



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

LÚCIO ANDRÉ MARTINS DA SILVA

**PREVALÊNCIA DA CO-INFECÇÃO POR *LEISHMANIA sp.* EM PACIENTES
PORTADORES DE HIV/AIDS ATENDIDOS PELO PROGRAMA MUNICIPAL DE
DST/AIDS NO CENTRO DE TESTAGEM E ACONSELHAMENTO (CTA) DE
IMPERATRIZ-MA**

IMPERATRIZ-MA

2012

LÚCIO ANDRÉ MARINS DA SILVA

**PREVALÊNCIA DA CO-INFECÇÃO POR *LEISHMANIA sp.* EM PACIENTES
PORTADORES DE HIV/AIDS ATENDIDOS PELO PROGRAMA MUNICIPAL DE
DST/AIDS NO CENTRO DE TESTAGEM E ACONSELHAMENTO (CTA) DE
IMPERATRIZ-MA**

Dissertação de Mestrado apresentada à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em 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

IMPERATRIZ - MA

2012

Silva, Lúcio André Martins da

S586p Prevalência da co-infecção por *Leishmania sp.* em pacientes portadores de HIV/AIDS atendidos pelo Programa Municipal de DST/AIDS no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) de Imperatriz-Maranhão, 2012/ Lúcio André Martins da Silva; orientadora, Edna AobaYassui Ishikawa – 2012.

72 fls. il.:color.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará. Núcleo de Medicina Tropical. Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, Belém, 2012.

1 Co-infecção 2. HIV. 3. *Leishmania* 4. Prevalência. 5. Imperatriz-MA. I. Ishikawa, Edna Aoba Yassui II.Título.

CDU 616.993.161 (812.1 Imperatriz)



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

LÚCIO ANDRÉ MARTINS DA SILVA

**PREVALÊNCIA DA CO-INFECÇÃO POR *LEISHMANIA sp.* EM PACIENTES
PORTADORES DE HIV/AIDS ATENDIDOS PELO PROGRAMA MUNICIPAL DE
DST/AIDS NO CENTRO DE TESTAGEM E ACONSELHAMENTO (CTA) DE
IMPERATRIZ-MA**

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
Orientadora – NMT/UFPA

Prof^a Dr^a Luisa Caricio Martins
NMT/UFPA

Prof^o Dr^o Juarez Antônio Simões Quaresma
NMT/UFPA

Prof^a Dr^a Hellen Thais Fuzii
NMT/UFPA

A DEUS, que esteve sempre presente em minha vida, guiando e iluminando meu caminho.

A minha família que sempre esteve ao meu lado me apoiando e encorajando em todos os momentos e em especial à minha esposa e aos meus dois filhos.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e por ter sido meu guia e minha luz nesta etapa tão difícil da minha vida.

Aos meus pais João Araújo da Silva e Florinda Martins da Silva, pelos valores e lições de vida transmitidos no decorrer da minha existência, pelo incessante apoio e incentivo e por serem minha fonte inspiração e forças.

Aos meus irmãos, Maria Dalva, João Araújo filho, Solange Martins, Evandro Martins e Jarbas Alessandro por fazerem parte da minha vida.

A minha esposa Gabriela Gonçalves Ferraz, pelo amor, carinho, companheirismo, sempre estando ao meu lado e me incentivando nessa árdua caminhada.

Aos meus filhos André Felipe Martins Ferraz e João Otávio Martins Ferraz, razão do meu viver, sempre presente com seus sorrisos e carinhos, renovando a minha fé e esperança.

A professora e Doutora Edna Aoba Yassui Ishikawa, pela orientação deste trabalho e por me fortalecer nos momentos difíceis.

As professoras e também mestrandas Marcia Guelma, Alda e Franciara Casanova, pelo apoio na construção deste trabalho.

À coordenação do programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, em especial a Prof^a e Doutora Maria da Conceição Nascimento Pinheiro sempre disposta a ajudar a resolver os problemas surgidos ao longo do curso.

À secretária do Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais em especial a Socorro Cardoso sempre alegre e educada e disposta a nos ajudar.

Enfim, a todos que acreditaram, com o seu apoio e incentivo, contribuindo para que eu chegasse até aqui.

Muito Obrigado!

Toda ciência vem da dor. A dor busca sempre a causa das coisas, enquanto que o bem-estar inclina-se a estar quieto e a não voltar a olhar para trás.

Stefan Zweig

RESUMO

A co-infecção *Leishmania*-HIV-Aids é um sério problema de saúde pública em quase todo o mundo. No entanto, os casos de co-infecção ainda são subestimados, uma vez que, a leishmaniose não se constitui doença definidora de Aids. Foi realizado um estudo descritivo transversal de Dezembro de 2011 a Fevereiro de 2012, com o objetivo de investigar a prevalência da co-infecção HIV/*Leishmania* em pacientes atendidos pelo programa municipal de DST/aids no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA. A população de estudo foi constituída por 199 indivíduos. A coleta de dados foi feita por meio de um questionário para a obtenção de dados demográficos, socioeconômicos e epidemiológicos, bem como foi realizado exame de coleta de material biológico (sangue) de todos os pacientes para detecção da infecção por *Leishmania* sp., por meio de exames laboratoriais (contagem de CD4 e CD8) e pesquisa da PCR. Entre os pacientes observou-se similaridade entre a frequência dos gêneros, 49,2% masculino e 50,8% feminino, com média de idade de 40 anos. Foi observado que 61,8% possuem baixo nível de instrução e 69,3% possuem renda mensal de até um salário mínimo. 2,01% (4/199) dos pacientes analisados apresentaram co-infecção *Leishmania*/HIV. Sendo, destes, 3 que apresentaram infecção mista por *Leishmania* (*V.*) sp e *Leishmania* (*L.*) *amazonensis*, causadores de LTA e um paciente infectado por *Leishmania* (*L.*) *chagasi*, causador de LV. Na comparação dos fatores de risco, comorbidades e complicações entre os pacientes analisados observou-se que a malária foi o único fator que se mostrou significativo em torno de 10,05%. Esse foi o primeiro estudo que investiga a coinfeção HIV *Leishmaniana* cidade de Imperatriz, Maranhão e a identificação de pacientes coinfectados foi de fundamental importância para o serviço que a partir de então poderá realizar o acompanhamento destes pacientes. Este estudo permitiu conhecer a magnitude da prevalência da co-infecção *Leishmania*/HIV. Assim, sugerimos que o teste anti-*Leishmaniaseja* realizado em todos os indivíduos com HIV/Aids, e que sejam incrementadas políticas públicas voltadas para essa problemática.

Palavras-chave: Co-infecção. HIV. *Leishmania*. Prevalência. Imperatriz-MA.

ABSTRACT

The co-infection with *Leishmania*-HIV-AIDS is a serious public health problem in most of the world. However, cases of coinfection remain underestimated, since leishmaniasis is not AIDS-defining illness. It was conducted a cross-sectional survey from December 2011 to February 2012, with the objective to investigate the prevalence of co-infection HIV/*Leishmania* in patients enrolled in the cityprogram STD/AIDS in the Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA. The study population consisted of 199 individuals. Data collection was conducted through a questionnaire to obtain demographic, socioeconomic and epidemiological data, and it was also performed tests through collection of biological material (blood) of all patients for detection of infection with *Leishmania* sp., through laboratory tests (CD4 and CD8 counting) and PCR research. Among the patients it was observed similarity between the frequency of gender, 49.2% male and 50.8% female, with an average age of 40 years. It was observed that 61.8% have a low level of education and 69.3% have an income of up to minimum wage. 2.01% (4/199) of patients analyzed presented coinfection *Leishmania*/HIV. From these, 3 showed mixed infection with *Leishmania* (V.) sp and *Leishmania* (L.) *amazonensis* causing ATL, and one patient infected by *Leishmania* (L.) *chagasi*, causing VL. Comparing the risk factors, comorbidities and complications among patients analyzed it was observed that malaria was the only factor that proved significant at around 10.05%. This was the first study that investigates the *Leishmania* HIV coinfection in the city of Imperatriz, Maranhão and identification of coinfecting patients was of fundamental importance to the service as from which will be able to then follow up these patients. This study provided the magnitude of the prevalence of co-infection *Leishmania*/HIV. Thus, we suggest that the anti-*Leishmania* test is performed on all subjects with HIV/AIDS, and are incremented public policies for this problem.

Keywords: Coinfection. HIV. *Leishmania*. Prevalence. Imperatriz-MA.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | | |
|-----------|---|---|----|
| Figura 1 | – | Estrutura do vírus da imunodeficiência humana (HIV)..... | 18 |
| Figura 2 | – | Ciclo biológico da <i>Leishmania chagasi</i> | 27 |
| Figura 3 | – | Demonstrativo da Leishmaniose no Brasil..... | 29 |
| Figura 4 | – | Ciclo evolutivo da Leishmaniose..... | 31 |
| Quadro 1 | – | Condições que sugerem comportamento oportunista da LT em pessoas vivendo com HIV/AIDS..... | 36 |
| Quadro 2 | – | Condições que sugerem comportamento oportunista da LV em pessoas vivendo com HIV/AIDS..... | 37 |
| Quadro 3 | – | Condições que indicam a necessidade de investigar LT e LV em pessoas vivendo com HIV ou AIDS..... | 37 |
| Gráfico 1 | – | Prevalência da co-infecção por <i>leishmania sp</i> nos 199 pacientes vivendo com HIV/Aids atendidos pelo programa municipal de DST/Aids no centro de testagem e aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA, Dezembro de 2011 a Abril de 2012..... | 49 |
| Gráfico 2 | – | Prevalência da co-infecção <i>leishmania</i> - HIV entre os 4 pacientes co-Infectedos..... | 51 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|----------|--|----|
| Tabela 1 | – Características demográficas dos 199 pacientes vivendo com HIV/Aids atendidos pelo programa municipal de DST/Aids no centro de testagem e aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA, Dezembro de 2011 a Abril de 2012..... | 47 |
| Tabela 2 | – Características socioeconômicas dos 199 pacientes vivendo com HIV/Aids atendidos pelo programa municipal de DST/Aids no centro de testagem e aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA, Dezembro de 2011 a Abril de 2012..... | 48 |
| Tabela 3 | – Categorias de exposição e orientação sexual dos 199 pacientes vivendo com HIV/Aids atendidos pelo programa municipal de DST/Aids no centro de testagem e aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA, Dezembro de 2011 a Abril de 2012..... | 49 |
| Tabela 4 | – Tipos de complicações e comorbidades presentes nos 199 pacientes vivendo com HIV/Aids atendidos pelo programa municipal de DST/Aids no centro de testagem e aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA, Dezembro de 2011 a Abril de 2012..... | 49 |
| Tabela 5 | – Contagem de linfócitos CD4 e CD8 dos 04 pacientes co-infectados por Leishmania/HIV atendidos pelo programa municipal de DST/Aids no centro de testagem e aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA, Dezembro de 2011 a Abril de 2012..... | 51 |

LISTA DE SIGLAS

| | | |
|--------|---|--|
| CTA | – | Centro de Testagem e Aconselhamento |
| ELISA | – | Ensaio Imunoenzimático |
| HAART | – | Highly Active Antiretroviral Therapy |
| HIV | – | Vírus da Imunodeficiência Humana |
| IEC | – | Instituto Evandro Chagas |
| LT | – | Leishmaniose Tegumentar |
| LTA | | Leishmaniose Tegumentar Americana |
| LV | – | Leishmaniose Visceral |
| LVA | – | Leishmaniose Visceral Americana |
| OMS | – | Organização Mundial de Saúde |
| PCR | – | Reação em Cadeia da Polimerase |
| SICLOM | – | Sistemas de Informações sobre Mortalidade, Laboratório e Medicamento |
| SIDA | – | Síndrome de Imunodeficiência Adquirida |
| SINAN | – | Sistema de Informação de Agravos de Notificação |
| TCLE | – | Termo de Consentimento Livre e Esclarecido |

SUMÁRIO

| | | |
|--------------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 15 |
| 2 | JUSTIFICATIVA | 16 |
| 3 | REFERENCIAL TEÓRICO | 17 |
| 3.1 | VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV)..... | 17 |
| 3.1.1 | Curso clínico do HIV | 19 |
| 3.1.2 | Epidemiologia da aids | 23 |
| 3.1.2.1 | Epidemiologia da aids no Brasil..... | 23 |
| 3.1.2.2 | Epidemiologia da aids no Maranhão..... | 24 |
| 3.1.2.3 | Epidemiologia da aids em Imperatriz..... | 25 |
| 3.2 | ASPECTOS GERAIS DAS LEISHMANIOSES..... | 25 |
| 3.2.1 | Leishmaniose Visceral (LV) | 25 |
| 3.2.1.1 | Manifestações clínicas da Leishmaniose Visceral (LV)..... | 28 |
| 3.2.2 | Leishmaniose Tegumentar (LT) | 28 |
| 3.2.2.1 | Manifestações clínicas da Leishmaniose Tegumentar (LT)..... | 32 |
| 3.2.3 | Diagnóstico laboratorial das leishmanioses | 33 |
| 3.2.3.1 | Diagnóstico molecular..... | 34 |
| 3.3 | CO-INFECÇÃO <i>LEISHMANIA</i> -HIV..... | 34 |
| 4 | OBJETIVOS | 40 |
| 4.1 | OBJETIVO GERAL..... | 40 |
| 4.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 40 |
| 5 | METODOLOGIA | 41 |
| 5.1 | CASUÍSTICA..... | 41 |
| 5.1.1 | Tipo de estudo | 41 |
| 5.1.2 | Área de estudo | 41 |
| 5.1.3 | População | 41 |
| 5.1.4 | Crítérios de inclusão | 41 |
| 5.1.5 | Crítérios de exclusão | 42 |
| 5.1.6 | Procedimentos de coletas de dados, material biológico, armazenamento e transporte de amostras biológicas | 42 |
| 5.2 | MÉTODOS LABORATÓRIAS..... | 42 |

| | | |
|--------------|--|-----------|
| 5.2.1 | Marcação de linfócitos T CD4/CD8..... | 42 |
| 5.2.2 | Extração de DNA..... | 43 |
| 5.2.3 | Reação em cadeia da polimerase (PCR)..... | 44 |
| 5.2.4 | Eletroforese em gel de agarose..... | 45 |
| 5.3 | ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 45 |
| 5.4 | CONSIDERAÇÕES ÉTICAS..... | 45 |
| 6 | RESULTADOS..... | 47 |
| 7 | DISCUSSÃO..... | 52 |
| 8 | CONCLUSÃO..... | 56 |
| | REFERÊNCIAS..... | 57 |
| | APÊNDICES..... | 66 |
| | ANEXO..... | 72 |

1 INTRODUÇÃO

A Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA) Foi descrita pela primeira vez em 1981 (GOTTLIEB et al., 2002) e tem sido desde então um sério problema no contexto da saúde pública em todo o mundo (BASTOS; MALTA, 2002). Os primeiros casos da epidemia foram notificados na década de 80, e até hoje continua sendo um grande desafio para a comunidade científica, os profissionais da saúde e a população em geral. (BASTOS; BARCELLOS, 1995; BASTOS; SZWARCOWALD, 2000; MANN; TARANTOLA; NETTER, 1993).

No Maranhão, o primeiro caso de aids notificando foi no ano de 1985, em paciente do sexo masculino, nesse mesmo ano foram notificados mais 4 casos sendo todos, também, pacientes do sexo masculino. No ano de 2008 de janeiro a dezembro, 236 casos foram notificados, sendo 143 homens e 93 mulheres. A média de casos novos diagnosticado de 2000 a 2008 foi cerca de 302 casos, tendo a razão de 1,9/1 entre homens e mulheres (MARANHÃO, 2009). No período de 1985 até janeiro de 2009, foram notificados, 4.132 casos de aids com incidência de 5,5 casos por 100.000 habitantes. Sendo o município de São Luís, o responsável por 2.607 caos novos notificados correspondendo a 63,1% dos casos no estado. (MARANHÃO, 2009).

Em 2006, o Ministério da Saúde realizou o levantamento dos casos de coinfeção LV/aids e LT/aids no Brasil, Foram relacionados 16.210 casos de LV; 150 mil casos de LT referentes ao período de 2001 a 2005 notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN); e 403.145 casos de aids, de 1980 a 2005, registrados no SINAN e nos Sistemas de Informações sobre Mortalidade, Laboratório e Medicamento (SICLOM). Após relacionamento dos bancos de dados das leishmanioses e da aids, foi possível identificar 176 casos com coinfeção LV/aids e 150 casos com coinfeção LT/aids, o que representa 1,1% dos casos de LV e 0,1% dos casos de LT.

Por ser uma das doenças mais negligenciadas, em função da sua subnotificação, a Organização Mundial de Saúde (OMS) tem destinado especial atenção à leishmaniose, sobretudo por tratar-se de doença que afeta populações mais pobres, nas quais 80% das pessoas acometidas ganham, em média, dois dólares por dia. (SÁ, 2004).

2 JUSTIFICATIVA

No Brasil até 2008, 506.384 casos de aids foram notificados. A região Nordeste ocupou o 3º lugar com 58.348 casos notificados de aids correspondendo a 11,5% dos casos do país, perdendo para a região Sul e Sudeste com 60% e 18,9% respectivamente. (BRASIL, 2008a).

Segundo as estatísticas fornecidas pelo Programa Estadual e Municipal, o número de casos de aids no Estado do Maranhão, entre os anos de 1985 a 2011, correspondem, aproximadamente, 5.443 casos, sendo em Imperatriz 729 (62,4%) casos e cidades circunvizinhas 440 (37,6%) casos, perfazendo um total de 1.169 casos nesta região.

O estudo de *Leishmania* em pacientes com o Vírus da Imunodeficiência Humana/AIDS (HIV) tem grande relevância, visto que, comporta-se como uma infecção oportunista e demonstra substancial modificação no seu quadro clínico-evolutivo e nos índices de mortalidade em pacientes infectados pelo HIV. A relação entre vírus e protozoários na determinação da patogênese da co-infecção parece ser secundária à interação molecular dos dois agentes e à indução da resposta imune do hospedeiro por cada um desses com HIV/aids.

Dezenas de casos de co-infecção foram descritas no Brasil desde 1987. A avaliação de 83 casos relatados no País, registrados em 12 estados da federação, mostrou que 62,7% dos pacientes apresentavam LT (21,8% tinham a forma cutânea e 40,9% manifestavam a forma mucosa) e 37,3% apresentavam LV. (BRASIL, 2008a).

Diante do exposto, esta pesquisa tem o intuito de investigar a ocorrência da infecção da *Leishmania sp.* em indivíduos convivendo com HIV/aids, além de fazer um levantamento dos pacientes em acompanhamento junto ao Centro de Testagem e Aconselhamento na cidade de Imperatriz, tendo em vista que o referido serviço serve como referência regional uma vez que absorve também a demanda das cidades circunvizinhas, com fins de identificar o paciente co-infectado com *Leishmania* para que não haja maiores prejuízos em decorrência do paciente desconhecer seu estado para esta doença.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV)

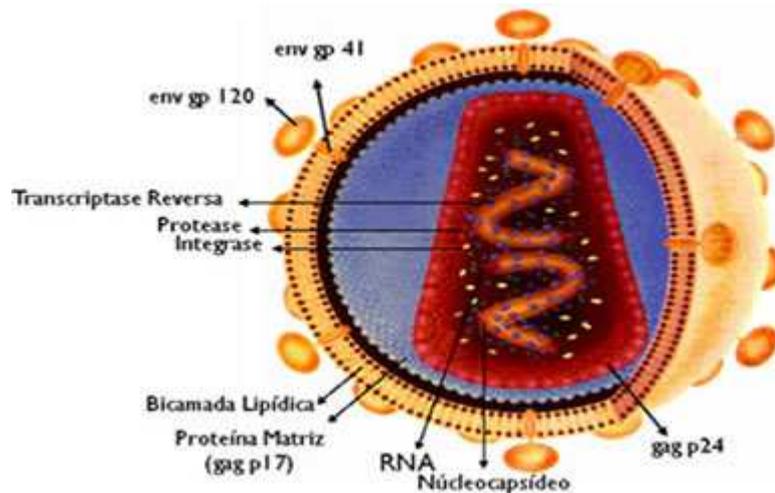
A Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA) é um sério problema no contexto da saúde pública em todo o mundo (BASTOS; MALTA, 2002). Foi descrita pela primeira vez em 1981 (GOTTLIEB et al., 2002). Os primeiros casos da epidemia foram notificados na década de 80, e até hoje continua sendo um grande desafio para a comunidade científica, os profissionais da saúde e a população em geral. (MANN; TARANTOLA; NETTER, 1993; BASTOS; BARCELLOS, 1995; BASTOS; SZWARCOWALD, 2000).

O HIV é considerado o causador da aids. De acordo com suas características biológicas e estruturais, este vírus foi classificado como membro do grupo dos retrovírus humano envelopado da família lentivirus, que correspondem aos vírus associados às infecções persistentes com longos períodos de latência clínica. Dois tipos de HIV têm sido descrito, HIV-1 e HIV-2, sendo o HIV-1 mais virulento. (GOLDMAN; AUSIELLO, 2005; RICHARD et al., 2002).

Ao entrar no organismo humano, o HIV pode ficar silencioso e incubado por muitos anos, esta fase denomina-se assintomática e relaciona-se ao quadro em que o paciente não apresenta nenhum sinal ou sintoma da doença. O período entre a infecção pelo HIV e as manifestações dos primeiros sintomas irá depender, principalmente, do estado de saúde da pessoa. (BRASIL, 2006b; GOLDMAN; AUSIELLO, 2005).

Na sua estrutura o HIV apresenta como material genético, RNA na forma de duas fitas idênticas dentro de um capsídeo protéico, circundado por um envelope protéico (Fig. 1). O envelope viral é composto por glicoproteínas virais, cujas principais são GP120 e GP41, que são críticas para a infecção e três enzimas: integrase, protease e transcriptase reversa (RICHARD et al., 2002). Porém, existem muitas dúvidas a respeito do mecanismo pelo o qual a infecção com o retrovírus HIV genotrópicos causa redução de células T CD4 e a subsequente imunodeficiência fatal. (VERONESI, 2005).

Figura 1 - Estrutura do vírus da imunodeficiência humana (HIV)



Fonte - Bismara (2006)

O período entre a aquisição do HIV e a manifestação da aids pode durar alguns anos, porém, apesar do indivíduo portador do vírus estar muitas vezes assintomático, pode apresentar importantes transtornos na esfera psicossocial, a partir do momento em que fica sabendo de seu diagnóstico. (CANINI et al., 2004).

Esse vírus causa no organismo uma disfunção imunológica crônica progressiva devido ao declínio dos níveis de linfócitos CD4, células de defesa do sistema imunológico humano, sendo que quanto mais baixo for o índice desses, maior risco do indivíduo desenvolver a síndrome. (BARBOSA; FORNÉS, 2003; NADLER, 2004; WAITZBERG, 2000).

Quando em contato com sua célula susceptível, o HIV invade o linfócito T, principalmente o linfócito T auxiliar CD4+ e os macrófagos. A destruição dos linfócitos T CD4+ é acompanhada de disfunção generalizada do sistema imunológico, sobretudo na resposta celular, verificando queda na contagem de linfócitos T CD4+ e diminuição da função dos linfócitos restantes por ativação monoclonal e por mecanismos ainda não claramente esclarecidos. (DYBUL et al., 2006; GOTTLIEB et al., 2002; LEDERMAN, 2006; REQUEJO, 2006).

Na infecção pelo HIV, as células do Sistema Imunológico mais afetadas são os linfócitos T. Estas células são divididas em dois subtipos, os linfócitos T helper ou auxiliares e os linfócitos T citotóxicos. Os linfócitos T helper têm como principal função a regulação da resposta imunológica através da produção de citocinas, que ativam outras células do sistema imune como: linfócitos T CD8, linfócitos B, células NK, macrófagos, monócitos e granulócitos. Os linfócitos T

citotóxicos têm a capacidade de reconhecer e destruir células infectadas por vírus e células tumorais. (MACDOUGALL et al., 2002; VERONESI, 2005).

3.1.1 Curso clínico do HIV

Segundo o Ministério da Saúde (BRASIL, 2006a), a infecção pelo HIV pode ser dividida em quatro fases clínicas:

- a) infecção aguda;
- b) fase assintomática, também conhecida como latência clínica;
- c) fase sintomática inicial ou precoce;
- d) AIDS.

a) Infecção aguda

Também conhecida como *Síndrome da infecção retroviral aguda* ou *Infecção primária*, ocorre em cerca de 50% a 90% dos casos. O tempo entre a exposição e a manifestação dos sintomas varia de 5 a 30 dias e duram, em média, 14 dias. Iniciam no pico da viremia e da atividade imunológica e assemelham-se aos de outras infecções virais. Podem surgir: febre, adenopatia, faringite, mialgia, artralgia, rash cutâneo maculopapular eritematoso, ulcerações muco-cutâneas em mucosa oral, esôfago e genitália, hiporexia, adinamia, cefaléia, fotofobia, hepatoesplenomegalia, perda de peso, náuseas e vômitos; os pacientes podem apresentar candidíase oral, neuropatia periférica, meningoencefalite asséptica e síndrome de Guillain-Barré. Os achados laboratoriais são inespecíficos e transitórios e incluem: linfopenia seguida de linfocitose, presença de linfócitos atípicos, plaquetopenia e elevação sérica das enzimas hepáticas. A ocorrência da síndrome de infecção retroviral aguda clinicamente importante ou a persistência dos sintomas por mais de 14 dias indicam evolução mais rápida para aids.

Após a resolução da fase aguda, ocorre a viremia se estabiliza em níveis variáveis (*set points*), definidos pela velocidade da replicação e clareamento viral. O *set point* é fator prognóstico de evolução da doença. A queda da contagem de linfócitos T CD4+, de 30 a 90 células por ano, está diretamente relacionada à velocidade da replicação viral e progressão para a aids. É importante lembrar que o tratamento adequado de outras DST, quando presentes, além de interromper a

cadeia de transmissão, melhora o prognóstico do portador da infecção pelo HIV, visto que as DST facilitam a progressão para doença clínica.

b) Fase assintomática

Na infecção precoce pelo HIV ou fase assintomática, são poucas ou inexistentes as alterações no estado geral. Alguns podem apresentar linfadenopatia generalizada persistente, flutuante e indolor que podem mesmo passar despercebida.

c) Infecção sintomática inicial

Nesta fase, podem surgir sinais e sintomas inespecíficos, de intensidade variável e processos oportunistas de pouca gravidade, principalmente em pele e mucosas. As alterações mais freqüentes são:

- sinais e sintomas inespecíficos:

- sudorese noturna - queixa comum e inespecífica de pessoas com infecção sintomática inicial. Se acompanhada de febre as infecções oportunistas devem ser investigadas;
- fadiga - é manifestação freqüente e pode ser mais intensa no final da tarde e após atividade física excessiva. Fadiga progressiva e debilitante deve alertar para a presença de infecção oportunista, que deve ser sempre pesquisada;
- emagrecimento - o mais comum dos sintomas gerais, ocorre em 95-100% dos indivíduos com doença em progressão. Geralmente está associado a outras condições como anorexia. A associação com diarreia aquosa o faz mais intenso;
- trombocitopenia - ou púrpura trombocitopênica imune, quando ocorre os pacientes podem apresentar pequenos sangramentos como petéquias, equimoses e ocasionalmente epistaxes.

- processos oportunistas mais comuns na fase sintomática inicial:

- candidíase oral e vaginal - é a infecção fúngica mais comum em pacientes HIV+ e apresenta aparência e sintomas característicos. A forma pseudomembranosa surge com placas esbranquiçadas removíveis em língua e mucosas que variam de pequenas a amplas e

disseminadas. Já a forma eritematosa mostra placas avermelhadas em mucosa, palato mole e duro ou superfície dorsal da língua. A queilite angular, também freqüente, produz eritema e fissuras nos ângulos da boca. Mulheres HIV+ podem apresentar formas extensas ou recorrentes de candidíase vulvo-vaginal, com ou sem acometimento oral, como manifestação precoce de imunodeficiência pelo HIV, bem como nas fases mais avançadas da doença. As espécies patogênicas incluem *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e outras menos comumente isoladas;

- leucoplasia pilosa oral - espessamento epitelial benigno causado provavelmente pelo vírus Epstein-Barr. Clinicamente apresenta lesões brancas que variam em tamanho e aparência, podendo ser planas ou em forma de pregas, vilosidades ou projeções. Ocorre mais freqüentemente em margens laterais da língua, mas podem ocupar localizações da mucosa oral: mucosa bucal, palato mole e duro;
- gengivite e outras doenças periodontais - podem manifestar-se de forma leve ou agressiva, sendo a evolução rapidamente progressiva, observada em estágios avançados da doença, levando a um processo necrotizante acompanhado de dor, perda de tecidos moles periodontais, exposição e seqüestro ósseo;
- úlceras aftosas - é comum a presença de úlceras extensas, resultantes da coalescência de pequenas úlceras em cavidade oral e faringe, de caráter recorrente e etiologia não definida. Produzem dor a deglutição, anorexia e debilitação do estado geral;
- diarreia - manifestação freqüente da infecção pelo HIV desde sua fase inicial. É difícil determinar sua causa e o exame das fezes para agentes específicos é necessário. Na infecção precoce pelo HIV os patógenos entéricos mais comuns são: *Salmonella sp*, *Shigella sp*, *Campylobacter sp*, *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, adenovírus, rotavírus. Agentes como *Cryptosporidium parvum* e *Isospora belli*, geralmente surgem na fase mais avançada da aids;
- sinusites e outras sinusopatias - relativamente freqüentes nos pacientes HIV+. A forma aguda é mais comum no estágio inicial da

doença, e são causadas pelos mesmos agentes vistos em pacientes imunocompetentes: *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* e *H. influenzae*. Outros agentes como *S. aureus* e *P. aeruginosa* e fungos são mais achados nas sinusites crônicas. Febre, cefaléia, sintomas locais, drenagem mucopurulenta nasal fazem parte do quadro;

- herpes simples recorrente - a maioria dos indivíduos HIV+ é co-infectada com um ou ambos os tipos de vírus herpes simples (1 e 2), sendo mais comum a recorrência do que a infecção primária. Embora o HSV-1 seja responsável por lesões orolabiais e o HSV-2 por lesões genitais, ambos podem causar lesão em qualquer sítio. Os quadros de recorrência são atípicos se comparados ao visto em indivíduos imunocompetentes, no entanto, a sintomatologia clássica pode manifestar-se independente do estágio da doença pelo HIV;
- herpes zoster - de modo similar ao que ocorre com o HSV em pacientes com doença pelo HIV, a maioria dos adultos foi previamente infectada pelo vírus varicela zoster, desenvolvendo episódios de herpes zoster freqüentes. Inicia com dor radicular, *rash* localizado ou segmentar, onde surgem maculopapulas dolorosas que evoluem para vesículas com conteúdo infectante. Pode haver disseminação cutânea extensa.

Após esta fase encontramos o quadro conhecido e descrito como aids. A síndrome produzida pela infecção pelo HIV. O exame padrão é a sorologia para detecção de anticorpos. O teste sorológico convencional é o ensaio imunoenzimático (ELISA) de rastreamento, seguido de um teste confirmatório (Western Blot ou Imunofluorescencia). O Ministério da Saúde determinou que o exame anti-HIV deve ser realizado utilizando-se a técnica de ELISA. As amostras positivas devem ser ainda confirmadas com outra amostra do mesmo do mesmo paciente, submetida novamente ao anti-HIV (ELISA) utilizando antígenos diferentes do primeiro, para afastar a principal caso falso-positivo, em seguida a amostra deve ser submetida ao exame confirmatório pelo Western Blot ou RIFI. (BRASIL, 2006a).

O tratamento atual da infecção para o HIV tem contribuído para uma mudança do perfil da morbimortalidade da aids, principalmente a partir de 1996, com

o uso da terapia antirretroviral combinada, graças aos inibidores de protease. (BRITO; CASTILHO; SZWARCOWALD, 2000).

A introdução da Terapia Antirretroviral (Highly Active Antiretroviral Therapy – HAART) contribuiu para transformar a Aids em doença crônica. Essa terapêutica tem imposto benefícios consideráveis ao seu usuário como prolongamento de sobrevida, melhoria da qualidade de vida, diminuição de episódios mórbidos e diminuição da incidência de doenças oportunistas e frequência de internações; entretanto, requer perfeita adesão. (GIR; VAICHULONIS; OLIVEIRA, 2005).

A sobrevivência de indivíduos portadores de HIV tende a ser cada vez maior devido aos avanços da terapia antirretroviral. No entanto, inúmeras alterações do metabolismo e do estado nutricional podem afetar a qualidade de vida desses pacientes (ALVES; BEVILACQUA, 2004; JAIME et al., 2004; POLACOW et al., 2004; TROIAN et al., 2005). Distúrbios gastrintestinais (vômito e náuseas) e “rash” cutâneo (manchas avermelhadas pelo corpo) são os efeitos colaterais mais freqüentes causados pelos antirretrovirais. A síndrome consuptiva é uma perda maior de 10% do peso corporal usual associada à diarreia crônica e/ou febre e/ou infecção pelo HIV. (ALVES; BEVILACQUA, 2004).

3.1.2 Epidemiologia da aids

3.1.2.1 Epidemiologia da aids no Brasil

Na década de 80, a aids concentrava-se basicamente entre os homens, e os casos da doença entre mulheres se restringiam as parceiras de usuário de drogas injetáveis, de hemofílicos ou de homens bissexuais ou mulheres envolvidas na prática da prostituição. Entretanto, nos últimos anos, vem ocorrendo o processo da heterossexualização, feminização e interiorização desta epidemia. O aumento da transmissão por contato heterossexual implica crescimento substancial de casos em mulheres e, conseqüentemente, em crianças e é apontado como uma das mais importantes características do atual quadro da aids no mundo e no Brasil. Atualmente, 56% dos casos diagnosticados entre o sexo feminino são de mulheres com parceiros fixos, fato que vem sendo observado desde 1990, com o aumento do

número de casos de transmissão do HIV por relações sexuais heterossexuais. (SILVEIRA et al., 2002).

A incidência do HIV/aids em todo o mundo atingiu o seu pico no final da década de 90 e se estabilizou. Em alguns países houve a redução da incidência devido o incentivo às mudanças de comportamentos e programas de prevenção. Com isso, houve um aumento na prevalência de caos HIV/aids e uma diminuição nos casos de letalidade devido ao acesso à terapia anti-retroviral. Entre 1993 e 2003, houve um aumento de 5 anos da idade mediana dos óbitos por esta doença, em ambos os sexos, elevando a sobrevida dos pacientes. (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2006).

Segundo o boletim epidemiológico do Ministério da Saúde de 1980 a junho de 2011, no Brasil, foram notificados 608.230 casos de aids, sendo 397.662 (65,4%) no sexo masculino e 210.538 (34,6%) no sexo feminino. A razão de sexo vem diminuindo ao longo dos anos. Em 1985, para cada 26 casos entre homens havia um caso entre mulher. Em 2010, essa relação é de 1,7 homens para cada caso em mulheres. A taxa de prevalência da infecção pelo HIV, na população encontra-se na faixa etária com 15 a 49 anos. (BRASIL, 2010).

3.1.2.2 Epidemiologia da aids no Maranhão

No Maranhão, o primeiro caso de aids notificando foi no ano de 1985, no sexo masculino, nesse mesmo ano foram notificados mais 4 casos sendo todos do mesmo sexo. No ano de 2008 de janeiro a dezembro, 236 casos, sendo 143 homens e 93 mulheres. A média de casos novos diagnosticado de 2000 a 2008 foi cerca de 302 casos, tendo a razão de 1,9/1 entre homens e mulheres (MARANHÃO, 2009). No período de 1985 até janeiro de 2009, foram notificados, 4.132 casos de aids com incidência de 5,5 casos por 100.000 habitantes. Sendo o município de São Luís, o responsável por 2.607 caos novos notificados correspondendo a 63,1% dos casos no estado. (MARANHÃO, 2009).

Segundo dados epidemiológicos do Programa Estadual DST/aids do Maranhão de 1985 a junho de 2011, no Maranhão, foram notificados 5.443 casos de aids, sendo 3.502 (64,3%) no sexo masculino e 1.941 (35,7%) no sexo feminino. (MARANHÃO, 2011).

3.1.2.3 Epidemiologia da aids em Imperatriz

Segundo dados estatísticos do Programa Municipal DST/AIDS de Imperatriz de 1985 a fevereiro de 2012 (dados preliminares), em Imperatriz, foram notificados 729 (62,4%) casos de aids em adultos, sendo: 468 (64%) no sexo masculino e 261 (36%) no sexo feminino. A razão de sexo é de 1.8 homens para cada caso em mulheres. (IMPERATRIZ, 2012).

3.2 ASPECTOS GERAIS DAS LEISHMANIOSES

3.2.1 Leishmaniose Visceral (LV)

As leishmanioses são consideradas primariamente como uma zoonose podendo acometer o homem, quando este entra em contato com o ciclo de transmissão do parasito, transformando-se em uma antropozoonose. Atualmente, encontra-se entre as seis endemias consideradas prioritárias no mundo. (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2006).

As leishmanioses são doenças causadas por protozoários do gênero *Leishmania* e clinicamente, podem se apresentar sob a forma visceral e tegumentar (cutânea, cutâneo-mucosa e mucosa). (BRASIL, 2006c).

A Leishmaniose Visceral (LV), Leishmaniose Visceral Americana (LVA), Calazar (significa febre negra em hindu) ou Calazar Neotropical recebe ainda outras denominações como febre dundum, febre assam, febre caquexial, esplenomegalia tropical, anemia esplênica dos lactentes e febre negra indiana, dependendo da localização geográfica. Os gregos no século XIX, a chamavam de ponos ou haplopinakon. (SÁ, 2004).

A LV é considerada um problema de saúde pública mundial, registrada em 94 países, sendo 67 no Velho Mundo e 27 no Novo Mundo, exceto Antártica e Oceania. É considerada uma doença endêmica na maioria dos países em desenvolvimento, onde existem 200 milhões de pessoas expostas ao risco. Cerca de 90% dos casos mundiais de leishmaniose ocorrem em cinco países: Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão e Brasil. A doença atinge principalmente as populações pobres desses países. Na Índia, o caráter é predominantemente urbano.

(CAMARGO-NEVES; SANTUCCI, 2000-2001; GONTIJO; MELO, 2004; MELO 2004).

Em 1953, o primeiro surto de LV no Brasil foi relatado no Ceará por Pessoa chamando atenção para novos aspectos epidemiológicos da doença, a sua predominância na área rural, e a ocorrência nas zonas suburbanas e urbanas. No período de 1953 a 1965, a doença foi plenamente reconhecida como endêmica no Brasil e de maior expressividade na América Latina. Deane em seu clássico estudo de 1956 evidenciou a expansão e urbanização da LV no Brasil. (BATISTA et al., 2004).

No Brasil, a LV acomete pessoas de todas as idades, porém é mais prevalente em crianças menores de 10 anos em 80% dos casos. Em alguns focos urbanos, há uma tendência de modificação da distribuição dos casos por grupo etário, com ocorrência de altas taxas em adultos jovens. (BRASIL, 2003a; GONTIJO; MELO, 2004; MEDEIROS; NASCIMENTO; HINRICHSEN, 2005).

À medida que a doença se expandiu para outras regiões e atingiu áreas urbanas e periurbanas, observou-se uma redução no número de casos no nordeste em torno de 70% em relação ao país. (CAMARGO-NEVES; SANTUCCI, 2000-2001; BRASIL, 2003a; CAMPINO, 2003).

Foram notificados ao Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN) em 2007, 3.204 (três mil e duzentos e quatro) casos de LV no Brasil. A região Nordeste foi responsável por 47,8% dos casos e destes, o Maranhão contribuiu com 21,6%, após o Ceará com 32,6%. No ano seguinte, houve uma inversão de posição sendo o Maranhão, o estado do nordeste a ocupar o primeiro lugar em casos notificados de LV com 33,4% e o Ceará, 26,4%. (BRASIL, 2008b).

No Maranhão, Silva et al. (1988), inicialmente, diagnosticaram 2 casos no ano de 1982, no São Bernardo e 4 casos de LV, no São Cristóvão, bairros pertencentes ao município de São Luís, e logo após um surto com 32 casos. Nos anos seguintes, a doença atingiu os municípios de São José de Ribamar e Paço do Lumiar, sendo atualmente um dos maiores problemas de saúde pública da Ilha de São Luís, dada à frequência com que vem acontecendo.

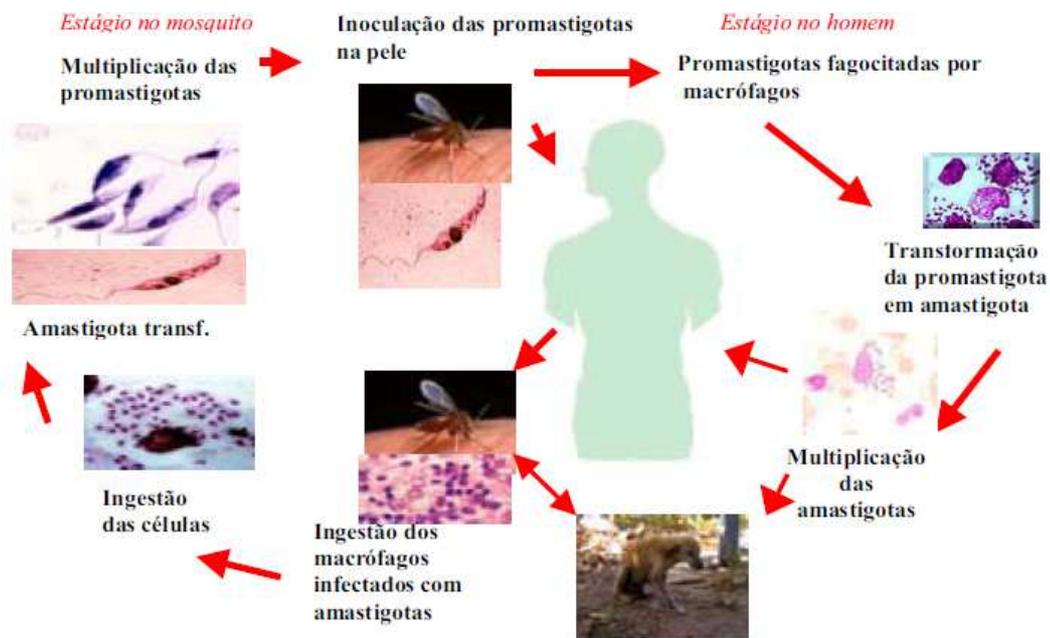
Foram registrados, no Estado do Maranhão, de 2000 a 2004, 3.677 casos de LV. Nos anos de 2002 e 2003, o estado ocupou o primeiro lugar do Brasil, sendo responsável por 25,8% e 48,5% respectivamente dos casos de LV notificados na região Nordeste. A maioria dos casos do Maranhão é proveniente de municípios que

compõem a Ilha de São Luís (São Luís, São José de Ribamar, Paço do Lumiar e Raposa), principalmente nas áreas periurbanas. (COSTA et al., 1995; NASCIMENTO et al., 1996; MARANHÃO, 2005; SILVA et al., 1997).

A doença é transmitida pela picada da fêmea do flebótomo do gênero *Phebotomus* no Velho Mundo e *Lutzomyia* nas Américas. No Brasil, a principal espécie identificada como vetora é a *Lutzomyia longipalpis*. A transmissão da LV reflete o comportamento do vetor, do homem e a atividade dos reservatórios. Entretanto, o fator de maior importância na ocorrência de LV é a exposição ao vetor. (BRASIL, 2003a; DESJEUX, 2004; MORENO; MELO; ANTUNES, 2002).

Das 500 espécies conhecidas de flebátomos, apenas 30 são consideradas vetores da doença. Somente as fêmeas transmitem o parasito, infectando-se com a *Leishmania* presente no sangue dos hospedeiros. (BADARÓ; DUARTE, 2002; GENARO, 2003). Na figura 2 está representado o ciclo biológico da *Leishmania chagasi*.

Figura 2 - Ciclo biológico da *Leishmania chagasi*



Fonte: Lainson e Shaw (1987)

3.2.1.1 Manifestações clínicas da Leishmaniose Visceral (LV)

A infecção pela *L. (L.) chagasi* pode causar manifestações clínicas de intensidade variável. Reconhece-se que a grande maioria dos indivíduos que se infectam permanecerão assintomáticos o resto da vida. Em regiões endêmicas, estima-se que 20% dos indivíduos infectados desenvolvem a forma clássica da doença. Os fatores que determinam a gravidade das manifestações clínicas podem estar relacionados com a idade, o estado nutricional e as características imunogenéticas do indivíduo acometido. O período de incubação é em média de três meses. As manifestações clínicas variam de acordo com o tempo de evolução da doença. No período inicial, ocorre febre, hepatoesplenomegalia discreta e palidez cutâneo-mucosa, podendo estar presentes tosse e diarreia. Se não tratado, o paciente evolui para o período de estado caracterizado por hepatoesplenomegalia volumosa, persistência da febre, piora da palidez cutâneo-mucosa e emagrecimento progressivo. O período final da doença associa-se com infecções bacterianas, desnutrição proteico-energética grave, epistaxe, sangramentos cutâneos ou digestivos, sendo as infecções bacterianas responsáveis pela maioria dos óbitos.

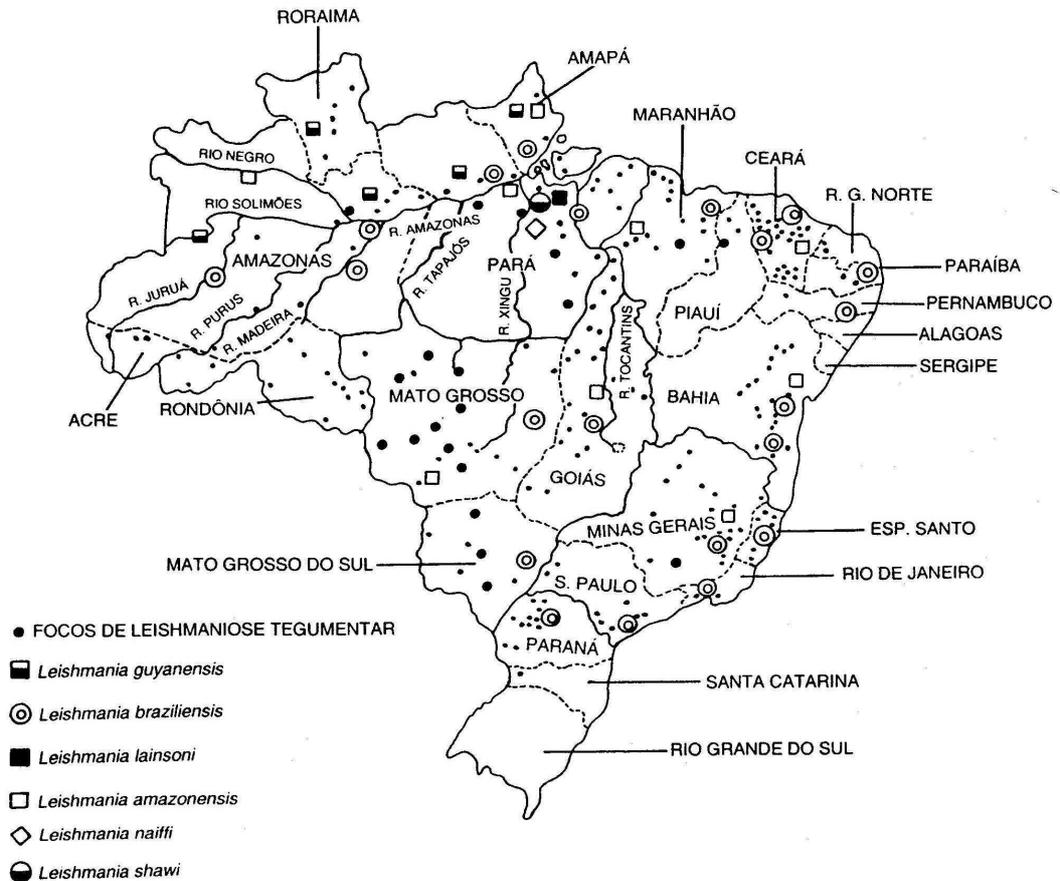
A hepatoesplenomegalia é acompanhada de citopenias, hipoalbuminemia e hipergamaglobulinemia. Nos pacientes que apresentam comprometimento intestinal ou pulmonar exclusivo as alterações laboratoriais citadas poderão estar ausentes.

3.2.2 Leishmaniose Tegumentar (LT)

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença infecciosa, não contagiosa, causada por protozoário do gênero *Leishmania*, de transmissão vetorial, que acomete pele e mucosas. É primariamente uma infecção zoonótica que afeta outros animais que não o homem, o qual pode ser envolvido secundariamente.

Nas Américas são reconhecidas atualmente 11 espécies de *Leishmania* dermatrópicas causadoras de doença em humanos. Por outro lado, no Brasil, as principais espécies de *Leishmania* causadoras de LTA são: a *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis* e *L. (L.) amazonensis* (MARZOCHI; MARZOCHI; SCHUBACH, 2001). A figura 3 mostra a distribuição geográfica no Brasil das espécies que causam a LTA.

Figura 3 - Demonstrativo da Leishmaniose no Brasil



Fonte: Marzochi, Marzochi e Schubach (2002)

As 3 principais espécies são:

- a) ***Leishmania (Leishmania) amazonensis*** – distribuída pelas florestas primárias e secundárias da Amazônia (Amazonas, Pará, Rondônia, Tocantins e sudoeste do Maranhão), particularmente em áreas de igapó e de floresta tipo “várzea”. Sua presença amplia-se para o Nordeste (Bahia), Sudeste (Minas Gerais e São Paulo) e Centro-oeste (Goiás);
- b) ***Leishmania (Viannia) guyanensis*** – aparentemente limitada ao norte da Bacia Amazônica (Amapá, Roraima, Amazonas e Pará) e estendendo-se pelas Guianas. É encontrada principalmente em florestas de terra firme, em áreas que não se alagam no período de chuvas;
- c) ***Leishmania (Viannia) braziliensis*** – tem ampla distribuição, do sul do Pará ao Nordeste, atingindo também o centro-sul do país e algumas

áreas da Amazônia Oriental. Na Amazônia, a infecção é usualmente encontrada em áreas de terra firme. Quanto ao subgênero *Viannia*, existem outras espécies de *Leishmania* recentemente descritas: *L. (V) lainsoni*, *L. (V.) naiffi* e *L. (V.) lindenbergi*, com poucos casos humanos no Pará; *L. (V) shawi*, com casos humanos encontrados no Pará e Maranhão.

Na Região Nordeste do Brasil, ocorreu o maior número de casos de LT no período de 1980 a 1996, com 37,6% das notificações (11.303 casos), e entre 1997 e 2002, com 37,1% (67.836 casos), sendo que o Maranhão foi o Estado com maior número de casos na região nos dois períodos supracitados. Entre os anos de 1994 e 1998 houve um crescimento de 39% para 88,5% dos municípios do Maranhão com casos registrados e em 2003, foram notificados 3.988 casos de LT neste Estado, passando a ocupar o segundo lugar em número de casos de LT no País.

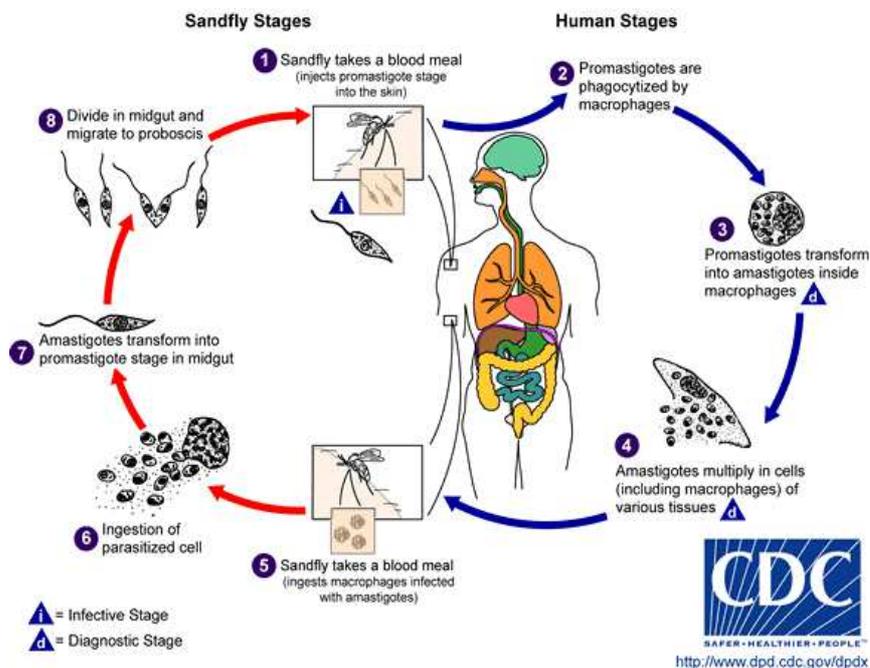
O Ministério da Saúde, com o objetivo de identificar áreas prioritárias para ação de prevenção e controle, classificou vinte e seis circuitos de produção de LT no Brasil, sendo que três deles estão no Maranhão. Os três circuitos maranhenses são constituídos por 8 pólos da doença, que representam do ponto de vista epidemiológico, áreas de transmissão intensa e freqüente, possivelmente diferente do restante da região. Um dos fatores que pode explicar essa situação da LT no Maranhão é a sua posição geográfica, pois se localiza numa área de transição entre duas macrorregiões que caracterizam o Brasil. Pelo lado oeste, encontra-se a floresta amazônica úmida e, pelo lado leste, as savanas do nordeste seco, o que significa que a LT está se expandindo por todas as zonas ecológicas e fitogeográficas.

Um dos primeiros relatos sobre a LT no Maranhão foi feito na década de 70 por Silva, Martins e Melo (1979) em Buriticupu, município da Amazônia maranhense. Neste estudo foi relatado um surto com 300 casos, ocorrido em área de colonização recente para implantação de projetos agropecuários e núcleos populacionais. Posteriormente, estudos realizados por Rebêlo, Oliveira e Barros (2000), demonstraram a presença de vetores da LT na região de Buriticupu, confirmando esta área como endêmica de LT. Atualmente, esse é o Município de maior prevalência da doença no Estado.

Os sítios onde ocorrem o ciclo evolutivo e a transmissão de *L. braziliensis* são basicamente nos flebotomíneos e nos hospedeiros vertebrados. Somente as

flebotomíneos fêmeas são hematófagos. Quatro a cinco dias após o repasto em um hospedeiro infectado as formas amastigotas se transformam em promastigotas, multiplica-se por fissão binária, migram para as partes anteriores do tubo digestivo atingindo o aparelho picador sugador. Ao picar outro animal, ocorre a inoculação das formas promastigotas, que são englobadas por macrófagos do hospedeiro. Nas células fagocitárias do hospedeiro vertebrado, os parasitos se transformam em formas amastigotas, que se multiplicam por fissão binárias dentro dos vacúolos parasitóforos. A célula infectada multiplica-se, dividindo seus parasitos entre as células filhas, ou se rompe liberando as amastigotas que são, então, fagocitadas por outros macrófagos e tornam a se multiplicar. Em outros repastos sanguíneos, novos flebotomíneos ingerem macrófagos infectados. No tubo digestivo do inseto, as formas amastigotas transformam-se em promastigotas, multiplicam-se por fissão binária e o ciclo recomeça (figura 04). (LAINSON; RANCEL, 2005).

Figura 4 - Ciclo evolutivo da Leishmaniose



Legenda da figura:

- (1) Mosquito retira sangue do hospedeiro e injeta promastigotas.
- (2) Promastigotas são fagocitadas pelos macrófagos.
- (3) Promastigotas se transformam em amastigotas no interior dos macrófagos.
- (4) Amastigotas são liberados e infectam outras células.
- (5) Mosquito ingere sangue infectado do homem.
- (6) Ingestão de células parasitadas.
- (7) Amastigotas se transformam em promastigotas no estômago do mosquito.
- (8) Promastigotas se multiplicam no estômago do mosquito transmissor.

Fonte: Laboratory... (2012)

3.2.2.1 Manifestações clínicas da Leishmaniose Tegumentar (LT)

No Brasil, as manifestações clínicas da LT são caracterizadas por comprometimento cutâneo e/ou de mucosa. A lesão cutânea primária se dá no local da picada do inseto vetor, sendo, portanto, mais frequente em áreas expostas do corpo, como os membros. O período de incubação entre a picada e o aparecimento da lesão pode variar de poucas semanas a meses.

As lesões mucosas ocorrem meses ou anos após as lesões cutâneas e, ocasionalmente, não se relatam lesões cutâneas precedentes. Raramente, há acometimento concomitante de pele e mucosa.

Nos pacientes com coinfeção *Leishmania*-HIV o espectro é variado, as lesões cutâneas variam de pápulas a úlceras, podendo haver lesões únicas ou múltiplas, sendo que as mais comuns são úlceras, no entanto, lesões atípicas caracterizadas por máculas ou pápulas disseminadas podem ser encontradas. Em pacientes coinfectados com imunossupressão severa, as lesões podem ser encontradas não só em áreas expostas, mas também em outras áreas não expostas, tal como a região genital.

Nos estudos conduzidos por Silveira e Mayrink (1997), os anticorpos são capazes de promover lise das formas amastigotas por ativação do complemento, sugerindo um mecanismo de escape para que a *Leishmania* chegue a invadir e se multiplicar nos macrófagos. A imunidade adquirida após a recuperação do paciente parece ser do tipo concomitante, levantando a possibilidade de manutenção da *Leishmania* viável no organismo.

De acordo com Fundação Nacional de Saúde (2003), admite-se que a *leishmania* influencie o padrão de resposta dos linfócitos T, deprimindo a ativação macrofágica. Assim, linfócitos T-CD4 parasita-específicos, da subclasse th1, secretam interferon-gama, que estimula os macrófagos a produzirem fator de necrose tumoral alfa. Este, por sua vez, ativa os fagócitos para eliminarem parasitas via metabólitos tóxicos (peróxido de hidrogênio e ácido nítrico).

Por outro lado, os linfócitos T-CD4, subclasse th2 parasita-específicos, secretam interleucina-4, que inibe a ativação dos macrófagos, via interferon-gama, com conseqüente inibição do fator de necrose tumoral alfa. A infecção, que regride espontaneamente, é seguida de uma imunidade duradoura que requer a presença de antígenos, de onde se conclui que as leishmanias ou alguns de seus antígenos

estão presentes no organismo infectado durante longo tempo de sua vida, depois da infecção inicial. Tal hipótese está apoiada no fato de que indivíduos imunossuprimidos, como os portadores do HIV podem apresentar quadro de Leishmaniose muito além do período habitual de incubação.

3.2.3 Diagnóstico laboratorial das leishmanioses

O diagnóstico laboratorial para a leishmaniose consiste nos exames através dos testes parasitológicos (pesquisa direta, cultura e isolamento), Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e imunológicos (reação de imunofluorescência indireta e intradermoreação de Montenegro):

- a) diagnóstico parasitológico** - por pesquisa direta consistindo na observação em microscopia óptica das formas amastigotas de aspirados de baço, fígado, medula óssea, linfonodos ou cultivo em meio específico facilitado pela grande quantidade de parasitos presentes nas amostras dos pacientes. Os parasitos circulantes podem ser identificados por meio de cultivo de sangue periférico, o que é muito raro acontecer em pacientes imuno-competentes. (CHEESBROUGH, 1995; BRASIL, 2004a);
- b) Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)** - é um método de síntese enzimática "*in vitro*" que permite a amplificação de DNA a partir de misturas simples ou complexas (MULLIS; FALOOMA, 1987; RODRIGUES, 2004 et al.). A sua utilização tem permitido a amplificação (replicação *in vitro*) de segmentos específicos de DNA a partir de oligonucleotídeos (*primers*) anelados especificamente nas margens da região alvo de diversos patógenos como a *Leishmania*. (SILVA et al., 2006);
- c) Imunofluorescência Indireta (IFI)** - expressa os níveis de anticorpos circulantes. É uma técnica sensível, contudo, apresenta limitações como a de reação cruzada com a doença de Chagas e leishmaniose tegumentar e não distingue a infecção presente da passada. (BRITO; CASTILHO; SZWARCOWALD, 2000; HARITH; KOLK; KAGER, 1986).

3.2.3.1 Diagnóstico molecular

Em casos com resultados parasitológicos e sorológicos negativos ou inconclusivos, é possível realizar em laboratórios de referência o diagnóstico molecular utilizando DNA extraído de fragmento de pele, mucosa, sangue periférico, medula óssea ou órgãos do sistema fagocítico-mononuclear. O exame também pode ser realizado em esfregaços em lâmina e tecido incluído em parafina.

A metodologia mais empregada é a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), que permite o diagnóstico e caracterização do parasito.

3.3 CO-INFECÇÃO *LEISHMANIA*-HIV

As leishmanioses podem modificar a progressão da doença pelo HIV e a imunodepressão causada por este vírus facilita a progressão das leishmanioses. A avaliação do conjunto de manifestações clínicas das leishmanioses em pacientes infectados pelo HIV indica que não existe um perfil definido de manifestações que possa ser indiscutivelmente associado à coinfeção.

Chamam atenção os relatos de disseminação da doença cutânea, com envolvimento de órgãos raramente acometidos em indivíduos imunocompetentes, em um processo conhecido como visceralização da LT. Em pacientes com LV e HIV observa-se maior frequência de envolvimento de órgãos não pertencentes ao sistema fagocítico-mononuclear e maior frequência de recidivas. Existem, no entanto, casos de indivíduos coinfectados cuja leishmaniose evolui sem nenhum impacto aparente da infecção pelo HIV. A gravidade das manifestações clínicas, a resposta ao tratamento, a evolução e o prognóstico estão diretamente associados à condição imunológica do paciente, avaliada por meio da contagem de linfócitos T CD4+.

A co-infecção *Leishmania* sp x HIV tem sido considerada como doença emergente em várias regiões do mundo em função da superposição geográfica das duas infecções, como consequência da urbanização das leishmanioses e da ruralização da infecção por HIV. (BRASIL, 2004b).

Em 2006, o Ministério da Saúde realizou o levantamento dos casos de coinfeção LV/aids e LT/aids no Brasil. Foram relacionados 16.210 casos de LV; 150

mil casos de LT referentes ao período de 2001 a 2005 notificados no SINAN; e 403.145 casos de aids, de 1980 a 2005, registrados no SINAN e nos SICLOM.

A disseminação pela infecção do HIV está ampliando as áreas de ocorrência da LV e modificando a epidemiologia da doença. As duas enfermidades coexistem e se agravam (DESJEUX; ALVAR, 2003). No Brasil, o primeiro caso de co-infecção *Leishmania* x HIV/aids foi descrito em 1987, com o aumento progressivo de casos nos anos seguintes. (BRASIL, 2004b).

Nas estatísticas mundiais, o Brasil destaca-se pelo número de casos de leishmaniose e da infecção pelo HIV/aids. As estatísticas no estado do Maranhão são preocupantes tanto em relação à LV quanto a infecção pelo HIV/aids. A LV está presente no 54,8% dos municípios maranhenses e casos de aids já foram registrados em 64,1% do território estadual (MARANHÃO, 2005). Levantamentos realizados a partir de trabalhos apresentados em congressos ou publicados em revistas científicas revelaram que até junho de 2003, foram notificados em torno de 100 casos da co-infecção *Leishmania* x HIV/aids, sendo 37% das co-infecções foram de LV. (BRASIL, 2003c; RABELLO; ORSINI; DISCH, 2003).

A maioria dos relatos de co-infecção determina quadros clínicos semelhantes aos classicamente descritos em indivíduos imunocompetentes, embora haja maior proporção de casos com sítios atípicos de infecção e de recidivas. (PASQUAU; ENA; SANCHEZ, 2000).

As manifestações clínicas das leishmanioses sugestivas de comportamento oportunista estão descritas nos quadros 1 e 2. No quadro 3 estão descritas as condições que indicam a necessidade de investigar LT ou LV em pessoas vivendo com HIV ou aids. É importante ressaltar que indivíduos com manifestações clássicas das leishmanioses podem apresentar resposta adequada ao tratamento na vigência da infecção pelo HIV e que as implicações do diagnóstico precoce são de extrema relevância para o prognóstico a longo prazo, principalmente no que diz respeito ao risco de reativação da leishmaniose e à progressão da infecção pelo HIV para a aids. Recomenda-se que os pacientes com a coinfeção *Leishmania*-HIV sejam acompanhados em unidades de saúde com experiência no manejo das leishmanioses e da infecção pelo HIV.

Quadro 1 - Condições que sugerem comportamento oportunista da LT em pessoas vivendo com HIV/AIDS

| |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Qualquer forma clínica em paciente sem história de exposição recente (durante o último ano) a uma área de transmissão de leishmaniose sugere a reativação de uma infecção latente |
| <ul style="list-style-type: none"> • Forma disseminada com ou sem acometimento mucoso concomitante |
| <ul style="list-style-type: none"> • Forma mucosa com acometimento fora da cavidade nasal |
| <ul style="list-style-type: none"> • Forma cutânea ou mucosa com achado de parasitas em vísceras |
| <ul style="list-style-type: none"> • Forma difusa |
| <ul style="list-style-type: none"> • Qualquer forma clínica associada à reação de Montenegro negativa |
| <ul style="list-style-type: none"> • Achado de amastigotas no exame direto de material obtido de lesões mucosas |
| <ul style="list-style-type: none"> • Isolamento em material de pele ou mucosa de espécies de <i>Leishmania</i> viscerotrópicas – <i>L. (L.) chagasi</i> – ou não descritas como causadoras de lesões tegumentares |
| <ul style="list-style-type: none"> • Falha terapêutica após uso de antimonial pentavalente¹ |
| <ul style="list-style-type: none"> • Recidiva tardia (> 6 meses após a cura clínica) |
| <ul style="list-style-type: none"> • Lesões cutâneas que aparecem após o diagnóstico de lesão mucosa em atividade |

Nota: ¹Ausência de cura clínica após duas tentativas de tratamento com antimoniato de meglumina (10mg a 20 mg de SbV/kg/d por 20 a 30 dias) com período de observação de três meses após cada série de tratamento – separar o critério de falha de leishmaniose cutânea e leishmaniose mucosa.

Fonte: Manual de recomendações... (BRASIL, 2011)

Quadro 2 - Condições que sugerem comportamento oportunista da LV em pessoas vivendo com HIV/AIDS

| |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Qualquer forma clínica em paciente sem história de exposição recente (durante o último ano) a uma área de transmissão de leishmaniose sugere a reativação de uma infecção latente |
| <ul style="list-style-type: none"> • Forma clássica associada à ausência de anticorpos antileishmânia |
| <ul style="list-style-type: none"> • Achado de formas amastigotas no sangue periférico |
| <ul style="list-style-type: none"> • Envolvimento de órgãos raramente acometidos na leishmaniose visceral¹ |
| <ul style="list-style-type: none"> • Falha terapêutica² ou recidiva³ após o uso de antimonial pentavalente |
| <ul style="list-style-type: none"> • Desenvolvimento de infecções sugestivas de imunodeficiência durante ou após o tratamento |
| <ul style="list-style-type: none"> • Isolamento de espécies de <i>Leishmania</i> dermatrópicas ou não descritas como causadoras de acometimento visceral |

Notas:

¹ Acometimento de trato respiratório, esôfago, estômago, duodeno, pele etc.

² Ausência de cura clínica após duas tentativas de tratamento com antimoniato de meglumina (20 mg de SbV/kg/d por 30 dias).

³ Recrudescimento da sintomatologia em até 12 meses após cura clínica.

Fonte: Manual de recomendações... (BRASIL, 2011)

Quadro 3 - Condições que indicam a necessidade de investigar LT e LV em pessoas vivendo com HIV ou AIDS

| |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Qualquer tipo de lesão cutânea ou mucosa de mais de duas semanas de evolução • Hepatomegalia ou esplenomegalia associada ou não a febre e citopenias |
|---|

Fonte: Manual de recomendações... (BRASIL, 2011)

O diagnóstico da coinfeção *Leishmania*-HIV pode ter implicações na abordagem da leishmaniose quanto à indicação terapêutica, ao monitoramento de efeitos adversos, à resposta terapêutica e à ocorrência de recidivas. Portanto, deve-se oferecer a sorologia para HIV a todos os pacientes com LV e LT, independentemente da idade, conforme as recomendações do Ministério da Saúde.

A maioria dos co-infectados apresenta febre, hepato/esplenomegalia e pancitopenia. A esplenomegalia parece ser menos frequente nos pacientes infectados pelo HIV. A maioria dos pacientes co-infectados apresenta algum tipo de

citopenia. A anemia, a leucopenia, a linfopenia, a plaquetopenia parecem mais frequentes e graves nestes pacientes. (PINTADO; LOPEZ-VELEZ, 2001).

A recidiva da co-infecção HIV/*Leishmania* após o tratamento é um aspecto muito importante, que pode ocorrer em mais de 27% dos pacientes após 6 meses e em mais de 60% nos 12 meses seguintes ao tratamento. (PASQUAU; ENA; SANCHEZ, 2000; ROSENTHAL et al., 2001; RUSSO et al., 2003).

A relação entre vírus e protozoários na determinação da patogênese da co-infecção parece ser secundária à interação molecular dos dois agentes e à indução da resposta imunológica do hospedeiro por cada um deles. A gravidade e a evolução de ambas as infecções ocorre com a expressão da resposta imunológica celular do tipo Th2, com ativação policlonal de células B e produção das citocinas IL-4, IL-6 e IL-10, situação oposta ao predomínio de resposta Th1, quando há produção celular de IL-12. Na infecção por *Leishmania sp* a resposta Th1 está relacionada à cura e resistência e a resposta Th2 à doença e suas complicações. Na infecção pelo HIV, o surgimento de aids está relacionado ao predomínio da resposta Th2. (ROITT; BROSTOFF; MELE, 1997).

O paciente é menos susceptível aos efeitos da primo-infecção quando restaurada a resposta imunológica (LOPEZ-VELEZ, 2003; ORSINI, 2004). Estima-se que 38-70% dos pacientes co-infectados que fazem uso de HAART, recidivam até 24 meses após a terapia anti-*leishmania* (MIRA et al., 2004). Essas recidivas podem ocorrer em pacientes com aumento de linfócitos T CD4 e carga viral indetectável, embora a recidiva ocorra em média sete meses mais tardiamente em pacientes co-infectados em terapia antirretroviral (LÓPEZ-VÉLEZ, 2003; LOPEZ-VELEZ; CASADO; PINTADO, 2001) e seja menos comum em pacientes com recuperação imunológica significativa. (MIRA et al., 2004).

Na co-infecção HIV/*Leishmania*, os exames sorológicos que avaliam a presença de anticorpos tendem a serem menos sensíveis devido à resposta humoral débil. Estima-se que o nível de anticorpos anti-*Leishmania* nos pacientes co-infectados é 50 vezes menor do que nos imunocompetentes. (MARY et al., 1992; ROSENTHAL et al., 2001).

Os pacientes co-infectados tratados com anfotericina B experimentam reações adversas: tremores, febre, astralgia, náuseas, anorexia e disfunção renal (LAGUNA, 2003). Em pacientes co-infectados as recaídas são mais frequentes, mesmo quando o paciente é submetido ao tratamento correto e independente da

droga utilizada. Pacientes em uso de antirretrovirais também apresentam alto risco de recidiva, embora a HAART tenha mostrado proteção quanto ao risco de primoinfecção. As recidivas estão associadas a imunossupressão, devido a contagem de linfócitos T CD4. (CRUZ et al., 2006; LOPEZ-VELEZ et al., 1998).

O tratamento dos casos de co-infecção HIV/*Leishmania* também se torna mais difícil pelo maior número de recaída e pela presença de outras infecções que dificultam o manejo do paciente. (FERNANDEZ-GUERREIRO et al., 2004; LOPEZ-VELEZ et al., 1998).

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Estimar a Prevalência da ocorrência da infecção por *Leishmania sp.* em indivíduos convivendo com HIV/aids.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar a prevalência de leishmaniose em pacientes soropositivos para HIV utilizando para o diagnóstico a detecção do DNA do parasita pela técnica da PCR;
- Identificar a categoria de exposição e a orientação sexual da população em estudo;
- Descrever o perfil sócio-demográfico dos pacientes co-infectados.
- Descrever os aspectos socioeconômicos e demográficos dos pacientes co-infectados.

5 METODOLOGIA

5.1 CASUÍSTICA

5.1.1 Tipo de estudo

É um estudo transversal analítico descritivo, para investigar a prevalência da co-infecção por *Leishmania sp.* em pacientes portadores de HIV/aids.

5.1.2 Área de estudo

O Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA é um centro de saúde de referência para acompanhamento de indivíduos vivendo com HIV-Aids, que presta serviços à população nas diversas áreas: consultas ambulatoriais, psicólogos, fisioterapeutas, DST/Aids, assistente social, odontologia, assistência à saúde da mulher, assistência à saúde da criança, programas de hipertensão e diabetes, programa de hanseníase, programa de tuberculose, imunização, farmácia básica e específica e laboratório. Atua também na prestação de assistência à saúde na comunidade do bairro Bacuri e adjacências.

5.1.3 População

A população constitui-se de indivíduos sorologicamente positivo para HIV de todas as idades cadastrados ou não com infecção confirmada pelo HIV atendidos pelo programa municipal de DST/aids no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA, e que atenderam os critérios de inclusão. (IMPERATRIZ, 2012).

5.1.4 Critérios de inclusão

Indivíduos sorologicamente positivos para HIV de todas as idades atendidos no programa municipal de DST/aids no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA que concordaram em participar da

pesquisa assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A).

5.1.5 Critérios de exclusão

Indivíduos sorologicamente positivos para HIV de todas as idades atendidos no programa municipal de DST/aids no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA que não concordaram em participar da pesquisa.

5.1.6 Procedimentos de coletas de dados, material biológico, armazenamento e transporte de amostras biológicas

Os pacientes após a consulta médica de rotina foram convidados a participar sendo informados sobre o estudo; e os que aceitaram, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Em seguida, foi preenchido um questionário (APÊNDICE B) por meio de entrevista com os seguintes dados: epidemiológicos, demográficos e clínicos. Os dados foram registrados em formulário estruturado antes de serem transferidos para o banco de dados no período de Dezembro de 2011 a Fevereiro de 2012.

Após o exame clínico, foi coletado 5 ml de sangue sob técnica asséptica, por punção venosa e conservado em tubos com anticoagulante EDTA, as amostras foram processadas em laboratório para separação das camadas de leucócitos, que foram utilizadas para extração de DNA e 2 mL de sangue com EDTA para pesquisa de linfócitos TCD4/CD8. As camadas de leucócitos foram congeladas a -20°C e posteriormente transportadas para o Laboratório de Biologia Molecular do Núcleo de Medicina Tropical, em Belém-PA.

5.2 MÉTODOS LABORATÓRIAS

5.2.1 Marcação de linfócitos T CD4/CD8

Procedimento:

- a) identificar os tubos BD Trucount com o número de identificação da amostra;
- b) pipetar 20ul do reagente BD Multitest utilizando a pipeta de P20 e uma ponteira de 20 – 200ul sem filtro. Dispensar o volume no fundo do tubo. Trocar a ponteiros quando ocorrer bolhas ou encostar nas partículas no fundo do tubo Trucount. Observar atentamente a ocorrência de bolhas ou se o volume aspirado está incorreto, dispensar o reagente imediatamente acima da grade de metal. Não encostar no pellet de partículas Trucount;
- c) a pipetagem do volume preciso de sangue total é crítica. Utilizar a pipetagem reversa, que consiste em pressionar o botão até o segundo estágio. Quando o botão é liberado, ocorrerá a aspiração de um excesso de amostra na ponteira. Um volume preciso de amostra é expelido pressionando-se o botão até o primeiro estágio, deixando o excesso da amostra na ponteira. A pipetagem deverá ser feita utilizando a pipeta P200 e uma ponteira de 200ul com filtro; descartar a ponteira a cada pipetagem. Dispensar 50ul de sangue total homogeneizado imediatamente acima da grade de metal;
- d) tampar o tubo e colocar no vórtex em baixa velocidade para homogeneizar a amostra;
- e) incubar por 15 minutos no escuro a temperatura ambiente (20° - 25°C);
- f) adicionar ao tubo 450ul de solução de lise diluída 1:10 em água destilada. A pipetagem deverá ser feita com a pipeta P1000 e uma ponteira de 1000ul; descartar a ponteira a cada pipetagem. Tampar o tubo e colocar no vórtex em baixa velocidade para homogeneizar a amostra;
- g) incubar por 15 minutos no escura a temperatura ambiente (20°-25°C). A amostra agora está pronta para ser analisada no citômetro de fluxo.

5.2.2 Extração de DNA

Após lavagem das amostras de sangue para separação da camada de leucócitos, foi adicionado 2µL de proteinase K (em uma concentração final de 50 µg/mL), seguida de incubação a 42 °C. O DNA foi obtido por meio de extração

utilizando a técnica do fenol: clorofórmio: álcool issoamílico (25:24:1), segundo Sambrook e Russell (1989) é 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 (2 µL) da amostra foram utilizados em cada reação de PCR.

5.2.3 Reação em cadeia da polimerase (PCR)

Para a amplificação *in vitro* do DNA de *Leishmania*, foram utilizados os marcadores S1629 (5' - GGG AAT TCA ATA WAG TAC AGA AAC TG - 3') e S1630 (5'- GGG AAG CTT CTG TAC TWT ATT GGT A - 3'), descritos por Fernandes et al. (1994), que amplificam o fragmento de aproximadamente 400 pb do gene de Mini-exon das espécies de *Leishmania* viscerotrópicas, 250 pb para o subgênero *Viannia* e 350 pb para a *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. (DEGRAVE, 1994; FERNANDES et al., 1994).

A reação foi realizada em um volume total de 10 µL contendo 100 µM de dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP); 1,5 mM de MgCl₂; 100 mM de solução tampão de PCR; 25 pmoles de cada um dos oligonucleotídeos sintéticos (marcadores); 2,5 U de *Taq* DNA polimerase (GIBCO); 1,5 µL (aproximadamente 10 ng) de DNA extraído.

Em um termociclador Eppendorf (Mastercycler® personal) programado, a reação foi incubada a uma temperatura inicial de desnaturação de 95°C por 3 minutos, seguida de 5 ciclos de 95°C por 1 minuto, 45°C por 30 segundos e 65°C por 1 minuto, seguida de 35 ciclos de 95°C por 1 minuto, 50°C por 30 segundos e 72°C por 1 minuto. A etapa de extensão final foi mantida por 10 minutos a 72°C. (FERNANDES et al., 1994).

Foi utilizada água destilada como controle negativo e três cepas de *Leishmania* como controle positivo: *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* (MCAN/BR/2005/M23485), *Leishmania (Viannia) braziliensis* (MHOM/BR/1975/M2903) e *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (IFLA/BR/1966/PH8).

5.2.4 Eletroforese em gel de agarose

Os produtos da amplificação foram aplicados em gel de agarose a 1,5% com tampão tris-acetato-EDTA (40 mM Tris-acetato, 1 mM EDTA, pH 8,0), 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 (Electronic UV Transilluminator/Ultra-Lum). As imagens foram capturadas e fotodocumentadas pelo equipamento Vilber Loumart.

5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados referentes às características sóciodemográficas foram tratados utilizando estatística descritiva, expressos na forma de frequência relativa. Foram utilizados o teste Qui-Quadrado (aderência) ou o teste G (aderência), conforme o caso, para testar as diferenças relacionadas às características sóciodemográficas nos gêneros masculino e feminino. Todos os testes foram executados com o auxílio do *software* BioEstat 5.0 (AYRES JÚNIOR, 2007), e resultados com $p \leq 0.05$ foram considerados significativos.

5.4 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Em cumprimento aos requisitos exigidos pela Resolução 196/96 que normatiza as pesquisas que envolvem seres humanos no País, do Conselho Nacional de Saúde, o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, de acordo com o parecer nº 046/2011-CEP-NMT/UFGA (ANEXO A).

Os indivíduos convivendo com HIV/Aids foram esclarecidos pelos pesquisadores sobre a natureza do estudo e seus objetivos em linguagem clara e acessível. Os riscos para os participantes foram mínimos. O sigilo sobre a identidade dos pacientes foi garantido e sua participação foi voluntária. O benefício individual que a pesquisa trouxe para o paciente foi à garantia de acesso ao diagnóstico e tratamento oportuno da leishmaniose visceral e a garantia de acesso adequado aos serviços de atendimento às pessoas vivendo com HIV/Aids.

A autorização para a participação ou não da presente pesquisa, não incorreu em prejuízo ao paciente, sendo o mesmo conduzido de forma correta frente ao seu quadro clínico. Os pacientes foram avisados que a participação seria livre e que poderiam sair em qualquer momento do estudo, sem conseqüências para a mesma. A pesquisa foi desenvolvida segundo o procedimento de biossegurança referentes à coleta, manipulação e processamento do material biológico foram realizados segundo as regras básicas para o trabalho em laboratório (HIROYUKIHIRATA; MANCINI FILHO, 2002). Todo pessoal envolvido foi esclarecido quanto aos riscos de manipulação de material biológico e disponibilizado o material necessário.

6 RESULTADOS

De acordo com o levantamento realizado nos arquivos do programa municipal de DST/Aids no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA, encontrou-se 700 pacientes vivendo com HIV/Aids cadastrados. Destes, 199 participaram do estudo, correspondendo a 28,4%. Atribuiu-se ao baixo percentual de participação no estudo tais fatores: não comparecimento na unidade no período do estudo; não aceitação em participar; casos não definidos como HIV/Aids; e mudança de unidades de saúde para continuação do tratamento.

Quanto ao sexo e a faixa etária, observou-se que 50,8% eram mulheres e 49,2% eram homens, correspondendo a uma proporção de 1:1, com predominância na faixa etária de 18 a 40 anos em ambos os sexos (homens: $\chi^2=40.673$, $p<0.0001$; mulheres: $\chi^2= 66.792$, $p<0.0001$) (tabela 1).

Tabela 1 – Características demográficas dos 199 pacientes vivendo com HIV/Aids atendidos pelo programa municipal de DST/Aids no centro de testagem e aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA, Dezembro de 2011 a Abril de 2012

| CARACTERÍSTICA | SEXO | | | | | |
|--------------------|-----------|------------|---------|------------|------------|---------|
| | MASCULINO | | | FEMININO | | |
| | n | % | p | n | % | p |
| IDADE (Ano) | | | | | | |
| 18-40 | 56 | 57.1 | <0.0001 | 68 | 67.3 | <0.0001 |
| 41-60 | 37 | 37.8 | | 32 | 31.8 | |
| > 60 | 5 | 5.1 | | 1 | 0.9 | |
| COR | | | | | | |
| Branca | 22 | 22.4 | | 28 | 27.8 | |
| Parda | 53 | 54.1 | <0.0001 | 46 | 45.5 | <0.0001 |
| Negra | 23 | 23.5 | | 27 | 26.7 | |
| MORADIA | | | | | | |
| Tijolo | 85 | 86.7 | <0.0001 | 83 | 82.2 | <0.0001 |
| Madeira | 7 | 7.1 | | 9 | 8.9 | |
| Taipa | 6 | 6.2 | | 9 | 8.9 | |
| ZONA | | | | | | |
| Urbana | 78 | 79.6 | <0.0001 | 81 | 80.2 | <0.0001 |
| Rural | 20 | 20.4 | | 20 | 19.8 | |
| TOTAL | 98 | 100 | | 101 | 100 | |

Quanto à situação conjugal houve predominância sem companheiro (b), tanto entre os homens ($\chi^2=5.398$, $p=0.0202$) quanto entre as mulheres ($\chi^2= 8.911$, $p=0.0028$), bem como maior número de homens e mulheres entre os que declararam grau de instrução como ensino fundamental incompleto (homens: $\chi^2=163.429$, $p<0.0001$; mulheres: $\chi^2= 195.426$, $p<0.0001$). Quanto à ocupação, predominou a categoria dona de casa entre as mulheres ($\chi^2= 59.663$, $p<0.0001$) e prestação de serviços entre os homens ($\chi^2= 241.061$, $p<0.0001$) e, em ambos os sexos, houve mais indivíduos que relataram possuir renda de até 1 salário mínimo (homens: $\chi^2=82.49$, $p<0.0001$; mulheres: $\chi^2= 168.347$, $p<0.0001$).

Tabela 2 – Características socioeconômicas dos 199 pacientes vivendo com HIV/Aids atendidos pelo programa municipal de DST/Aids no centro de testagem e aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA, Dezembro de 2011 a Abril de 2012

| CARACTERÍSTICA | SEXO | | | | | |
|--------------------------|-----------|------------|----------|------------|------------|----------|
| | MASCULINO | | | FEMININO | | |
| | N | % | <i>p</i> | N | % | <i>p</i> |
| SITUAÇÃO CONJUGAL | | | | | | |
| Com Companheiro (a) | 37 | 37,7 | | 35 | 34,7 | |
| Sem Companheiro (b) | 61 | 62,3 | 0.0202 | 66 | 65,3 | 0.0028 |
| ESCOLARIDADE | | | | | | |
| Analfabeto | 2 | 2,1 | | 5 | 5 | |
| Fundamental Incompleto | 54 | 55,1 | <0.0001 | 62 | 61,4 | <0.0001 |
| Fundamental Completo | 4 | 4,0 | | 3 | 3 | |
| Ensino Médio Incompleto | 20 | 20,4 | | 10 | 9,9 | |
| Ensino Médio Completo | 18 | 18,4 | | 17 | 16,8 | |
| Superior Incompleto | 0 | 0 | | 3 | 3 | |
| Superior Completo | 0 | 0 | | 1 | 0,9 | |
| OCUPAÇÃO | | | | | | |
| Desempregado | 18 | 18,4 | | 19 | 18,8 | |
| Doméstica | 2 | 2,0 | | 21 | 20,7 | |
| Dona de Casa | 0 | 0 | | 26 | 25,7 | <0.0001 |
| Estudante | 2 | 2,0 | | 5 | 5 | |
| Aposentado | 6 | 6,1 | | 5 | 5 | |
| Autônomo | 5 | 5,1 | | 0 | 0 | |
| Vendedor | 7 | 7,1 | | 5 | 5 | |
| Prestação de Serviços | 57 | 58,2 | <0.0001 | 15 | 14,8 | |
| RENDA FAMILIAR | | | | | | |
| ≤ 1 Salário | 58 | 59,2 | <0.0001 | 80 | 79,2 | <0.0001 |
| 2-3 Salários | 32 | 32,7 | | 20 | 19,9 | |
| 3-4 Salários | 5 | 5,1 | | 1 | 0,9 | |
| ≥5 Salários | 3 | 3,0 | | 0 | 0 | |
| TOTAL | 98 | 100 | | 101 | 100 | |

Quanto à categoria de exposição e orientação sexual, houve predominância da categoria heterossexual para ambos os sexos (Tabela 3).

Tabela 3 – Categorias de exposição e orientação sexual dos 199 pacientes vivendo com HIV/Aids atendidos pelo programa municipal de DST/Aids no centro de testagem e aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA, Dezembro de 2011 a Abril de 2012

| CATEGORIAS DE ESPOSIÇÃO E ORIENTAÇÃO SEXUAL | SEXO | | | | | |
|---|-----------|-------|----------|----------|-------|----------|
| | MASCULINO | | | FEMININO | | |
| | N | % | <i>p</i> | N | % | <i>p</i> |
| Heterossexual | 98 | 49,24 | <0.0001 | 71 | 32,66 | <0.0001 |
| Homossexual | 10 | 5,02 | | 12 | 6,03 | |
| Bissexual | 0 | 0 | | 8 | 4,02 | |
| TOTAL GERAL | 108 | | | 91 | | |

Dos 199 pacientes vivendo com HIV/Aids, 67 (33,63%) apresentaram complicações e comorbidades sendo mais freqüentes: malária (10,05%), pneumonia (5,02%), hepatite C (4,52%), sífilis e tuberculose (3,01%) e 26 (13,06) realizaram transfusão sanguínea.

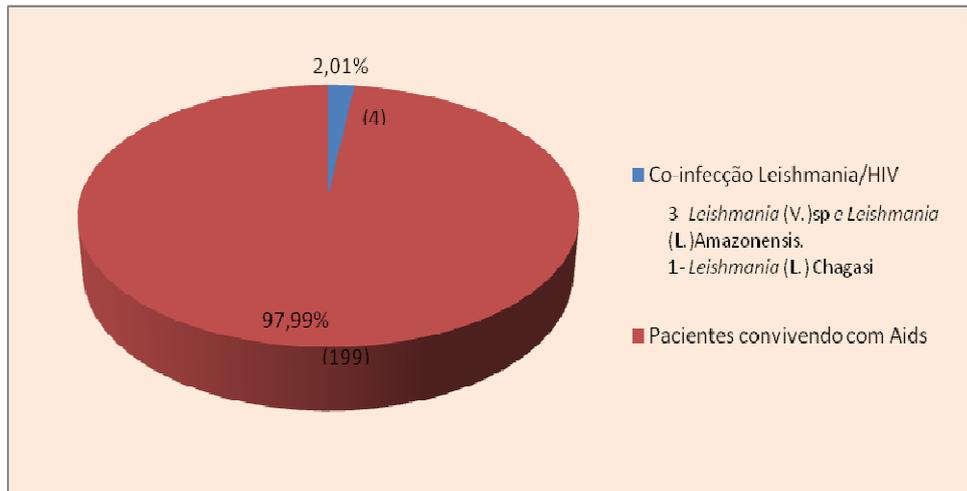
Tabela 4 – Tipos de complicações e comorbidades presentes nos 199 pacientes vivendo com HIV/Aids atendidos pelo programa municipal de DST/Aids no centro de testagem e aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA, Dezembro de 2011 a Abril de 2012

| COMPLICAÇÕES, COMORBIDADES E FATOR DE RISCO | | |
|---|-----|-------|
| | N | % |
| Malária | 20 | 10,05 |
| Tuberculose | 3 | 1,50 |
| Pneumonia | 3 | 1,50 |
| Leishmania | 5 | 2,51 |
| Sífilis | 6 | 3,01 |
| Hanseníase | 3 | 1,50 |
| candidiase | 10 | 5,02 |
| Hepatite C | 9 | 4,52 |
| Herpes | 2 | 1,05 |
| HPV | 6 | 3,01 |
| Transfusão sanguínea | 26 | 13,06 |
| Não especificados | 106 | 53,27 |
| TOTAL GERAL | 199 | 100 |

N = NÚMERO

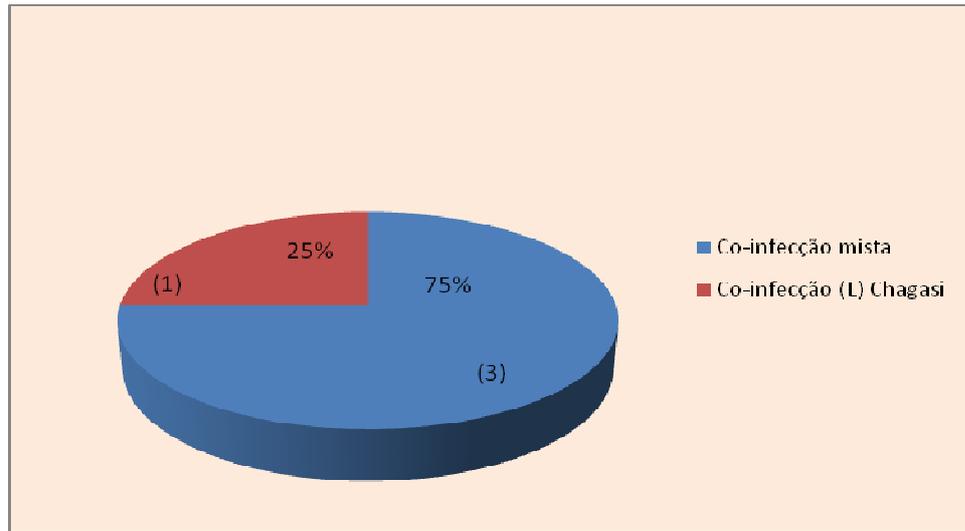
Dos 199 pacientes vivendo com HIV/Aids, 4 (2,01%) apresentaram co-infecção *Leishmania*-HIV, sendo maior o número de indivíduos entre aqueles que não apresentavam co-infecção pelo protozoário ($\chi^2= 181.407$, $p<0.0001$) (gráfico 1).

Gráfico 1 – Prevalência da co-infecção por *leishmania sp* nos 199 pacientes vivendo com HIV/Aids atendidos pelo programa municipal de DST/Aids no centro de testagem e aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA, Dezembro de 2011 a Abril de 2012



Dos 199 pacientes vivendo com HIV/Aids, quatro (2,01%) apresentaram co-infecção *Leishmania*-HIV (Gráfico 2), destes, três pacientes apresentaram co-infecção mista *Leishmania (V.) sp* e *Leishmania (L.) amazonensis*, causadora de LTA, e um apresentou co-infecção com a *Leishmania (L.) chagasi*, causadora de LV, não sendo, entretanto, significativa a diferença entre estas frequências ($G=0.2527$, $p=0.6152$) (gráfico 2).

Gráfico 2 - Prevalência da co-infecção *leishmania* - HIV entre os 4 pacientes co-Infectados



A quantificação do número de linfócitos dos quatro pacientes coinfectados por *Leishmania*/HIV apresentaram comprometimento moderado da imunidade celular, onde se observou que em 25% dos casos, o número de linfócitos CD4 estava entre 410 a 1590 células/mm³ e em 75% dos casos o número de linfócitos CD8 estava entre 190-1140 células/mm³. A relação CD4/CD8 apresentou-se abaixo do normal com indicadores entre 0,1-0,5 em dois pacientes (50,0%) (Tabela 5).

Tabela 5 – Contagem de linfócitos CD4 e CD8 dos 04 pacientes co-infectedados por *Leishmania*/HIV atendidos pelo programa municipal de DST/Aids no centro de testagem e aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA, Dezembro de 2011 a Abril de 2012

| ASPECTOS LABORATORIAS | n | % |
|-------------------------------|---|----|
| CD4/mm³ | | |
| >1591 | 0 | 0 |
| 410 - 1590 | 1 | 25 |
| <410 | 3 | 75 |
| CD8/mm³ | | |
| >1141 | 1 | 25 |
| 190 - 1140 | 3 | 75 |
| <190 | 0 | 0 |
| CD4/CD8 mm³ | | |
| 0,1-0,5 | 2 | 50 |
| 0,5-1,0 | 1 | 25 |
| >0,1 | 1 | 25 |

7 DISCUSSÃO

As leishmanioses se estendem, em nosso país, por extensas áreas das regiões Nordeste (92%), Norte (3%), Sudeste (4%) e Centro-Oeste (1%). A forma visceral apresenta-se distribuída do Nordeste ao Sudeste. Apesar da ampla expansão da doença nos últimos anos, poucos casos associados à Aids têm sido descritos. (MELO, 2004).

A co-infecção *Leishmania*-HIV tem gradativamente aumentado na década de 90 com a notificação de casos novos. Esse fato está relacionado a novos processos que vem acometendo à população brasileira como a interiorização do HIV e a urbanização das leishmanioses. A maioria dos casos de co-infecção ocorre na faixa etária adulta (DIETZE et al., 1997). O número de casos de infecção concomitante por HIV-*Leishmania* tem crescido fazendo com que a co-infecção seja considerada como uma doença infecciosa emergente e está associada a estados de imunossupressão, particularmente à infecção do HIV. (JERÔNIMO; SOUSA; PEARSON, 2005).

No Brasil, a Aids tem se caracterizado pela interiorização, a heterossexualização, a pauperização e a feminização. A feminização do HIV/Aids está relacionada à vulnerabilidade da mulher, pelas características biológicas, sociais e culturais favoráveis. (BRASIL, 2003b; BASTOS; SZWARCOWALD, 2000).

A incidência da Aids aumentou rapidamente entre as mulheres e a razão de casos homens/mulheres cada vez fica mais próxima. A expansão da Aids entre as mulheres vem sendo observada em quase todos os continentes, e estas representam 48% dos casos no mundo. No Brasil, a razão entre os sexos mostra claramente esta tendência: em 1986, eram 15,1 casos masculinos para um feminino; em 1996 eram 2,6 e, em 2004, 1,5. (BRASIL, 2007).

Um importante fator responsável por essa mudança foi, provavelmente, a transmissão através de parceiros sexual com outros tipos de exposição ao HIV, em especial o uso de drogas ilícitas endovenosas. Em nosso estudo, também, observou-se uma tendência à igualdade entre os sexos, uma vez que, a razão entre estes correspondeu 1:1, entre mulheres e homens infectados.

A faixa etária predominante entre os pacientes convivendo com Aids foi de 18 aos 40 anos entre ambos os sexos, corroborando com os achados de Rabello, Orsini e Disch (2003). Nesse contexto, verificou-se que a maior prevalência do HIV

entre indivíduos em idade adulta, pode estar relacionada a um tempo mais prolongado de exposição sexual, assim como, a uma maior dificuldade para incorporar e negociar com as (os) parceiras (os) práticas sexuais seguras. A maioria dos participantes do estudo residia em zona urbana onde há acesso ao saneamento básico: moradia adequada, coleta de lixo, rede de esgoto, rede pública de abastecimento de água; características essas que não interferem para a aquisição do vírus do HIV, e também, não são características comumente encontradas em ambientes que favorecem para a LV, mas que podem constituir um indicador importante para avaliar a qualidade de vida da população. (NASCIMENTO et al., 2005; CALDAS et al., 2001; GAMA, 1998; BRASIL, 2004b).

No tocante a situação conjugal, a maioria dos participantes de ambos os sexos se declararam sem companheiro, resultados semelhantes aos descritos por Bassicheto et al. (2004). Uma possível justificativa pode ser à busca de uma prática sexual livre, justificado em estudos que apontam o sexo transicional (relações sexuais com múltiplos parceiros) como um dos fatores de risco para a aquisição da Aids. (SILVEIRA et al., 2002).

O Brasil é um país caracterizado por extrema desigualdade social, marcada por diferenças relacionadas à distribuição de renda e de educação e a crescente especulação sobre a pauperização. A análise da dinâmica da epidemia da Aids por classe ocupacional e status socioeconômico destaca o grau de escolaridade como indicador da condição sócio econômica como também evidencia novos aspectos da dinâmica social da epidemia da Aids no Brasil. (FONSECA et al., 2003).

Fonseca et al. (2003), ao analisar categoria de “não ocupados” demonstrou o aumento nas taxas de incidência entre as categorias “desempregados” (nos homens) e “afazeres domésticos” (nas mulheres), revelando que a Aids vem afetando em nosso meio, progressivamente, indivíduos em posições desvantajosas em relação ao mercado de trabalho. Estudos realizados por Fide e Mode (1992), na Filadélfia (Estados Unidos) e por Szwarcwald et al. (2000; 2001) no Rio de Janeiro têm mostrado o crescimento da epidemia do HIV em status sociais menos favorecidos e com baixa escolaridade afetando mais intensamente as mulheres.

Esse fenômeno, a chamada “pauperização” da Aids, atualmente vivenciada no Brasil, parece também ocorrer no Estado do Maranhão, haja vista o 57

predomínio neste estudo de pessoas infectadas pelo HIV/Aids serem trabalhadores de setores não qualificados, com renda até dois salários mínimos tendo a maior frequência mulheres donas de casa e homens autônomos, revelando que a epidemia da aids vem afetando em nosso meio, indivíduos em posições desvantajosas em relação ao mercado de trabalho apesar de a escolaridade de ensino fundamental a nível médio.

No início da epidemia da aids, os indivíduos que se declararam homossexuais foram os mais afetados (ALVES, 2003; BASSICHETTO et al., 2004; BRASIL, 2001; GRIEP et al., 2004). Esse perfil epidemiológico mostrou-se divergente com os nossos achados que apontam a maior prevalência do HIV em heterossexuais, realidade já confirmada por Jesus (2006) e Minayo et al. (1999).

A LV é uma doença endêmica na cidade de Imperatriz desde a década de 80. Nos últimos anos houve uma crescente migração de pessoas das áreas rurais para urbanas onde se fixaram em áreas superlotadas e inadequadas, ocupadas à custa de desmatamentos e queimadas, formando as periferias de Imperatriz. A proximidade entre as habitações, a alta densidade populacional, mudanças ambientais e climáticas, diminuição de investimentos em saúde e educação, descontinuidade das ações de controle, adaptação do vetor aos ambientes modificados pelo homem e a grande suscetibilidade da população à infecção contribuíram para a rápida expansão da LV no ambiente urbano. (CALDAS et al., 2001; NASCIMENTO et al., 2005).

No tocante a história atual e/ou pregressa de LV na família e na vizinhança de pacientes convivendo com HIV/aids, nossos achados mostraram que a maioria não informou registros de casos humanos de LV. Uma possível explicação para esse resultado pode estar relacionada à população ser residente de zona urbana e com bom saneamento básico; o que diverge dos registros em diversos estudos para pacientes com LV, como os encontrados por Brasil (2004b), Caldas et al. (2001), Gama (1998) e Nascimento et al. (2005).

As doenças fúngicas têm sido consideradas como importante causa de morbidade no paciente com Aids (SOUZA, 2007). No presente estudo, a candidíase merece destaque onde aparece como a segunda infecção mais predominante entre os pacientes co-infectados, ratificando que a imunodeficiência predispõe os indivíduos com HIV a inúmeras infecções oportunistas, causadas pelos mais diferentes tipos de patógenos (vírus, fungos, bactérias e protozoários) e afetam

diversos sistemas orgânicos (NADLER, 2004; POLACOW et al., 2004), fato esse confirmado por Souza (2007), que detectou como infecções mais freqüentes em pacientes com LV infectados com HIV, a candidíase oral, tuberculose e herpes zoster.

A LV associada à infecção HIV habitualmente se manifesta em doentes com imunossupressão avançada. Em nossos achados, a quantificação do número de linfócitos CD4 nos co-infectados apresentou comprometimento moderado da imunidade celular, o número de linfócitos CD8 estava normal e a relação CD4/CD8 apresentou-se abaixo do normal. Estudos de Alvar et al. (1997) e Pintado e Lopez-Velez (2001) reafirmam essa imunossupressão.

8 CONCLUSÃO

Este estudo permitiu conhecer a magnitude, a gravidade e a prevalência da co-infecção *Leishmania*/HIV, onde se detectou uma ocorrência de 2,01% dentre os 199 pacientes co-infectados com HIV/aids. É uma prevalência relativamente alta, considerando o tamanho da população estudada.

Os aspectos socioeconômicos, demográficos e ambientais dos indivíduos convivendo com HIV/aids que apresentaram diferenças estatisticamente significantes em relação ao sexo foram: ocupação, renda familiar e características de categorias de exposição e orientação sexual.

Entre as descrições sócioeconômico dos pacientes co-infectados foi observado que 75% possuem baixo nível de instrução e 50% possuem renda mensal de até um salário mínimo.

Quanto à categoria de exposição e orientação sexual, houve predominância da categoria heterossexual para ambos os sexos

Com relação aos aspectos sóciodemográficos foi constatado que todos os 4 pacientes co-infectados residem em áreas urbanas e periurbanas, evidenciando a expansão da *leishmania* no Brasil.

Outro aspecto relevante é que a leishmaniose preenche o critério de infecção oportunista e sugerimos que faça parte do diagnóstico diferencial de todo indivíduo não só HIV positivo, com febre persistente, como também de todo imunodeprimido, que tenha vivido em área endêmica para leishmaniose, seja LTA ou LV. Uma vez que, casos de co-infecção *Leishmania*/HIV podem passar despercebidos quando não investigados devido às manifestações comuns freqüentes nas duas patologias.

REFERÊNCIAS

- ALVAR, J. et al. Leishman ia and human immunodeficiency virus coinfection: the first 10 years. **Rev. Clin. Microbiol.**, v. 10, n. 2, p. 298-319, 1997.
- ALVES, M. T. S. S. B. Tendência da incidência e da mortalidade por Aids no Maranhão, 1985 a 1998. **Ver. Saúde Pub.**, v. 37, n. 2, p. 177-182, 2003.
- ALVES, W. A.; BEVILACQUA, P. D. Reflexão sobre a qualidade do diagnóstico da leishmaniose visceral canina em inquéritos epidemiológicos: o caso da epidemia de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 1993-2997. **Cad. Saúde Pub.**, v. 20, n. 1, p. 259-265, fev. 2004.
- AYRES JUNIOR, M. **Bio Estat 5.0: aplicações estatísticas das ciências biológicas e médicas**. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, MCT-CNPq, 2007.
- BADARÓ, R.; DUARTE, M. I. S. Leishmaniose visceral (calazar). In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. (Ed.). **Tratado de infectologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2002.
- BARBOSA, R. M. R.; FORNÉS, N. S. Avaliação nutricional em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência adquirida. **Ver. de Nutrição**, São Paulo, v. 16, n. 4, 2003.
- BASSICHETO, K. C. et al. Perfil epidemiológico dos usuários de um Centro de Testagem e Acompanhamento para DST/HIV da Rede Municipal de São Paulo, com sorologia positiva para HIV. **Rev. Bras. Epidem.**, v. 7, n. 3, p. 302-310, 2004.
- BASTOS, F. I.; BARCELLOS, C. Geografia social da Aids no Brasil. **Rev. Saúde Públ.**, v. 29, n. 1, 1995.
- BASTOS, F. I.; MALTA, M. As pesquisas sobre HIV? AIDS no Brasil hoje: uma análise do triênio 1997-2000. In: PARKER, R.; TERTO JÚNIOR. V. (Org). **Aprimorando os debates: respostas sociais frente à Aids**. Rio de Janeiro: ABIA, 2002.
- BASTOS, F. I.; SZWARCOWALD, C. L. Aids e pauperização: principais conceitos e evidências empíricas. **Cad. Saúde Públ.**, v. 16, n. 1, p. 65-76, 2000.
- BATISTA, L. L. et al. A leishmaniose visceral como doença oportunista em um geronte portador da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA). **Rev. Aten. Prim. Saúde**, v. 7, n. 2, jul./dez. 2004.
- BISMARA, Beatriz Aparecida Passos. **Padronização de técnicas moleculares para o estudo da resistência a drogas antiretrovirais em crianças infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) via perinatal**. 2006. 166 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Leishmaniose visceral no Brasil: situação atual, principais aspectos epidemiológicos, clínicos e medidas de controle. Ministério da Saúde/Fundação Nacional de Saúde/Centro Nacional de Epidemiologia. **Boletim Epidemiológico**, v. 6, p. 1-11, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília, DF, 2003a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação Nacional de DST e Aids. **Boletim Epidemiológico da Aids**. v. 1, n. 12, 2003b. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br>>. Acesso em: 16 jun. 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília, DF, 2003c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de controle da leishmaniose tegumentar americana**. Brasília: Ministério da Saúde, 2004a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. **Manual de recomendação para diagnóstico, tratamento da co-infecção leishmania/HIV**. Brasília, DF, 2004b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação Nacional de DST e Aids. **Boletim Epidemiológico da Aids**. 2006a. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br>>. Acesso em: 16 jan. 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Atlas de leishmaniose tegumentar americana: diagnóstico clínico e diferencial**. Brasília, DF, Ministério da Saúde, 2006b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle de leishmaniose visceral**. Brasília, DF, 2006c.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Plano integrado de enfrentamento e feminização de epidemia de Aids e outras DST**. Brasília, DF, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Aids: etiologia, clínica, diagnóstico e tratamento**. Brasília, DF. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/assitencias/etiologia/diagnostico.htm>>. Acesso em: 6 jan. 2008a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília, DF, 2008b.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico AIDS e DST**. Brasil, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual** de recomendações para diagnóstico, tratamento e acompanhamento de pacientes com a coinfeção *leishmania*-hiv. Brasília, DF, 2011.

BRITO, A. M.; CASTILHO, A. C.; SZWARCOWALD, C. L. Aids e infecção pelo HIV no Brasil: uma epidemia multifacetada. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 34, p. 207-217, 2000.

CALDAS, A. J. M. et al. Infecção por *Leishmania* (*leishmania*) chagasi em crianças de área endêmica de Leishmaniose visceral americana na ilha de São Luís-MA. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 34, n. 5, p. 445-50, 2001.

CAMARGO-NEVES, V. L. F.; SANTUCCI, S. G. **Leishmaniose visceral americana**. Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN). Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado de Saúde de São Paulo, 2000-2001. Disponível em: <http://www.sucen.sp.gov.br/doencas/leish_visc/texto_leish_visc_pro.htm>. Acesso em: 31 jan. 2008.

CAMPINO, L. M. Canine reservoir and leishmaniasis: epidemiology and disease. In: FARRELL, E. D. **World class parasites: leishmania**. Boston: 4 Kluwer Academic Publishers, 2003.

CANINI, S. R. M. et al. Qualidade de vida de indivíduos com HIV/Aids. **Ver. Latino-American de Enferm.**, São Paulo, v. 12, n. 6, 2004.

CHEESBROUGH, M. **Medical laboratory manual for tropical countries**. London: English Language Book Society Publishers, 1995.

COSTA, J. M. et al. Leishmaniose visceral no estado do Maranhão, Brasil: a evolução de uma epidemia. **Cad. Saúde Públ.**, v. 11, p. 321-324, 1995.

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

DEGRAVE, W. M. Use of molecular probes and PCR for detection and typing of *Leishmania* - A mini-review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 89, p. 463-469, 1994.

DESJEUX, P.; ALVAR, J. *Leishmania*/HIV co-infections: epidemiology in Europe. **Annals of Tropical Medicine e Parasitology**, v. 97, Supl. 1, 2003.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comp. Immunol. Microbial. Infect. Dis.**, v. 27, n. 5, p. 305-18, 2004.

DIETZE, R. et al. Effect of elimination seropositive canines on transmission of visceral leishmaniasis in Brazil. **Clin. Infect. Dis.**, v. 25, p. 1240-1242, 1997.

DYBUL, M. et al. A imunologia da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana. In: NADLER, J. (Org.). **Princípios e práticas em doenças infecciosas**. 6. ed. São Paulo: Elsevier, 2006.

FERNANDEZ-GUERRERO, M. L. et al. Visceral leishmaniasis in immune compromised patients with and without Aids: a comparison of clinical features and prognosis. **Acta Trop.**, v. 90, n. 1, p. 11-16, mar. 2004.

FIDE, D.; MODE, C. Aids prevalence by income group in Philadelphia. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 5, p. 1111-1115, 1992.

FIGUEIREDO, J. F. C.; REIS, V. M. F.; MACHADO, A. A. Características clínicas e epidemiológicas de pacientes da região de Ribeirão Preto, SP, Brasil, com Aids e infecções oportunistas. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 33, p. 141-146, abr./jun. 2000.

FONSECA, M. G. P. et al. Distribuição social da Aids no Brasil, segundo participação no mercado de trabalho, ocupação e *status* sócio-econômico dos casos de 1987 a 1998. **Cad. Saúde Públ.**, v. 19, n. 5, p. 1351-1363, 2003.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Leishmaniose visceral**. Brasília, DF, 2003. Disponível em: <<http://www.ambientebrasil.com.br/composer.php3?base>>. Acesso em: 5 set. 2004.

GALVÃO, M. T. G.; CERQUEIRA, A. T. A.; MARCONDES-MACHADO, J. Aplicação da qualidade de vida de mulheres com HIV/Aids através do HAT-Qol. **Cad. Saúde Públ.**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 2, mar./abr. 2004.

GAMA, M. E. A. Avaliação do nível de conhecimento que a população residente em área endêmica periurbana e rural, tem sobre leishmaniose visceral, estado do Maranhão, Brasil. **Cad. Saúde Públ.**, v. 14, p. 109-118, 1998.

GENARO, O. Leishmaniose visceral americana. In: _____. **Parasitologia humana**. 10. ed. São Paulo: Atheneu, 2003.

GIR, E.; VAICHULONIS, C. G.; OLIVEIRA, M. D. Adesão a terapêutica anti-retroviral por indivíduos com HIV/Aids assistidos em uma Instituição do interior paulista. **Ver. Lat. Americ. Enferm.**; São Paulo, v. 13, n. 5, 2005.

GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D. **Cecil – Tratado de Medicina Interna**. 22. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Rev. Bras. Epidem.**, v. 7, n. 3, p. 338-349, set. 2004.

GOTTLIEB, G. S. et al. Equal plasma viral loads predict a similar rate of CD4^{sup.} + T cell decline in human immunodeficiency virus (HIV) type 1 and HIV-2 infected individuals from Senegal, West Africa. **J. Infect Dis.**; v. 185, n. 7, p. 905-910, 2002.

GRIEP, R. H. et al. Perfil de um Centro de Testagem e Aconselhamento a partir dos dados de SI-CTA. In: SZAPIRO, A. M. **Centro de Testagem e Acompanhamento (CTA) Integrando Prevenção e Assistência**. Ministério da Saúde, v. 8, p. 56-67, 2004. (Coleção DST/Aids. Série 63 Estudos, pesquisas e avaliação).

HARITH, A. E.; KOLK, A. H. J.; KAGER, P. A. et al. A simple and economical direct agglutination test for serodiagnosis and seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 80, p. 583-587, 1986.

HIROYUKIHIRATA, M.; MANCINI FILHO, J. **Manual de biossegurança**. São Paulo: Manole, 2002.

IMPERATRIZ. Programa municipal de DST/Aids no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA). Imperatriz, 2012.

JAIME, P. C. et al. Prevalência de sobrepeso e obesidade abdominal em indivíduos portadores de HIV/AIDS, em uso de terapia anti-retroviral de alta potência. **Rev. Bras. Epidemiol.**, São Paulo, v. 7, n. 1, 2004.

JERÔNIMO, S.; SOUSA, A.; PEARSON, R. *Leishmania* Species: Visceral (Kala-azar), Cutaneous, and Mucocutaneous Leishmaniasis. In: MANDELL, Douglas. **Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases**. 6. ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005. p. 3145-3156.

JESUS, J. S. de. **Perfil epidemiológico dos usuários atendidos em um Centro de Testagem e Aconselhamento em HIV/Aids do Estado da Bahia**. 2006. 77f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Bahia, 2006.

LABORATORY IDENTIFICATION OF PARASITES OF PUBLIC HEALTH CONCERN. Disponível em: <<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/Default.htm>>. Acesso em: 28 out. 2012.

LAGUNA, F. Treatment of leishmaniasis in HIV-positive patients. **Annals of tropical Medicine & Parasitology**, v. 97, Supl. n. 1, p. 135-142, 2003.

LAINSON, R.; RANCEL, E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis with particular reference to Brazil - A review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 8, p. 811-827, 2005.

LAINSON, R.; SHAW, J. J.; Evolution, classification and geographic distributions. In: PETERS, W.; KILICK, Kendrick R. (Ed.). **The leishmaniase in Biology and Medicine V**. London: Academic Press, 1987.

LEDERMAN, N. M. Biology of CCR5 and its role in HIV infection and treatment. **Jama**, v. 296, n. 7, p. 815-825, 2006.

LÓPEZ-VÉLEZ, R.; CASADO, J.; PINTADO, V. Decline of a visceral leishmaniasis epidemic in HIV – infected patients after the introduction of highly active antiretroviral therapy (HAART). **Clin. Microbiol. Infect.**, v. 7, p. 394-395, 2001.

LÓPEZ-VÉLEZ, R. et al. Clinico epidemiologic characteristics, prognostic factors, and survival analysis of patients coinfecting with human immunodeficiency virus and *Leishmania* in an area of Madrid, Spain. **Am. J. trop. Med. Hyg.**, v. 58, n. 4, p. 436-443, 1998.

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.

MARANHÃO. Secretaria de Estado da Saúde. Secretaria Adjunta Assistência à saúde. **Boletim Epidemiológico/SINAN-Programa Estadual de DST/Aids.** São Luís: Secretaria de Estado da Saúde, v. 1, n. 1, 2005.

MARANHÃO. Secretaria de Estado da Saúde. Secretaria Adjunta Assistência à saúde. **Boletim Epidemiológico/SINAN-Programa Estadual de DST/Aids.** São Luís: Secretaria de Estado da Saúde, 2009.

MARANHÃO. Secretaria de Estado da Saúde. Secretaria Adjunta Assistência à saúde. **Boletim Epidemiológico/SINAN-Programa Estadual de DST/Aids.** São Luís: Secretaria de Estado da Saúde, 2011.

MACDOUGALL, T. H. et al. Regulation of primary HIV-1 isolate replication in dendritic cells. **Clin Exp Immunol.**, v. 127, n. 1, p. 66-71, jan. 2002.

MARY, C. et al. Western blot analysis of antibodies to *Leishmania infantum* antigens: potential of the 14-KD and 16-KD antigens for diagnosis and epidemiologic purposes. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 47, p. 764-771, 1992.

MANN, J.; TARANTOLA, D. J. M.; NETTER, T. W. (Org.). **A Aids no mundo.** Rio de Janeiro: Relume-Dumará, 1993. (Coleção História Social da Aids, 1).

MARZOCHI, M. C. A.; MARZOCHI, K. B. F.; SCHUBACH, A. O. Leishmaniose visceral americana (Calazar Americano ou Neotropical). In: _____. **Parasitologia humana e seus fundamentos gerais.** 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2001.

_____. **Leishmaniose Tegumentar Americana. Parasitologia humana e seus fundamentos gerais.** São Paulo: Editora Atheneu, 2002.

MEDEIROS, I. M.; NASCIMENTO, E. L. T. do; HINRICHSEN, S. Leishmanioses (Visceral e Tegumentar). In: _____. **DIP – Doenças infecciosas e parasitárias.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

MELO, M. A. Leishmaniose visceral No Brasil: desafios e perspectivas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 18., 2004, Ouro Preto, MG. **Anais...** Ouro Preto, MG, 2004. v. 1.

MIRA, J. A. et al. Frequency of visceral leishmaniasis relapses in human immunodeficiency virus infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 70, p. 298-301, 2004.

MINAYO, M. C. S. et al. Avaliação dos Centros de Orientação e Apoio Sorológico (COAS) da Região Nordeste. **Cad. Saúde Públ.**, v. 15, n. 2, p. 355-367, 1999.

MORENO, E.; MELO, M. N.; ANTUNES, C. M. F. Epidemiologia da leishmaniose visceral humana assintomática em área urbana, Sabará, Minas Gerais, 1998-1999. **Informe epidemiológico do SUS**, v. 11, p. 37-39, 2002.

MULLIS, K. B.; FALOONA, F. A. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. **Methods Enzymol**, v. 155, p. 335-350, 1987.

NADLER, J. Aids: etiopatogenia. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. (Ed.). **Tratado de infectologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2004.

NASCIMENTO, M. D. S. B. et al. Aspectos epidemiológicos determinantes na manutenção da leishmaniose visceral no Estado do Maranhão-Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 29, Suppl 3, 1996.

_____. Prevalência de infecção por *Leishmania chagasi* utilizando os métodos de ELISA (rK39 e CRUDE) e intradermoreação de Montenegro em área endêmica do Maranhão, Brasil. **Cad. Saúde Públ.**, v. 21, n. 6, p. 1801-1807, 2005.

ORSINI, M. Identification of *Leishmania chagasi* from skin in *Leishmania*-HIV co-infection: a case report. **Rev. Soc. Bras. Med.**, v. 35, p. 259-262, 2004.

PASQUAU, F.; ENA, J.; SANCHEZ, R. **The mediterranean group for leishmania – HIV study. Leishmania and HIV infection**: a collaborative study of 228 episodes in a Spanish Mediterranean area. 13. ed. Durban, South África: International Aids Conference, 2000.

PINTADO, V.; LOPEZ-VELEZ, R. Visceral leishmaniasis associated with human immunodeficiency virus infection. **Enferm. Infecç. Microbiol. Clin.**, v. 19, n. 7, p. 353-7, aug. 2001.

POLACOW, V. O. Alterações do estado nutricional e dietoterápico na infecção por HIV. **Rev. Bras. Nut. Clín.**, São Paulo, 2004.

RABELLO, A.; ORSINI, M.; DISCH, J. Leishmaniose/HIV co-infection in Brazil: na appraisal. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v. 97, n. 1, p. 17-28, 2003.

REBÊLO, J. M. M.; OLIVEIRA, S. T.; BARROS, V. L. L. Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) de Lagoas, Município de Buriticupu, Amazônia Maranhense. I - Riqueza e abundância relativa das espécies em área de colonização recente. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 33, p. 11-19, 2000.

REQUEJO, H. I. Z. Worldwide molecular epidemiology of HIV. **Rev. Saúde Públ.**, São Paulo, v. 4, n. 2, 2006.

RICHARD, C. et al. **Imunologia básica**. Rio de Janeiro: Guanabara, 2002.

RODRIGUES, A. S. L. et al. Effectiveness of the global protected-area network in representing species diversity. **Nature**, v. 428, p. 640-643, 2004.

ROITT, I. I.; BROSTOFF, J.; MALE, D. **Imunidade aos protozários e vermes**. **Imunologia**. 4. ed. São Paulo: Manole, 1997.

ROSENTHAL, E. et al. Declining incidence of visceral leishmaniasis in HIV-infected individuals in the era of highly active antiretroviral therapy. **Aids**, v. 15, p. 1184-1185, 2001.

RUSSO, R. et al. Clinical survey of Leishmania/HIV co-infection in Catania, Italy: the impact of highly active antiretroviral therapy (HAART). **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v. 97, n. 1, p. 149-155, 2003.

SÁ, C. C. L. de. Leishmaniose visceral. In: FILGUEIRA, N. A. et al. **Condutas em clínica médica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2004. cap. 46.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. W. **Molecular cloning: a Laboratory Manual**. 3. ed. Nova York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. v. 1.

SILVA, A. et al. Leishmaniose visceral (calazar) na Ilha de São Luís, Maranhão, Brasil: evolução e perspectivas. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 30, p. 359-368, 1997.

SILVA, A. R. et al. Aspectos epidemiológicos, clínicos e terapêuticos da leishmaniose visceral (calazar) na Ilha de São Luís, Estado do Maranhão-Brasil de 1982 a 1987. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 24., 1988, Manaus. **Resumos...** Manaus, 1988. p. 114.

SILVA, A. R.; MARTINS, G.; MELO, J. E. M. Surto epidêmico de Leishmaniose Tegumentar Americana ocorrido na colonização agrícola de Buriticupu (Estado do Maranhão), Brasil. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 21, p. 43-50, 1979.

SILVA, L. K. et al. Prevalence of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV genotypes of hemodialysis patients in Salvador, Northeastern Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v. 39, n. 5, p. 595-602, 2006.

SILVEIRA, F. T.; MAYRINK, W. Leishmaniose cutânea difusa no Estado do Para, Brasil. Relato de cura de 1 caso depois de 24 anos de doença, após tratamento combinado de quimioterapia com imunoterapia. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 33., Belo Horizonte, 1997. Pôster 42, p. 129.

SILVEIRA, M. F. et al. Autopercepção de vulnerabilidade às doenças sexualmente transmissíveis e Aids em mulheres. **Rev. Saúde Públ.**, v. 36, p. 670-677, 2002.

SOUZA, G. F. de. **Comparação de aspectos clínicos e diagnósticos de leishmaniose visceral entre portadores e não portadores do vírus da imunodeficiência humana**. 2007. 126f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina - Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2007.

SZWARCWALD, C. L. A disseminação da epidemia da Aids no Brasil, no período de 1987-1996: uma análise espacial. **Cad. Saúde Públ.**, v. 16, p. 7-19, 2000.

SZWARCWALD C. L. et al. Dinâmica da epidemia de Aids no município do Rio de Janeiro, no período de 1988-96: uma aplicação de análise estatística espaço-temporal. **Cad. Saúde Públ.**, v. 17, p. 1123-1140, 2001.

TROIAN, M. C. et al. Prevalência de Síndrome Metabólica e Dislipidemia em Pacientes HIV - + em uso de terapia antiretroviral. **Rev. Bras. Med.**, São Paulo, set. 2005.

VERONESI, R. **Tratado de infectologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

WAITZBERG, D. L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Aids epidemic update, 2006**. Geneva: Unids/WHO, 2006.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido

TÍTULO: PREVALÊNCIA DA CO-INFECÇÃO POR *L. (L.) i. CHAGASI* EM PACIENTES PORTADORES DE HIV/AIDS ATENDIDOS PELO PROGRAMA MUNICIPAL DE DST/AIDS NO CENTRO DE TESTAGEM E ACONSELHAMENTO (CTA) DE IMPERATRIZ - MA

Pesquisador Responsável: Lúcio André Martins da Silva

Instituição: Universidade Federal do Pará

Você está sendo convidado (a) participar da nossa pesquisa de forma totalmente voluntária. Antes de concordar em participar desta pesquisa, é muito importante que você compreenda as informações e instruções contidas neste documento. Os pesquisadores deverão responder todas as suas dúvidas antes que você se decida a participar. Você tem o direito de desistir de participar da pesquisa a qualquer momento, sem nenhuma penalidade e sem perder os benefícios dos quais tem direito. **Objetivo do estudo:** Estimar a Prevalência da co-infecção por *L.(L.) i. chagasi* em pacientes portadores de HIV/aids atendidos pelo programa municipal de DST/Aids no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) de Imperatriz-MA. **Procedimentos:** Será 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. **Riscos:** Os riscos serão os mínimos, relacionados a coleta de sangue periférico. Os riscos à integridade física ou moral dos participantes serão minimizados pelo compromisso de que somente as informações constantes nos prontuários que serão manuseados, mantendo-se em sigilo os nomes. **Benefícios:** Os participantes da pesquisa não terão nenhum risco físico, moral ou financeiro. Todos aqueles que apresentarem exame positivo para a co-infecção, durante o estudo, serão beneficiados através do encaminhamento ao Posto de saúde do seu bairro para receberem tratamento específico. **Sigilo:** As informações fornecidas por você serão confidenciais e de conhecimento apenas dos pesquisadores responsáveis. Os sujeitos da pesquisa não serão identificados em nenhum momento, mesmo quando os resultados desta pesquisa forem divulgados em qualquer forma. Acredito ter sido suficientemente

informado a respeito das informações que li ou foram lidas para mim, descrevendo a pesquisa **PREVALÊNCIA DA CO-INFECÇÃO POR L. (L.)i. chagasi EM PACIENTES PORTADORES DE HIV/AIDS ATENDIDOS PELO PROGRAMA MUNICIPAL DE DST/AIDS NO CENTRO DE TESTAGEM E ACONSELHAMENTO (CTA) DE IMPERATRIZ – MA**

Eu _____,
 declaro que li as informações acima sobre a pesquisa, e que me sinto perfeitamente esclarecido sobre o conteúdo da mesma, assim como de seus riscos e benefícios. Declaro ainda que por minha livre e espontânea vontade, aceito participar da pesquisa, permitindo a coleta de material para exames, além de fornecer informações sobre minha pessoa e familiares, para o preenchimento de fichas referentes ao estudo da pesquisa, as quais serão sigilosamente preservadas e somente poderão ser utilizadas como dados impessoais em relatórios e publicações científicas e que tenho liberdade para sair do projeto no momento que quiser, sem perder meus direitos ao tratamento, que não receberei nenhum tipo de remuneração.

 Imperatriz (Ma), ____/____/____

Assinatura do sujeito que colheu o TCLE

 Imperatriz (Ma), ____/____/____

Assinatura do pesquisador responsável

Nome: Lúcio André Martins da Silva.

Endereço: Rua Magno Silva casa 27 lote 27 Vila Parati, Imperatriz-Ma

CRF(Ma): 1338

Telefone: (99) 91129038

APÊNDICE B - Questionário



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
MESTRADO EM DOENÇAS TROPICAIS
CONVÊNIO UFPA/FACIMP

**TÍTULO DA PESQUISA: PREVALÊNCIA DA CO-INFECÇÃO POR
LEISHMANIA (LEISHMANIA) INFANTUM CHAGASI EM PACIENTES
PORTADORES DE HIV/AIDS ATENDIDOS PELO PROGRAMA MUNICIPAL DE
DST/AIDS NO CENTRO DE TESTAGEM E ACONSELHAMENTO (CTA) DE
IMPERATRIZ - MA**

Orientadora: Prof^a Dr^a Edna Aoba Yshikawa

Questionário

Dados do Atendimento

Ficha de nº _____

Local do atendimento _____

Data do atendimento ____ - ____ - ____

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 () palha () outros N° de cômodos _____
 Moradores: _____

9. De onde vem a água da casa para beber?
 () rede pública () poço artesiano () poço comum, cacimba () rio, riacho () outros.

10. Qual o destino dos dejetos?
 () rede de esgoto () fossa séptica () fossa negra () vala () mato () rio, maré () outros.

11. Onde se joga o lixo?
 () coleta pública () terreno baldio () queimado () outros

12. Moradia em zona:
 () urbana () rural

13. Cria animais domésticos em casa?
 () sim () não

14. Tipo de animal criado?
 () cão () gato () outros _____

Infecção pelo HIV

1. Situação: Aids () HIV ()

2. Sorologia anti-HIV: Determine () Elisa ()

3. Data do diagnóstico anti-HIV: _____ - _____ - _____

4. Doenças oportunistas concomitante: Sim () Não () Quais? _____

5. Outra doenças apresentadas: _____

6. Uso de TARV: Sim () Não () Início: _____ - _____ - _____ Qual (is)? _____

7. Valores por ocasião do diagnóstico de:
 Cd4: _____ Cd8: _____ Carga viral: _____

8. Valores atuais de:
 Cd4: _____ Cd8: _____ Carga viral: _____

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. Sorologia para *Leishmania*:

Sim () Não () Data: _____ - _____ - _____

Resultado: _____

5. Caso suspeito-confirmado de co-infecção HIV-AIDS-leishmaniose:

Sim () Não ()

*Municípios considerados endêmicos para LV no estado do Maranhão, segundo o boletim Epidemiológico Trimestral do Núcleo de Vigilância Epidemiológica:

Assinatura do responsável pelo preenchimento da Ficha

ANEXO A – Parecer de Ética de Projeto de Pesquisa envolvendo seres humanos



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

PARECER DE ÉTICA DE PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

1. **Protocolo:** Nº 046 /2011-CEP-NMT/UFPA
2. **Projeto de Pesquisa:** PREVALÊNCIA DA CO-INFECÇÃO POR *LEISHMANIA SP* EM PACIENTES PORTADORES DE HIV/AIDS ATENDIDOS PELO PROGRAMA MUNICIPAL DE DST/AIDS NO CENTRO DE TESTAGEM E ACONSELHAMENTO (CTA) DE IMPERATRIZ – MA.
3. **Pesquisador Responsável:** Lúcio André Martins da Silva
4. **Instituição / Unidade:** NMT/UFPA
5. **Data de Entrada:** 10/08/2011
6. **Data do Parecer:** 02/09/2011

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, 22 de dezembro de 2011


Prof. Dra. Hellen Thais Fuzii
Coordenadora do CEP-NMT/UFPA.