL-6 e IL-10, afetando o ciclo celular (Wolday *et al.*, 1994) e modificando a resposta Th1 para Th2 de modo irreversível (Cacopardo *et al.*, 1996). Quando comparados com pacientes infectados somente pelo HIV, os pacientes co-infectados exibem níveis mais elevados de IL-4 e IL-10 e receptor de interleucina 2 (IL-2R) e menor produção de IFN- γ pós-estímulo (Wolday *et al.*, 2000).

O lipofosfoglicano (LPG) da *L. infantum*, um glicoconjugado presente maciçamente na superfície do parasito, pode induzir a expressão do HIV em células mononucleares de sangue periférico de pacientes assintomáticos, provavelmente devido a produção de TNF- α (Desjeux & Alvar, 2003; Olivier *et al.*, 2003).

O diagnóstico da LV em pacientes co-infectados com *Leishmania*-HIV é particularmente difícil. As características clínicas usuais da LV (tal como febre, perda de peso, hepatoesplenomegalia, e edema dos linfonodos), não estão sempre presentes, ou podem ser ocultados pela associação de outras infecções oportunistas que mimetizam os sintomas da LV. Aspirado de medula óssea (AMO) permanece a mais segura e sensível técnica de detecção do parasito, com aspirado de baço também sendo utilizado. A sensibilidade aumenta quando AMO ou material de biópsia de lesão de pele são cultivados (Desjeux, 1996).

O diagnóstico de pacientes co-infectados deve ser feito nos estágios iniciais (parasitológico para leishmaniose e sorológico para HIV), e quando realizado, tal diagnóstico deve ser seguido por tratamento imediato de ambas as doenças (Desjeux, 1999).

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DE ESTUDO

Foi realizado um estudo transversal para investigar a prevalência da co-infecção HIV/*Leishmania* em pacientes atendidos em unidades de referência para aids em Belém.

4.2 POPULAÇÃO DE ESTUDO

Pacientes com infecção confirmada pelo HIV atendidos nas seguintes unidades de referência para aids em Belém: Centro de Atenção à Saúde em Doenças Infecciosas Adquiridas (CASA DIA) e Unidade de Referência Especializada em Doenças Infecciosas e Parasitárias Especiais (URE - DIPE).

4.3 TAMANHO DA AMOSTRA

O tamanho amostral utilizado no presente estudo foi estabelecido após contato com as gerências das unidades envolvidas, onde obteve-se o número de pacientes cadastrados, 6.400 em Belém CASA DIA e URE - DIPE, sendo estabelecido após o cálculo, uma amostragem de 377 para Belém. A fórmula para cálculo amostral foi:

$$A = \frac{N}{1 + [(N-1) \cdot (E)^2]}$$

Onde A= tamanho amostral; N= população absoluta e E=erro amostral (p-valor = 0,05).

4.4 CRITÉRIO DE INCLUSÃO

Indivíduos sorologicamente positivos para o HIV de todas as idades atendidos em unidades de referência para aids em Belém que concordaram em participar da pesquisa assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 1).

4.5 CRITÉRIO DE EXCLUSÃO

Indivíduos adultos atendidos em unidades de referência para aids em Belém que não concordaram em participar do estudo.

4.6 COLETA DE DADOS

Os dados foram registrados em formulário estruturado antes de serem transferidos para o banco de dados (Anexo 2).

4.7 COLETA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

4.7.1 Sangue:

Foi coletado, de todos os pacientes, um volume de 5 mL de sangue de cada paciente em tubo contendo anticoagulante EDTA, mediante punção venosa, sendo o material

devidamente armazenado para transporte. As amostras foram processadas em laboratório para separação das camadas de leucócitos, que foram utilizadas para extração de DNA e PCR, e dos soros, que foram congelados a -20°C e posteriormente enviados ao Instituto Evandro Chagas (IEC) para a realização da técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI). As amostras foram coletadas no período de julho a outubro de 2008.

4.8 MÉTODOS LABORATORIAIS

4.8.1 Intradermorreação de Montenegro (IDRM)

Foi realizada a IDRM em 55 dos 377 pacientes para a avaliação de hipersensibilidade tipo tardia específica, através de injeção intradérmica de antígeno de *Leishmania (V.) braziliensis* e monitoramento para avaliação de reação local.

4.8.2 Sorologia pela Reação de Imunofluorescência Indireta (IFI)

Para a realização desta técnica, $10\mu\text{l}$ de antígeno foram incubados em cada orifício da lâmina a 37°C por duas horas. O soro dos pacientes foi diluído em PBS nos títulos de 1:40 até 1:1280 e $10\mu\text{l}$ de cada diluição foi pingado na lâmina. O soro foi incubado a 37°C durante 30 minutos em câmara úmida. Após esse período, as lâminas foram lavadas por 3 minutos em PBS e mais 3 minutos em água destilada. Depois de estarem secas, o conjugado foi diluído a 1:50 em PBS com Azul de Evans a 1:25 e $15\mu\text{l}$ dessa solução foram colocados em cada orifício da lâmina. As etapas de incubação e lavagem foram repetidas como anteriormente. As lâminas foram montadas com glicerina tamponada entre lâmina e lamínula

e levadas ao microscópio de imunofluorescência. Foram considerados positivos todos os títulos iguais ou superiores a 1:80.

4.8.3 Extração de DNA

Após lavagem das amostras de sangue para separação da camada de leucócitos, foi adicionada 2µL de proteinase K (em uma concentração final de 50 µg/mL), seguida de incubação a 42 °C overnight. O DNA foi obtido por meio de extração utilizando a técnica do fenol: clorofórmio: álcool isoamílico (25:24:1), segundo Sambrook *et al.* (1989) e precipitado com 1/10 do seu volume pela adição de solução de acetato de sódio 3M, pH 7,0 e 2 ½ volumes de etanol absoluto gelado. Foi mantido a -20 °C por 8 horas ou mais e então o material foi centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos à temperatura ambiente. Todo o sobrenadante foi desprezado e o sedimento seco, depois suspenso em 30 µL de tampão TE (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8,0) e mantido a 4 °C até o momento do uso. Dois microlitros (2µL) da amostra foram utilizados em cada reação de PCR.

4.8.4 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

As amostras foram testadas com os seguintes pares de iniciadores para a amplificação *in vitro* do DNA de *Leishmania*:

a) Marcadores do Mini-exon:

Subgênero *Viannia* e *Leishmania*

S1629 (5' - GGG AAT TCA ATA WAG TAC AGA AAC TG-3')

S1630 (5' - GGG AAG CTT CTG TAC TWT ATT GGT A - 3')

b) Marcadores do kDNA:

Subgênero *Viannia*:

B1 (5' - GGG GTT GGT GTA ATA TAG TGG - 3')

B2 (5' - CTA ATT GTG CAC GGG GAG G - 3')

Subgênero *Leishmania*: (*L. amazonensis*)

M1 (M193) (5' - CCA GTT TCG AGC CCC GGA G - 3')

M2 (M293) (5' - GGT GTA AAA TAG GGG CGG ATG CTC TG - 3')

Para a realização da técnica de PCR para os marcadores de kDNA, cada reação de amplificação foi feita em um volume final de 25 μ L contendo 2,5 U/ μ L de *Taq* DNA polimerase (GIBCO), 200 μ M de cada dNTPs, 1,5 mM de MgCl₂, 50 mM de KCl, 100 mM de Tris-HCl, pH 8,5 com 25 pmoles dos oligonucleotídeos sintéticos (marcadores) por reação e 2 μ L de DNA extraído. Os marcadores B1 e B2, M1 e M2 detectam genes de kDNA das espécies de *Leishmania* do subgênero *Viannia* e *Leishmania*. Sendo que B1 e B2 para o subgênero *Viannia* e M1 e M2 para a *Leishmania (L.) amazonensis* amplificam aproximadamente 700pb do kDNA de *Leishmania*.

Em termociclador (mastercycler personal) programado, a reação foi incubada a uma temperatura inicial de 95°C por 5 minutos; seguida de 35 ciclos nas seguintes temperaturas: 94°C por 1 min., 61,5°C (B1 e B2) por um min.; 67°C (M1 e M2) e 72°C por 1 min. Após os 35 ciclos, a etapa de extensão da molécula a 72°C foi de 7 minutos.

Para os marcadores S1629 e S1630, a PCR foi realizada em um volume total de 10 μ L contendo 2 μ L de dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) a 1,25 mM; 0,3 μ L de MgCl₂ a 50 mM; 2 μ L de solução tampão de PCR em uma concentração de 10x; 1 μ L de DMSO;

1,5µL de cada um dos oligonucleotídeos sintéticos (marcadores) (200 ηg/µL); 0,1 µL de *Taq* DNA polimerase (5U/µL); 2 µL de DNA da amostra; água destilada estéril até o volume final de 10µL. Os marcadores utilizados amplificam aproximadamente 400pb do gene de Mini-exon das espécies de *Leishmania* viscerotrópicas e 250 pb para o subgênero *Viannia* e 350 pb para a *Leishmania (L.) amazonensis* (Fernandes *et al.*, 1994; Degraeve *et al.*, 1994).

Em termociclador (mastercycler personal) programado, a reação foi incubada a uma temperatura inicial de 95°C por 3 min. para a desnaturação do DNA; seguida de 5 ciclos nas seguintes temperaturas: 95°C por 1 min., 45°C por 30 segundos e 65°C por 1 min. Em seguida, a reação foi levada a uma temperatura de 95°C por um minuto, seguida de 35 ciclos nas condições de 95°C por 1 minuto, 50°C por 30 segundos e 72°C por 1 minuto. Ao final, a etapa de extensão foi mantida por 10 minutos a 72°C.

4.8.5 Eletroforese em gel de agarose

O produto de PCR foi aplicado em gel de agarose a 1% em tampão TBE (89 mM Tris-HCl, 89 mM ácido bórico, 2 mM EDTA, pH 8,3) com solução de azul de bromofenol, sendo submetida a 100V e 50 mA por 1 hora. O fragmento amplificado de DNA foi corado com brometo de etídio a 0,5 µg/mL e as bandas foram visualizadas em transluminador UV. As imagens foram capturadas e fotodocumentadas pelo equipamento Vilber Loumart.

4.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Neste trabalho foi aplicada a Estatística Descritiva para organizar e descrever os dados em estudo, de forma que se tivesse uma visão global desses valores. Assim, para

descrever as características das variáveis categóricas quanto ao teste PCR, foram obtidas tabelas de contingência que apresentam a frequência e o percentual dos casos. Ainda, para variáveis contínuas, a descrição foi realizada através de medidas descritivas, como de posição (média e quartis) e dispersão (desvio-padrão).

Para verificar a associação das variáveis categóricas em estudo com o PCR foi utilizado o teste qui-quadrado (χ^2) de Pearson, um dos testes não-paramétricos mais conhecidos e utilizados nas ciências biomédicas. Além disso, foi utilizado o teste paramétrico *t* de Student para variáveis contínuas com distribuição normal e o teste não-paramétrico de Wilcoxon para distribuição não-normal, neste caso, para amostras pareadas.

Desta forma, os testes aplicados foram do tipo bilateral (busca diferenças entre os grupos analisados, indicando assim, associação) a um nível de significância (α) de 5%. Assim, para verificar a significância da associação do PCR com as variáveis em estudo, foi necessário verificar se o nível descritivo (*p*) é menor que α . Os resultados estatísticos dos testes foram obtidos através do *software* SPSS 13 para Windows.

4.10 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo constituiu um subprojeto do projeto de pesquisa “Avaliação clínico-epidemiológica e laboratorial da co-infecção HIV-leishmanioses, tegumentar e visceral, no estado do Pará.” do Ministério da Saúde do Brasil, 2008, o qual foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará (anexo 3).

5 RESULTADOS

Foram selecionados 377 pacientes HIV-infectados para a realização deste estudo, pacientes que foram admitidos entre 03/07/2008 a 22/10/2008 em uma das instituições participantes da pesquisa. A amostra foi composta por 248 pacientes atendidos pelos Programas de DST/aids da URE-Dipe e 129 pacientes da CASA DIA.

O quadro com os resultados das técnicas de PCR, IFI e IDRМ utilizadas para a detecção de infecção por *Leishmania* nos 377 pacientes HIV+, bem como o quadro que reuni os resultados da PCR, IFI e IDRМ e as principais características que podem estar associadas com maior probabilidade de testes positivos, encontram-se em anexo (anexos 5 e 6).

5.1 DA PCR

O quadro 1 apresenta o resultado da PCR dos 377 pacientes analisados no estudo. Verifica-se que a maioria dos pacientes apresentou reação negativa (255), o que representa 94% do total. Apenas 6% apresentaram reação positiva (22) ao PCR.

Entre os 22 pacientes PCR reativo, 04 tiveram a identificação espécie específica confirmada, todos pertencentes ao subgênero *Leishmania*, sendo 03 *Leishmania (L.) amazonensis*, causadora de LTA, e 01 *Leishmania (L.) chagasi*, espécie causadora de LVA. Os demais 18 pacientes foram identificados como pertencentes ao subgênero *Viannia*, *Leishmania (V.)* sp.

QUADRO 1 - Frequência e percentual do resultado da PCR dos 377 pacientes atendidos.

PCR	Frequência	%
Positivo	22	6
Negativo	355	94
Total	377	100

**Figura 6:** Percentuais do resultado da PCR dos 377 pacientes.

5.2 DA ANÁLISE EXPLORATÓRIA DAS CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS E CLÍNICAS

Foi realizada uma análise exploratória das características epidemiológicas e clínicas que poderiam estar associadas com uma maior probabilidade de apresentar testes positivos. A seguir são apresentados os resultados do teste χ^2 empregado para determinar se existe associação significativa entre o teste de PCR e cada uma das principais variáveis categóricas analisadas: gênero, sorologia (IFI), terapia anti-retroviral (TARV), doenças associadas, co-infecção com Hanseníase, procedência, região hiperendêmica de Hanseníase, região endêmica de leishmaniose, transfusão de sangue e uso de drogas intravenosas.

5.2.1 QUANTO AO GÊNERO

Dos 377 pacientes atendidos, 224 (59,42%) eram do gênero feminino e 153 (40,58%) eram do gênero masculino. A tabela 1 apresenta a associação entre PCR e gênero dos 377 pacientes. Na tabela verifica-se que 13 dos 22 pacientes (59%) e 211 dos 355 pacientes (59%) que apresentaram respectivamente reação positiva e negativa ao PCR são do sexo feminino. De acordo com o resultado do χ^2 , onde o valor de p foi maior que o nível de significância (α) adotado, a associação não apresentou significância estatística.

TABELA 1 - Frequência e percentual da associação entre PCR e gênero dos 377 pacientes.

Gênero	PCR					
	Positivo		Negativo		Total	
	Frequência	%	Frequência	%	Frequência	%
Masculino	9	41	144	41	153	41
Feminino	13	59	211	59	224	59
Total	22	100	355	100	377	100

Nota: Teste χ^2 : Pearson = 0,001; $p = 0,974$.

5.2.2 QUANTO A ASSOCIAÇÃO ENTRE PCR E SOROLOGIA (IFI)

Em relação à associação entre PCR e sorologia (IFI) dos 377 pacientes, de acordo com a tabela 2, a maioria dos pacientes que apresentou PCR positiva (22) e negativa (355) também apresentou sorologia negativa, o que corresponde a 91% e 98%, respectivamente. Ainda, de acordo com o resultado do teste χ^2 , verifica-se que o valor de p foi menor que o nível de significância (α) adotado, logo, o resultado apresentou significância estatística. Dos 22 pacientes PCR reativo, apenas 02 apresentaram reatividade para sorologia.

TABELA 2 - Frequência e percentual da associação entre PCR e sorologia dos 377 pacientes.

Sorologia	PCR					
	Positivo		Negativo		Total	
	Frequência	%	Frequência	%	Frequência	%
Positivo	2	9	6	2	8	2
Negativo	20	91	349	98	369	98
Total	22	100	355	100	377	100

Nota: Teste χ^2 : Pearson = 5,463; $p = 0,019$.

5.2.3 QUANTO A ASSOCIAÇÃO ENTRE PCR E TARV

Na tabela 3 relaciona-se a associação entre PCR e TARV. Verifica-se que a maioria dos pacientes que apresentou PCR positivo (17/22) e negativo (297/355) encontrava-se em TARV, o que corresponde a 77% e 84%, respectivamente. Na Análise do resultado do χ^2 , no qual o valor de p foi menor que o nível de significância (α) adotado, não houve significância estatística.

TABELA 3 - Frequência e percentual da associação entre PCR e TARV.

TARV	PCR					
	Positivo		Negativo		Total	
	Frequência	%	Frequência	%	Frequência	%
Sim	17	77	297	84	314	83
Não	5	23	58	16	63	17
Total	22	100	355	100	377	100

Nota: Teste χ^2 : Pearson = 0,608; $p = 0,436$.

5.2.4 QUANTO A OCORRÊNCIA DE OUTRAS DOENÇAS EM PACIENTES COM HIV/AIDS

A ocorrência de doenças associadas ao quadro de HIV/aids foi evidenciada em 159 dos 377 pacientes, alguns apresentavam mais de um quadro de doenças associadas (anexo 4). A tabela 4 apresenta a frequência e o percentual da associação entre PCR e doenças associadas. Verifica-se que 08 dos 22 pacientes (36%) e 151 dos 355 pacientes (43%) que apresentaram, respectivamente, PCR positivo e negativo, apresentaram doenças associadas. Em relação ao teste χ^2 , verificou-se que o valor de p foi maior que o nível de significância (α) adotado, logo, o resultado não apresentou significância estatística.

TABELA 4 - Frequência e percentual da associação entre PCR e doenças associadas.

Doenças Associadas	PCR					
	Positivo		Negativo		Total	
	Frequência	%	Frequência	%	Frequência	%
Ausência	14	64	204	57	218	58
Presença	8	36	151	43	159	42
Total	22	100	355	100	377	100

Nota: Teste χ^2 : Pearson = 0,324; p = 0,569.

5.2.5 QUANTO A RELAÇÃO PCR E CO-INFECÇÃO COM HANSENÍASE

A relação entre PCR e co-infecção com hanseníase está representada na tabela 5. Nesta tabela verifica-se que a grande maioria dos pacientes quer seja PCR positivo ou negativo, não apresentaram co-infecção com hanseníase, o que corresponde a 100% e 99%, respectivamente. De acordo com o resultado do χ^2 , onde o valor de p foi maior que o nível de significância (α) adotado, não verificou-se significância estatística.

TABELA 5 - Frequência e percentual entre a associação PCR e co-infecção com hanseníase.

Co-infecção hanseníase	PCR					
	Positivo		Negativo		Total	
	Frequência	%	Frequência	%	Frequência	%

Sim	0	0	5	1	5	1
Não	22	100	350	99	372	99
Total	22	100	355	100	377	100

Nota: Teste χ^2 : Pearson = 0,314; $p = 0,575$.

5.2.6 QUANTO A ASSOCIAÇÃO ENTRE PCR E PROCEDÊNCIA

A tabela 6 apresenta a frequência e o percentual da associação entre PCR e a procedência dos pacientes. De acordo com a tabela, 18 (82%) dos 22 pacientes e 243 (68%) dos 355 que foram, respectivamente, reativos e não reativos ao PCR são oriundos da região metropolitana de Belém (RMB). Analisando-se ainda o resultado do teste χ^2 , tem-se que o valor de p foi menor que o nível de significância (α) adotado, logo, houve significância estatística.

TABELA 6 - Frequência e percentual da associação entre PCR e procedência dos pacientes.

Procedência	PCR					
	Positivo		Negativo		Total	
	Frequência	%	Frequência	%	Frequência	%
RMB	18	82	243	68	261	69
Outras Localidades	4	18	112	32	116	31
Total	22	100	355	100	377	100

Nota: Teste χ^2 : Pearson = 1,738; $p = 0,187$.

*RMB: região metropolitana de Belém.

5.2.7 QUANTO A ASSOCIAÇÃO ENTRE PCR E PROCEDÊNCIA DE REGIÃO HIPERENDÊMICA DE HANSENÍASE

Associando-se a PCR à de procedência de região hiperendêmica de hanseníase dos 377 pacientes, verifica-se na tabela 7 que a maioria dos pacientes que apresentou PCR positivo (21/22) e negativo (338/355) não procedia de região hiperendêmica de hanseníase, o

que corresponde a 95% para ambos os casos. No resultado do teste χ^2 , onde o valor de p foi maior que o nível de significância (α) adotado, não verificou-se significância estatística.

TABELA 7 - Frequência e percentual da associação entre PCR e procedência ou não procedência de região hiperendêmica de hanseníase dos 377pacientes.

Região Hiperendêmica Hanseníase	PCR					
	Positivo		Negativo		Total	
	Frequência	%	Frequência	%	Frequência	%
Sim	1	5	17	5	18	5
Não	21	95	338	95	359	95
Total	22	100	355	100	377	100

Nota: Teste χ^2 : Pearson = 0,003; $p = 0,959$.

5.2.8 QUANTO A RELAÇÃO PCR E PROCEDÊNCIA DE REGIÃO ENDÊMICA DE LEISHMANIOSE

A tabela 8 apresenta a frequência e o percentual da relação PCR e procedência de região endêmica de leishmaniose dos 377 pacientes avaliados no estudo. De acordo com a tabela, a maioria dos pacientes positivos (20/22) ou negativo (320/355) para a PCR, não procedem de regiões endêmicas de leishmaniose, o que representa 91% e 90% do total de indivíduos, respectivamente. No que se refere ao resultado do teste χ^2 , onde o valor de p foi maior que o nível de significância (α) adotado, não verificou-se significância estatística.

TABELA 8 - Relação entre PCR e procedência de região endêmica de leishmaniose.

Região Endêmica Leishmaniose	PCR					
	Positivo		Negativo		Total	
	Frequência	%	Frequência	%	Frequência	%
Sim	2	9	35	10	37	10
Não	20	91	320	90	340	90
Total	22	100	355	100	377	100

Nota: Teste χ^2 : Pearson = 0,014; $p = 0,906$.

5.2.9 QUANTO A RELAÇÃO ENTRE PCR E TRANSFUSÃO DE SANGUE

A tabela 9 apresenta a relação entre PCR e transfusão de sangue dos 377 pacientes estudados. Observa-se na tabela que 19 dos 22 pacientes PCR positivo e 295 dos 355 PCR negativo não realizaram transfusão de sangue, o que corresponde a 86% e 83%, respectivamente. Verifica-se ainda pelo resultado do teste χ^2 , que o valor de p foi maior que o nível de significância (α) adotado, logo, não houve significância estatística.

TABELA 9 - Relação entre PCR e transfusão de sangue dos 377 pacientes estudados.

Transfusão de Sangue	PCR					
	Positivo		Negativo		Total	
	Frequência	%	Frequência	%	Frequência	%
Sim	3	14	57	16	60	16
Não	19	86	295	83	314	83
Sem informação	0	0	3	1	3	1
Total	22	100	355	100	377	100

Nota: Teste χ^2 : Pearson = 0,289; $p = 0,866$.

5.2.10 QUANTO A ASSOCIAÇÃO PCR E USO DE DROGAS INTRAVENOSAS

A associação entre PCR e uso de drogas intravenosas está relacionada na tabela 10. Verifica-se que 21 dos 22 pacientes (95%) e 325 dos 355 (92%) que foram, respectivamente, reativos e não reativos a PCR, declararam não uso de drogas intravenosas. Quanto ao resultado do teste χ^2 , o valor de p foi maior que o nível de significância (α) adotado, logo, não houve significância estatística.

TABELA 10 – Associação entre PCR e uso de drogas intravenosas.

Uso de drogas intravenosas	PCR					
	Positivo		Negativo		Total	
	Frequência	%	Frequência	%	Frequência	%
Sim	1	5	26	7	27	7
Não	21	95	325	92	346	92
Sem informação	0	0	4	1	4	1
Total	22	100	355	100	377	100

Nota: Teste χ^2 : Pearson = 0,506; $p = 0,777$.

5.3 DA ASSOCIAÇÃO DA PCR COM AS VARIÁVEIS CONTÍNUAS

A média de idade dos 377 pacientes foi de 38,2 anos, com DP = 10,10 anos e mínimo e máximo de 07 e 69 anos, respectivamente. Na tabela 11 relaciona-se medidas descritivas de posição e dispersão para a associação entre idade e PCR. Verifica-se pela tabela que a idade média dos pacientes PCR positivo foi de 41 anos, e dos pacientes PCR negativo foi de 38 anos, com DP de 12 e 10 anos, respectivamente. Além disso, 25% dos indivíduos (quartil 1) apresentaram idade inferior a 28 anos para o positivo e 31 anos para o negativo. Esses resultados demonstraram que não houve diferença entre os grupos, o que foi confirmado com o valor p do teste t, que foi maior que o nível de significância de 5%.

TABELA 11 - Medidas descritivas da relação entre a variável idade e a PCR.

Variável	Idade	
	Positivo	Negativo
Frequência	22	355
Mínimo	21	7
Máximo	65	69
Média	40.5	38

Desvio-padrão	11.614	10.011
Quartil 1	27.75	31
Mediana	40.5	38
Quartil 3	46.5	44

Nota: Teste t: $t = 0,695$; $p = 0,488$.

Para as variáveis CV e LT CD4+, as amostras apresentaram observações em pares, onde se mede as características iniciais, isto é, antes do início da TARV e atual, isto é, após o início TARV. Neste caso, utilizou-se um teste para dados pareados, o teste de Wilcoxon, por se tratar de variáveis com distribuições não-normais.

A tabela 12 apresenta algumas medidas descritivas de posição e descrição para a variável CV inicial e atual. Neste caso, do total de 314 pacientes que estavam em TARV, foram excluídos da análise 65 pacientes que não apresentavam informações a cerca dos níveis de CV iniciais e atuais, restando um total de 249 pacientes a serem avaliados.

Verifica-se a partir da Tabela 12, que a média da CV inicial dos pacientes foi de aproximadamente 135573, enquanto que a média atual foi de aproximadamente 30952. De acordo com os resultados do teste de Wilcoxon, verificou-se que p foi significativo, pois seu valor foi menor que o nível de significância de 5%, o que confirma uma redução média da CV dos pacientes após o início da TARV. Verifica-se, a partir do quadro 4 a relação das variáveis TARV, CV e LT CD4+ dos 22 pacientes PCR positiva (anexo 6).

TABELA 12 - Medidas descritivas da CV inicial e atual.

Variável	CV	
	Antes	Depois
Frequência	249	249
Mínimo	50	50
Máximo	4100000	910000
Média	135572,8	30952,2
Desvio-padrão	401187,1	99953,1
Quartil 1	900	50
Mediana	24000	65

Quartil 3	115000	7837
<hr/>		
Nota: Teste de Wilcoxon: $Z = -8,023$; $p = 0,000$.		

6 DISCUSSÃO

A aplicação da PCR para detecção do DNA de *Leishmania* para o diagnóstico de LC em biópsia de tecido e LV em material de punção de medula, fígado ou baço tem sido relatada desde o início os anos 90 por diversos pesquisadores como Rodgers *et al.*, 1990 e Smith *et al.*, 1992. O uso de PCR em amostras de sangue periférico para diagnosticar a LV foi relatado em 1995 por Adhya *et al.*, Nuzum *et al.*, Mathis & Deplazes e Schaefer *et al.* que empregaram esta técnica em pacientes com LV confirmada de diferentes países como a Índia, Quênia e até mesmo na Suíça para um caso de doença “importado” naquele país. Desde então, inúmeros estudos foram realizados e publicados com a descrição de diferentes protocolos para a PCR, utilizando como alvo o DNA do núcleo ou o kDNA de *Leishmania*, que está presente em milhares de cópias por parasita (Pizzuto *et al.*, 2001; Cruz *et al.*, 2002; Bossolasco *et al.*, 2003) ou o gene da subunidade menor do rRNA, que se repete mais de 100 vezes no genoma deste parasito (Gatti *et al.*, 2004; De Doncker *et al.*, 2005; Cruz *et al.*, 2006) e no presente estudo utilizamos os marcadores do mini-exon e do kDNA para investigar a prevalência de co-infecção *Leishmania* - HIV/AIDS para melhor conhecimento da situação em nosso Estado.

Entre todos os 377 pacientes soropositivos para HIV/AIDS investigados, nenhum apresentava manifestações clínicas quer seja de LTA, quer seja de LVA. O resultado obtido pela PCR apresentou uma frequência de 6% (22/377), independente de espécie causadora da doença e sem apresentar qualquer significância com relação ao gênero dos pacientes. A taxa obtida foi considerada baixa quando comparada aos estudos realizados por García-García *et al.* (2006), na Espanha, que obteve uma frequência de 30,4% (27/92), quando investigaram

entre pacientes HIV-infectados, também sem histórico de LT ou LV e clinicamente assintomáticos para leishmanioses.

No entanto esta grande diferença observada, possivelmente, pode está relacionada com a elevada presença de usuários de drogas intravenosas, 48 indivíduos dentre os 92 que compuseram o grupo de estudo destes autores, haja vista que, diversos trabalhos na literatura têm sugerido a possibilidade de transmissão inter-humana da leishmaniose através de seringas contaminadas com sangue infectado por *Leishmania*, o que torna possível um ciclo alternativo do parasita entre os viciados em drogas, uma vez que mais de 50% dos pacientes co-infectados apresentam a presença de amastigotas nos monócitos do sangue periférico (Alvar *et al.*, 1997; Mattos *et al.*, 1998). No presente estudo, quando analisamos entre os pacientes (22) que foram PCR positiva, apenas 01 declarou uso de drogas intravenosas, no entanto entre os 377 participantes, 27 indivíduos se declaram usuários de drogas intravenosas. Isso demonstra que a causa da infecção por *Leishmania* entre a maioria dos pacientes que analisamos não foi por transmissão do tipo inter-humana.

Por conseguinte, se detectamos a presença de DNA de *Leishmania* em sangue circulante e esta transmissão não está diretamente relacionado com os usuários de drogas, então o outro questionamento foi: qual seria o nível de anticorpos circulantes contra *Leishmania* entre estes pacientes? E o resultado apresentado pela IFI foi que apenas 8 (2%) dos 377 pacientes tinha anticorpos circulantes e desses somente 2 apresentaram concomitância com a PCR e isso nos trouxe duas novas questões. Agora, como explicar PCR negativo com anticorpos circulantes e PCR positivo sem anticorpos circulantes.

Essas discordâncias nos resultados das técnicas moleculares e sorológicas para o diagnóstico da leishmaniose têm sido relatadas e Riera *et al.* em 2004 defende a questão expressando que um resultado positivo por técnicas sorológicas não representa uma infecção

ativa e pode estar relacionada com a detecção de memória imunológica na ausência do parasita e também, que um resultado negativo não descarta a infecção principalmente em formas crônicas. Em pessoas infectadas pelo HIV, os testes sorológicos têm sido descritos como ferramentas de diagnóstico muito limitado (Medrano *et al.*, 1998; Pintado *et al.*, 2001). Assim, como não houve qualquer informação adicional no registro dos pacientes que analisamos sobre de ter adquirido a leishmaniose, especula-se que estes podem ter tido algum contato com o parasita no passado e que após tratamento ou cura espontânea ainda mantém um nível de anticorpos.

Quando Acedo-Sánchez *et al.* (1996) realizaram estudos em pessoas assintomáticas, sem infecção pelo HIV, conseguiram observar que quanto maior o título de anticorpos contra *L. infantum* maior a proporção de amostras positivas para PCR. Os achados no presente estudo não apresentaram o mesmo perfil, porém estão de acordo com os resultados encontrados por García-García *et al.* (2006), quando analisaram pacientes HIV positivos assintomáticos, não encontrando nenhuma reação positiva na técnica de ELISA dentre os pacientes que apresentaram PCR positiva.

Assim, em relação aos pacientes com resultado positivo pela PCR, é digno de nota que 01 dentre as 22 amostras com este resultado foi identificada em nível de espécie como *Leishmania (L.) infantum chagasi*, entretanto, ausência de informações detalhadas a respeito do histórico de viagens para áreas endêmicas apresentam uma grande lacuna nas investigações epidemiológicas. Situações essas que levam muitas vezes a discussão sobre detecção de “fósseis de DNA”, que seriam a detecção de resto ou parte de DNA do parasita circulante no sangue do indivíduo, assim caracterizando não infecção e não apresentando capacidade para acionar o sistema imunológico.

Desta forma para a compreensão da segunda questão apresentada, podemos ter como base os estudos realizados por Alvar *et al.* (1997) que tem demonstrado que níveis detectáveis de anticorpos contra *Leishmania* não foram encontrados em mais de 40% de indivíduos co-infectados com *Leishmania*/HIV. Além disso, estima-se que níveis de anticorpos antiparasita específicos em pacientes HIV positivos co-infectados são 50 vezes menores que em pacientes com imunidade normal. Este fato tem sido associado à acentuada desregulação do sistema imunológico que ocorre na infecção pelo HIV (Medrano *et al.*, 1998). Assim, o dano funcional da imunidade mediada por células, devido à infecção pelo HIV poderia resultar na ausência de uma resposta de anticorpos à infecção por *Leishmania*, mesmo com a presença de uma baixa parasitemia. Esse comprometimento no sistema imunológico pode levar à elevada percentagem de resultados de sorologia falso-negativos para *Leishmania*, detectados em indivíduos HIV-infectados (Sinha, *et al.*, 2005).

E recentemente Prina *et al.* (2007), demonstraram que o DNA de *Leishmania* detectado por PCR é derivado de parasitos intactos e que o DNA nuclear e o kDNA são rapidamente degradados após a morte da amastigota. Estes dados estão de acordo com os de estudos clínicos recentes, em que um resultado positivo de PCR foi correlacionado com a presença de parasitas vivos, enquanto um resultado negativo foi obtido após cura parasitológica (Cruz *et al.*, 2006; Disch *et al.*, 2004; Maurya *et al.*, 2005). Neste sentido, podemos nos fortalecer ao apresentar que os resultados positivos que obtivemos pela PCR, trata-se de infecção recente. Esses resultados fornecem uma sinalização indicando que serão necessárias novas investigações e acompanhamento desses pacientes para um tratamento adequado em tempo.

De acordo com Le Fichoux *et al.* (1999), não tem sido relatada a transmissão de *Leishmania* para os indivíduos que receberam sangue de doadores portadores desse parasito.

No entanto, dentre os 22 pacientes que foram positivos em nossa análise, 3 foram submetidos a transfusão sanguínea, poderíamos supor que pelo fato de não ter havido significância estatística em relação entre PCR e transfusão provavelmente a infecção foi devido a outros fatores, mas acreditamos que, em se tratando de região amazônica, ainda é precoce qualquer tipo de afirmação nesse sentido.

Ao considerarmos a aplicação de TARV, verificamos que dos 22 pacientes que apresentaram resultado de PCR positivo, 05 não estavam em TARV no período do estudo. Segundo Cruz *et al.* (2006), a TARV proporciona maior sobrevida aos pacientes co-infectados em comparação aos pacientes que não receberam a TARV, haja vista que, uma vez restaurada a resposta imunológica, os pacientes tratados com TARV tornam-se menos suscetíveis aos efeitos da primo-infecção (Orsini, 2003; López-Velez, 2003). Entretanto, Cruz *et al.* (2006), sugeriram em seu estudo que a infecção por *Leishmania* reaparece em pacientes HIV+, incluindo aqueles que recebem TARV, após tratamento bem sucedido, o que aparentemente está relacionado à baixos níveis de LT CD4+ (Soriano *et al.*, 2000; Berenguer *et al.*, 2000).

Ainda de acordo com Lopez-Velez (2003), o sucesso da TARV parece não ser suficiente para controlar a infecção por *Leishmania* ou para evitar a ocorrência de recaídas. A carga viral plasmática sozinha não é, portanto, um fator preditivo de recidiva de LV. Outros estudos observaram recidivas em pacientes com carga viral bem controlada pela TARV, com todas as recidivas tendo ocorrido sem a reconstituição das funções imunológicas (contagem de CD4+ menor que 200 células/mm³) (Villanueva *et al.*, 2000; Jimenez-Exposito *et al.*, 1999; Bourgeois *et al.*, 2008).

Infelizmente, a TARV não demonstrou ser muito eficaz para evitar as recidivas (Cruz *et al.*, 2006; Mira *et al.*, 2004). Em um estudo prospectivo realizado por Fernández

Cotarelo *et al.* (2003), não foi demonstrado qualquer efeito protetor proporcionado pela TARV após o episódio de LV, entre os 66 pacientes analisados no estudo (35 receberam TARV), as recidivas foram igualmente frequentes.

No que se refere a CV, 08 pacientes dos 22 com PCR positiva apresentaram redução dos níveis de CV após o início da TARV; 04 mantiveram os mesmos níveis de CV, não estando os 4 pacientes em TARV; e apenas 01 paciente apresentou elevação da CV, estando este paciente em tratamento com TARV. Os outros 09 pacientes não possuíam informações completas a respeito da CV inicial e atual, entretanto, todos estavam em TARV. De La Rosa *et al.* (2002), sugeriram que altos níveis de CV de HIV no plasma é outro possível fator de risco de recaída, favorecendo este quadro. Entretanto, em estudo realizado por Bourgeois *et al.* (2008), a análise univariada da CV não revelou nenhum impacto na previsão de recaída, tendo observado ainda que, ao considerar apenas os pacientes que recaíram, a CV no momento da recaída foi significativamente maior do que fora de recidivas. Na íntegra, estes dados tendem a mostrar que o aumento da CV no momento de recidivas de LV, é uma consequência em vez de fator de risco para recidivas, o que apóia o fato de que a infecção por *Leishmania* favorece a replicação do HIV (Wolday *et al.*, 1999; Zhao *et al.*, 2004).

No presente estudo, nenhum dos 22 pacientes apresentou dosagem de LT CD4+ atual inferior a 200 células/mm³, o que não está de acordo com os achados de Bourgeois *et al.* (2008), que verificaram dentre os parâmetros biológicos analisados, presentes no momento da recidiva de LV, que apenas a contagem de células CD4+ parecia estar significativamente associada com a ocorrência de recidiva, uma vez que, 87% das recidivas ocorreram quando a contagem de LT CD4+ foi menor que 100 células/mm³, e 100% delas ocorreu quando a contagens de LT CD4+ foi menor que 200 células/mm³, demonstrando assim a relevância desse fator essencial.

Ainda no estudo realizado por Bourgeois *et al.* (2008), os resultados obtidos demonstraram claramente que no momento do diagnóstico primário de LV, a ausência de TARV e contagem de LT CD4+ inferior a 100 células/mm³ são fatores preditivos de ocorrência de recidivas subseqüentes. Modelos de estudos em animais relataram que os LT CD4+ são responsáveis pelo controle inicial da proliferação de parasitas e disseminação (Schilling & Glaichenhaus, 2001). Assim, uma baixa contagem inicial de LT CD4+ pode permitir uma ampla divulgação do parasita no SFM no início da infecção, aumentando a multiplicidade de sítios que poderiam abrigar parasitas quiescentes (Lachaud *et al.*, 2002).

Em relação à IDRM, no presente estudo, apenas 02 dos 22 pacientes com resultado de PCR positivo foram submetidos a IDRM, nenhum dos 02 tendo resultado em reação positiva, desfecho este que está de acordo com o trabalho realizados por García-García *et al.* (2006), que estudaram a co-infecção em 92 pacientes HIV positivos e que dentre os 28 pacientes com PCR positiva para *Leishmania*, não encontraram nenhuma IDRM positiva.

Analisando os dados referentes à co-infecção com hanseníase no presente estudo, verifica-se que nenhum dos pacientes com resultado de PCR ou IFI positivos apresentou histórico de co-infecção com hanseníase, embora dos 377 pacientes investigados, 05 relataram casos de co-infecção HIV/hanseníase. Fato digno de nota é o de que dentre os pacientes que relataram episódios de co-infecção HIV/hanseníase, nenhum apresentou resultado positivo para PCR, o que reforça a especificidade dos marcadores utilizados no presente estudo.

O que nos surpreendeu foi que ao analisarmos a procedência dos pacientes que apresentaram resultados positivos, 18 (82%) estavam registrados como procedentes da rede municipal de Belém, capital de Estado, quando Belém não é considerada área endêmica para leishmanioses. Isso nos mostra que o conhecimento da real procedência dos pacientes em

nosso Estado é sempre difícil em uma investigação, pois muitos têm o hábito de citar o último endereço, que às vezes é um endereço de um parente onde reside durante seu em Belém para realizar seu tratamento, ou omitem informações por simples comodismo na hora dos questionamentos, até mesmo de terem transitado temporariamente por áreas endêmicas, o que pode levar a equívocos nas interpretações durante os estudos epidemiológicos.

A análise de isoenzimas ainda é considerada o padrão-ouro para a diferenciação do parasita *Leishmania* em nível de espécie, mas esta técnica é trabalhosa e demorada, e está disponível apenas em poucos laboratórios no país, e, acima de tudo, requer isolamento prévio do parasita. Em estudo realizado por Antinori *et al.*, (2007), com 594 indivíduos infectados e não infectados pelo HIV, com diagnóstico confirmado de LV, de 19 amostras caracterizadas em nível de espécie com a técnica de PCR, para as quais o padrão de caracterização de isoenzimas das espécies de *Leishmania* estava disponível, foi encontrada concordância perfeita entre as 2 técnicas. Desta forma, a caracterização molecular, através da técnica de PCR, de espécies de *Leishmania* pode superar a necessidade de isolamento do parasita.

Utilizamos marcadores de mini-exon que apresentou vantagens por ser econômico, pois foi capaz de detectar as espécies causadoras de LTA tanto do subgênero *Viannia* quanto do subgênero *Leishmania* e também detectar a espécie *L. (L.) infantum chagasi* causadora de LVA em uma única reação de PCR, no entanto, este marcador não foi capaz de distinguir as diferentes espécies do subgênero *Viannia*. Quanto os marcadores de kDNA, funcionaram bem, porém a desvantagem é que precisamos preparar diferentes reações para cada subgênero a ser investigado, também não foi capaz de distinguir as diferentes espécies do subgênero *Viannia*. Apesar de novos marcadores estarem sendo desenhados e publicados, ainda não existem marcadores capazes de identificar todas as espécies do subgênero *Viannia*, que consideramos de grande necessidade, pois em nossa região existem

atualmente 6 espécies circulantes dentro desse subgênero e dentre este está a *L. (V.) braziliensis* que é considerada importante pela sua capacidade de desenvolver a forma mucocutânea da doença.

7 CONCLUSÃO

Concluimos neste estudo que:

- A prevalência de co-infecção *Leishmania* –HIV/aids entre pacientes atendidos em unidades de referências para AIDS em Belém no período de julho a outubro de 2008 foi de 6% (22/377).
- A positividade da PCR e da IFI não estão relacionadas aos baixos níveis de LT CD4+.
- A prevalência encontrada foi bem inferior quando comparada com estudos realizados fora do Brasil entre pacientes portadores de HIV e usuários de drogas.
- A taxa de positividade da PCR é sempre mais elevada do que a taxa de positividade da IFI, para os casos de co-infecção *Leishmania*-HIV/aids.
- Os pacientes podem ser co-infectados tanto por *Leishmania*, causadores de LTA quanto LVA, sendo que entre a população estudada, a maior prevalência foi de *Leishmania* do Sugênero *Viannia*, seguida de *L. (L.) amazonensis* e *L. (L.) infantum chagasi*.
- Apesar do baixo número de pacientes que concordaram em ser submetidos ao teste de IDRM, o resultado é negativo para os pacientes co-infectados.

- Apesar de alto número de pacientes co-infectados apresentarem como procedência a rede municipal de Belém, esta não representa a realidade local, indicando possíveis falhas durante a coleta de informações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAJO, P.; BUEZO, G. F.; FRAGA, J.; SANZ, J. & DAUDEN, E. Leishmaniasis and Kaposi's sarcoma in an HIV-infected patient. **American Journal of Dermatopathology**, 19: 101–103, 1997.

ACEDO-SÁNCHEZ, C.; MARTÍN-SÁNCHEZ, J.; VÉLEZ-BERNAL, I. D.; SANCHIS-MARTIN, M. C.; LOUASSINI, M.; MALDONADO, J. A.; MORILLAS-MÁRQUEZ, F. Leishmaniasis eco-epidemiology in the Alpujarra region (Granada province, southern Spain). **Int. J. Parasitol.**, v. 25, p. 303–310, 1996.

ADHYA, S.; CHATTERJEE, M.; HASSAN, Q.; MUKHERJEE, S.; SEN, S. Detection of *Leishmania* in the blood of early kala-azar patients with the aid of polymerase chain reaction. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 89, p. 622-624, 1995.

ALENCAR, J. E.; DIETZE, R. Leishmaniose visceral (Calazar). In: VERONESI, R. **Doenças infecciosas e parasitárias**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 706-717, 1991.

ALVAR, J.; CANAVATE, C.; GUTIÉRREZ-SOLAR, B.; JIMÉNEZ, M.; LAGUNA, F.; LÓPEZ-VÉLEZ, R.; MOLINA, R.; MORENO, J. Leishmania and Human Immunodeficiency Virus coinfection: the first 10 years. **Clinical Microbiology Reviews**. 10: 298-319, 1997.

ALEXANDER, J.; RUSSEL, D. G. The interaction of *Leishmania* species with macrophages. **Advances in Parasitology**. 31: 175 – 254, 1992.

ALEXANDER, J.; SATOSKAR, A R.; RUSSEL, D. G. *Leishmania* species: models of intracellular parasitism. **Journal of Cell Science**. v. 112, p. 2993-3002, 1999.

ANTINORI, S.; CALATTINI, S.; LONGHI, E.; BESTETTI, G.; PIOLINI, R.; et al. Clinical use of polymerase chain reaction performed on peripheral blood and bone marrow samples for the diagnosis and monitoring of visceral leishmaniasis in HIV-infected and HIV-uninfected patients: a single-center, 8-year experience in Italy and review of the literature. **Clinical Infectious Diseases**, v. 44, p. 1602–1610, 2007.

BARRE-SINOUSSE, F.; CHERMANN, J. C.; REY, F.; NUGEYRE, M. T.; CHAMARET, S.; GRUEST, J.; DAUGUET, C.; AXLER-BLIN, C.; VEZINET-BRUN, F.; ROUZIQUX, C.; ROZENBAUM, W.; MONTAGNIER, L. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (aids). **Science**, v. 220, n. 4599, p. 868-871, May 1983.

BERENQUER, J.; COSIN, J.; MIRALLES, P.; LÓPEZ, J. C.; PADILLA, B. Discontinuation of secondary prophylaxis in HIV-infected patients who have responded to highly active anti retroviral therapy. *AIDS*; 14 : 2946-58, 2000.

BERHE, N.; WOLDAY, D.; HAILU, A.; ABRAHAM, Y.; ALI, A.; GEBRE-MICHAEL, T. *et al.* HIV viral load and response to antileishmanial chemotherapy in co-infected patients. **aids**, v. 13, p. 1921-1925, 1999.

BELAZZOUG S. Leishmaniasis in Mediterranean countries. **Veterinary Parasitology**; 44 ; 15-9, 1992.

BLACKWELL JM. Tumour necrosis factor alpha and mucocutaneous leishmaniasis. **Parasitol Today**. 15 : 73-5, 1999.

BOSSOLASCO, S.; GAIERA, G.; OLCINI, D.; *et al.* Real-time PCR assay for clinical management of human immunodeficiency virus–infected patients with visceral leishmaniasis.

J Clin Microbiol, v. 41, p. 5080–5084, 2003

BOURGEOIS N.; LACHAUD, L.; REYNES, J.; ROUANET, I.; MAHAMAT, A.; BASTIEN P. Long-term monitoring of visceral leishmaniasis in patients with AIDS. *J Acquir Immune Defic Syndr.*, v. 48, p. 13–19, 2009

CACOPARDO, B.; NIGRO, L.; PREISER, W.; BRANER, J.; CINATI J, PALERMO, F.; *et al.* Prolonged Th2 cell activation and increased viral replication in HIV/ Leishmania co-infected patients despite treatment. **Transcriptions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. 90, 434-435, 1996.

CASCIO, A.; COLOMBA, C.; ANTINORI, S.; OROBELLO, M.; PATERSON, D.; TITONE, L. Paediatric Visceral leishmaniasis in Western Sicily, Italy: A retrospective analysis of 111 cases. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**. 21 : 277-82, 2002.

CHAUDHRY, Z.; BARRETT, A. W.; CORBETT, E.; FRENCH, P. D. & ZAKRZEWSKA, J. M. Oral mucosal leishmaniasis as a presenting feature of HIV infection and its management. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, 28, 43–46, 1999.

CLAVEL, F.; GUETARD, D.; BRUN-VEZINET, F.; CHAMARET, S.; REY, M.; SANTOS-FERREIRA, M. O.; LAURENT, A. G.; DAUGUET, C.; KATLAMA, C.; ROUZIQUX, C. *et al.* Isolation of a new human retrovirus from West African patients with aids. **Science**, v. 233, n. 4761, p. 343-346, 1986.

CNUUDE, F.; RACCURT, C.; BOULARD, F.; TERRON-ABOUD, B.; NICOLAS, M. & JUMINER, B. Diffuse cutaneous leishmaniasis with visceral dissemination in an aids patient in Guadeloupe, West Indies. **aids**, 8, 559–560, 1994.

COLEBUNDERS, R.; DEPRAETERE, K.; VERSTRAETEN, T.; LAMBERT, J.; HAUBEN, E.; VAN MARCK, E.; MAURER, T.; BAÑULS, A. L. & DUJARDIN, J. C. Unusual cutaneous lesions in two patients with visceral leishmaniasis and HIV infection. **Journal of the American Academy of Dermatology**, 41, 847–850, 1999.

CRUZ, I.; CANAVATE, C.; RUBIO, J. M.; *et al.* A nested polymerase chain reaction (Ln-PCR) for diagnosing and monitoring *Leishmania infantum* in patients coinfecting with human immunodeficiency virus. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 96 (Suppl 1), p. 185-189, 2002.

CRUZ, I.; CHICARRO, C.; NIETO, J.; *et al.* Comparison of new diagnostic tools for management of pediatric mediterranean visceral leishmaniasis. **J Clin Microbiol**, v. 44, p. 2343-2347, 2006.

CRUZ, I.; MORALES, M. A.; NOGUER, I. *et al.* Leishmania in discarded syringes from intravenous drug users. **Lancet**, v. 359, p. 1124-1125, 2002.

CRUZ, I.; NIETO, J.; MORENO, J.; CAÑAVATE, C.; DESJEUX, P. & ALVAR, J. *Leishmania*/HIV co-infections in the seconde decade. **Indian Journal of Medical Research**, v. 123, p. 357-388, 2006.

CUNHA, A. M. & CHAGAS, E. Leishmaniose Visceral. Estudos sobre o parasito. Mem. Inst. Osw. Cruz, 32 (3): 329. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v.32, n.3, p. 329, 1937.

DA CRUZ, A. M.; MACHADO, E. S.; MENEZES, J. A.; RUTOWITSCH, M. S.; COUTINHO, S. G. Cellular and humoral immune responses of a patient with american cutaneous leishmaniasis and aids. **Transcriptions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.** 86: 511-512, 1992.

DAUDEN, E.; PENAS, P. F.; RIOS, L.; JIMÉNEZ, M.; FRAGA, J.; ALVAR, J. & GARCIA-DIEZA, A. Leishmaniasis presenting as a dermatomyositis-like eruption in aids. **Journal of the American Academy of Dermatology**, 35, 316–319, 1996.

DE DONCKER, S.; HUTSE, V.; ABDELLATI, S.; et al. A new PCR-ELISA for diagnosis of visceral leishmaniasis in blood of HIV-negative subjects. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 99, p. 25-31, 2005.

DEGRAVE, W.; FERNADES, O.; CAMPBELL, D.; BOZZA, M.; LOPES, U. Use of molecular probes and PCR for detection and typing of Leishmania – a mini-review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.** v.89, n.3, p.463-469, Jul./Sep., 1994.

DE LA ROMA, A.; ALVAR, J.; MARTÍNEZ-GALIANO, E.; BLÁZQUEZ, J.; ALCALÁ-MUÑOZ, A.; NÁJERA, R. Leishmaniasis or aids? **Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.**, v. 79, p. 421-422, 1985.

DE LA ROSA, R.; PINEDA, J. A.; DELGADO, J.; et al. Incidence of and risk factors for symptomatic visceral leishmaniasis among human immunodeficiency virus type-1 infected patients from Spain in the era of highly active antiretroviral therapy. **J Clin Microbiol.** 40:762–767, 2002.

DEL GIUDICE, P. Leishmania infection occurring in herpes zoster lesions in an HIV positive patient. **British Journal of Dermatology**, 135, 1005–1006, 1996.

DESJEUX, M. D., Global control and *Leishmania* HIV co-infection. WHO/LEISH/ 99.39. Geneva: CTD/TRY; WHO, **Elsevier Science Inc**, 1999.

DESJEUX P. Epidemiological analysis of 692 retrospective cases of Leishmania/HIV co-infections. WHO/LEISH/ 96.39. Geneva: CTD/TRY; WHO, 1996.

DESJEUX, P.; ALVAR, J. Leishmania/HIV co-infection: epidemiology in Europe. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 97, p. S3-S15, 2003.

DE SOUZA E SOUZA, I.; NAIV, R. D.; GUIMARAES, T. C.; NAIV, M. F.; CUPOLILLO, E.; RODRIGUES, W. A. & SCHETTINI, A. P. American cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) guyanensis* as an initial clinical presentation of human immunodeficiency virus infection. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, 10, 214–217, 1998.

DISCH, J.; OLIVEIRA, M. C.; ORSINI, M.; RABELLO, A. Rapid clearance of circulating *Leishmania* kinetoplast DNA after treatment of visceral leishmaniasis, **Acta Trop.** v. 92, p. 279-283, 2004

DYBUL, M.; CONNORS, M.; FAUCI, S. A.; MANDELL, G. L.; BENNETT, J. E.; DOLI, R. A. Imunologia da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana. In: NADLER, J. **Princípios e Práticas em Doenças Infecciosas**. 6. ed. Editora Elsevier, 2006.

FERNANDES, O.; MURTHY, V. K.; KURATH, U.; DEGRAVE, W. M.; CAMPBELL, D. A. Mini-exon gene variation in human pathogenic *Leishmania* species. **Molecular and Biochemical Parasitology**. v.66, p.261-271, 1994.

FERNÁNDEZ COTARELO, M. J.; ABELLÁN, J.; GUERRA VALES, J. M.; *ET AL.* Effect of highly active antiretroviral therapy on the incidence and clinical manifestations of visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus-infected patients. **Clin. Infect. Dis.**, v. 37, p. 973-977, 2003.

FLOCH, H. Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de la Guyane Française et du Territoire de l'Inini pendant l'année 1952. Arch. **Inst. Pasteur Guyane Française & Terr. Inini**, Publ. n° 288, 1953.

GARCÍA-GARCÍA, J. A.; MARTÍN-SÁNCHEZ, J.; GÁLLEGO, M.; RIVERO-ROMÁN, A.; CAMACHO, A.; RIERA, C.; MORILLAS-MÁRQUEZ, F.; VERGARA, S.; MACÍAS, J.; PINEDA, J. A. Use of Noninvasive Markers To Detect *Leishmania* Infection in Asymptomatic Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients. **Journal of Clinical Microbiology**. p. 4455-4458, Dec. 2006.

GATTI, S.; GRAMEGNA, M.; KLERSY, C.; *et al.* Diagnosis of visceral leishmaniasis: the sensitivities and specificities of traditional methods and a nested PCR assay. **Ann Trop Med Parasitol**, v.98, p. 667-676, 2004.

GEA-BANACLOCHE, J. C.; LANE, H. C. Lymphocyte turnover in the setting of HIV infection. **Immunologist**, v. 7, p. 124-131, 1999.

GRASA, J. M.; LORENTE, J.; CREGO, F.; NACHES, S.; SUBIRANA, F. X.; CALDERON, J. R.; POLLAN, C.; ENCARNACION, L. F. & QUESADA, P. Nasal leishmaniasis in an HIV-positive patient. **Acta Otorrinolaringológica Española**, 51, 169–173, 2000.

GRIMALDI, G. JR.; TESH, R. Leishmaniasis of the New World: Current Concepts and Implications for Future Research. **Clinical Microb. Review**. v. 6, n. 3, p. 230-250, July 1993.

GONZALEZ-RUPEREZ, J.; JAVALOYAS DE MORLIUS, M. & MORENO CARAZO, A. Remission of localized cutaneous leishmaniasis in an HIV-positive patient using systemic terbinafine. **Dermatology**, 194, 85–86, 1997.

GUERRA, J.A.O.; TALHARI, S.; PAES, M.G.; GARRIDO, M.; TALHARI, J.M. Aspectos clínicos e diagnósticos de leishmaniose tegumentar americana em militares simultaneamente expostos à infecção na Amazônia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.36, n.5, p.587-590, Set/Out, 2003.

JIMENEZ-EXPOSITO, M. J.; ALONSO-VILLAVERDE, C.; SARDA, P.; et al. Visceral leishmaniasis in HIV-infected patients with non-detectable HIV-1 viral load after highly active antiretroviral therapy. **AIDS**, v. 13, p. 152–153, 1999.

KUBAR, J.; MARTY, P.; LELIEVRE, A.; QUARANTA, J. F.; STACCINI, P.; CAROLI-BOSC, C. *et al.* Visceral Leishmaniasis in HIV positive patients: primary infection, reactivation and latent infection. Impact of the CD4+ t-lymphocyte counts. **aids**, v. 12, n. 16, p. 2147-2153, 1998.

LACHAUD, L.; CHABBERT, E.; DUBESSAY, P.; et al. Value of two PCR methods for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis and the detection of asymptomatic carriers.

Parasitology, v. 125, p. 197–207, 2002.

LAINSON, R.; BRAGA, R. R.; POVOA, M.; ISHIKAWA, E. A. Y.; SILVEIRA, F. T. 1989.

Leishmania (Viannia) shawi sp.n., a new parasite of monkeys, sloths and procyonids in Amazonian Brazil. **Annals of Parasitology Human Comp.** v. 64:, p. 200-207.

LAINSON, R. Leishmania e leishmaniose, com particular referência à região Amazônica do Brasil. **Revista Paraense de Medicina**; 11(1): 29-40, 1997.

LAINSON, R. & SHAW, J. Evolution, classification and geographical distribution. Peters W., Killick-Kendrick R., eds. **The leishmaniasis in biology and medicine**, vol. 1. London: Academic Press. 1-28, UI: 8805854. 1987.

LAINSON, R. & SHAW, J. J. *Leishmania (Viannia) naiffi* sp. n., a parasite of the armadillo, *Dasypus novemcinctus* (L.) in Amazonia Brazil. **Annals of Parasitology Human Comp.**, v. 64, p. 3-9.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. New World Leishmaniasis – The neotropical *Leishmania* species. In: Topley and Wilson's Collier, L.; Balows, A. & Sussman, M. (Eds.). **Microbiology and Microbial Infections**, pág. 241-266. 1998.

LAINSON, R.; SHAW, J. J.; SILVEIRA, F. T.; SOUZA, A. A. A.; BRAGA, R. R.; ISHIKAWA, E. A. Y. The dermal leishmaniasis of Brazil, with special reference to the eco-epidemiology of the disease in Amazonia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.** v.89, n.3, p. 435-443, Jul./Sep., 1994.

LE FICHOUX, I.; QUARANTA, J. F.; AUFEUVRE, J. P.; LELIEVRE, A.; MARTY, P.; SUFFIA, I.; ROUSSEAU, D.; KUBAR, J. Occurrence of *Leishmania infantum* parasitemia in asymptomatic blood donors living in an area of endemicity in Southern France. **J. Clin. Microbiol.** v. 37, p. 1953–1957, 1999.

LÓPEZ-VÉLEZ, R. The impact of highly active antiretroviral therapy (HAART) on visceral leishmaniasis in Spanish patients who are co-infected with HIV. **Ann Trop Med Parasitol**, v. 97, p. 143-147, 2003

LUTZ, A. & NEIVA, A. Contribuição para o conhecimento das espécies do gênero *Phlebotmus* existentes no Brasil. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**. v.4, p.84-95, 1912.

MATHIS, A.; DEPLAZES, P. PCR and in vitro cultivation for detection of *Leishmania* spp. in diagnostic samples from human and dogs. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, p. 1145-1149, 1995.

MATTOS, M.; CAIZA, A.; FERNANDES, O.; GONÇALVES, A. J. S.; PIRMEZ, C.; SOUSA, C. S. F.; OLIVEIRA-NETO, M. P. American cutaneous leishmaniasis associated with HIV infection: report of four cases. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**. 10: 218-225, 1998.

MAURYA, R.; SINGH, R. K.; KUMAR, B.; SALOTRA, P.; RAI, M.; SUNDAR, S. Evaluation of PCR for diagnosis of Indian kala-azar and assessment of cure, **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, p. 3038-3041, 2005.

MEDRANO, F. J.; CAÑAVETE, C.; LEAL, M.; REY, C.; LISSEN, E.; ALVAR, J. The role of serology in the diagnosis and prognosis of visceral leishmaniasis in patients coinfecting with immunodeficiency virus type-1. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 59, p. 155–162, 1998.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL. **Atlas de Leishmaniose Tegumentar Americana, Diagnostico Clínico e Diferencial**. Brasília; 2006. (a)

_____ **Casos confirmados de Leishmaniose Tegumentar Americana. Brasil, grandes regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2008. Sinan/SVS/MS – atualizado em 09/09/2009.** 2009. (a)

_____ **Casos confirmados de Leishmaniose Visceral. Brasil, grandes regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2008. Sinan/SVS/MS – atualizado em 09/09/2009.** 2009. (b)

_____ **Coefficiente de incidência de Leishmaniose Visceral, por 100.000 habitantes. Brasil, grandes regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2008. Sinan/SVS/MS – atualizado em 09/09/2009.** 2009. (c)

_____ **Guia de vigilância epidemiológica. Caderno 11, Leishmaniose.** Brasília; 2009.

_____ **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral.** Brasília; 2006. (b)

_____ **Leishmaniose Tegumentar Americana - Casos confirmados Notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan.** 2006. (c)

_____ **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana.** Brasília; 2007.

_____ **Óbitos de Leishmaniose Visceral. Brasil, grandes regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2008. Sinan/SVS/MS – atualizado em 09/09/2009.** 2009. (d)

MIRA, J. A.; CORZO, J. E.; RIVERO, A.; MACÍAS, J.; DE LÉON F. L.; TORRE-CISNEROS, J.; ET AL. Frequency of visceral leishmaniasis relapses in human immunodeficiency virus infected receiving highly active therapy. **Am J Trop Med Hyg.**, v.70, p. 298-301, 2004.

MOLINA, R.; GRADONI, L.; ALVAR, J. HIV and the transmission of Leishmania. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology.** v. 97, p. S29-S45, 2003.

MONDAIN-MITON, V.; TOUSSAINT-GARI, M.; HOFMAN, P.; MARTY, P.; CARLES, M.; DE SALVADOR, F.; MITON, F.; LE FICHOUX, Y. & DELLAMONICA, P. Atypical leishmaniasis in a patient infected with human immunodeficiency virus. **Clinical Infectious Diseases**, 21, 663–665, 1995.

NADLER, J. aids-Etiopatogenia. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. (Eds). **Tratado de Infectologia.** 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2004.

NOGUEIRA-CASTANON, M. C.; PEREIRA, C. A. & FURTADO, T. Unusual association of American cutaneous leishmaniasis and acquired immunodeficiency syndrome. **International Journal of Dermatology**, 35, 295–297, 1996.

NUZUM, E.; WHITE, F.; THAKUR, C.; *et al.* Diagnosis of symptomatic visceral leishmaniasis by use of the polymerase chain reaction on patient blood. **J Infect Dis** v. 171, p. 751-754, 1995.

OLIVIER, M.; BADARÓ, R.; MEDRANO, F. J.; MORENO, J. The pathogenesis of Leishmania/HIV coinfection: cellular and immunological mechanisms. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 97, p. S79-S98, 2003.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Control of Leishmaniasis. Report of a WHO Expert Committee. Genova: World Health Organization, Technical Report Series, no. 793, 1990.

_____ **Leishmania/HIV co-infection in south-western Europe 1990-1998: Retrospective analysis of 965 cases.** Disponível em: <http://www.who.int/leishmaniasis/burden/hiv_coinfection/en/who_leish_2000.42.pdf>

Acesso em 03/02/2008. (a)

_____ WHO Global Facts e Figures. 2009.

_____ WHO Fact Sheet No. 116, Rev. May 2000. (b)

_____ **Report of the Fifth Consultative Meeting on Leishmania/HIV Coinfection.** Addis Ababa, Ethiopia, 20-22 March 2007. Disponível em: <http://www.who.int/leishmaniasis/resources/Leishmaniasis_hiv_coinfection5.pdf>. Acesso em 04/03/2008.(a)

_____ **The leishmaniasis and Leishmania/HIV coinfection.** Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs116/en/>>. Acesso em 03/08/2007. (b)

_____ The World Health Report, 2001, Geneva: World Health Organization; 2001.

ORSINI, M. A. Estudo da co-infecção *Leishmania*/HIV no Brasil e avaliação da infecção pela *Leishmania* spp. Em portadores da infecção pelo HIV. 137 f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical). Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.

PASQUAU, F.; ENA, J.; SANCHEZ, R.; CUADRADO, M.; AMADOR, C.; FLORES, J.; BENITO, C.; REDONDO, C.; LACRUZ, J.; ABRIL, V.; ONOFRE, J. Leishmaniasis as an opportunistic infection in HIV-infected patients: determinants of relapse and mortality in a collaborative study of 228 episodes in a Mediterranean region. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**. 24: 411-418, 2005

PEARSON, R. & SOUSA, A. **Clinical Infective Diseases**. 22, 1–13, 1996.

PETER, C. M. Leishmaniasis. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, editors. Nelson Textbook of Pediatrics. 16th edn. Philadelphia: WB Saunders; 2000.

PIMENTA, P. F.; TURCO, S. J.; McCONVILLE, M. J.; LAWYER, P. G.; PERKINS, P. V.; SACKS, D. L. Stage-specific adhesion of *Leishmania* promastigotes to the sandfly midgut. **Science**, v.256, p.1812-1815, 1992.

PINTADO, V.; MARTÍN-RABADAN, P.; RIVERA, M. L.; MORENO, S.; BOUZA, E. Visceral leishmaniasis in HIV-infected and non-HIV-infected patients: a comparative study. **Medicine (Baltimore)**, v. 80, p. 54–73, 2001.

PINTADO, V.; MARTIN-RABADAN, P.; RIVERA, M. L.; MORENO S.; BOUZA, E. Visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus infected and non-HIV infected patients- A comparative study. **Medicine**. 80: 54-73, 2001.

PIRMEZ, C.; YAMAMURA, M.; UYEMURA, K.; PAES-OLIVEIRA, M.; CONCEICAO-SILVA, F. & MODLIN, R. L. Cytokine patterns in the pathogenesis of human leishmaniasis. **Journal of Clinical Investigation**, 91, 1390–1395, 1993.

PIZZUTO, M.; PIAZZA, M.; SENESE, D.; *et al.* Role of PCR in diagnosis and prognosis of visceral leishmaniasis in patients coinfecting with human immunodeficiency virus type 1. **J Clin Microbiol**, v. 39, p. 357-361, 2001.

POSTIGO, C.; LLAMAS, R.; ZARCO, C.; RUBIO, R.; PULIDO, F.; COSTA, J. R.; IGLESIAS, L. Cutaneous lesions in patients with visceral leishmaniasis and HIV infection. **Journal of Infection**, 35, 265–268, 1997.

PREISER, W.; CACOPARDO, B.; NIGRO, L.; BRANER, J.; FARBER, J.; NUNNARI, A.; DOERR, H. W. & WEBER, B. Immunological findings in HIV/Leishmania co-infection. **Intervirology**, 39, 285–288, 1996.

PRINA, E.; ROUX, E.; MATTEI, D.; MILON, C. *Leishmania* DNAs rapidly degraded following parasite death: an analysis by microscopy and real-time PCR. **Microbes and Infection**. v. 9, p. 1307-1315, 2007.

PUIG, L. & PRADINAUD, R. Leishmania and co-infection: dermatological manifestations. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 97, Supplement n° 1, p. 107-114, 2003.

RABELLO, A.; ORSINI, M.; DISCH, J. Leishmania/HIV co-infection in Brazil: an appraisal. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**. v. 97, p. S17-S28, 2003.

REBELO JMM. Flebótomos vetores das leishmanioses (Manual para técnicos e profissionais de Saúde) São Luis: Universidade Federal do Maranhão/Ministério da Saúde; 1999.

RIERA, C.; FISA, R.; UDINA, M.; GÁLLEGO, M.; & PORTUS, M. Detection of *Leishmania infantum* cryptic infection in asymptomatic blood donors living in an endemic area (Eivissa, Balearic Islands, Spain) by different diagnostic methods. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* v. 98, p. 102–110, 2004.

RIOS-BUCETA, L.; BUEZO, G. F.; PENAS, P. F.; DAUDEN-TELLO, E.; ARAGUES-MONTANES, M.; FRAGA-FERNÁNDEZ, J. & GARCIA-DIEZ, A. Post-kala-azar dermal leishmaniasis in an HIV-patient. *Internatinal Journal of Dermatology*, 35, 303–304, 1996.

ROSS, R. Note on the bodies recently described by Leishman and Donovan and (2) further notes on leishman's bodies. *British Medical Journal*, v. 2, p. 1261 – 1401, 1903.

RODGERS, M. R.; POPPER, S. J.; WIRTH, D. F. Amplification of kinetoplast DNA as a tool in the detection and diagnosis of *Leishmania*. *Exp Parasitol.*, v.71, p. 267-275, 1990.

SAMBROOK, D. S. & JOPLING. W. H. The classification of leprosy for research purposes. *Leprosy Review*. v. 33, p. 119-128. 1989.

SANTOS, S. O.; ARIAS, J.; RIBEIRO, A. A.; HOFFMANN, M. P.; FREITAS, R. A.; MALACCO, M. A. F. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of american visceral leishmaniasis. *Medical and Veterinary Entomology*. 12, 315-317, 1998.

SCHAEFER, K. U.; SCHOONE, G. J.; GACHIHI, G. S.; MULLER, A. S.; KAGER, P. A.; MEREDITH, S. E. O. Visceral leishmaniasis: use of the polymerase chain reaction in an

epidemiological study in Baringo District, Kenya. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v.89, p. 492-495, 1995.

SCHILLINH, S.; GLAICHENHAUS, N. T cells that react to the immunodominant Leishmania major LACK antigen prevent early dissemination of the parasite in susceptible BALB/c mice. **Infect Immun.**, v. 69, p. 1212–1214, 2001.

SCOTT, P. IL-12: initiation cytokine for cell mediated immunity. **Science**, 260, 496–497, 1993.

SILVEIRA, F.T.; ISHIKAWA, E.A.Y.; DE SOUZA, A. A. A., LAINSON, R. An outbreak of cutaneous leishmaniasis among soldiers in Belém, Pará State, Brazil, caused by Leishmania (Viannia) lindenbergi n. sp. A new leishmanial parasite of man in the Amazon region. **Parasite**. 9: 43-50. 2002.

SILVEIRA, F.T.; LAINSON, R.; CORBETT, C. E. P. Clinical and immunopathological spectrum of american cutaneous leishmaniasis with special reference to the disease in Amazonia Brazil – a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. V. 99, n. 3, p. 239-251, May 2004.

SILVEIRA, F.T.; LAINSON, R.; SHAW, J.; SOUZA, A. A.; ISHIKAWA, E.;A.;Y.; BRAGA, R. R. Cutaneous leishmaniasis due to Leishmania (Leishmania) amazonensis in Amazonian, Brazil and the significance of a negative Montenegro skin-test in human infections. **Transcriptions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. 85: 735-738, 1991.

SILVEIRA, F. T.; SHAW, J. J.; BICHARA, C. N.; COSTA, J. M. L. Leishmaniose Visceral Americana. in: LEÃO, RNO (coord.). **Doenças Infecciosas e Parasitárias**: Enfoque

Amazônico. Belém, CEJUP/ UEPA/ Instituto Evandro Chagas, p. 631-944. 1997.

SILVEIRA, F.T.; SHAW, J.J., BRAGA, R.R.; & ISHIKAWA, E.A.Y. Dermal leishmaniasis in the Amazon Region of Brazil: *Leishmania (Viannia) lainsoni* sp. n., a new parasite from the State of Pará. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 82, p. 289-292, 1987.

SINHA, P. K.; PANDEY, K.; BHATTACHARYA, S. K. Diagnosis & management of leishmania/HIV co-infection. **Indian Journal of Medical Research**, v. 121, p. 407-414, April 2005.

SISTEMA NACIONAL DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE – RELATÓRIO DE SITUAÇÃO PARÁ, **Ministério da Saúde**, Brasília – DF, 2005.

SMITH, A. J.; GHOSH, A.; HASSAN, M. Q.; *et al.* Rapid and sensitive detection of *Leishmania* kinetoplast DNA from spleen and blood samples of kala-azar patients. **Parasitology**, v. 105, p. 183-192, 1992.

SORIANO, V.; DONA, C.; RODRIGUEZ-ROSADO, R.; BARREIRO, P.; GONZÁLEZ-LAHOZ, J. Discontinuation of secondary prophylaxis for opportunistic infections in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS* ; 14 : 383-6, 2000.

UNAIDS: aids Epidemic Update 2002.

UNAIDS. Joint United Nations Programme on HIV/aids. Disponível em <http://www.unaids.org/en/HIV_data/epi2006/default.asp>. Acesso em 03/02/2008.

VIANNA, G. Sobre uma nova espécie de *Leishmania* (Nota preliminar). *Brazil-Méd*, v. 25, p.411.

VILLANUEVA, J. L.; ALARCON, A.; BERNABEU-WITTEL, M.; et al. Prospective evaluation and follow-up of European patients with visceral leishmaniasis and HIV-1 coinfection in the era of highly active antiretroviral therapy. *Eur J Clin Microbiol*. v. 19, p. 798–801, 2000.

WOLDAY, D.; AKUFFO, H.; BRITTON, S.; HATHAWAY, A.; SANDER, B. HIV-1 inhibits *Leishmania*-induced cell proliferation but not production of interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha. **Scand Journal Immunology**, v. 39, p. 380-386, 1994.

WOLDAY, D.; AKUFFO, H.; DEMISSE, A. *et al.* Role of *Leishmania donovani* and its Lipophosphoglycan in CD4+ t-cell Activation-Induced Human Immunodeficiency Virus Replication. **Infect. Immun.**, v. 67, n. 10, p. 5258-5264, 1999.

WOLDAY, D.; BERHE, N.; BRITTON, S.; AKUFFO, H. HIV-1 alters T helper cytokines, interleukin-12 and interleukin-18 responses to the protozoan parasite *Leishmania donovani*. *aids*, v. 14, p. 921-929, 2000.

YEBRA, M.; SEGOVIA, J.; MANZANO, L.; VARGAS, J. A.; BERNALDO DE QUIRÓS, L. & ALVAR, J. Disseminated to skin kala-azar and the acquired immunodeficiency syndrome. **Annals of Internal Medicine**, 108, 490–491, 1988.

ZHAO, C.; PAPADOPOULOU, B.; TREMBLAY, M. J. *Leishmania infantum* enhances human immunodeficiency virus type-1 replication in primary human macrophages through a complex cytokine network. *Clin Immunol.*, 113:81–88, 2004.

ANEXO 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PROJETO: “investigação clínico-epidemiológica de paciente apresentando co-morbidades HIV e endemias prevalentes em ambientes amazônicos”.

A hanseníase é uma doença infecciosa causada pelo *Mycobacterium leprae* com um componente inflamatório crônico, principalmente nos nervos da pele e da periferia, variando em sua forma clínica. A Leishmaniose é uma doença causada por um parasita chamado Leishmania, o qual é transmitido através da picada de mosquitos, podendo causar feridas na pele, mucosas do nariz e/ou boca ou atingir órgãos internos como o fígado e baço, além do sangue.

O vírus da Imunodeficiência humana(HIV) causa a AIDS que é uma doença que acomete o sistema imunológico humano, ocasionando uma vulnerabilidade para outras doenças.

A pesquisa sobre a co-infecção HIV/AIDS/Hanseníase ou HIV/AIDS/Leishmaniose visa um melhor conhecimento dessas doenças em nossa região e conseqüente melhora na abordagem dos pacientes acometidos por estas doenças. Essa pesquisa justifica-se pela importância epidemiológica das morbidades envolvidas e pela necessidade de conhecimento da prevalência, fatores de risco e manejo das co-morbidades dentro do Sistema Único de Saúde (SUS).

A participação da pesquisa consistirá no atendimento aos pacientes portadores dessas doenças co-infecção HIV/Hanseníase ou HIV/Leishmaniose, assim como descrever características clínicas da evolução dessas co-infecções. A investigação dessas doenças será feita através de exames rotineiramente realizados, **sem risco de saúde para os pacientes**, como: Biópsias ou raspado de feridas na pele, teste na pele para o diagnóstico de Leishmaniose (Teste de Montenegro) e da hanseníase (reação de Mitsuda); coleta de sangue para realização de vários exames (sorologia, hemograma, contagem de células CD4 e de carga viral para o HIV). Dessa forma, espera-se contribuir para a melhoria da qualidade de vida dessas pessoas com tratamento e acompanhamento adequados, onde as informações recolhidas servirão para serem analisadas e apresentadas ao **MINISTÉRIO DA SAÚDE**. Por se tratar de pesquisa onde os indivíduos ou familiares dos que foram acometidos pelo agravo tem liberdade em participar ou não, os riscos à integridade física ou moral dos participantes serão minimizados pelo compromisso de que somente as informações constantes nos prontuários que serão manuseadas, mantendo-se sigilo dos nomes. As informações obtidas têm como finalidade a pesquisa e os resultados obtidos serão descritos de forma generalizada e não individual.

Os dados serão apresentados sob a forma de números absolutos, razões, taxas e gráficos, inviabilizando a identificação do participante por parte do leitor da pesquisa. Os registros serão arquivados pelos pesquisadores até a publicação da pesquisa sob a forma de artigo em revista que atenda os preceitos éticos em pesquisa.

O presente estudo irá contribuir para a melhoria das ações de saúde visando prevenção e tratamento de portadores dessas morbidades, colaborando para a qualidade de vida desta população.

Os pacientes têm o direito de se manterem informados a respeito dos resultados parciais da pesquisa, para isto a qualquer momento do estudo os pacientes, seus responsáveis e familiares terão acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa, para esclarecimentos de dúvidas.

A pesquisadora Responsável é a Dr^a Marília Brasil Xavier (podendo ser localizada na UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ - Núcleo de Medicina Tropical - NMT, AV. Generalíssimo Deodoro, 92, fone: 3201-6870), os principais investigadores são Dr^a Rita Catarina Medeiros, Dr Juarez Simões Quaresma, os pesquisadores são: Dr Miguel Saraty de Oliveira; Dr Ronaldo Monteiro; Keila Nazaré Madeira Batista; Carla Andréa Avelar Pires; Gina Santos e os colaboradores são os acadêmicos Diego Gadelha Vaz, Camila de Lima Tostes, Suenny Leal Melo, Maria Rosilene de Reis Sousa, Joana Paula Abdelnor Campelo, Fernanda D'Oliveira Guimarães, Geraldo Mariano Moraes de Macedo, Feliciano Cordeiro Vassoler Macedo, Adilson Góes Rodrigues Júnior, Rita de Cássia Neves Noronha, Adriano Raminho Luz, Flávia Paes, Alvinho Maestri Neto.

É garantida aos participantes, a liberdade de deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade do mesmo.

O(a) participante tem direito a se manter informado(a) a respeito dos resultados parciais da pesquisa.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo tratamento e consultas.

Este trabalho será realizado com recursos **DST/AIDS-SVS-MINISTÉRIO DA SAÚDE**.

Também não haverá nenhum pagamento por sua participação.

O pesquisador utilizará os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

DECLARAÇÃO

Declaro que compreendi as informações do que li ou que me foram explicadas sobre o trabalho em questão.

Discuti com os pesquisadores: Dr. Miguel Saraty de Oliveira; Dr. Ronaldo Monteiro; Keila Nazaré Madeira Batista; Carla Andréa Avelar Pires; Gina Santos e os acadêmicos Diego Gadelha Vaz, Camila de Lima Tostes, Suenny Leal Melo, Maria Rosilene de Reis Sousa, Joana Paula Abdelnor Campelo, Fernanda D'Oliveira Guimarães, Geraldo Mariano Moraes de Macedo, Feliciano Cordeiro Vassoler Macedo, Adilson Góes Rodrigues Júnior, Rita de Cássia Neves Noronha, Adriano Raminho Luz, Flávia Paes, Alvinho Maestri Neto e com a pesquisadora responsável Dr^a Marília Brasil Xavier, sobre minha decisão em participar nesse estudo, ficando claro pra mim, quais são os propósitos da pesquisa, os procedimentos a ser realizados, os possíveis desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes.

Ficou claro também que minha participação não tem despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento se necessário, inclusive se optar por desistir de participar da pesquisa.

Concordo voluntariamente em participar desse estudo podendo retirar meu consentimento a qualquer momento sem necessidade de justificar o motivo de desistência, antes ou durante o mesmo, sem penalidades, prejuízo ou perda de qualquer benefício que possa ter adquirido.

Belém, ____ de _____ 2008

Assinatura do(a) participante ou de seu representante legal.

Assinatura de testemunha

Declaro que assisti a explicação das pesquisadoras ao participante que assinou acima, que compreendeu e retirou suas dúvidas, assim como eu, a tudo o que será realizado na pesquisa.

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o consentimento livre e esclarecido deste (a) participante ou representante legal para participação no presente estudo.

Dra Marília Brasil Xavier
Pesquisador responsável

ANEXO 2

FICHA CLINICO-EPIDEMIOLÓGICA – HIV/LEISHMANIOSE/HANSENIASE

Dados de Atendimento			
Data do atendimento: ____/____/____	Local do atendimento:	Matrícula:	
Dados Gerais			
1. Nome:	_____		
2. Endereço:	_____		
3. Município: _____	Municípios	onde	já morou:
4. Telefone: _____	Ocupação: _____		
5. Sexo: _____	Data de Nasc. ____/____/____	Idade: _____	Estado civil: _____
6. Escolaridade: _____	Religião: _____	Cor : () branca () parda () negra	
7. Renda familiar: () até 1 salário () 2 a 3 salários () 3 a 4 salários () acima de 5 salários			
8. Moradia: () taipa () madeira () tijolo	Nº de cômodos: _____	moradores: _____	
Infecção pelo HIV			
1. Situação: aids () HIV ()			
2. Sorologia anti-HIV: Determine () Elisa ()	Outros: _____		
3. Data do diagnóstico anti-HIV: ____/____/____			
4. Doença oportunistas concomitantes: Sim () Não ()	Qual (is)? _____		
5. Outras doenças apresentadas:	_____		
6. Uso de TARV: Sim () Não ()	Início: ____/____/____	Qual? _____	
7. Valores por ocasião do diagnóstico de:			
Cd4: _____	Cd8: _____	Carga viral: _____	
8. Valores atuais de:			
Cd4: _____	Cd8: _____	Carga viral: _____	
Investigação para Hanseníase			
1. História Prévia de hanseníase: Sim () Não ()	Quando: _____		Forma clínica? _____
2. Diagnóstico: () Antes do HIV () Depois do HIV			
3. Lesões suspeitas: Sim () Não ()	Nº e local: _____		
4. Tem dormência e formigamento na lesões? Sim () Não ()			
5. Anti-pgII: _____	Data: ____/____/____	Resultado: _____	
6. Fatores de Risco:			
História de contato			intradomiciliar: _____
Antecedentes de hanseníase	na		família: _____
Antecedentes pessoais	de		hanseníase: _____
Co-morbidades com outras			micobacterioses: _____
7. Caso suspeito/confirmado de co-infecção HIV/AIDS/hanseníase: Sim () Não ()			
Investigação para leishmaniose			
1. História Prévia de leishmaniose: Sim () Não ()	Quando: _____		Forma clínica? _____

2.	Diagnóstico: () Antes do HIV () Depois do HIV
3.	Procedente de área endêmica para LV*: Sim () Não ()
4.	Se cutânea ou cutâneo-mucosa: aspecto, número e localização das lesões: _____
5.	Teste de Montenegro: Sim () Não () Data: ____/____/____ Resultado: _____
6.	Sorologia para <i>Leishmania</i> : Sim () Não () Data: ____/____/____ Resultado: _____
7.	Transfusões: Sim () Não () Data: ____/____/____
8.	Drogas endovenosas: Sim () Não ()
9.	Caso suspeito/confirmado de co-infecção HIV/AIDS/leishmaniose: Sim () Não ()

*Municípios considerados endêmicos para LV no estado do Pará, segundo o Boletim Epidemiológico Trimestral do Núcleo de Vigilância Epidemiológica: **Região norte do estado**- Soure, Cachoeira do Arari, Ponta de Pedras, e Salvaterra; **Região Nordeste**- Abaetetuba, Igarapé-Miri, Mojú, Acará, Tomé-Açu, Tailândia, Baião, Mocajuba, Cametá, Barcarena, Ourém, Capitão-Poço, Garrafão do Norte, Irituia, Mãe do Rio, Aurora do Pará, Ipixuna, Tucuruí, Breu Branco, Bujarú; **Região Oeste**- Santarém, Alenquer, Monte Alegre, Óbidos e Itaituba

Pesquisador responsável pela observação:

ANEXO 3



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLO DE MEDICINA TROPICAL
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

PARECER DE ÉTICA DE PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

1. **Protocolo:** Nº127/2005-CEP/NMT
2. **Projeto de Pesquisa:** AVALIAÇÃO CLÍNICO EPIDEMIOLÓGICA E LABORATORIAL DA CO-INFECÇÃO HIV – LEISHMANIOSES TEGUMENTAR E VISCERAL NO ESTADO DO PARÁ.
3. **Pesquisador Responsável:** Rita Catarina Medeiros Sousa.
4. **Instituição / Unidade:** HJBB/UFPA.
5. **Data de Entrada:** 13/09/2005.
6. **Data do Parecer:** 29/09/2005.

PARECER

O Comitê de Ética em Pesquisa do NMT/UFPA apreciou o protocolo em tela e, verificou que foram atendidas todas as exigências da Resolução 196/96-CNS/MS. Portanto manifesta-se pela sua aprovação.

Parecer: **APROVADO**

Belém, 30 de janeiro de 2006.


Profª Mª da Conceição Nascimento Pinheiro
Coordenadora do CEP-NMT/UFPA.

ANEXO 4

QUADRO 2 – Doenças diagnosticadas em associação ao HIV no grupo do estudo.

Doenças Associadas	Número de Ocorrências
Candidíase Esofágica	01
Candidíase Oral	13
Candidíase oroesofágica	12
Candidíase genital	04
Citomegalovírus	04
Colite	01
Condiloma acuminado	08
Criptosporidíose	02
Diarréia crônica	03
Escabiose difusa	01
Furunculose	05
Gonorréia	12
Hanseníase	03
Hepatites	07
Herpes	01
Herpes genital	12
Herpes labial/Oral	04
Herpes simples	04
Herpes zooster	14
Histoplasmose	03
HPV	02
IVAS	01
Malária	02
Meningite Viral	01
Micose na região inguinal	01
Neurocriptococose	01
Neurotoxoplasmose	15
NIC	02
Pancreatite	01
Pneumocistose	03
Pneumonia	06
Sarcoma de Kaposi	01
Sífilis	19
Tuberculose Ganglionar	06
Tuberculose Miliar	04
Tuberculose Pulmonar	50
Tínea Capitis	01
Tínea Corporis	02
Toxoplasmose	09
Úlceras de cólon	01
Verruga anal	01
Total de ocorrências	243

ANEXO 5

QUADRO 3 - Diagnóstico de infecção por *Leishmania* em pacientes com HIV, utilizando técnicas de PCR, IFI e IDR

	Código																				
	HIV 001/08	HIV 002/08	HIV 003/08	HIV 004/08	HIV 005/08	HIV 006/08	HIV 007/08	HIV 008/08	HIV 009/08	HIV 010/08	HIV 011/08	HIV 012/08	HIV 013/08	HIV 014/08	HIV 015/08	HIV 016/08	HIV 017/08	HIV 018/08	HIV 019/08	HIV 020/08	
PCR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	L(V)sp	-
IFI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IDRM	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0x0	0x0	NR	0x0	0x0	NR	0x0	
	HIV 021/08	HIV 022/08	HIV 023/08	HIV 024/08	HIV 025/08	HIV 026/08	HIV 027/08	HIV 028/08	HIV 029/08	HIV 030/08	HIV 031/08	HIV 032/08	HIV 033/08	HIV 034/08	HIV 035/08	HIV 036/08	HIV 037/08	HIV 038/08	HIV 039/08	HIV 040/08	
PCR	-	-	-	-	-	-	L(V)sp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
IFI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
IDRM	0x0	0x0	NR	0x0	0x0	0x0	NR	0x0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	
	HIV 041/08	HIV 042/08	HIV 043/08	HIV 044/08	HIV 045/08	HIV 046/08	HIV 047/08	HIV 048/08	HIV 049/08	HIV 050/08	HIV 051/08	HIV 052/08	HIV 053/08	HIV 054/08	HIV 055/08	HIV 056/08	HIV 057/08	HIV 058/08	HIV 059/08	HIV 060/08	
PCR	-	-	-	-	-	L(L)amaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
IFI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
IDRM	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	

QUADRO 3 - Diagnóstico de infecção por *Leishmania* em pacientes com HIV, utilizando técnicas de PCR, IFI e IDR (Cont.)

	Código																			
	HIV 061/08	HIV 062/08	HIV 063/08	HIV 064/08	HIV 065/08	HIV 066/08	HIV 067/08	HIV 068/08	HIV 069/08	HIV 070/08	HIV 071/08	HIV 072/08	HIV 073/08	HIV 074/08	HIV 075/08	HIV 076/08	HIV 077/08	HIV 078/08	HIV 079/08	HIV 080/08
PCR	-	-	-	-	-	-	L(V)sp	-	-	-	L(V)sp	-	-	-	-	-	L(V)sp	-	L(V)sp	-
IFI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IDRM	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	HIV 081/08	HIV 082/08	HIV 083/08	HIV 084/08	HIV 085/08	HIV 086/08	HIV 087/08	HIV 088/08	HIV 089/08	HIV 090/08	HIV 091/08	HIV 092/08	HIV 093/08	HIV 094/08	HIV 095/08	HIV 096/08	HIV 097/08	HIV 098/08	HIV 099/08	HIV 100/08
PCR	L(V)sp	-	-	-	-	-	-	-	-	L(V)sp	-	-	-	-	-	L(V)sp	-	-	-	-
IFI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/160	-
IDRM	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	HIV 101/08	HIV 102/08	HIV 103/08	HIV 104/08	HIV 105/08	HIV 106/08	HIV 107/08	HIV 108/08	HIV 109/08	HIV 110/08	HIV 111/08	HIV 112/08	HIV 113/08	HIV 114/08	HIV 115/08	HIV 116/08	HIV 117/08	HIV 118/08	HIV 119/08	HIV 120/08
PCR	-	-	-	-	-	-	L(L)amaz	-	-	-	L(V)sp	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IFI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IDRM	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

QUADRO 3 - Diagnóstico de infecção por *Leishmania* em pacientes com HIV, utilizando técnicas de PCR, IFI e IDRM (Cont.)

	Código																			
	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV
	121/08	122/08	123/08	124/08	125/08	126/08	127/08	128/08	129/08	130/08	131/08	132/08	133/08	134/08	135/08	136/08	137/08	138/08	139/08	140/08
PCR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IFI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IDRM	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV
	141/08	142/08	143/08	144/08	145/08	146/08	147/08	148/08	149/08	150/08	151/08	152/08	153/08	154/08	155/08	156/08	157/08	158/08	159/08	160/08
PCR	-	-	-	-	-	-	-	-	L(L)amaz	-	-	-	-	-	L(V)sp	-	-	L(V)sp	-	-
IFI	-	-	-	-	-	-	-	-	1/80	-	-	-	-	1/80	-	-	-	-	-	-
IDRM	NR	0x0	NR	NR	NR	NR	NR	0x0	NR	NR	NR	0x0	NR	0x0	NR	NR	0x0	NR	NR	NR
	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV
	161/08	162/08	163/08	164/08	165/08	166/08	167/08	168/08	169/08	170/08	171/08	172/08	173/08	174/08	175/08	176/08	177/08	178/08	179/08	180/08
PCR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IFI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IDRM	NR	NR	NR	NR	0x0	0x0	0x0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0x0	0x0

QUADRO 3 - Diagnóstico de infecção por *Leishmania* em pacientes com HIV, utilizando técnicas de PCR, IFI e IDRM (Cont.)

	Código																			
	HIV 181/08	HIV 182/08	HIV 183/08	HIV 184/08	HIV 185/08	HIV 186/08	HIV 187/08	HIV 188/08	HIV 189/08	HIV 190/08	HIV 191/08	HIV 192/08	HIV 193/08	HIV 194/08	HIV 195/08	HIV 196/08	HIV 197/08	HIV 198/08	HIV 199/08	HIV 200/08
PCR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IFI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IDRM	0x0	NR	0x0	NR	NR	0x0	NR	0x0	0x0	NR	0x0	0x0	0x0	0x0	NR	NR	NR	NR	NR	0x0
	HIV 201/08	HIV 202/08	HIV 203/08	HIV 204/08	HIV 205/08	HIV 206/08	HIV 207/08	HIV 208/08	HIV 209/08	HIV 210/08	HIV 211/08	HIV 212/08	HIV 213/08	HIV 214/08	HIV 215/08	HIV 216/08	HIV 217/08	HIV 218/08	HIV 219/08	HIV 220/08
PCR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IFI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/80
IDRM	NR	NR	NR	0x0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	HIV 221/08	HIV 222/08	HIV 223/08	HIV 224/08	HIV 225/08	HIV 226/08	HIV 227/08	HIV 228/08	HIV 229/08	HIV 230/08	HIV 231/08	HIV 232/08	HIV 233/08	HIV 234/08	HIV 235/08	HIV 236/08	HIV 237/08	HIV 238/08	HIV 239/08	HIV 240/08
PCR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IFI	-	-	-	-	-	1/80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IDRM	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

QUADRO 3 - Diagnóstico de infecção por *Leishmania* em pacientes com HIV, utilizando técnicas de PCR, IFI e IDRM (Cont.)

	Código																			
	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV
	241/08	242/08	243/08	244/08	245/08	246/08	247/08	248/08	249/08	250/08	251/08	252/08	253/08	254/08	255/08	256/08	257/08	258/08	259/08	260/08
PCR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	L(V)sp	-
IFI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IDRM	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0x0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV
	261/08	262/08	263/08	264/08	265/08	266/08	267/08	268/08	269/08	270/08	271/08	272/08	273/08	274/08	275/08	276/08	277/08	278/08	279/08	280/08
PCR	-	-	L(V)sp	-	-	L(V)sp	-	-	L(V)sp	L(V)sp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IFI	-	-	1/80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IDRM	NR	NR	0x0	NR	0x0	0x0	NR	NR	NR	NR	0x0	0x0	0x0	NR	NR	NR	NR	NR	0x0	NR
	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV
	281/08	282/08	283/08	284/08	285/08	286/08	287/08	288/08	289/08	290/08	291/08	292/08	293/08	294/08	295/08	296/08	297/08	298/08	299/08	300/08
PCR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	L(V)sp	-	-	-	-	-	-	-
IFI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IDRM	0x0	0x0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0x0	NR	0x0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

QUADRO 3 - Diagnóstico de infecção por *Leishmania* em pacientes com HIV, utilizando técnicas de PCR, IFI e IDRM (Cont.)

	Código																			
	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV
	301/08	302/08	303/08	304/08	230/08	306/08	307/08	308/08	309/08	310/08	311/08	312/08	313/08	314/08	315/08	316/08	317/08	318/08	319/08	320/08
PCR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IFI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/160	-	-	-	-	-
IDRM	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV
	321/08	322/08	323/08	324/08	325/08	326/08	327/08	328/08	329/08	330/08	331/08	332/08	333/08	334/08	335/08	336/08	337/08	338/08	339/08	340/08
PCR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IFI	-	1/1280	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IDRM	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0x0	0x0	NR	NR	NR	0x0	NR	NR	0x0	NR	NR	0x0	0x0	NR
	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV	HIV
	341/08	342/08	343/08	344/08	345/08	346/08	347/08	348/08	349/08	350/08	351/08	352/08	353/08	354/08	355/08	356/08	357/08	358/08	359/08	360/08
PCR	-	-	-	-	-	-	-	L(L)chag	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IFI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IDRM	NR	NR	NR	0x0	NR	0x0	0x0	NR	NR	0x0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

QUADRO 3 - Diagnóstico de infecção por *Leishmania* em pacientes com HIV, utilizando técnicas de PCR, IFI e IDRM (Cont.)

	Código																
	HIV 361/08	HIV 362/08	HIV 363/08	HIV 364/08	HIV 360/08	HIV 366/08	HIV 367/08	HIV 368/08	HIV 369/08	HIV 370/08	HIV 371/08	HIV 372/08	HIV 373/08	HIV 374/08	HIV 375/08	HIV 376/08	HIV 377/08
PCR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IFI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IDRM	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

NR: Não realizado.

(-): Negativo

ANEXO 6

QUADRO 4 - Relação dos resultados de PCR, IFI e IDRM e dos principais fatores que podem estar associados a maior probabilidade de testes positivos

	Código										
	HIV 019/08	HIV 027/08	HIV 046/08	HIV 067/08	HIV 071/08	HIV 077/08	HIV 079/08	HIV 081/08	HIV 090/08	HIV 096/08	HIV 107/08
PCR	L(V)sp	L(V)sp	L(L)amaz	L(V)sp	L(V)sp	L(V)sp	L(V)sp	L(V)sp	L(V)sp	L(V)sp	L(L)amaz
IFI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IDRM	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Situação	AIDS	AIDS	AIDS	AIDS	AIDS	AIDS	HIV	HIV	AIDS	AIDS	AIDS
Data diagnóstico de HIV+	Mar/08	Out/05	Set/94	Jul/99	Fev/03	Set/02	Dez/07	Fev/08	Mar/01	Ago/07	Jan/99
TARV em andamento	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Sim
Início da TARV	Set/05	Jul/05	Ago/97	Jul/99	Fev/03	Out/04	-	-	Jan/03	Jan/08	Mai/99
LT CD4+ atual (cél/s/mm³)	864	516	1318	611	520	456	500	272	345	229	274
CV inicial	3324	4000	80	7800	1000	360000	33000	21368	1800	-	190
CV atual	56	-	50	50	111	50	33000	21368	490	64	50
Co-infecção hanseníase	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Local de procedência	Belém	Belém	Belém	Belém	Belém	Belém	Bujarú	Belém	Capanema	Igarapé.Miri	Belém
Região hiperendêmica de hanseníase	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Leishmaniose prévia	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Região endêmica de leishmaniose	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Não
Transfusões	Sim	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Uso de drogas intravenosas	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não

QUADRO 4 - Relação dos resultados de PCR, IFI e IDRM e dos principais fatores que podem estar associadas a maior probabilidade de testes positivos (cont.)

	HIV 111/08	HIV 149/08	HIV 155/08	HIV 158/08	HIV 259/08	HIV 263/08	HIV 266/08	HIV 269/08	HIV 270/08	HIV 293/08	HIV 348/08
PCR	L(V)sp	L(L)amaz	L(V)sp	L(V)sp	L(V)sp	L(V)sp	L(V)sp	L(V)sp	L(V)sp	L(V)sp	L(L)chag
IFI	-	1/80	-	-	-	1/80	-	-	-	-	-
IDRM	NR	NR	NR	NR	NR	0x0	0x0	NR	NR	NR	NR
Situação	AIDS	AIDS	AIDS	HIV	HIV	AIDS	AIDS	AIDS	HIV	AIDS	AIDS
Data diagnóstico de HIV+	Abr/07	Nov/06	Out/01	Jul/08	Fev/07	-	Mai/07	Jan/06	Ago/08	Jan/06	Out/04
TARV em andamento	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
Início da TARV	Jul/07	Fev/07	Nov/01	-	-	-	Set/07	Mar/06	-	Nov/06	Mai/07
LT CD4+ atual (cél/mm³)	280	462	278	610	430	236	481	629	361	438	433
CV inicial	80	-	-	4892	9119	-	105084	270	124	25000	180000
CV atual	16536	50	29053	4892	-	-	-	-	124	50	-
Co-infecção HIV/ hanseníase	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Local de procedência	Belém	Belém	Tucuruí	Belém	Belém	Belém	Belém	Belém	Belém	Belém	Belém
Região hiperendêmica de hanseníase	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Leishmaniose prévia	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Região endêmica de leishmaniose	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Transfusões de sangue	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Não
Uso de drogas intravenosas	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não

NR: Não realizado

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)-
Biblioteca do Núcleo de Medicina Tropical**

Pinheiro, Silvia Cristina da Silva

Prevalência da co-infecção leishmania/HIV em
pacientes atendidos em unidades de referência do
município de Belém / Silvia Cristina da Silva
Pinheiro; orientadora, Edna Aoba Yassui.-2010.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal do
Pará, Núcleo de Medicina Tropical, Programa de
Pós - Graduação em Doenças Tropicais, 2010.

1. Leishmaniose. 2. Infecções por HIV.I. Yassui,
Edna Aoba, orient. II. Título.

CDD: 22. ed. 616.9364

Ficha catalográfica elaborada por Valdenira de Jesus NMT/UFPA