



**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ**  
**CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

**FIOCRUZ**

**Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina  
Investigativa**

**TESE DE DOUTORADO**

**ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DE MICRONUTRIENTES (ZINCO,  
COBRE E FERRO) NA INFECÇÃO, E OU PROGRESSÃO PARA  
LEISHMANIOSE TEGUMENTAR EM DUAS COMUNIDADES RURAIS  
DO ESTADO DA BAHIA**

**GISÉLIA DOS SANTOS SANTANA**

**Salvador- Bahia**  
**2014**

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ**  
**CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

**Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina**  
**Investigativa**

**ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DE MICRONUTRIENTES (ZINCO,  
COBRE E FERRO) NA INFECÇÃO, E OU PROGRESSÃO PARA  
LEISHMANIOSE TEGUMENTAR EM DUAS COMUNIDADES RURAIS  
DO ESTADO DA BAHIA**

**GISÉLIA DOS SANTOS SANTANA**

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Jackson Maurício Lopes Costa

Coorientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Johan Van Weyenbergh

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa para a obtenção do grau de Doutor.

**Salvador – Bahia**

**2014**

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do  
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

Santana, Gisélia dos Santos

S231e      Estudo da associação de micronutrientes (zinco, cobre e ferro) na infecção, e  
ou progressão para leishmaniose tegumentar em duas comunidades rurais do  
Estado da Bahia. [manuscrito] / Gisélia dos Santos Santana. - 2014.

127 f.: il.; 30 cm.

Datilografado (fotocópia).

Tese (doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo  
Moniz, 2014.

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr. Jackson Maurício Lopes Costa, Laboratório  
de Imunoparasitologia.

1. Leishmaniose. 2. Micronutrientes. 3. Zinco. 4. Epidemiologia. I. Título.

CDU 616.993.161

"ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DE MICRONUTRIENTES (ZINCO, COBRE E FERRO) NA INFECÇÃO, E  
OU PROGRESSÃO PARA A LEISHMANIOSE TEGUMENTAR EM DUAS COMUNIDADES RURAIS DO  
ESTADO DA BAHIA."


**GISÉLIA DOS SANTOS SANTANA**

FOLHA DE APROVAÇÃO

COMISSÃO EXAMINADORA



Dr. George Mariane Soares Santana  
Professor  
UFRB



Dr. Edson Duarte Moreira Júnior  
Pesquisador Titular  
CPqGM/FIOCRUZ



Dra. Mairilda de Souza Gonçalves  
Pesquisadora Titular  
CPqGM/FIOCRUZ

Dedico este trabalho a minha mãe Eunice, responsável pela minha formação moral e à minha família, Fabricio, Mariana e Maria Luiza pelo carinho, amor e apoio em todos os momentos da minha vida.

Dedico ainda este trabalho a todos aqueles que lutaram e que continuam lutando de maneira direta ou indireta para que possamos ter um mundo igualitário, onde todos tenham as mesmas oportunidades.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por ter me concedido a vida e por estar ao meu lado a todo instante, como um grande amigo;

Às minhas filhas Mariana e Maria Luiza meus tesouros mais preciosos e que me acompanharam nessa trajetória;

À Fabricio Correia meu esposo que me incentivou e sempre me apoiou;

À minha mãe Eunice dos Santos Santana que apesar das muitas dificuldades financeiras me proporcionou uma vida digna e me ensinou valores morais;

Ao meu pai de criação *in memória*, José Nelson de Santana, pelo cuidado, carinho e por me ensinar valores morais;

Ao Dr<sup>o</sup>. Jackson Mauricio Lopes Costa pela orientação, disponibilidade e incentivo;

Ao Dr<sup>o</sup> Johan Van Weyenberg pela coorientação, disponibilidade e incentivo;

Aos membros da banca, Dr<sup>a</sup>. Marilda Gonçalves, Dr<sup>o</sup>. Edson Duarte e Dr<sup>o</sup>. George Mariane Soares Santana;

À Dr<sup>a</sup>. Aldina Barral, coordenadora do LIP, pela oportunidade de realizar minhas atividades acadêmicas;

À Eliane Góes, diretora do Centro de Referência em Doenças Endêmicas Pirajá da Silva/PIEJ, pelo apoio e colaboração nos trabalhos, sem a sua colaboração este teria sido muito mais árduo;

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Angélica Leal da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia/UESB pelo apoio nos trabalhos de campo e por disponibilizar as dependências do seu laboratório para realização de diversos procedimentos além de envolver seus estudantes na colaboração;

Ao Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Marcos Bezerra da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia/UESB pela possibilidade da realização das dosagens dos metais;

À Vanessa Nardy amiga e colega que fez parte desse trabalho tanto nas etapas de campo quanto no laboratório;

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gilvaneia Silva amiga e colega pela participação no processamento, separação e armazenamento das amostras;

Ao Dr. João do Carmo por ajudar nas análises dos micronutrientes;

Aos amigos do laboratório LIP pelo incentivo constante e solidariedade;

Aos colegas do doutorado, pelos momentos agradáveis de aprendizado e amizade;

Aos moradores do Povoado de São Gonçalo (Contendas do Sincorá) e Distrito de Florestal (Jequié) que participaram deste estudo, acreditando em nosso trabalho e nos recebendo de maneira receptiva aceitando nosso convite e colaborando conosco, sem eles não seria possível à realização desse estudo;

Ao curso de Pós-graduação e aos professores, pela dedicação;

Às bibliotecárias Ana Maria Fiscina e Vânia, pela ajuda na obtenção e organização das referências bibliográficas;

Aos setores de comunicação visual e informática, pelo apoio na elaboração dos recursos visuais necessários para o desenvolvimento do trabalho;

Ao Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz, pela disponibilidade da infraestrutura, pessoal e recursos que possibilitaram a realização deste estudo;

À FIOCRUZ pelo apoio financeiro.

*Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,  
qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.*

*Chico Xavier*



## LISTA DE QUADROS

|           |  |    |
|-----------|--|----|
| Quadro 1  | Posição taxonômica da <i>Leishmania</i> spp.   | 21 |
| Quadro 2: | Frequência das variáveis laboratoriais estudadas nos indivíduos do Povoado de São Gonçalo/Contendas do Sincorá | 62 |
| Quadro 3  | Frequência das variáveis laboratoriais estudadas nos indivíduos do Distrito de Florestal                       | 79 |

## LISTA DE MAPAS

|         |  |    |
|---------|--|----|
| Mapa 1  | Distribuição dos casos de leishmaniose tegumentar por estado no Brasil (ano 2011/MS, Brasil, 2012)               | 23 |
| Mapa 2: | Localização geográfica do município de Contendas do Sincorá, Bahia, um dos locais onde foi desenvolvido o estudo | 38 |
| Mapa 3  | Localização geográfica do município de Jequié, um dos locais onde foi desenvolvido o estudo.                     | 40 |

## LISTA DE FIGURAS

|            |  |    |
|------------|--|----|
| Figura 1   | Povoado de São Gonçalo (Município de Contendas do Sincora), um dos locais estudados. Aspectos da vegetação rasteira, com arbustos e montanhas nas cercanias  | 39 |
| Figura 2   | Povoado de São Gonçalo (Município de Contendas do Sincora), um dos locais estudados. Aspectos das residências, da vegetação nos arredores das casas, e no fundo cadeia de montanhas  | 39 |
| Figura 3   | Aspecto de uma moradia encravada em clareira aberta na mata  | 41 |
| Figura 4:  | Núcleo habitacional do Distrito de Florestal (Jequié)  | 41 |
| Figura 5:  | Quantificação dos níveis plasmáticos de Cu, Zn e Fe nos indivíduos cadastrados nas duas etapas do estudo (1)n=142; e (2)n=134) além das razões Cu/Zn (teste t não paramétrico e pós teste Mann Whitney, $p < 0.0001$ para todas as comparações Cu(1) vs Cu(2), Zn(2)   | 63 |
| Figura 6   | Quantificação dos níveis plasmáticos de Cu, Zn e Fe nos indivíduos da 1ª etapa do estudo (n=87) e comparação entre os subgrupos: (1.3) não infectados (n=58); (1.1) novas infecções (n=5); (1.2) LTA (n=16)  | 64 |
| Figura 7   | Comparação qualitativa dos níveis plasmáticos de Zn nos indivíduos da 1ª etapa do estudo (n=21), entre os subgrupos de novas infecções e LTA.  | 65 |
| Figura 8:  | Comparação qualitativa dos níveis plasmáticos de Zn nos indivíduos da 1ª etapa do estudo (n=63), entre os subgrupos de não infectados e novas infecções.   | 66 |
| Figura 9   | Correlação entre tamanho (cm <sup>2</sup> ) da IDRМ e concentração plasmática (µg/ml) de Zn (ambos transformados em log) em pacientes com LTA na 1ª etapa. Teste de Correlação de Spearman, $r^2=0,22$ ; $p=0,062$ , n= 16   | 67 |
| Figura 10  | Quantificação dos níveis plasmáticos de fosfatase alcalina (FA) em todos os indivíduos do estudo nas etapas 1 (n=150) e 2 (n=170)  | 68 |
| Figura 11  | Quantificação dos níveis plasmáticos de IgG anti-Leishmania dos indivíduos de São Gonçalo participantes na 1ª etapa do estudo e comparação entre os subgrupos: não infectados (n=58), novas infecções (n=5) e LTA (n=16). ANOVA, $p=0.008$ , Kruskal-Wallis; Teste de múltiplas comparações de Dunn $p < 0.05$ , LTA vs não infectados. Os níveis de IgG detectados são representados em intensidade óptica (DO) obtido a um filtro de 405nm | 69 |
| Figura 12: | Quantificação dos níveis plasmáticos de Cu, Zn e Fe nos indivíduos do estudo nas duas etapas (1) n=394; e (2) n=341) além das razões Cu/Zn (teste t não paramétrico e pós teste Mann Whitney, $p < 0.0001$ para as comparações Cu(1) vs Cu(2), Zn(1) vs Zn(2), Fe(1) vs Fe(2), e $p=0.024$ para CuZn(1) vs Cu/Zn(2)  | 80 |
| Figura 13  | Comparação qualitativa dos níveis plasmáticos de Zn nos indivíduos da (1ª) fase do estudo (n=85), entre os subgrupos de não infectados (n=54), novas infecções (n=25) e novos pacientes (n=6), (Teste de X <sup>2</sup> para análise de risco ( $p=0,0067$ , $p \text{ trend}=0,0059$ )  | 81 |

- Figura 14 Comparação qualitativa dos níveis plasmáticos de Zn nos indivíduos da 1ª etapa do estudo (n=63), entre os subgrupos de não infectados (n=54) e novas infecções (n=25). Teste de Fisher para análise de risco (RR=0,76 [0,42-1,35], p=0,45) 82
- Figura 15 Correlação entre níveis plasmáticos de metais Zn (A) ou Fe (B) e tamanho da IDRМ de indivíduos (n=33) não infectados e infectados da 1ª etapa do estudo do distrito de Florestal. Teste de Correlação de Spearman, ns (A); p=0,046, r=0,25 (B). 83
- Figura 16 Correlação entre níveis plasmáticos de FA e tamanho da IDRМ de indivíduos não infectados e infectados da 1ª etapa do estudo do distrito de Florestal (n=33). Teste de Correlação de Spearman p=0,038, r= - 0,36 83

## LISTA DE TABELAS

|           |   |    |
|-----------|---|----|
| Tabela 1  | População cadastrada na 1ª fase do estudo no Distrito Florestal (Município de Jequié - período 2006-2007) .....   | 44 |
| Tabela 2  | População cadastrada na 2ª fase do estudo no Distrito Florestal (Município de Jequié - período 2010-2011) .....   | 45 |
| Tabela 3  | Frequência das variáveis sócio-demográficas dos indivíduos do povoado de São Gonçalo/Contendas do Sincorá .....   | 53 |
| Tabela 4  | Frequência das condições sócio-econômica dos domicílios cadastrados no estudo, procedentes do povoado de São Gonçalo – Município de Contendas do Sincorá – Bahia .....        | 54 |
| Tabela 5  | Frequência da prevalência de infecção por Leishmania spp também da doença LT (n=170) no povoado de São Gonçalo – Município de Contendas do Sincorá – Bahia .....              | 55 |
| Tabela 6: | Frequência das variáveis relacionadas ao padrão de moradia (n=37) e hábito das famílias no Povoado de São Gonçalo/Município de Contendas do Sincorá – Bahia .....             | 56 |
| Tabela 7  | Análise da associação entre as variáveis relacionadas ao padrão de moradia das famílias (n=37) e a LT no Povoado de São Gonçalo/Contendas do Sincorá/Ba.                      | 57 |
| Tabela 8  | Análise da associação entre as variáveis relacionadas aos hábitos de moradia das famílias (n=37) e a LT no povoado de São Gonçalo/Município Contendas do Sincorá, Bahia ..... | 58 |
| Tabela 9  | Análise da associação entre as variáveis relacionadas ao ambiente peri-domiciliar das famílias (n=37) e a LT, no Povoado de São Gonçalo/Contendas do Sincorá/Ba .....         | 59 |
| Tabela 10 | Associação das variáveis sócio-demográficas dos indivíduos com o teste IDRМ no Povoado de São Gonçalo – Contendas do Sincorá /Ba (n=163) .....                                | 60 |
| Tabela 11 | Associação entre variáveis sócio-demográficas, e ELISA em indivíduos estudados no povoado de São Gonçalo/Contendas do Sincorá/Ba (n=158)                                      | 61 |
| Tabela 12 | Associação entre o teste de IDRМ e a ocorrência de LT nos indivíduos estudados no povoado de São Gonçalo/Contendas do Sincorá/Ba (n=163) .....                                | 61 |
| Tabela 13 | Associação entre o teste ELISA e a ocorrência de LT nos indivíduos estudados no Povoado de São Gonçalo – Contendas do Sincorá/Ba (n=158) .....                                | 62 |
| Tabela 14 | Frequências das variáveis sociais e laborais dos indivíduos do Distrito de Florestal/ Jequié – Bahia .....  | 70 |
| Tabela 15 | Frequência das condições sócio-econômicas dos indivíduos cadastrados no estudo, procedentes do Distrito de Florestal/Jequié – Bahia .....                                     | 71 |

|           |   |    |
|-----------|---|----|
| Tabela 16 | Frequência da prevalência de infecção por <i>Leishmania</i> spp (n=480) do Distrito de Florestal Município de Jequié/Bahia .....  | 72 |
| Tabela 17 | Frequência das variáveis relacionadas ao padrão de moradia (n=129) e hábito das famílias na comunidade rural de Florestal/Jequié/Ba ....  | 73 |
| Tabela 18 | Análise da associação entre as variáveis relacionadas ao padrão de moradia das famílias (n=129) e a LT no Distrito de Florestal, Município de Jequié, Bahia .....                               | 74 |
| Tabela 19 | Análise da associação entre as variáveis sócio-demográficas relacionadas ao hábito de moradia das famílias (n=129), e a LT no Distrito de Florestal/Município de Jequié, Bahia .....            | 75 |
| Tabela 20 | Análise da associação entre as variáveis relacionadas ao ambiente peri-domiciliar das famílias (n=129) e a LT, em comunidades rurais do Distrito de Florestal, Município de Jequié, Bahia ..... | 76 |
| Tabela 21 | Associação entre variáveis sócio-demográficas e o teste IDRM em comunidades rurais do Distrito de Florestal/Município de Jequié - Bahia (n=213) .....   | 77 |
| Tabela 22 | Associação entre sexo, idade, e atividades laborais com ELISA em indivíduos estudados no Distrito de Florestal/Município de Jequié, Bahia .....   | 78 |
| Tabela 23 | Associação entre o teste IDRM e a ocorrência de LT nos indivíduos estudados no distrito de Florestal/Jequié /Ba (n=163) .....   | 78 |
| Tabela 24 | Associação entre o teste IDRM e a ocorrência de LT nos indivíduos estudados no Distrito de Florestal/Jequié /Ba (n=163) .....   | 79 |

## LISTA DE ABREVIATURAS

|                                |                                    |
|--------------------------------|------------------------------------|
| <b>LT</b>                      | Leishmaniose Tegumentar            |
| <b>LTA</b>                     | Leishmaniose Tegumentar Americana  |
| <b>LCL</b>                     | Leishmaniose Cutânea Localizada    |
| <b>LM</b>                      | Leishmaniose Mucosa                |
| <b>LD</b>                      | Leishmaniose Disseminada           |
| <b>LCD</b>                     | Leishmaniose Cutânea Difusa        |
| <b>LV</b>                      | Leishmaniose Visceral              |
| <b>Zn</b>                      | Zinco                              |
| <b>Fe</b>                      | Ferro                              |
| <b>Cu</b>                      | Cobre                              |
| <b>IDRM</b>                    | Intradermorreação de Montenegro    |
| <b>ELISA</b>                   | Enzyme-Linked-Immunosorbant-Assay  |
| <b>IL</b>                      | Interleucina                       |
| <b>CP</b>                      | Censo Populacional                 |
| <b>IFN-<math>\gamma</math></b> | Interferon gama                    |
| <b>Sb<sup>+5</sup></b>         | Antimoniopentavalente              |
| <b>TNF-<math>\alpha</math></b> | Fator de Necrose Tumoral alfa      |
| <b>WHO</b>                     | World Health Organization          |
| <b>DIP</b>                     | Doenças Infecciosas e Parasitárias |
| <b>DEF.</b>                    | Deficiente                         |
| <b>SUF.</b>                    | Suficiente                         |
| <b>OMS</b>                     | Organização Mundial de Saúde       |

# SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>  | <b>20</b> |
| 1.1 LEISHMANIOSE TEGUMENTAR NO BRASIL E NO ESTADO DA BAHIA .....                               | 22        |
| 1.2. COMPORTAMENTO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR COMO DOENÇA OCUPACIONAL NO<br>BRASIL.....        | 24        |
| 1.3. ASPECTOS IMUNOLÓGICOS.....  | 26        |
| 1.3.1. Imunidade Específica nas Leishmanioses.....   | 27        |
| 1.4. ESTADO NUTRICIONAL E RESPOSTA IMUNOLÓGICA .....   | 28        |
| 1.5. TESTES DIAGNÓSTICOS.....  | 30        |
| 1.6. TRATAMENTO.....   | 31        |
| 1.7. PERSPECTIVAS DE CONTROLE .....  | 33        |
| <b>2 HIPOTESE DO ESTUDO .....</b>  | <b>34</b> |
| <b>3 JUSTIFICATIVA.....</b>  | <b>35</b> |
| <b>4 OBJETIVOS.....</b>  | <b>37</b> |
| 4.1 OBJETIVO GERAL .....   | 37        |
| 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....   | 37        |
| <b>5 METODOLOGIA .....</b>   | <b>38</b> |
| 5.1 ÁREAS DE ESTUDO.....   | 38        |
| 5.1.1 Povoado de São Gonçalo (Município de Contendas do Sincorá – Bahia) .....                 | 38        |
| 5.1.2. Distrito de Florestal (Município de Jequié – Bahia) .....                               | 39        |
| 5.2 Tipo de Estudo.....  | 42        |
| 5.3 DESENHO DO ESTUDO (QUADRO 2).....  | 43        |
| 5.4. DETALHAMENTO DO DESENHO DO ESTUDO .....   | 44        |
| 5.5 Critérios de Inclusão no Estudo.....   | 46        |
| 5.6 Critérios de Exclusão .....  | 46        |
| 5.7 AVALIAÇÃO “EX VIVO” DA IMUNIDADE HUMORAL - SOROLOGIA PARALEISHMANIA SPP.(ELISA) .....      | 46        |
| 5.8. AVALIAÇÃO “IN VIVO” DA IMUNIDADE CELULAR- INTRADERMORREAÇÃO DE MONTENEGRO<br>(IDRM) ..... | 47        |
| 5.9 DOSAGENS DE METAIS E METALOPROTEÍNAS NO PLASMA .....                                       | 48        |
| <b>6. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....</b>   | <b>50</b> |
| <b>7 ASPECTOS ÉTICOS .....</b>   | <b>51</b> |
| <b>8 RESULTADOS.....</b>   | <b>52</b> |
| 8.1 RESULTADOS DO ESTUDO NO POVOADO DE SÃO GONÇALO – MUNICÍPIO DE CONTENDAS DO..               | 52        |



|  |            |
|--|------------|
| 8.2 PERFIL SOROLÓGICO DOS NÍVEIS DE METAIS NO POVOADO DE SÃO GONÇALO/MUNICÍPIO DE<br>CONTENDAS DO SINCORÁ.....   | 62         |
| 8.2.1 Correlação entre níveis plasmáticos de Zn e tamanho da IDRM de infectados e pacientes LTA.   | 66         |
| 8.2.2. Perfil dos níveis de proteínas plasmáticas dos indivíduos do Povoado de São Gonçalo na 1ª e 2ª<br>etapa do estudo. ....                                     | 67         |
| 8.2.3. Avaliação “ <i>ex-vivo</i> ” da imunidade humoral de indivíduos dos diferentes subgrupos.....   | 68         |
| 8.3 RESULTADOS DO ESTUDO NO DISTRITO DE FLORESTAL (MUNICÍPIO DE JEQUIÉ –BAHIA). ....   | 70         |
| 8.4. PERFIL SOROLÓGICO DOS NÍVEIS DE METAIS NO DISTRITO DE FLORESTAL/MUNICÍPIO DE JEQUIÉ<br>.....  | 79         |
| 8.4.1 Correlação entre níveis plasmáticos de metais e tamanho da IDRM de indivíduos não infectados<br>e infectados do distrito de Florestal. ....                  | 82         |
| 8.4.2 Correlação entre níveis plasmáticos de FA e tamanho da IDRM de indivíduos não infectados e<br>infectados da 1ª etapa do estudo do distrito de Florestal..... | 83         |
| <b>9 DISCUSSÃO .....</b>   | <b>84</b>  |
| 9.1 CARACTERÍSTICAS SOCIOECONÔMICAS DEMOGRÁFICAS E AMBIENTAIS .....  | 84         |
| 9.2 ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO.....   | 87         |
| 9.3. PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR LEISHMANIA SPP. ....  | 90         |
| 9.4. PERFIL SOROLÓGICO DOS NÍVEIS DE METAIS (Zn, Cu, Fe) NAS COMUNIDADES DE SÃO GONÇALO<br>E FLORESTAL.....  | 91         |
| <b>10 CONCLUSÕES .....</b>   | <b>93</b>  |
| 10.1. ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO E IMUNOALÉRGICO .....  | 93         |
| 10.2 ESTUDO DOS MICRONUTRIENTES (Zn, Cu, Fe).....  | 93         |
| <b>11 LIMITAÇÕES EM NOSSO ESTUDO .....</b>   | <b>94</b>  |
| <b>11.1 TRABALHO DE CAMPO .....</b>  | <b>94</b>  |
| <b>11.2. ATIVIDADES NO LABORATÓRIO .....</b>   | <b>94</b>  |
| <b>12 PERSPECTIVAS DO ESTUDO .....</b>   | <b>95</b>  |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>  | <b>96</b>  |
| <b>ANEXOS.....</b>   | <b>115</b> |
| Anexo I.....   | 115        |
| Anexo II.....  | 116        |
| Anexo III.....   | 120        |
| Anexo IV .....   | 121        |
| Anexo V .....  | 123        |
| Anexo VI .....   | 129        |

SANTANA, Gisélia dos Santos. Estudo da Associação de Micronutrientes (Zinco, Cobre e Ferro) na Infecção e ou Progressão para Leishmaniose Tegumentar em Duas Comunidades Rurais do Estado da Bahia. 126 f. il. Tese (Doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2014.

## RESUMO

A leishmaniose tegumentar (LT) é um problema de saúde pública nas Américas, não somente por sua alta incidência e ampla distribuição geográfica, mas também, pela possibilidade de produzir úlceras persistentes e desfigurantes. É endêmica no Brasil, ocorrendo em ambientes florestais e extraflorestais. A detecção de áreas de alto risco para a infecção humana pode auxiliar na implementação de estratégias de controle mais eficientes nas áreas endêmicas rurais. **Objetivos:** descrever as características epidemiológicas, prevalência da infecção por *Leishmania ssp* nas populações do povoado de São Gonçalo/Contendas do Sinçorá - Bahia e no Distrito Florestal/Município de Jequié, Bahia, correlacionando os fatores de risco estabelecidos na literatura com os diferentes grupos estudados (indivíduos infectados, não infectados, e doentes) e avaliar a influência da desnutrição na infecção e ou progressão para a doença, para isso, foram avaliados parâmetros bioquímicos como dosagem de fosfatase alcalina e ferritina, além dos níveis de metais Zn, Cu e Fe no plasma dos indivíduos. **Material e Métodos** - desenvolveu-se um estudo de corte transversal, através de inquérito epidemiológico, e imunoalérgico (exames intradermoreação de Montenegro/IDRM, e sorológico/ELISA). Foram cadastradas 36 famílias (170 indivíduos) de São Gonçalo e 129 famílias (480 indivíduos) de Florestal. A partir dos dados obtidos, construiu-se um banco de dados no *EPIINFO for Windows*, onde foram feitas as análises. **Resultados.** Observou-se que alguns fatores de risco apresentaram maior prevalência de infecção (IDRM<sup>+</sup>, ou ELISA<sup>+</sup>), tais como: indivíduos adultos, trabalhador rural; gênero masculino; família que cria mais de uma espécie de animal doméstico, ou que tem mais que um tipo de animal próximo à residência; domicílio próximo a matas e rios; cobertura da casa com palha; lixo no terreno; ausência de água encanada, embora não foram estatisticamente significantes. Observou-se ainda menor prevalência da infecção em indivíduos com boas condições de moradia (casa cobertura com telha, piso de cerâmica), que não possuíam ou tinham apenas uma espécie de animal doméstico em casa, quintal limpo (onde os indivíduos queimavam seus lixos), porém, estatisticamente não foi significativa. Não encontramos associação de aumento do risco para infecção com os níveis dos metais, entretanto, observamos associação dos níveis de Zn com o aumento significativo do risco para desenvolvimento da doença nos indivíduos do Distrito de Florestal. Além disso, foi interessante notar que houve uma gradação tanto nos números absolutos quanto relativos de indivíduos com deficiência de Zn, partindo dos não infectados (18/54 ou 33,33%), para novos infectados (11/25 ou 44%) até os pacientes (6/6 ou 100%), de maneira semelhante ao que aconteceu com os níveis de IgG nos indivíduos de São Gonçalo. **Conclusões:** a existência de alguns fatores responsáveis pelo aumento de casos da doença na região (falta de saneamento básico, situação econômica precária, construção inadequada das casas, convívio com animais silvestres, ou domésticos). A deficiência de Zn aumenta o risco para doença LT, mas não para a infecção por *Leishmania spp.*; Desta forma uma estratégia de controle para a região seria avaliar melhor os focos de transmissão domiciliar, e extradomiciliar, implantando um sistema de manejo ambiental (conhecer melhor a fauna flebotomínica, e hábitos do vetor, evitar o acúmulo de lixo e detritos que possam atrair roedores, pequenos mamíferos, e funcionar como criadouros dos insetos).

Palavras-chave: Leishmaniose, Micronutrientes, Zinco, Epidemiologia.

SANTANA, Gisélia dos Santos. Micronutrients (zinc, copper and iron) association study in infection and progression to cutaneous leishmaniasis in two rural communities in the state of Bahia. 126 f. il. Tese (Doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2014.

## ABSTRACT

The cutaneous leishmaniasis (CL) is a public health problem in the Americas, not only for its high incidence and wide geographical distribution, but also by the possibility of establishing persistent and disfiguring ulcers. It is endemic in Brazil, occurring in forest and around environments. The detection of high-risk areas for human infection may assist in implementing strategies for more efficient control in rural endemic areas. **Objectives** - This study aimed to describe the epidemiological characteristics, prevalence of *Leishmania spp*, infection in populations of São Gonçalo a rural communities/Contendas do Sincorá - Bahia and Florestal (District/Jequié, Bahia), correlating risk factors established in the literature with different groups studied (infected individuals not infected, and patients) and assess the influence of malnutrition on infection and progression for disease, for that biochemical parameters will be evaluated as measure alkaline phosphatase and ferritin, beyond the levels of metals Zn, Cu and Fe in the plasma of subjects. **Materials and Methods** - We developed a cross-sectional study through epidemiologic and immunological investigation (Montenegro skin tests/MST, and serological/ELISA). 36 families (170 individuals) of São Gonçalo and 129 families (480 individuals) were registered in Florestal District. From the data obtained, we constructed a database in Epi-Info for Windows, where the analyses were performed. **Results** - The results showed that some risk factors had a higher prevalence of infection (MST+ or ELISA+), such as: adult individuals, rural workers, gender sex, family that creates more a domestic animal, or had more than one type of animal near home; homes near forests and rivers; cover the house with straw, trash on the ground, no running water, had a higher prevalence, although they were not statistically significant. We also observed a lower prevalence of infection in individuals with good living conditions (house with tile roof, tile floor), which lacked or had only one domestic animal in the house, clean the yard (where people burned their garbage) however, was not statistically significant. Not find association of increased risk for infection with metals level, however, we observed association of Zn levels with significantly increased risk for disease development in individuals of the Florestal District. Furthermore, it was interesting to note that there was a gradation in both absolute and relative numbers of individuals with disabilities Zn, starting from uninfected (18/54 or 33.3%), to newly infected (11/25 or 44%) to patients (6/6 or 100%), similarly to what happened with IgG levels in individuals of São Gonçalo. **Conclusions** - there are some factors associated for the increase in cases of the disease in the region, such as poor sanitation, poor economic situation, improper construction of the houses, living with wild animals or domestic. And that the loss of Zn increases the risk of disease LT, but not to infection by *Leishmania spp*. Thus a control strategy for the region would be better to evaluate outbreaks of domestic transmission and peridomestic, deploying an environmental management system (know the sand flies species, and habits of the vector, prevent accumulation of trash and debris that may attract rodents, small mammals, and act as breeding grounds for insects).

Keywords: Leishmaniasis, Micronutrients, Zinc, Epidemiology.

## 1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses representam um grande problema de saúde pública, conforme se observa nos dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), através dos relatórios finais de 2007 e 2010. Nestes, as leishmanioses ainda são consideradas como doença emergente e sem controle – doença de categoria 1 – e que o foco das pesquisas deve ser a aquisição de novos conhecimentos e de medidas eficazes de controle. Com uma prevalência total de 12 milhões de pessoas e população de cerca de 350 milhões de indivíduos sob o risco de contrair a infecção por *Leishmania spp*, esta doença infectoparasitária afeta indivíduos de 88 países, sendo 75 considerados em desenvolvimento e 13 subdesenvolvidos (PAHO, 2009; WHO, 2007; WHO, 2010).

As leishmanioses podem ocorrer na forma visceral (Leishmaniose Visceral ou Calazar) e tegumentar (Leishmaniose Tegumentar). A forma visceral (LV) é uma manifestação sistêmica da doença, que envolve progressão difusa de parasitas direto para baço, fígado e medula óssea, apresentando maior mortalidade em indivíduos sem tratamento (BITTENCOURT & BARRAL-NETTO, 1995; CALDAS *et al.*, 2002). Já a leishmaniose tegumentar (LT) é uma doença primariamente de caráter zoonótico que acomete o homem e diversas espécies de animais silvestres e domésticos. A LT é considerada uma enfermidade polimórfica e espectral da pele e das mucosas, manifesta-se por diferentes formas de acordo com seus aspectos clínico, patológico e imunológicos. Assim, estas formas podem ser classificadas em: cutânea localizada (LCL), caracterizada por lesões ulceradas, indolores, únicas ou múltiplas; cutânea disseminada (LD) múltiplas lesões ulceradas cutâneas com disseminação hematogênica e ou linfática; difusa (LCD), que apresenta lesões nodulares e infiltrantes, e a forma mucosa (LM) com lesões agressivas que afetam a nasofaringe (MARSDEN, 1986; GONTIJO, 2003; COSTA *et al.*, 2009; SALDANHA *et al.*, 2009; BARRAL e COSTA, 2011).

Os parasitas responsáveis pela LT estão agrupados nos subgêneros *Viannia* e *Leishmania* de acordo com o modelo taxonômico proposto por Lainson & Shaw (1987). No Brasil são reconhecidas sete espécies de *Leishmania* responsáveis por doença humana, sendo a forma tegumentar causada principalmente pela *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis* e *L. (L.) amazonensis* e mais raramente pelas *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi* e *L. (V.) shawi* (LAINSON e SHAW, 1987; GRIMALDI JUNIOR, *et al.*, 1989; BARRAL e COSTA, 2011). A posição taxonômica do agente etiológico da LT é descrita no quadro 1:

**Quadro 1: Posição taxonômica da *Leishmania spp.***

|            |                   |   |
|------------|-------------------|---|
| Reino      | PROTISTA          | Haeckel, 1986                             |
| Sub-Reino  | PROTOZOA          | Goldfuss, 1817                            |
| Filo       | SARCOMASTIGOPHORA | Honiberg e Balamuth, 1963                 |
| Sub- Filo  | MASTIGOPHORA      | Deising, 1866                             |
| Classe     | ZOOMASTIGOPHOREA  | Calkins, 1909                             |
| Ordem      | KINETOPLASTIDA    | Honiberg, 1963,<br>emend. Vickermam, 1976 |
| Sub- Ordem | TRYPONOSOMATINA   | Kent, 1880                                |
| Família    | TRYPONOSOMATIDAE  | Doflein, 1901,<br>emend. Grobben, 1905    |
| Gênero     | <i>Leishmania</i> | Ross, 1903,<br>emend. Vickermam, 1977     |

Fonte: Lainson & Shaw, 1987

A *Leishmania* apresenta duas formas distintas em seu ciclo de vida: promastigota e amastigota. A forma promastigota é afilada, móvel, apresenta flagelo sendo transmitido ao hospedeiro vertebrado através da picada do inseto vetor, o flebotomíneo. Na pele do hospedeiro vertebrado, promastigotas são internalizadas por fagócitos mononucleares, perdendo o flagelo e diferenciam-se em amastigotas. As amastigotas apresentam forma arredondada, móvel e com flagelo interno. A progressão da infecção ocorre quando há ruptura de macrófagos, resultando na liberação de amastigotas no meio extracelular e infecção subsequente de células adjacentes. O ciclo de vida da *Leishmania* continua quando outro inseto se alimenta do sangue de um hospedeiro infectado e ingere macrófagos da pele contendo formas amastigotas. No intestino do inseto vetor, as amastigotas são liberadas dos macrófagos infectados e diferenciam-se em promastigotas, aproximadamente 12-18 horas após ingestão. A sequência de eventos a partir do momento da picada do inseto vetor até o aparecimento de sinais e sintomas da doença depende da espécie de *Leishmania* envolvida e de fatores intrínsecos do hospedeiro, incluindo características genéticas e resposta imune. A expressão clínica da doença resulta da interação do parasita com o hospedeiro vertebrado nas várias fases da infecção (BITTENCOURT e BARRAL-NETTO, 1995; GONZALEZ, *et al.*, 2000; BARRAL e COSTA, 2011).

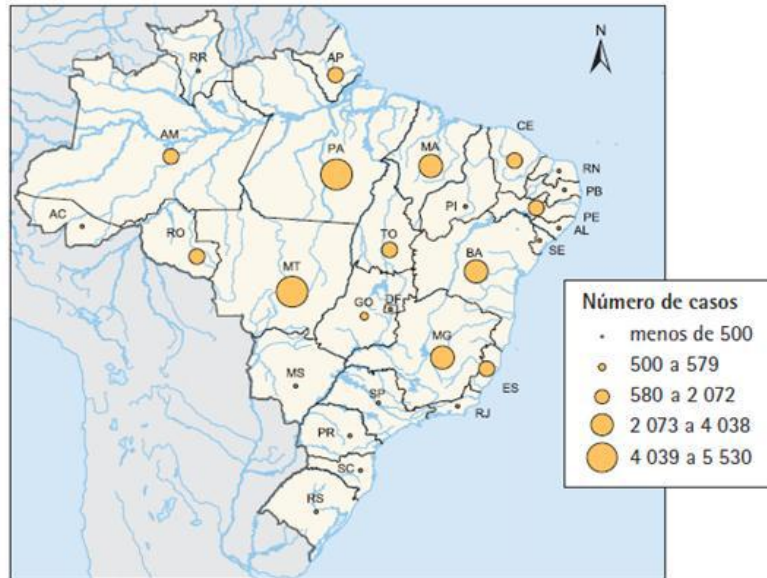
As várias espécies de flebotomíneos vetores de *Leishmania spp.*, pertencem a dois gêneros (*Psychodopygus* e *Lutzomyia*), com diferentes comportamentos e distribuição geográfica. Os principais vetores são espécies do gênero *Lutzomyia*. A *Leishmania*

*amazonensis* tem como seus principais vetores a *Lutzomyia flaviscutellata*, *Lutzomyia reducta* e *Lutzomyia olmeca*, encontrados principalmente na região Amazônica (estados do Amazonas e Rondônia), podendo ocorrer ainda em outras regiões do país, porém, com frequência baixa. A *L. amazonensis* é responsável pela forma LCL, podendo alguns indivíduos desenvolver a forma difusa (LCD) (VEXENAT *et al.*, 1986; BARRAL *et al.*, 1991; SILVEIRA *et al.*, 1996; COSTA *et al.*, 2005; COSTA *et al.*, 2009). A *L. guyanensis* apresenta como principais vetores *Lutzomyia anduzei*, *L. whitmani* e *L. umbratilis*. Sua ocorrência foi relatada no norte da Bacia Amazônica (estados do Amapá, Roraima e Pará). Os indivíduos infectados por essa espécie desenvolvem lesões únicas ou múltiplas (LAINSON *et al.*, 1987; SHAW, 2007). A *L. braziliensis* encontra-se amplamente distribuída do sul do Pará ao Nordeste brasileiro, atingindo também o centro sul do país e algumas áreas da Amazônia Oriental. Seus principais vetores são *Lutzomyia intermedia*, *L. migonei* e *L. whitmani*. Os indivíduos infectados por essa espécie podem desenvolver a LCL, cuja principal complicação é a evolução para LM (MARSDEN, 1986; VEXANET *et al.*, 1986; PASSOS *et al.*, 2010; BARRAL e COSTA, 2011).

### 1.1 LEISHMANIOSE TEGUMENTAR NO BRASIL E NO ESTADO DA BAHIA

Segundo Rabello (1925) a LT é conhecida no Brasil desde o ano 1895, sendo que seu estudo compreende três períodos na história da doença. O primeiro, de origem incerta, baseada em referências vagas, vai até 1895, ano da observação clínica do “botão da Bahia” e sua filiação ao “botão do Oriente”. O segundo estende-se até 1909, quando é identificado e descrito o agente etiológico da “úlceras de Bauru”. O terceiro se inicia em 1910, com o achado do parasita em lesões mucosas, que então incorporadas ao quadro clínico da doença (RABELLO, 1925; PESSOA, 1948; COSTA, 1992).

De acordo com os dados de notificação do Ministério da Saúde (MS), a LT encontra-se em franco processo de crescimento, tanto em magnitude, como em expansão geográfica. Somente no ano de 2012, foi notificado um total de 23.547 casos segundo dados do Ministério da Saúde (COSTA, 2005; BRASIL, 2007; PAHO, 2013) (Mapa 1).



**Mapa 1: Distribuição dos casos de leishmaniose tegumentar por estado no Brasil (ano 2011/MS, Brasil, 2012).**

Nas últimas décadas, a análise de estudos epidemiológicos da doença leishmaniose tem sugerido mudanças em seu comportamento. Inicialmente considerada como zoonose de animais silvestres que acometia ocasionalmente pessoas em contato com florestas, a doença começou a ocorrer em zonas rurais já praticamente desmatadas e também em regiões periurbanas (BARRETO *et al.*, 1981; WHO, 2000; COSTA, 2005; BRASIL, 2007). Neste amplo contexto de diferentes regiões geográficas, a doença no Brasil pode apresentar-se com três perfis epidemiológicos, segundo COSTA, 2005:

**Leishmaniose tegumentar (LT)** puramente silvestre - ocorre através de surtos epidêmicos associados à derrubada das matas em virtude da (construção de estradas, instalação de povoados em regiões pioneiras) e a exploração desordenada das florestas devido a extração de madeira, agricultura e mineração. Neste caso, a LT é uma zoonose de animais silvestres, que pode atingir o homem quando este entra em contato com os focos zoonóticos. Um exemplo típico desta forma é a que acontece na Amazônia, região Norte do Brasil.

**LT silvestre modificada** - ocorre através de surtos epidêmicos sazonais, em áreas com pequenos focos residuais de mata primária. A infecção ocorre na interface da área peridomiciliar e as áreas de mata, onde o homem costuma desenvolver atividades ligadas à agricultura. A infecção apresenta ciclos sazonais quando a densidade populacional do flebotomíneo vetor está elevada. Um exemplo desta forma de transmissão acontece no vale do São Francisco; município de Caratinga, Minas Gerais; Espírito Santo e na região de Corte de Pedra, Sul da Bahia.

**LT periurbana** - ocorre de forma endemoepidêmica, em áreas de colonização antiga, onde há a suspeita da participação de animais domésticos (cão doméstico e equinos) como reservatórios da infecção para vetor. Como exemplo desta forma de transmissão da LT, caberia mencionar a ocorrência de casos por *L.(V.)braziliensis* em áreas periurbanas da cidade do Rio de Janeiro, na região Sudeste do país.

No estado da Bahia, a região que melhor caracterizou o perfil epidemiológico da LT é o Sul do Estado, pois nas áreas de Três Braços e Corte de Pedra foi identificado predomínio do comprometimento do sexo masculino, faixa etária mais atingida entre 10 a 40 anos, sugerindo ainda um padrão de transmissão mais antigo, no qual o homem, indo às matas, expõe-se aos focos naturais da doença. Porém, esse padrão se mostra diferente em alguns momentos, onde os dados demonstram que a transmissão intra e peridomiciliar também ocorrem na região (COSTA, 1986; JONES *et al.*, 1987; COSTA, 2005). O vetor predominante nessa área da Bahia é o *L. whitmani*, porém *L. intermedia* também já foi capturado em áreas peridomiciliares (VEXENAT *et al.*, 1986; MIRANDA *et al.*, 2002). Em relação aos prováveis reservatórios, em um inquérito canino realizado em Três Braços – BA foi observado positividade de 3% no encontro de amastigotas, no exame direto de raspado de pavilhão auricular (BARRETO *et al.*, 1984; VEXENAT *et al.*, 1986).

No município de Jequié, Bahia, área de transmissão tanto de LV, quanto de LT, SANTOS *et al.*, 1993, descreveram o encontro de 79,9% dos casos de LT em maiores de 10 anos, com predomínio no gênero masculino (62,3% dos casos), similar aos dados de Três Braços, sugerindo ainda um padrão relacionado à maior exposição desse grupo à floresta. As alterações ambientais estão implicadas diretamente ao risco do homem adquirir a infecção, risco que é classicamente atribuído às formas de ocupação dos ambientes florestais como fator determinante de transmissão. Na atualidade, estas alterações ressurgiram com outra feição em áreas onde focos ativos da doença sobreviveram em pequenas matas residuais, havendo a urbanização da LT, com adaptação dos parasitas e vetores aos novos ambientes (SILVEIRA, 2004; COSTA, 2005).

## 1.2. COMPORTAMENTO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR COMO DOENÇA OCUPACIONAL NO BRASIL

No Brasil, desde o início da colonização, o processo de povoamento foi feito visando produzir mercadorias para serem exportadas e, entre essas, a de maior demanda no mercado internacional. O país integrou-se, deste modo, ao circuito do capital comercial europeu logo



após a sua ocupação pelos portugueses, a título de “colônia de exploração”, como fornecedor de alguns bens primários extrativos.

A partir do século XVI, o Brasil amplia a sua integração a esse circuito por meio de exportação de produtos agrícolas tropicais, iniciando com a cana de açúcar, seguida do café, cacau, dentre outros, passando a desenvolver um sistema monocultor de forma altamente ligada às grandes propriedades, às custas do desmatamento, da introdução de plantas exóticas e de formação de pastagens. Isto criou condições sociais adversas, como a exploração do trabalhador rural, principalmente dos chamados “sem terra” (COSTA, 1986; DOURADO *et al.*, 1989; COSTA *et al.*, 1998). Estes enfrentam dois problemas fundamentais: o primeiro, a modernização da produção que, em determinadas fases do cultivo, substitui o trabalhador pela máquina, enquanto, em outras, necessitado uso intensivo de mão-de-obra, por exemplo: na fase de desflorestamento, capina ou de colheita. Essa situação de intermitência no uso da força de trabalho incentiva a proliferação da forma de trabalho volante. O segundo problema refere-se à substituição de culturas de uso intensivo de mão-de-obra por pastagens ou lavouras mecanizadas. Assim, fazendas que ofereciam trabalho durante o ano inteiro para grande número de famílias passam a expulsá-las de suas terras por não necessitarem mais de sua mão-de-obra, fazendo com que as mesmas se desloquem para as pequenas e médias cidades (ARAUJO FILHO, 1981; DOURADO *et al.*, 1989; COSTA *et al.*, 1998.; MEDEIROS *et al.*, 1999).

Esses trabalhadores compõem, historicamente, a população de maior incidência de LT. Esta doença, que ocorre na faixa etária mais produtiva (entre 20 a 50 anos), causa sérios prejuízos à economia do país pela perda temporária ou mesmo permanente de mão-de-obra. Porém, causa prejuízos mais sérios ao trabalhador que, ao pertencer a uma classe sócio-econômica menos favorecida, tem chances reduzidas de prevenção ou de tratamento, devido à oportunidade escassa de obter um diagnóstico rápido (antes da evolução da doença para formas desfigurantes e crônicas) e condições menores de se submeter ao tratamento, que é dispendioso e frequentemente obriga o indivíduo a suspender o próprio emprego por várias semanas (COSTA, 1986; DOURADO *et al.*, 1989; COSTA *et al.*, 1998; FOLLADOR *et al.*; 1999; MEDEIROS *et al.*, 1999; BRASIL, 2007).

Outra situação desconfortável são os indivíduos que desenvolvem atividades dentro das florestas e delas extraem matéria-prima, como os extratores de látex de borracha da região amazônica. Observa-se, nesta região, um processo de desenvolvimento rápido, acarretando a exploração e clareamento de imensas áreas florestais virgens para a instalação de projetos agropecuários, construção de estradas e mineração (ARAUJO FILHO, 1981). As perspectivas

de controle da doença na região são complexas em função da mesma comportar-se como uma zoonose, sendo o homem apenas hospedeiro acidental.

A doença ocorre em indivíduos que trabalham nas áreas florestais, especialmente naquelas envolvidas em atividades de desmatamento, às vezes se comportando como (BRASIL, 2007) doença ocupacional. Por tratar-se de matas densas de áreas tropicais chuvosas, o conhecimento da biologia e dos hábitos de alimentação das várias espécies de vetores flebotomíneos poderá contribuir para a prevenção da infecção. Outra possibilidade seria o desenvolvimento de vacinas e a utilização dos cuidados individuais, que é de difícil implementação na prática (SILVA *et al.*, 1979; ARAUJO FILHO, 1981; MARTINS *et al.*, 2004; CHAGAS *et al.*, 2006).

### 1.3. ASPECTOS IMUNOLÓGICOS

A *Leishmania* é um parasita intracelular obrigatório de macrófagos que escapa dos mecanismos oxidantes destinados a destruir o microrganismo. A falha desses mecanismos nos macrófagos já foi reportada em vários estudos, indicando que a incapacidade efetora dos macrófagos está relacionada com vários mecanismos de ativação da imunidade celular, como: apresentação de antígeno, diferenciação de linfócito T, produção de citocinas e, por fim, ativação dos macrófagos como células efetoras. O mecanismo eficiente utilizado pela *Leishmania* na inativação macrofágica que influencia o padrão de resposta da célula T é desconhecido (BADARÓ *et al.*, 1986; CARVALHO *et al.*, 1987; SCOTT *et al.*, 1991; DIAZ *et al.*, 2006).

A resposta imune tem papel fundamental na defesa contra agentes infecciosos e no controle da ocorrência de infecções disseminadas, associadas geralmente com alto índice de mortalidade. Embora a resposta imune seja fundamental na defesa contra a maioria de agentes infectantes, evidências têm mostrado que em muitas doenças infecciosas os principais aspectos patológicos não estão relacionados com uma ação direta do antígeno, mas sim pela interação entre o antígeno com o sistema imune do hospedeiro, causando danos tecidual (LOUZIR *et al.*, 1998; BRANDONISIO ano *et al.*, 2004; CASTELLANO, 2005).

O macrófago é uma célula importante na defesa contra antígenos intracelulares. Após serem ativados pelos linfócitos T auxiliares (helper), eles se tornam a principal célula efetora na eliminação das formas amastigotas da *Leishmania* (CABRERA *et al.*, 1995; BITTENCOURT e BARRAL-NETTO, 1995; BRASIL, 2007; HOSEINHI *et al.*, 2012).

O sistema imune comunica-se através da secreção de citocinas caracterizadas como moléculas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, produzidas e secretadas por linfócitos Th1

(linfócitos T helper tipo 1), tais como: fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina (IL)-2 (IL-2) e interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) e as secretadas pelas células Th2 (linfócitos T helper tipo 2), tais como: IL-4 e IL-6. Dentre estas citocinas secretadas pelos linfócitos, o TNF- $\alpha$  e o IFN- $\gamma$  têm demonstrado possuir um importante papel no controle das infecções (COLMENARES *et al.*, 2002; VANNIER-SANTOS *et al.*, 2002; DE MOURA *et al.*, 2005; BRASIL, 2007), através da indução da produção de óxido nítrico e produtos do metabolismo oxidativo, dois componentes importantes para a destruição da *Leishmania*, sugerindo que pacientes com níveis elevados destas citocinas possam ter uma melhor chance de cura (SCOTT *et al.*, 1991; KAYE, *et al.*, 1994; GOMES *et al.*, 1998).

Acredita-se que a evolução para cura espontânea nos casos iniciais e nos que desenvolvem úlceras francas, deva-se à presença de resposta imunecelular (COSTA *et al.*, 1992; COSTA *et al.*, 1995). Ao contrário, nos indivíduos que desenvolvem a forma cutânea difusa (LCD), há ausência de resposta celular *in vivo* - ausência de resposta de hipersensibilidade tardia ao antígeno de *Leishmania* - e *in vitro*- linfoproliferação deficiente e ausência de produção de IL-2 e IFN- $\gamma$  e ativação policlonal de linfócitos B (BARRAL *et al.*, 1995; BOMFIN *et al.*, 1996).

### 1.3.1. Imunidade Especifica nas Leishmanioses

Após a transmissão de promastigotas de *Leishmania spp.* pelo inseto vetor, a resposta imune específica e inespecífica do hospedeiro vertebrado são responsáveis pela evolução ou controle da doença. O controle exercido pela resposta imune específica é objeto de estudos pormenorizados nos modelos experimentais de LC e LV, mas principalmente na LC, utilizando *Leishmania major*.

Nas leishmanioses, em geral, a resposta imune celular é considerada a mais importante tanto na resistência quanto na suscetibilidade. Na LC experimental em camundongos isogênicos infectados com *L.(L) major* foi estabelecido um paradigma vinculado a subpopulação de linfócitos T CD4<sup>+</sup> produzindo principalmente IFN- $\gamma$  (denominada T “helper” 1 = Th1) à resistência e a de T CD4<sup>+</sup> produzindo principalmente IL-4 e IL-10 (denominada T “helper” 2 cells = Th2) à suscetibilidade. A importância de linfócitos T CD8<sup>+</sup> na resistência somente foi definida recentemente. Quanto às citocinas envolvidas, a importância de interferon- gama (IFN- $\gamma$ ) é reforçada no mecanismo de resistência, tanto como ativador eficiente de macrófagos, quanto como fator que direciona a diferenciação de linfócitos T “helper” não diferenciados (denominado T “helper” 0 = Th0) para Th1, com a participação de interleucina (IL-12) e células “natural killer” (NK) e com participação central de T-bet, um

fator de transcrição T-box, neste processo. Por outro lado, IL-4, IL-13, e IL-10 estão ligadas à suscetibilidade ou persistência da infecção, esta última ligada à ativação de células T regulatórias CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> (SACKS e NOBAN-TRAUTH, 2002).

Na LC por *L. amazonenses*, além da diferença nas linhagens que são suscetíveis ou resistentes à infecção, os linfócitos TCD4<sup>+</sup> são os responsáveis pelo desenvolvimento da lesão (SOONG *et al.*, 1997; TERABE *et al.*, 2000) e na interação de macrófagos com *L. amazonenses*, por exemplo, IFN- $\gamma$  ativa estas células para matar promastigotas, mas, esta citocina promove crescimento de amastigotas no seu interior (QI *et al.*, 2004).

A participação de linfócitos B e de imunoglobulinas na suscetibilidade ou resistência nas leishmanioses nunca foi muito clara, mas, atualmente existem dados mais consistentes que indicam a sua participação como fator de suscetibilidade. Os animais depletados ou deficientes em linfócitos B são resistentes à leishmaniose (SACKS *et al.*, 1984; SMELT *et al.*, 2000; SACKS e NOBAN-TRAUTH, 2002.) e se tornam suscetíveis quando se transferem linfócitos B, havendo ainda estudos indicando que é a imunoglobulina, produto dos linfócitos B, o fator de suscetibilidade (KAYE *et al.*, 1984; KIMA *et al.*, 2000).

#### 1.4. ESTADO NUTRICIONAL E RESPOSTA IMUNOLÓGICA

A nutrição é a soma dos processos envolvidos na ingestão, assimilação e utilização de alimentos para a manutenção corporal e armazenamento de energia. Os nutrientes são substâncias que constituem ou integram os alimentos responsáveis por várias funções vitais e básicas, como manutenção e construção dos tecidos corporais, regulação dos sistemas metabólicos e produção de energia para o funcionamento orgânico.

A nutrição estuda os alimentos, micronutrientes, macronutrientes e o próprio ato de se alimentar. Um dos grandes problemas na determinação do estado nutricional é classificar o tipo de desnutrição, uma vez que esta tem causas diversas. Além disso, os padrões utilizados para classificação do estado nutricional baseia-se em índice de referência mundial, o que pode não estar refletindo a realidade local, devido às diferenças culturais (DYE e WILLIAMS, 1993; CHANDRA e KUMARI, 1994).

A desnutrição grave pode apresentar-se como marasmo (deficiência calórica) ou Kwashiorkor (deficiência proteica). A obtenção e a manutenção de um peso apropriado para altura, sexo, idade e atividade laboral durante o período da vida de um indivíduo é importante para evitar problemas de saúde, bem como para o desenvolvimento cognitivo (DILLINGHAM e GUERRANT, 2004). A desnutrição predispõe a uma série de complicações graves que incluem câncer, infecções crônicas, doenças endócrinas e

autoimunes, tendência à infecção, deficiência de cicatrização de feridas, falência respiratória, insuficiência cardíaca, diminuição da síntese de proteínas no nível hepático com produção de metabólitos anormais, diminuição da filtração glomerular e da produção de suco gástrico (VICTORIA *et al.*, 1986; TONIAL e SILVA, 1997; ACUÑA E CRUZ, 2004).

De acordo com Chandra (1997), a desnutrição proteico-calórica está associada com falha significativa da resposta imune mediada por células, além da função fagocitária, do sistema complemento, da concentração de IgA secretada e da produção de citocinas. Deficiências de um único nutriente, como zinco (Zn), selênio (Se), ferro (Fe), cobre (Cu), vitaminas A, C, E, B6 e ácido fólico, têm resultado em alteração da resposta imune. De um modo geral, déficits imunes correlacionam-se bem com mudanças observadas no tamanho do timo e linfonodos de crianças e adultos com desnutrição. Tais alterações ocorrem devido à diminuição do número de células imunes (CHANDRA, 1997; MOCHEGANI e MUZZIOLI, 2000; RINK e KIRCHNER, 2000; PRASAD, 2000).

Na imunidade inata, a desnutrição resulta em defeitos na ativação do complemento e das funções de neutrófilos polimorfonucleares (PMN), além da diminuição da atividade NK em crianças com Kwashiorkor e marasmo (SANTOS *et al.*, 2000; SANTANA, 2004). Na adquirida, a resposta imune celular parece ser o componente da imunidade mais frequentemente afetado. Anormalidade na hipersensibilidade cutânea tardia para uma variedade de antígenos dependentes de células T tem sido demonstrada em crianças desnutridas. A atividade tímica também encontra-se comprometida pela redução da atividade da timulina, hormônio tímico responsável pela maturação e ativação de células T (PRASAD, 1995; CHANDRA, 1997; KOCYIGIT *et al.*, 1998; FRAKER *et al.*, 2000).

A vitamina A é considerada anti-infecciosa e sua deficiência está associada a um risco maior de infecções graves, como foi demonstrado em estudo realizado com crianças portadoras de LV nas quais o nível de vitamina A, encontrava-se diminuído quando comparado indivíduos controles da área endêmica (KAGER *et al.*, 1986; EVANS *et al.*, 1992; CALDAS, 1998; LUZ *et al.*, 2001).

O Zn é um micronutriente importante para o sistema imune e a sua deficiência leva à falha da resposta imune. O papel deste elemento está bem reportado na Acrodermatite Enteropática, uma doença hereditária recessiva rara, onde a má absorção de Zn leva à sua deficiência, tendo como consequência, atrofia tímica, aumento da frequência de infecções bacterianas, virais e fúngicas; e se não tratada, torna-se uma doença letal em alguns anos. Foi ainda observada diminuição de Zn no soro de pacientes com doenças infecciosas e com

doenças inflamatórias crônicas (PRASAD *et al.*, 1983; BREWER *et al.*, 1998; PRASAD, 2000; SCHILSKY, 2002).

Estudos realizados em áreas de ocorrência de LT causada por *L. major* no Iraque demonstraram que a diminuição na concentração de alguns micronutrientes (Zn, Cu, Fe) funcionaria como um dos fatores de risco associados ao desenvolvimento das formas cutâneas endêmicas (KOCYGIT *et al.*, 1998; SHARQUIE *et al.*, 2001). No Brasil, Weyenbergh *et al.* (2004) demonstraram a diminuição significativa de Zn plasmático em três grupos de pacientes, quando comparados a indivíduos controles. Porém, apenas nos pacientes com LV e LM foi observada uma deficiência aguda de Zn, nos pacientes com a forma LCL observou-se apenas diminuição nos níveis de Zn. Os níveis de Cu estavam aumentados nos pacientes com LCL e LV, mas não em pacientes com a forma mucosa, e correlacionaram-se significativamente com IgG anti-*Leishmania*. A razão Cu/Zn esteve elevada em pacientes com deficiência na resposta imune (LV<<LCL<LM) e exacerbada na resposta imune humoral (LV>LCL>LM). Estes dados mostraram que a deficiência de Zn na LV e LM é um indicativo da possibilidade de administração terapêutica desse micronutriente nas formas graves da leishmaniose, e que o aumento da razão Cu/Zn pode ser um marcador de disfunção nessa parasitose (Weyenbergh *et al.*, 2004)

Estudo realizado com pacientes turcos demonstrou baixos níveis séricos diminuídos de Zn e Fe, ambos corrigidos após tratamento com Sb<sup>+5</sup> (KOCYGIT *et al.*, 1998). Essa diminuição e possivelmente a deficiência de Zn durante o processo patológico é um assunto de interesse, considerando que o Zn seja essencial para o funcionamento da imunidade celular (CHANDRA, 1997). Assim, tanto em pacientes como em modelos animais para leishmaniose, a imunidade celular é capaz de conferir proteção, enquanto que a ativação da imunidade humoral correlaciona-se com susceptibilidade e progressão da doença. Por outro lado, a aplicação terapêutica do Zn (na forma oral) foi benéfica na LC no Velho Mundo mesmo na ausência de deficiência de Zn (SHARQUIE *et al.*, 2001).

## 1.5. TESTES DIAGNÓSTICOS

Para o diagnóstico laboratorial da infecção por *Leishmania spp.*, podem ser realizados métodos diretos e indiretos. Os métodos diretos são: esfregaço de material coletado da borda interna da lesão, isolamento de *Leishmania* utilizando meio de cultura específico como, por exemplo, NNN (Nicolle, Novy e McNeal), isolamento do parasito através de inoculação em animais suscetíveis (Hamsters *mesocricetus auratus*) e a demonstração no exame histopatológico da presença do parasito (CUBA CUBA *et al.*, 1984; de MOURA *et al.*, 2005;

BRASIL 2007<sub>b</sub>). Como métodos indiretos, temos: teste de hipersensibilidade tardia (reação de Montenegro ou teste de intradermorreação de Montenegro/IDRM) e o teste sorológico que tem por finalidade demonstrar anticorpos circulantes através das técnicas de imunoflorescência (IFI) e/ou ELISA (CUBA *et al.*, 1984; SHAW e LAINSON, 1987; BRASIL 2007<sub>b</sub>; WHO, 2010).

A intradermorreação de Montenegro (IDRM) foi descrita em 1926 e auxilia no diagnóstico da infecção e/ ou doença LT. O teste é feito através da inoculação de 0,1 ml de antígeno solúvel obtido de promastigotas de *Leishmania spp.* Após a inoculação, é realizada a leitura em 48-72 horas. Quando a área de endureção é  $\geq 5$ mm é considerada positiva (PESSOA, 1948; CUBA *et al.*, 1978; WHO, 2007; WHO, 2010). Desde então, várias pesquisas foram realizadas para estudar a sensibilidade e especificidade do teste, variando de 82,4% nos estudos de SHAW e LAINSON (1987) e até 100% nos de NASCIMENTO *et al.*, (1993). O papel do IDRM (+) em indivíduos sem história de LT e sem qualquer lesão suspeita, em área endêmica, levanta a possibilidade de formas abortivas e infecções sub-clínicas (leishmaniose-infecção), sendo que na literatura esses valores variam de 2,2 a 62,5% (GUEDES *et al.*, 1990).

Na Bahia essa taxa de sadios com IDRM positiva em área endêmica, é de 10%(MARTINS-NETTO, 1990). Estas diferenças dependem da população em estudo, do preparo do antígeno e de técnicas de leitura (MARTINS NETTO, 1990; GUEDES *et al.*, 1990). A possibilidade de falsos positivos existe, mas é pouco provável face a alta sensibilidade e especificidade, podendo haver reação cruzada em indivíduos com LV e doença de Chagas (MARTINS NETTO, 1990; GUEDES *et al.*, 1990).

Guedes *et al.* (1990), relataram ainda ser a IDRM, uma reação de imunidade celular, biológica grupo-específica e com elevada sensibilidade, revelando-se mais intensa nos casos antigos e naqueles com comprometimento mucoso. O mesmo autor ressalta que a positividade tende a persistir, pois sendo uma reação de hipersensibilidade seria remota sua negatificação, o que em área endêmica pode levar a interpretações errôneas no diagnóstico diferencial de outras dermatoses.

## 1.6. TRATAMENTO

O tratamento da LT ainda precisa de muitos avanços, a droga de primeira escolha recomendado pela OMS e o Ministério da Saúde do Brasil são os antimoniais pentavalentes: antominiato-N-metilglucamina, nome comercial (Glucantime<sup>®</sup>) e o estibogluconato de sódio (Pentostam<sup>®</sup>), (MARSDEN, 1986; PAES e SILVA, 1999; BRASIL, 2007<sub>b</sub>).

Visandopadronizar o esquema terapêutico a OMS recomenda que a dose doantimonial seja calculada em mg/Sb<sup>+5</sup>/Kg/dia. (Sb<sup>+5</sup> = antimônio pentavalente), (MS, BRASIL, 2007<sub>b</sub>; WHO, 2007; 2010).

O Ministério da Saúde recomenda que para as lesões cutâneas localizadas (LCL) e disseminadas (LD), sejam utilizadas 15mg/Sb<sup>+5</sup>/kg/dia, durante 20 dias seguidos. Na forma cutânea difusa (LCD), embora as recidivas sejam invariavelmente frequentes, a dose é de 20 mg/Sb<sup>+5</sup>/kg/dia/30 dias seguidos. Lesões mucosas (LM), 20 mg/Sb<sup>+5</sup>/kg/dia/30 dias seguidos. A aplicação dos antimoniais deve ser por via intramuscular (IM) ou endovenosa (EV) (BRASIL, 2007<sub>b</sub>; SALDANHA *et al.*, 2009).

Os antimoniais pentavalentes são contra indicados em casos de: gravidez, diabetes, nefropatias com insuficiência renal, hepatopatias, chagásicos, pacientes em tratamento para tuberculose pulmonare cardiopatas (ZAJTCHUK *et al.*, 1989; SALDANHA *et al.*, 1999; LIMA *et al.*, 2007; BRASIL, 2007<sub>b</sub>).

Em caso de pacientes impossibilitados de usarem estas medicações, devem ser indicadas as drogas de segunda escolha: Anfotericina B e Pentamidinas.

A Anfotericina B, é um antibiótico poliênico de reconhecida ação leishmanicida. Considerada mais eficaz que os antimoniais no tratamento das lesões mucosas, apresentado comercialmente em frasco de 50mg (Fungizone<sup>®</sup>), uso EV. A dose inicial de 0,5mg/kg/dia deve ser aumentada gradativamente, conforme a tolerância do paciente, até 1mg/kg/dia. A administração deve ser feita em dias alternados, respeitando-se o limite máximo de 50mg (1 frasco) por aplicação, até a dose total de 1 a 1,5g para LC e de 2,5 a 3g para LM ou LCM (LIMA *et al.*, 2007; MS, BRASIL, 2007).

A Pentamidina é comercializada sob a forma de isotionato, em frascos que contêm 300mg. Poucos estudos foram realizados nas Américas utilizando as Pentamidinas na terapêutica da LT. A dose preconizada é de 4mg/kg/dia, por via IM profunda, de 2 em 2 dias, recomendando-se não ultrapassar a dose total de 2g (CROFT *et al.*, 1982; DONNELLY *et al.*, 1988; BRASIL, 2007<sub>b</sub>). Outras drogas têm sido utilizadas, com resultados variados, como Cetoconazol, Itraconazol, Alopurinol, Nifurtimox, Miltefosine, Fluconazol, Paramomicina e Imiquimod, entretanto, faz-se necessários mais estudos sobre essas drogas na leishmaniose (OLLIARO *et al.*, 1993; BARRAL-NETO *et al.*, 1995; LIMA *et al.*, 2007; BRASIL, 2007<sub>b</sub>; WHO, 2010).



## 1.7. PERSPECTIVAS DE CONTROLE

O controle da LT deve ser abordado, de maneira abrangente, sob cinco aspectos: vigilância epidemiológica, medidas de atuação na cadeia de transmissão, medidas educativas, medidas administrativas e vacina. A vigilância epidemiológica abrange desde a detecção do caso, a sua confirmação, o registro de sua terapêutica, o registro das variáveis básicas, fluxo de atendimento e informação, até finalizar com as análises de dados distribuídos em indicadores epidemiológicos (casos autóctones em valores absolutos e os coeficientes gerais e proporcionais) e indicadores operacionais (proporção de métodos diagnósticos auxiliares, cura, abandono e tratamento regular), visualizando e caracterizando a distribuição da doença e de seu perfil. As medidas de atuação, em virtude de suas peculiaridades, devem ser flexíveis e distintas, baseadas nas características epidemiológicas em particular, aliadas a um sistema de saúde básico capacitado para diagnóstico precoce e tratamento adequado (SOSA-ESTANI *et al.*, 2001; BRASIL, 2007; SILVA e CUNHA, 2007; WHO, 2010).

Nas áreas de maior incidência, as equipes do Programa Saúde da Família podem ter importante papel na busca ativa de casos e na adoção de atividades educacionais junto à comunidade. Nas áreas de perfil periurbano ou de colonização antiga deve-se tentar a redução do contato vetorial através de inseticidas de uso residual (onde houver a notificação de casos em menores de 10 anos), do uso de medidas de proteção individual como mosquiteiros, telas finas nas janelas e portas, repelentes e roupas que protejam as áreas expostas, e de distanciamento mínimo de 200 a 300 metros das moradias em relação à mata. Outra estratégia de controle seria a abordagem dos focos de transmissão peridomiciliar, implementando as condições de saneamento para evitar o acúmulo de lixo e de detritos que possam atrair roedores e pequenos mamíferos, somadas as melhorias das condições habitacionais (BARROS *et al.*, 1985; BRASIL, 2007<sub>a</sub>; WHO, 2007). Aliadas a estas medidas deveriam ser valorizadas as atividades de capacitação continuada dos profissionais de saúde em todos os seus níveis.

## 2 HIPOTESE DO ESTUDO

A hipótese de nosso estudo é que a progressão infecção-doença na LT depende da combinação de múltiplos fatores: a) resposta imune (humoral e celular) contra a *Leishmania spp.*; b) papel de diferentes micronutrientes (Zn, Cu e Fe) na resposta imune influenciando a infecção pela *Leishmania spp.*, ou a progressão para a LT.

### 3 JUSTIFICATIVA

Uma justificativa relevante no que diz respeito à progressão infecção-doença na LT, esta relacionada às alterações ambientais, as quais implicam diretamente no risco do homem adquirir a infecção por *Leishmania spp*, pois classicamente, atribui-se às formas de ocupação dos ambientes florestais como fator determinante na aquisição da mesma. Na atualidade, estas alterações ressurgiram com outra feição em áreas onde focos ativos da doença sobreviveram em pequenas matas residuais, havendo a urbanização da LT, com adaptação dos parasitas e vetores aos novos ambientes (MARZOCHI, 1997; MARTINS *et al.*, 2004; COSTA 2005). Assim, dirigiremos a nossa justificativa para cada uma dos itens relacionados à nossa hipótese.

**Resposta imune do hospedeiro (imunidade humoral):** Os títulos de anticorpos anti-*Leishmania* não parecem se correlacionar com a proteção do indivíduo ou a sua susceptibilidade à leishmaniose. Os testes sorológicos (Imunofluorescência indireta/IFI e o Enzyme linked Immunosorbant Assay /ELISA) são eficazes na detecção de anticorpos nos indivíduos infectados e em pacientes com a doença LT, podendo apresentar reação cruzada com outras infecções e/ ou doenças como a tripanossomíase americana (doença de Chagas), bem como infecções por tripanossomatídeos não patogênicos (BRASIL, 2007<sub>b</sub>; WHO, 2007; WHO, 2010). Em nosso estudo foi utilizado mais como um indicador epidemiológico de infecção (BITTENCOURT, 1995; CALDAS 1998; CALDAS *et al.*, 2002).

**Resposta imune do hospedeiro (imunidade celular):** A IDRMM representa é o principal exame complementar para o diagnóstico da LT em nosso meio. É uma reação de hipersensibilidade tardia, possui sensibilidade variando entre 86 e 100% e especificidade de aproximadamente 100%, o que a consagrou como uma das provas mais usadas na confirmação da doença ativa, no diagnóstico retrospectivo e em inquéritos epidemiológicos de LT (PESSOA e PESTANA, 1941; IZAZA, 1980; MARZOCHI *et al.*, 1980; FOLLADOR *et al.*, 1999). Uma IDRMM positiva em indivíduos de áreas endêmica sem história de LT e sem qualquer lesão suspeita aponta para a possibilidade de formas abortivas ou infecções subclínicas (GUEDES *et al.*, 1990).

**Papel dos micronutrientes na resposta imune do hospedeiro** - O estudo do papel do “Zn” nas leishmanioses se deve a associação deste micronutriente com a resposta imune celular, que é requerida para a proteção contra doenças infecciosas e parasitárias. Estudos prévios em nosso laboratório (dados não publicados) demonstraram que concentrações fisiológicas de “Zn” exercem atividade leishmanicida em monócitos e macrófagos humanos

infectados por *L. amazonensis in vitro*, sugerindo e reforçando um papel protetor do “Zn” contra as leishmanioses humana. Além disso, observa-se que populações expostas aos flebotomíneos são aquelas que estão frequentemente associadas a níveis baixos de desenvolvimento socioeconômico, incluindo saneamento básico, acesso à educação e atenção à saúde básica, entre outros fatores (FALQUETO *et al.*, 1986; NUNES *et al.*, 2006).

No Brasil, SANTANA (2003), investigou os níveis de zinco (Zn), ferro (Fe) e cobre (Cu) em diferentes formas clínicas das leishmanioses (LT e LV), e sua possível correlação com a resposta imune humoral e/ou celular contra a *Leishmania spp.*, WEYENBERGH *et al.* (2004) demonstraram a diminuição significativa de Zn plasmático em três grupos de pacientes, quando comparados com controles. Porém, apenas nos pacientes com LV (7/10) e LM (1/7) foi observada uma deficiência aguda de Zn. Os níveis plasmáticos de Cu estavam aumentados nos pacientes com LCL e LV, mas não em LM, e correlacionaram-se significativamente com IgG anti-*Leishmania*. A razão Cu/Zn foi elevada em pacientes com deficiência na resposta celular (LV < LCL < LM) e exacerbada na resposta imune humoral (LV > LCL > LM), mostrando que a deficiência de Zn, na LV e LM é um indicativo da possibilidade de administração terapêutica de Zn nessas formas graves das leishmanioses, e que o aumento da razão Cu/Zn pode ser um marcador de disfunção imune nas leishmanioses.

O nosso estudo justifica-se em tentar estabelecer o perfil epidemiológico das áreas endêmicas para LT, analisar os mecanismos moleculares e celulares pelos quais o Cu, Zn e o Fe, influenciariam na resposta imune contra *Leishmania spp.*, e por consequência, na evolução clínica da LT. Além de aprofundar nossos conhecimentos sobre a patogênese da doença. O estudo desses metais e das metaloproteínas associadas, deve abrir perspectivas para a identificação de novos alvos moleculares para o diagnóstico/ e ou estratégias terapêuticas das diversas formas clínicas da LT, podendo inclusive ser uma alternativa válida e segura para auxiliar na terapia convencional por não ser tóxico, reduzir os níveis de Cu e prevenir reacumulação de Cu nos tecidos como já foi descrito na Doença de Wilson (BREWER *et al.*, 1998; SCHILSKY *et al.*; 2002), bem como prevenir o desenvolvimento da doença em indivíduos apenas infectados, e que apresentem um quadro de desnutrição.

Este estudo é, portanto, uma abordagem mais abrangente de vários aspectos relacionados à saúde da população, como fatores causais associados à infecção por *Leishmania spp.*, em indivíduos da área endêmica de São Gonçalo (Povoado de Contendas do Sincorá) e Florestal (Distrito de Jequié), municípios do Estado da Bahia.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Analisar os mecanismos moleculares e celulares pelos quais os micronutrientes, Zinco (Zn), Cobre (Cu) e Ferro (Fe) influenciam na resposta imune contra *Leishmania spp.* e, por consequência, na evolução clínica da doença.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar se aspectos epidemiológicos, sociais, econômicos e educacionais interferem na exposição humana ao parasita *Leishmania spp.*, no processo da infecção e/ou progressão da doença nas áreas endêmicas de São Gonçalo (Município de Contendas do Sincorá) e Florestal (Município de Jequié), Bahia;
- Estimar a prevalência e incidência de infecção por *Leishmania spp.*, utilizando métodos de diagnóstico para imunidade celular (IDRM) e humoral (ELISA), “*in vivo*” nas comunidades estudadas;
- Avaliar e quantificar a concentração plasmática dos micronutrientes Zn, Cu e Fe, além das metaloproteínas associadas: Fosfatase alcalina (FA), Ferritina, Metalotioneína e Ceruloplasmina; como marcadores de carência nutricional nas populações estudadas; e se alterações nas concentrações desses metais pode apontar para uma susceptibilidade maior à infecção e /ou progressão da LT;
- Analisar a possível associação entre os níveis dos micronutrientes Zn, Cu e Fe e/ou Metaloproteínas com os parâmetros imunológicos e clínicos dos grupos estudados.

## 5 METODOLOGIA

### 5.1 ÁREAS DE ESTUDO

Após análise dos dados do Ministério da Saúde (MS), Secretaria de Saúde do Estado da Bahia/ (SESAB), e do Centro de Referência em Doenças Endêmicas Pirajá da Silva(CERDEPS/PIEJ)-SESAB/Bahia, identificou-se como áreas ideais para o desenvolvimento do nosso estudo a região Sudoeste compreendendo o Povoado de São Gonçalo (Município de Contendas do Sincorá) e o Distrito de Florestal (Município de Jequié, Bahia).

#### 5.1.1 Povoado de São Gonçalo (Município de Contendas do Sincorá – Bahia)

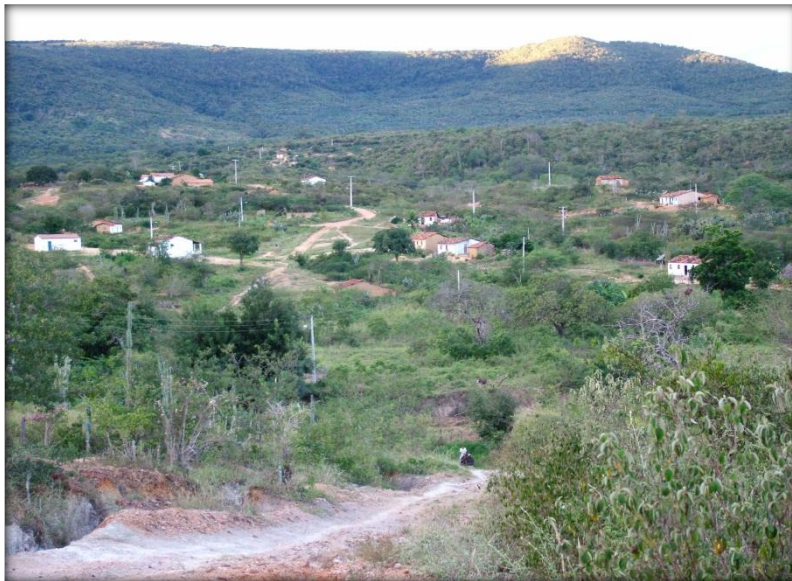
O Povoado de São Gonçalo pertence ao município de Contendas do Sincorá, situado na região Centro-Sul do Estado, considerado remanescente de antigo quilombo, localizando-se a 26 km da sede do Município. Apresenta altitude de 291m acima do nível do mar, população estimada de 200 habitantes (Mapa 2, Figuras 1, 2). As atividades agrícolas concentram-se nas plantações de mandioca, feijão, café. O difícil acesso ao Distrito, à falta de saneamento básico, o abastecimento de água por poço artesiano e a falta de iluminação pública constituem fatores que contribuem para que a maior parte da população residente na área rural sofra as consequências da pobreza em que vive. Nos anos de 2000 a 2001, ocorreu um surto epidêmico de LT na comunidade, quando aproximadamente 12% da população teve a doença cutânea (LC). Todos foram diagnosticados e tratados no CERDEPS / PIEJ – Jequié / Bahia.



**Mapa 2: Localização geográfica do município de Contendas do Sincorá, Bahia, um dos locais onde foi desenvolvido o estudo.**



**Figura 1: Povoado de São Gonçalo (Município de Contendas do Sincora), um dos locais estudados. Aspectos da vegetação rasteira, com arbustos e montanhas nas cercanias.**



**Figura 2: Povoado de São Gonçalo (Município de Contendas do Sincora), um dos locais estudados. Aspectos das residências, da vegetação nos arredores das casas, e no fundo cadeia de montanhas.**







**Figura 3: Aspecto de uma moradia encravada em clareira aberta na mata.**



**Figura 4: Núcleo habitacional do Distrito de Florestal (Jequié).**

## 5.2 Tipo de Estudo

Foi realizado um estudo analítico de coorte prospectiva com base populacional, desenvolvido no período de 2004 à 2011 em duas etapas, sendo no Povoado de São Gonçalo (Município de Contendas do Sincorá – Bahia) no período de 2004 a 2005 num intervalo de 9 meses entre a primeira e a segunda etapa, e no Distrito de Florestal (Município de Jequié – Bahia) o estudo foi realizado no período de 2006 à 2011 com a primeira etapa ocorrendo em 2006 e a segunda etapa em 2011 num intervalo de 5 anos entre a primeira e a segunda etapa.

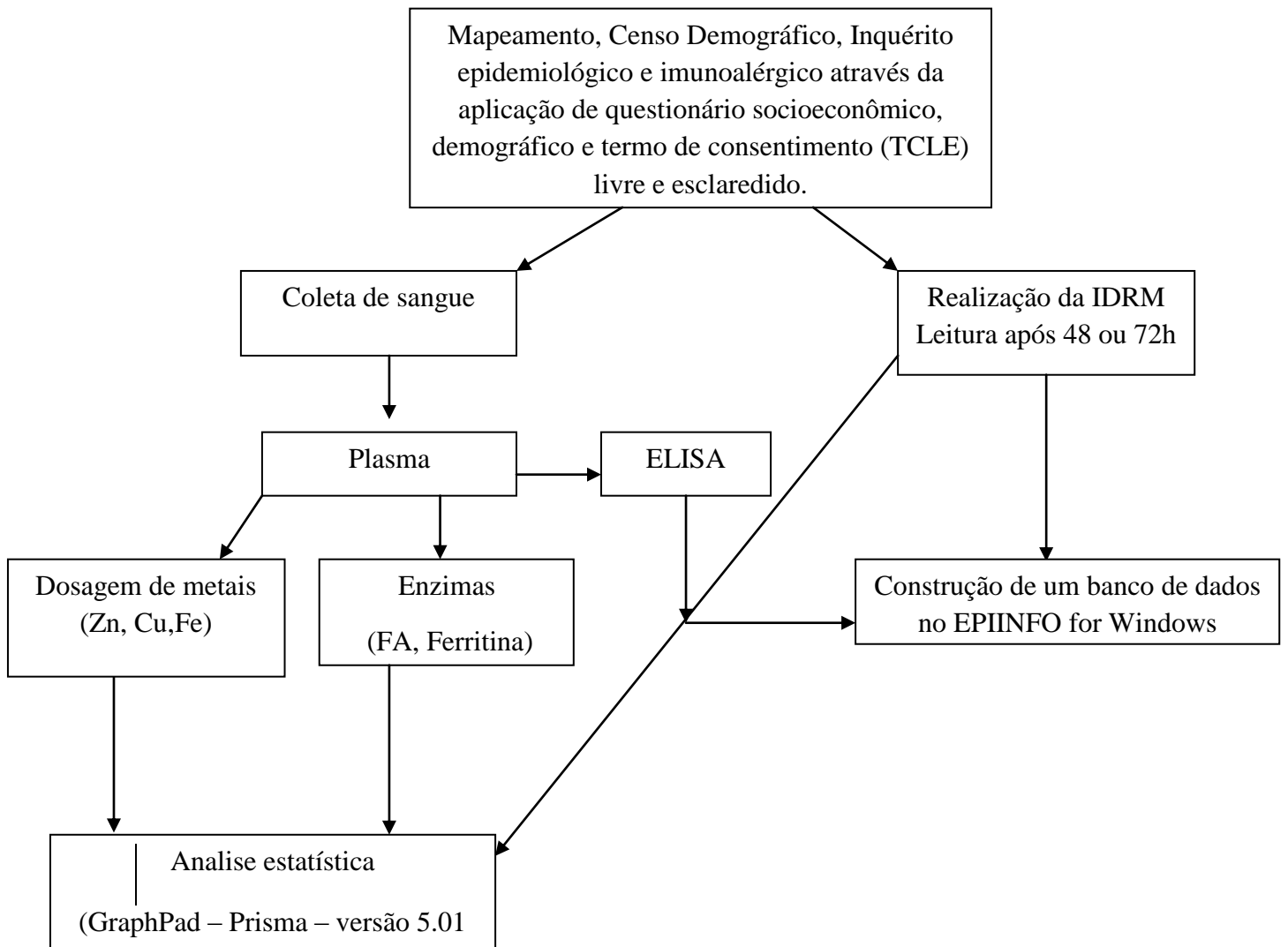
### **1ª etapa: nesta etapa o estudo foi delineado da seguinte maneira:**

Estudo de coorte transversal: realizou-se um inquérito epidemiológico e imunoalérgico, através da aplicação de uma ficha-questionário (contendo dados sócio-econômicos e demográficos) (anexo II) e realização de exames imunológicos (intradermorreação de Montenegro/IDRM), sorológico (Enzyme Linked Immunosorbant Assay/ELISA) e coleta de sangue que nos permitiu calcular a prevalência inicial da infecção por *Leishmania spp.* Após coleta de sangue foi feita a separação dos plasmas e esses foram aliquotados em tubos de criopreservação e armazenado em freezer – 20°C, utilizados posteriormente para dosagens dos micronutrientes (Fe, Cu, Zn) e das enzimas fosfatase alcalina e ferritina. A papa de célula foi fixada em trisol e armazenada em freezer – 20°C para posterior análise.

### **2ª etapa: nesta etapa o estudo foi delineado da seguinte maneira:**

Após 9 meses (Povoado de São Gonçalo) e 5 anos (Distrito de Florestal) da realização da 1ª fase, realizou-se novo inquérito imunoalérgico com a população estudada anteriormente, utilizando os mesmos exames imunológicos (IDRM e ELISA) e nova coleta de sangue, que nos permitiu calcular a prevalência final e incidência da infecção por *Leishmania spp.* Após coleta de sangue foi feita a separação dos plasmas e esses foram aliquotados em tubos de criopreservação e armazenado em freezer – 20°C, utilizados posteriormente para dosagens dos micronutrientes (Fe, Cu, Zn) e das enzimas fosfatase alcalina e ferritina. A papa de célula foi fixada em trisol e armazenada em freezer – 20°C para posterior análise.

## 5.3 DESENHO DO ESTUDO (QUADRO 2)



#### 5.4. DETALHAMENTO DO DESENHO DO ESTUDO

As populações estudadas foram selecionadas a partir dos dados do CERDEPS/PIEJ/SESAB-Bahia, referente aos anos de 2001 a 2005. Esses dados demonstraram que o Povoado de São Gonçalo foi responsável por 82,3% dos casos de LT no município de Contendas do Sincorá e que 55,2% dos casos de LT em Jequié foram oriundos do Distrito Florestal.

No Povoado de São Gonçalo (Contendas do Sincorá), fizemos um estudo populacional incluindo todos os moradores da região com residência de seis ou mais meses, tanto na primeira como segunda etapa do estudo. A população total do povoado foi de 172 habitantes. Destes, apenas 2 habitantes não participaram do estudo, sendo (N) total final = a 170. Um recusou-se a participar do estudo; o outro por ser menor de um ano de idade.

Já o Distrito Florestal encontra-se organizado por localidades e cada localidade é reconhecida por Fazenda. Para o nosso estudo, foram selecionadas seis localidades de acordo com dados epidemiológicos que apontavam a procedência dos casos de LT fornecidos pelo CERDEPS/PIEJ-SESAB. A população de Florestal é composta de 3.836 habitantes (IBGE, 2010), destes 578(15,1%) indivíduos faziam parte das localidades estudadas e 421(72,8%) participaram do estudo.

Após selecionarmos as áreas de estudo, foram realizados contatos com as lideranças de ambos locais, visita às localidades e posterior mapeamento (Anexo V), por um especialista de nossa equipe. Todas as residências foram identificadas e demarcadas. Foi realizado o Censo Populacional (CP), identificando o número de habitantes, nome, sexo e idade de acordo com a ficha epidemiológica (anexo I). As localidades do Distrito Florestal foram classificadas como Fazendas e os habitantes e participantes distribuídos conforme as tabelas (1, 2) abaixo:

**Tabela 1: População cadastrada na 1ª fase do estudo no Distrito Florestal (Município de Jequié - período 2006-2007)**

| <b>Localidade Florestal<br/>(nome da Fazenda)</b> | <b>Nº de habitantes<br/>(censo 2006-2007)</b> | <b>Nº de participantes<br/>(%)</b> |
|---|---|------------------------------------|
| Campo Largo e Campo Largo 1º                      | 272   | 190 (69,8%)                        |
| Água Vermelha                                     | 81  | 75 (92,5%)                         |
| Bateia  | 115   | 72 (62,6%)                         |
| Floresta  | 35  | 11(31,4%)                          |
| Beija-Flor  | 75  | 73 (97,3%)                         |
| Total   | 578(100%)                                     | 421 (72,8%)                        |

**Tabela 2: População cadastrada na 2ª fase do estudo no Distrito Florestal (Município de Jequié - período 2010-2011)**

| <b>Localidade Florestal<br/>(nome da Fazenda)</b> | <b>Nº de habitantes<br/>(censo 2010)</b> | <b>Nº de participantes</b> |
|---|--|----------------------------|
| Campo Largo e Campo Largo 1º                      | 250                                      | 198 (79,2%)                |
| Água Vermelha                                     | 62                                       | 39 (62,9%)                 |
| Bateia  | 86                                       | 74 (86,1%)                 |
| Floresta  | 26                                       | 15 (57,6%)                 |
| Beija-Flor  | 57                                       | 55 (96,4%)                 |
| Total   | 474(100%)                                | 381(78,9%)                 |

Após a conclusão do CP, realizou-se um inquérito epidemiológico e imunoalérgico nos indivíduos recenseados, sendo utilizados os seguintes exames: IDRМ, ELISA (a partir de 10 ml de sangue), dosagem dos metais zinco (Zn), cobre (Cu) e ferro (Fe), e as enzimas fosfatase alcalina (FA) e ferritina.

Para a realização do inquérito imunoalérgico (IDRM) e coleta de sangue para ELISA, contamos com uma equipe formada por profissionais de nível superior da área de saúde (enfermeiras, médico, biólogos) e técnicos de nível médio (técnicos de enfermagem e técnicos de campo), todos receberam treinamento para atuarem em suas respectivas funções: coleta de sangue, aplicação e leitura da IDRМ. O teste sorológico (ELISA/*Leishmania*) foi realizado no laboratório de imunoparasitologia (LIP) do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz (CPqGM/FIOCRUZ, Bahia), por técnico especializado na realização deste exame.

Os níveis plasmáticos de Zn, Cu e Fe foram determinados através de equipamento de espectrofotometria de absorção atômica, em colaboração com Dr. Marcos Bezerra, do Departamento de Química da Universidade Estadual da Bahia (UESB), Campus de Jequié - Bahia. As concentrações enzimáticas foram realizadas no Centro de Referência em Doenças Endêmicas Pirajá da Silva – CERDEPS/PIEJ-SESAB/Bahia em colaboração com o Farmacêutico Alan Patrício Souza.

Para o estudo imunoalérgico, 3 análises foram consideradas: uma retrospectiva com infecção prévia, e duas prospectivas, com desfechos “infecção” e “progressão-doença”. Para o desfecho “infecção”, os indivíduos analisados foram distribuídos em dois grupos: um grupo de indivíduos infectados IDRМ (+) e/ou ELISA p/*Leishmania* (+), um segundo grupo de indivíduos não-infectados IDRМ (-) e/ou ELISA p/*Leishmania* (-). Estes indivíduos foram seguidos em inquéritos e foi observado o desenvolvimento ou não da doença LT e ou para infecção, tivemos ainda um terceiro grupo formado pelos indivíduos que já tiveram a doença, após o término do estudo formamos três subgrupos: 1.1 – Novas infecções (formado pelos indivíduos não infectados IDRМ (-) e/ou ELISA p/*Leishmania* (-) na primeira etapa, mas,

IDRM (+) e/ou ELISA p/*Leishmania* (+) na segunda etapa); 1.2 – LTA (formado pelos indivíduos que já tiveram LTA); 1.3 – Não infectados ( formado pelos indivíduos IDRM (-) e/ou ELISA p/*Leishmania* (-) tanto na primeira quando na segunda etapas) no povoado de São Gonçalo, já no distrito de Florestal difere apenas no grupo 1.2 – LTA (formado pelos indivíduos infectados e que evoluíram para LTA).

A hipótese testada foi se a carência nutricional específica de Zn, Cu e/ou Fe está envolvida na infecção e/ou progressão para a doença. Para avaliar a carência nutricional específica foram usados parâmetros bioquímicos como dosagem dos níveis de metais Zn, Cu e Fe, além de fosfatase alcalina e ferritina no plasma dos indivíduos do estudo. No início do estudo e nos demais momentos previstos foi coletada uma amostra de sangue de todos os indivíduos da área a ser estudada que concordaram participar mediante assinatura do termo de consentimento (Anexo IV).

### 5.5 Critérios de Inclusão no Estudo

- Indivíduos que residiram no local por pelo menos seis meses;
- Indivíduos maiores de 1 ano de idade.

### 5.6 Critérios de Exclusão

- Indivíduos que se recusaram a participar e/ou continuar;
- Indivíduos que apresentaram outras doenças no momento que não leishmaniose.

### 5.7 AVALIAÇÃO “EX VIVO” DA IMUNIDADE HUMORAL - SOROLOGIA PARALEISHMANIA SPP.(ELISA)

Foram colhidos 10 mL de sangue em tubos “vacutainer” com heparina e armazenados em caixa térmica a 4 °C por 8h, em média. As amostras foram encaminhadas para a UESB, onde uma equipe técnica realizou a centrifugação das amostras para obtenção dos soros, que foram separados com pipeta estéril graduada, e armazenados em microtubos “NUNC” estéreis, identificados, datados e mantidos a -20°C. Posteriormente os soros foram transportados para o laboratório de referência, sob refrigeração utilizando gelo seco, em caixas de isopor para serem submetidos à técnica de ELISA, que consta das seguintes etapas:

**Preparação do antígeno:** Cepas de *L. (L.) amazonensis* foram cultivadas em meio LIT (infusão de fígado e triptose) com 10% de soro bovino fetal (SBF). Parasitas recuperados na fase logarítmica, após três lavagens com tampão fosfato (PBS) pH 7,0 a 4°C por 10’, foram ajustados a uma concentração de  $5 \times 10^9$  parasitas/mL para preparação de antígeno. Os

parasitas foram lisados em água destilada estéril por 10 ciclos de congelamento (nitrogênio líquido) e descongelamento rápido. O material foi então centrifugado a 16.000 rpm em centrífuga (Eppendorf 5402) por 20' a 4°C. O sobrenadante (solução antigênica) foi estocado em pequenas alíquotas e a sua concentração proteica verificada através do método de LOWRY *et al.*, 1951.

- **Diluição do soro:** foi preparada em placas de microtitulação com fundo redondo, adicionando-se 10µL de PBS pH 7,4 contendo 0,005% Tween 20 (PBS/Tween). Em seguida, foram transferidos 20µL desta diluição de soro para a placa sensibilizada com o antígeno, a qual já continha 80µL ficando uma diluição final de 1:100.

- **Reação:** Placas de microtitulação (NUNC-Intermed, Denmark) foram sensibilizadas com antígeno de *L. (L) amazonensis* na concentração de 10µL/mL (0,1mL/poço) em tampão carbonato-bicarbonato pH 9,6 incubadas durante a noite a 4°C. Antes do início da reação, as placas foram lavadas 3 vezes com PBS Tween e incubadas com soros diluídos a 1:100 por uma hora à temperatura ambiente. Após lavagem das placas sensibilizadas, 150µL de solução de bloqueio foram acrescentados a cada poço e a placa foi incubada de 1 a 2 horas em estufa a 37°C. Após a lavagem com PBS Tween como descrito, foi adicionado o conjugado anti-IgG humano (cadeia gama específica) ligado à fosfatase alcalina (Sigma Chemical Company). Novamente após esta incubação, as placas foram lavadas e adicionados 100 uL/poço de substrato. O substrato utilizado foi o p-nitrofenilfosfatodissódico (SIGMA), diluído em tampão carbonato-bicarbonato pH 9,6 com 1mL de MgCl<sub>2</sub> na concentração de 1mg/mL. Após 20' à temperatura ambiente, estando os controles positivos com coloração esverdeada, a reação foi interrompida com a adição de NaOH a 3M. A leitura foi realizada em espectrofotômetro multicanal para leitura de placas de microtitulação com filtro 405nm (Titesk-multican Spectrophotometer Flow-LaboratoriesAyreshire Scotland).

O resultado foi expresso em absorbância e as diferenças das amostras que foram analisadas foram consideradas ao se expressarem os resultados, mas independentemente do método escolhido para relatá-los, foi necessário determinar o limite de reatividade ou “cut-off”. Valores acima do limiar de reatividade foram considerados positivos.

#### 5.8. AVALIAÇÃO “*IN VIVO*” DA IMUNIDADE CELULAR- INTRADERMORREAÇÃO DE MONTENEGRO (IDRM)

A IDRM foi realizada em todos os pacientes da amostra populacional, no momento da inclusão no inquérito epidemiológico e imunoalérgico do estudo. O antígeno utilizado foi fornecido pelo Ministério da Saúde através da FUNASA, Coordenação Regional da Bahia, e

produzido a partir de formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis* mortas por ultrassonicação, e padronizado em 40 µg/mL por MELO *et al.*, 1977.

**Técnica de aplicação** - após antissepsia com álcool a 70%, inoculou-se com seringa do tipo tuberculínica 0,1ml da suspensão do antígeno por via intradérmica, na face anterior do antebraço direito. A leitura da reação foi efetuada após 48 ou 72 horas do inóculo, utilizando régua milimetrada, marcando-se a borda da endureção com caneta esferográfica (SOKAL *et al.*, 1975). A interpretação foi baseada na área de endureção apresentada, sendo adotados os seguintes valores de referência: < 5mm (negativo), e ≥5mm (positivo) (CUBA *et al.*, 1978; MARZOCHI *et al.*, 1998).

## 5.9 DOSAGENS DE METAIS E METALOPROTEÍNAS NO PLASMA

Os níveis plasmáticos de Zn, Cu e Fe foram determinados através de espectrofotometria de absorção atômica usando uma mistura de ar/acetileno (AAS VARIAN, modelo “chama”) de acordo com o seguinte procedimento:

**Preparo das Soluções: Triton X-100** (0,5% v/v) – foram diluídos 5 mL de Triton em 995mL de água desionizada; **Ácido nítrico** (10% v/v) – foram diluídos 100mL de HNO<sub>3</sub> em 990mL de água desionizada. **Solução Intermediária de Cu, Zn e Fe** (10 µg/mL) – foram diluídos 100µL de cada metal para 9,9mL de água desionizada.

**Sonicação:** Pipetou-se 1mL do plasma em seguida adicionou-se 1 mL de TX-100 0,5% e 1mL de HNO<sub>3</sub> 10%. O volume foi ajustado para 10 mL com água mili-Q e em seguida sonicamos por 10'. Após sonicadas, as amostras foram armazenadas em temperatura de 4 °C para posterior leitura no FAAS.

### Curva de Calibração:

| Concentração (µg/mL) | Volume da solução intermediária (µL) | Adicionar  |
|----------------------|--------------------------------------|--|
| 0                    | 0                                    | 1 mL de HNO <sub>3</sub> 10% + 1 mL de Triton X-100 0,5% |
| 0,05                 | 50                                   | 1 mL de HNO <sub>3</sub> 10% + 1 mL de Triton X-100 0,5% |
| 0,1                  | 100                                  | 1 mL de HNO <sub>3</sub> 10% + 1 mL de Triton X-100 0,5% |
| 0,5                  | 500                                  | 1 mL de HNO <sub>3</sub> 10% + 1 mL de Triton X-100 0,5% |
| 1,0                  | 1000                                 | 1 mL de HNO <sub>3</sub> 10% + 1 mL de Triton X-100 0,5% |
| 1,5                  | 1500                                 | 1 mL de HNO <sub>3</sub> 10% + 1 mL de Triton X-100 0,5% |
| 2,0                  | 2000                                 | 1 mL de HNO <sub>3</sub> 10% + 1 mL de Triton X-100 0,5% |



Obs: O volume foi ajustado para 10 mL.

As metaloproteínas fosfatase alcalina e ferritina, marcadores para o metabolismo de Zn e Fe, respectivamente, foram dosadas no plasma por fluorimetria, usando kits comerciais (Labtest Diagnostica SA). As mesmas foram dosadas no laboratório do Centro de Referencia em Doenças Endêmicas Pirajá da Silva/PIEJ, pelo farmacêutico Alan Patrício Souza.

## 6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística de possíveis fatores associados ao risco de infecção pela *Leishmania spp.*, foram realizados a partir dos dados obtidos através da aplicação dos questionários, e da aplicação das IDRMs e a sorologia (ELISA), onde foi construído um banco de dados no *EPIINFO2000 for Window*, Excel 2007 e as análises foram realizadas no Graph Pad Prism 5. Para a análise descritiva, foram usadas frequências relativas e absolutas das características sócio-demográficas (renda familiar, atividade exercida, escolaridade, esgotamento, destino de dejetos, e lixo, tipo de roupa no trabalho, presença de animais e reservatórios de *Leishmania spp.*), de moradia (tipo de cobertura das casas, número de cômodos, tipo de piso, borrifação, uso de mosquiteiro), e perfil dos indivíduos (idade, sexo, raça, procedência). Realizou-se análises estatísticas descritivas como as frequências absolutas e relativas, teste de correlação de Pearson e Spearman, teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ), ANOVA e Kruskal-Wallis, com pós-teste de Bonferroni e Dunn's, respectivamente, para comparações múltiplas.

**Fatores de risco para progressão infecção e/ou doença:** as taxas de progressão para infecção e/ou doença foram estimadas ao longo do estudo. Estimativas do risco de progressão da infecção para a doença foram obtidas comparando-se os grupos de expostos com os grupos de não expostos a vários fatores de risco. Na análise univariada, as variáveis categóricas foram analisadas em tabelas 2x2 ou 2x3 e determinadas às medidas de associação (razão de chances) e as medidas de significância estatística ( $\chi^2$ ) e intervalo de confiança da razão de chances. O teste do ( $\chi^2$ ) teve correção de Yates quando um dos números esperados ( $n_e$ ) foi  $< 5,0$ ; ocorrendo dois ou mais  $n_e < 5,0$  e/ou o  $n$  total  $< 20$  foi aplicado o teste exato de Fisher.

## **7 ASPECTOS ÉTICOS**

O projeto foi aprovado pelo Conselho de Ética em pesquisa do CPqGM número 79/2005, credenciado na CONEP, Ministério da Saúde. No caso de menores, os pais ou responsáveis pelas crianças foram primeiramente esclarecidos pelos pesquisadores sobre a natureza do estudo, seus objetivos e consequências, em linguagem clara e acessível. Foram também informados de que a autorização para a participação ou não no presente projeto não incorreria em prejuízo ao paciente, que seria conduzido de forma adequada frente ao seu quadro clínico. Após os esclarecimentos preliminares, os pais ou responsáveis que concordaram com o ingresso da criança no estudo, receberam um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), onde foram listados os objetivos e condutas a serem tomadas frente ao paciente, sendo novamente fornecidas todas as informações e esclarecimentos necessários. Os pacientes ou os pais/responsáveis foram avisados de que a participação era livre e que poderiam se retirar ou retirar a criança em qualquer momento do estudo, sem consequências para o participante do estudo (Anexo IV).

Todos os indivíduos participantes ou não do estudo pertencentes à comunidade e mesmo àqueles que em qualquer uma das etapas se retiraram do estudo, mas, que evoluíram para a doença LTA receberam tratamento e foram acompanhados até sua cura clínica.

## 8 RESULTADOS

### 8.1 RESULTADOS DO ESTUDO NO POVOADO DE SÃO GONÇALO – MUNICÍPIO DE CONTENDAS DO SINCORÁ - BAHIA

- Visita e Mapeamento da área estudada na região Sudoeste do Estado da Bahia (povoado de São Gonçalo-Município de Contendas do Sincorá);
- Identificação das casas demarcadas, contatos com seus moradores definindo o estudo a ser realizado nos locais escolhidos segundo objetivos propostos no estudo;
- Realização de palestras educativas sobre a doença LT, métodos de prevenção, e conduta diante de um caso suspeito nas localidades estudadas;
- Realização de palestras educativas sobre saúde bucal e como identificar os primeiros sinais de aparecimento das lesões mucosas na boca e nariz;
- Realização de mutirão da limpeza dos dentes e proteção das gengivas, com aplicação de flúor na população cadastrada no estudo;
- Inquérito epidemiológico e imunoalérgico com a população do povoado de São Gonçalo.

Realizou-se a primeira fase do inquérito com o objetivo de determinar o perfil sócio-demográfico e a prevalência da infecção por *Leishmania spp.*, e também da doença em São Gonçalo, visto que nessa população antes do surto epidêmico ocorrido no ano de 2000 não havia registro de LT na população. Neste período, foi realizado censo populacional com mapeamento de todas as casas e cadastro dos moradores, perfazendo um total de 174 indivíduos distribuídos em 37 casas.

Dos 174 indivíduos residentes no povoado de São Gonçalo, 170(97,70%) concordaram em participar do estudo, a idade destes variou entre 1 e 91 anos (média de  $29,4 \pm 22,3$ ), sendo 44,1% do sexo masculino, a maioria de cor negra  $n=119(73\%)$ . Quanto à origem 99,4% eram naturais de São Gonçalo, onde residiam desde o nascimento. A atividade principal dos moradores foi o trabalho agrícola com 55,6%, seguida de 22,2% de estudantes (Tabela 3).

**Tabela 3: Frequência das variáveis sócio-demográficas dos indivíduos do povoado de São Gonçalo – Município de Contendas do Sincorá – Bahia.**

| <b>Características</b> | <b>Frequência Absoluta</b> | <b>Frequência Relativa (%)</b> |
|------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| <b>Sexo</b>            |                            |                                |
| Masculino              | 75                         | 44,1                           |
| Feminino               | 95                         | 55,9                           |
| <b>Idade</b>           |                            |                                |
| 01-10                  | 33                         | 19,0                           |
| 11-20                  | 49                         | 28,0                           |
| 21-30                  | 25                         | 14,0                           |
| 31-40                  | 13                         | 7,5                            |
| 41-50                  | 18                         | 10,0                           |
| ↑ 51                   | 36                         | 21,5                           |
| <b>Ocupação</b>        |                            |                                |
| lavrador               | 85                         | 55,6                           |
| estudante              | 34                         | 22,2                           |
| aposentado             | 7                          | 4,5                            |
| doméstica              | 01                         | 0,7                            |
| ignorado               | 26                         | 17,0                           |

Quando analisamos o perfil sócio-econômico dos moradores observamos que 73% das famílias tinham renda mensal inferior a 1 salário mínimo, 86,5% das construções eram feita de adobe, 59,5% tinham o piso de cimento, 43,2% dos moradores utilizavam água, proveniente de chuvas, 51,4% colocavam o lixo em terreno baldio e 43,2% desprezavam seus dejetos em vala ou diretamente no ambiente (Tabela 4).

**Tabela 4: Frequência das condições sócio-econômica dos domicílios cadastrados no estudo, procedentes do povoado de São Gonçalo – Município de Contendas do Sincorá – Bahia.**

| <b>Numero de pessoas por domicilio (media) 4,59 ±2,11</b> |                            |                                |
|---|----------------------------|--------------------------------|
| <b>Renda mensal familiar</b>                              |                            |                                |
| < 1 salario mínimo (sm)                                   |                            | 27 (73,0%)                     |
| 1 a 2 sm  |                            | 08 (21,6%)                     |
| 2 a 4 sm  |                            | 2 (5,4%)                       |
|   | <b>Frequência Absoluta</b> | <b>Frequência Relativa (%)</b> |
| <b>Tipo de parede</b>                                     |                            |                                |
| Alvenaria   | 4                          | 10,8                           |
| Adobe   | 32                         | 86,5                           |
| Taipa   | 01                         | 2,7                            |
| <b>Tipo de cobertura</b>                                  |                            |                                |
| Telha   | 33                         | 89,2                           |
| Palha e outros  | 3                          | 8,1                            |
| Mais que uma opção  | 1                          | 2,7                            |
| <b>Tipo de piso</b>                                       |                            |                                |
| Cimento   | 22                         | 59,5                           |
| Chão batido   | 7                          | 18,9                           |
| Outros  | 3                          | 8,1                            |
| Mais que uma opção  | 5                          | 13,5                           |
| <b>Origem da água</b>                                     |                            |                                |
| Poço comum, chafariz                                      | 3                          | 8,1                            |
| Rio, riacho, lagoa  | 5                          | 13,5                           |
| Outros (chuva)  | 16                         | 43,2                           |
| Mais que uma opção  | 13                         | 35,1                           |
| <b>Destino dos dejetos</b>                                |                            |                                |
| Fossa séptica e negra                                     | 5                          | 11,5                           |
| Vala  | 16                         | 43,2                           |
| Outros (ambiente)   | 16                         | 43,2                           |
| <b>Destino do lixo</b>                                    |                            |                                |
| Terreno baldio  | 19                         | 51,4                           |
| Queimado  | 11                         | 29,7                           |
| Mais que uma opção  | 07                         | 18,9                           |

A tabela 5 mostra o perfil de prevalência da infecção por *Leishmania spp.*, na população de acordo com IDRМ e ELISA, onde 22,4% e 23,5% dos indivíduos apresentaram positividade para infecção respectivamente. Para a determinação dos indivíduos que já tiveram a doença foi realizado além do relato, dados de prontuário do uso de Sb<sup>5+</sup>, o exame físico onde era constatada a presença de cicatriz característica (cicatriz circular, aplanada com tecido de reparo sem regeneração) sendo que 11,2% dos indivíduos entrevistados apresentaram histórico para LT.

**Tabela 5: Frequência da prevalência de infecção por *Leishmania spp.* e também da doença LT (n=170) no povoado de São Gonçalo – Município de Contendas do Sincorá – Bahia.**

| <b>Infecção e doença</b> |                            |                               |
|--------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| <b>IDRM</b>              | <b>Frequência Absoluta</b> | <b>Frequência Relativa(%)</b> |
| Sim                      | 38                         | 22,4                          |
| Não                      | 125                        | 73,5                          |
| *si                      | 07                         | 4,1                           |
| <b>TOTAL</b>             | <b>170</b>                 | <b>100</b>                    |
| <b>ELISA</b>             |                            |                               |
| Sim                      | 40                         | 23,5                          |
| Não                      | 118                        | 69,4                          |
| *si                      | 12                         | 7,1                           |
| <b>TOTAL</b>             | <b>170</b>                 | <b>100</b>                    |
| <b>LT</b>                |                            |                               |
| Sim                      | 19                         | 11,2                          |
| Não                      | 151                        | 88,8                          |
| <b>TOTAL</b>             | <b>170</b>                 | <b>100</b>                    |

\*si- sem informação

### **Condições associadas à infecção**

Foram avaliadas condições que poderiam estar associadas à infecção; sendo que 86,5% das famílias negaram o uso de mosquiteiros; 94,6% não usavam repelentes e 64,9% relataram a presença de mosquito no domicílio ou em suas imediações. A criação de animais domésticos em domicílio foi referida por 83,8% das famílias, sendo que 78,4% possuem mais de uma espécie de animal no domicílio e 48,6% no peri-domicílio, a maioria das residências estava próximo a rio, lago, vegetação e criação de animais (porcos, galinhas, etc.) (Tabela 6).

**Tabela 6: Frequência das variáveis relacionadas ao padrão de moradia (n=37) e hábito das famílias no Povoado de São Gonçalo – Município de Contendas do Sincorá – Bahia.**

| <b>Situação intra-domiciliar</b>                  |                            |                               |
|---|----------------------------|-------------------------------|
|   | <b>Frequência Absoluta</b> | <b>Frequência Relativa(%)</b> |
| <b>Animais doméstico</b>                          |                            |                               |
| Sim   | 31                         | 83,8                          |
| Não   | 06                         | 16,2                          |
| <b>Espécie de animal doméstico</b>                |                            |                               |
| Cão   | 03                         | 8,1                           |
| Galinha   | 03                         | 8,1                           |
| mais que uma opção                                | 29                         | 78,4                          |
| *NSI  | 02                         | 5,4                           |
| <b>Uso de repelentes</b>                          |                            |                               |
| Sim   | 02                         | 5,4                           |
| Não   | 35                         | 94,6                          |
| <b>Uso de mosqueteiro</b>                         |                            |                               |
| Sim   | 04                         | 10,8                          |
| Não   | 32                         | 86,5                          |
| <b>Criadouros de mosquito</b>                     |                            |                               |
| Sim   | 36                         | 97,3                          |
| Não   | 1                          | 2,7                           |
| <b>Presença de mosquito em casa ou imediações</b> |                            |                               |
| Sim   | 24                         | 64,9                          |
| Não   | 10                         | 27,0                          |
| *NSI  | 03                         | 8,1                           |
| <b>Situação peri-domiciliar</b>                   |                            |                               |
| <b>Animais nas imediações</b>                     | <b>Frequência Absoluta</b> | <b>Frequência Relativa</b>    |
| Cão   | 10                         | 27                            |
| Gato  | 03                         | 8,1                           |
| Mais que uma opção                                | 18                         | 48,6                          |
| Ignorado  | 06                         | 16,2                          |
| <b>Residência próxima</b>                         |                            |                               |
| Mata  | 02                         | 5,4                           |
| Mais que uma opção                                | 35                         | 94,6                          |

\*NSI (Não sabe informar)



Quando associamos o padrão familiar com a ocorrência de LT observou-se uma razão de prevalência de 3,2 vezes maior o risco de contrair a doença e de se infectar, naquelas casas que buscam água em poço comum ou chafariz, entretanto não foi estatisticamente significativa. (tabela 7).

**Tabela 7: Análise da associação entre as variáveis relacionadas ao padrão de moradia das famílias (n=37) e a LT no Povoado de São Gonçalo – Contendas do Sincorá/Ba.**

| Variáveis                     | Histórico de LT na residência |      |     |      | Razão de prevalência | <i>p-valor</i> |
|-------------------------------|-------------------------------|------|-----|------|----------------------|----------------|
|                               | Sim                           |      | Não |      |                      |                |
|                               | nº                            | %    | nº  | %    |                      |                |
| <b>Origem da água</b>         |                               |      |     |      |                      | <i>0,25</i>    |
| Poço comum e Chafariz         | 3                             | 100  | 0   | 0,0  | 3,2                  |                |
| Rio, riacho                   | 2                             | 40,2 | 3   | 60,0 | 1,3                  |                |
| Outros (água da chuva, etc..) | 11                            | 68,8 | 5   | 31,3 | 2,2                  |                |
| + que uma opção               | 4                             | 30,8 | 9   | 69,2 | Referência           |                |
| <b>Tipo</b>                   |                               |      |     |      |                      | <i>0,31</i>    |
| Alvenaria                     | 3                             | 75,0 | 1   | 25,0 | Referência           |                |
| Adobe e Taipa                 | 17                            | 51,5 | 16  | 48,5 | 0,6                  |                |
| <b>Piso</b>                   |                               |      |     |      |                      | <i>0,40</i>    |
| Cimento                       | 11                            | 47,8 | 12  | 52,2 | Referência           |                |
| Chão batido                   | 5                             | 71,4 | 2   | 28,6 | 1,4                  |                |
| +que uma opção                | 2                             | 40,0 | 3   | 60,0 | 0,8                  |                |
| <b>Cobertura</b>              |                               |      |     |      |                      | <i>0,71</i>    |
| Telha                         | 17                            | 51,5 | 16  | 48,5 | Referência           |                |
| Palha e Outros                | 3                             | 75,0 | 1   | 25,0 | 1,5                  |                |

Analisando a associação dos hábitos de moradia das famílias com a ocorrência de LT observou-se uma razão de prevalência de 1,7 vezes maior o risco de contrair a doença e de se

infectar, naquelas casas cujos dejetos eram lançados no ambiente, entretanto não foi estatisticamente significativa. (Tabela 8).

**Tabela 8: Análise da associação entre as variáveis relacionadas aos hábitos de moradia das famílias (n=37) e a LT no povoado de São Gonçalo, Município Contendas do Sincorá, Bahia.**

| Variáveis                          | Histórico de LT na Residência |      |     |      | Razão de prevalência | <i>p-valor</i> |
|------------------------------------|-------------------------------|------|-----|------|----------------------|----------------|
|                                    | Sim                           |      | Não |      |                      |                |
|                                    | n°                            | %    | n°  | %    |                      |                |
| <b>Destino do lixo</b>             |                               |      |     |      |                      | <i>0,15</i>    |
| Queimado                           | 7                             | 63,6 | 4   | 36,4 | 2,2                  |                |
| Terreno baldio                     | 11                            | 57,9 | 8   | 42,1 | 1,1                  |                |
| Mais de uma opção                  | 2                             | 28,6 | 5   | 71,4 | Referência           |                |
| <b>Destino dos dejetos</b>         |                               |      |     |      |                      | <i>0,09</i>    |
| Vala                               | 10                            | 62,5 | 6   | 37,5 | Referência           |                |
| Fossa séptica                      | 3                             | 75,0 | 1   | 25,0 | 1,2                  |                |
| Outros (ambiente)                  | 7                             | 37,5 | 10  | 62,5 | 1,7                  |                |
| <b>Possui animais domésticos</b>   |                               |      |     |      |                      | <i>0,83</i>    |
| Não                                | 3                             | 50,0 | 3   | 50,0 | Referência           |                |
| Sim                                | 17                            | 54,8 | 14  | 45,2 | 1,1                  |                |
| <b>Espécie de animal doméstico</b> |                               |      |     |      |                      | <i>0,54</i>    |
| Cão ou Gato                        | 2                             | 66,7 | 1   | 33,3 | 1,13                 |                |
| Mais de uma opção                  | 17                            | 58,6 | 12  | 41,4 | Referência           |                |
| <b>Uso mosqueteiro</b>             |                               |      |     |      |                      | <i>0,12</i>    |
| Não                                | 20                            | 57,1 | 15  | 42,9 |                      |                |
| Sim                                | 0                             | 0    | 2   | 100  |                      |                |

Quando analisamos a associação entre as variáveis do peri-domicílio com a ocorrência de LT, não encontramos associação com a doença (Tabelas 9).

**Tabela 9: Análise da associação entre as variáveis relacionadas ao ambiente peri-domiciliar das famílias (n=37) e a LT, no Povoado de São Gonçalo- Contendas do Sincorá/Ba.**

| Variáveis  | Histórico de LT na residência |      |     |      | Razão de prevalência | <i>p-valor</i> |
|--|-------------------------------|------|-----|------|----------------------|----------------|
|  | Sim                           |      | Não |      |                      |                |
|  | nº                            | %    | nº  | %    |                      |                |
| <b>Animais nas imediações</b>  |                               |      |     |      |                      | <i>0,56</i>    |
| Cão  | 6                             | 60,0 | 4   | 40,0 | Referência           |                |
| Gato   | 2                             | 66,7 | 1   | 33,3 | 1,1                  |                |
| Mais de uma opção  | 9                             | 50,0 | 9   | 50,0 | 0,8                  |                |
| <b>Residência próxima</b>  |                               |      |     |      |                      | <i>0,91</i>    |
| Mata   | 1                             | 50,0 | 1   | 50,0 | Referência           |                |
| Mais de uma opção<br>(rio, esgoto,<br>criação de galinha<br>e/ou porcos) | 19                            | 54,3 | 16  | 45,7 | 1,1                  |                |

\*NSI - não sabe informar

Analisando as variáveis sócio-demográficas, com o IDRMM encontrou-se uma razão de prevalência de 1,8 vezes maior para a infecção nos homens, sendo que a faixa etária de 41-50 anos apresentou razão de prevalência de 3,3 vezes maior para a infecção, porém sem apresentar significância estatística (Tabela 10).

**Tabela 10: Associação das variáveis sócio-demográficas dos indivíduos com o teste IDRМ no Povoado de São Gonçalo – Contendas do Sincorá /Ba (n=163).**

| Variáveis       | IDRM     |      |          |      | Razão de prevalência | <i>p</i> -valor |
|-----------------|----------|------|----------|------|----------------------|-----------------|
|                 | Positivo |      | Negativo |      |                      |                 |
|                 | n°       | %    | n°       | %    |                      |                 |
| <b>Sexo</b>     |          |      |          |      |                      | 0,07            |
| Masculino       | 21       | 30,4 | 48       | 69,6 | 1,8                  |                 |
| Feminino        | 17       | 18,1 | 77       | 81,9 | Referência           |                 |
| <b>Idade</b>    |          |      |          |      |                      | 0,34            |
| 01-10           | 4        | 12,5 | 28       | 87,5 | Referência           |                 |
| 11-20           | 10       | 20,8 | 38       | 79,2 | 1,7                  |                 |
| 21-30           | 4        | 26,7 | 11       | 73,3 | 2,1                  |                 |
| 31-40           | 3        | 25,0 | 9        | 75,0 | 2,0                  |                 |
| 41-50           | 7        | 41,2 | 10       | 58,8 | 3,3                  |                 |
| 51-↑            | 9        | 27,3 | 24       | 72,7 | 2,2                  |                 |
| <b>Ocupação</b> |          |      |          |      |                      | 0,47            |
| Lavrador        | 24       | 28,6 | 60       | 71,4 | 1,3                  |                 |
| Escolar         | 8        | 22,2 | 28       | 77,8 | Referência           |                 |
| Aposentado      | 0        | 0    | 7        | 100  |                      |                 |
| Outros          | 0        | 0    | 9        | 100  |                      |                 |

Analisando as variáveis sócio-demográficas e o ELISA encontramos uma razão de prevalência de 1,2 vezes maior para a infecção nos homens, sendo que a faixa etária de 31-40 anos apresentou razão de prevalência de 2,9 vezes maior para a infecção com o valor  $p=0,03$  (Tabela 11).

**Tabela 11: Associação entre variáveis sócio-demográficas, e ELISA em indivíduos estudados no povoado de São Gonçalo – Contendas do Sincorá/Ba (n=158)**

| Variáveis           | Sorologia |      |          |      | Razão de prevalência | <i>p</i> -valor |
|---------------------|-----------|------|----------|------|----------------------|-----------------|
|                     | Positivo  |      | Negativo |      |                      |                 |
|                     | nº        | %    | nº       | %    |                      |                 |
| <b>Sexo</b>         |           |      |          |      |                      | 0,51            |
| Masculino           | 19        | 27,5 | 49       | 72,5 | 1,2                  |                 |
| Feminino            | 21        | 23,3 | 69       | 76,7 | Referência           |                 |
| <b>Idade</b>        |           |      |          |      |                      | 0,03            |
| 01-10               | 05        | 17,2 | 24       | 82,8 | Referência           |                 |
| 11-20               | 13        | 27,7 | 34       | 72,3 | 1,6                  |                 |
| 21-30               | 7         | 46,7 | 8        | 53,3 | 2,7                  |                 |
| 31-40               | 6         | 50,0 | 6        | 50,0 | 2,9                  |                 |
| 41-50               | 1         | 5,9  | 16       | 94,1 | 0,3                  |                 |
| 51- ↑               | 7         | 21,9 | 25       | 78,1 | 1,3                  |                 |
| <b>Ocupação</b>     |           |      |          |      |                      | 0,63            |
| Lavrador            | 22        | 25,9 | 63       | 74,1 | 1,8                  |                 |
| Escolar             | 8         | 22,9 | 27       | 77,1 | 1,6                  |                 |
| Aposentado e Outros | 2         | 14,3 | 12       | 85,7 | Referência           |                 |

Encontramos uma forte associação entre o teste de IDRM e a ocorrência de LT nos indivíduos que participaram do estudo, o que corrobora com o uso deste como parâmetro para avaliar a ocorrência de doença com  $p = 0,00$  (Tabela 12).

**Tabela 12: Associação entre o teste de IDRM e a ocorrência de LT nos indivíduos estudados no povoado de São Gonçalo – Contendas do Sincorá/Ba (n=163).**

| História de LT | IDRM     |      |          |      | Razão de prevalência | <i>p</i> -valor |
|----------------|----------|------|----------|------|----------------------|-----------------|
|                | Positivo |      | Negativo |      |                      |                 |
|                | nº       | %    | nº       | %    |                      |                 |
| Sim            | 14       | 73,7 | 5        | 26,3 | Referência           | 0,00            |
| Não            | 24       | 16,7 | 120      | 83,3 | 0,23                 |                 |
| Total          | 38       | 100  | 125      | 100  |                      |                 |

Encontramos associação entre o teste de ELISA e a ocorrência de LT nos indivíduos que participaram do estudo, porém sem significância estatística com  $p = 0,15$  (Tabela 13).

**Tabela 13: Associação entre o teste ELISA e a ocorrência de LT nos indivíduos estudados no Povoado de São Gonçalo – Contendas do Sincorá/Ba (n=158)**

| Variável       | ELISA    |      |          |      | Razão de prevalência | <i>p-valor</i> |
|----------------|----------|------|----------|------|----------------------|----------------|
|                | Positivo |      | Negativo |      |                      |                |
| História de LT | n°       | %    | n°       | %    |                      | 0,15           |
| Sim            | 7        | 36,8 | 11       | 57,9 | Referência           |                |
| Não            | 33       | 21,9 | 107      | 70,9 | 0,60                 |                |
| Total          | 40       | 100  | 118      | 100  |                      |                |

Participaram da primeira fase do estudo 173 indivíduos e na segunda fase 134 indivíduos de acordo com o quadro abaixo. O número de indivíduos varia em decorrência das dificuldades peculiares a cada exame.

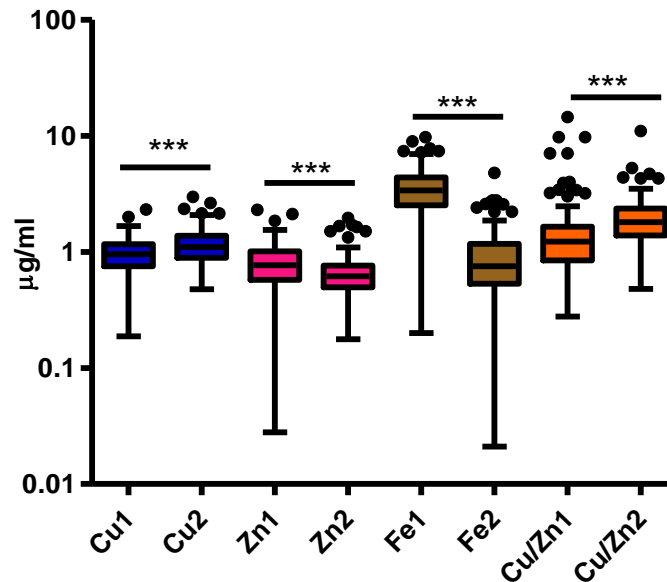
**Quadro 2: Frequência das variáveis laboratoriais estudadas nos indivíduos do Povoado de São Gonçalo/Contendas do Sincorá.**

| Variáveis Estudadas | 1ª Fase |       | 2ª Fase |      |
|---------------------|---------|-------|---------|------|
|                     | n= 173  | %     | n=134   | %    |
| IDRM+               | 38      | 21,96 | 34      | 25,4 |
| IRDM -              | 125     | 72,25 | 100     | 74,6 |
| ELISA +             | 40      | 23,12 | 23      | 17,2 |
| ELISA -             | 119     | 68,79 | 111     | 82,8 |
| Zn def.             | 29      | 16,76 | 45      | 33,3 |
| Zn não def.         | 113     | 65,32 | 90      | 66,7 |
| Cu def.             | 15      | 8,67  | 01      | 0,7  |
| Cu não def.         | 127     | 73,41 | 134     | 99,3 |
| Fe def.             | 08      | 4,62  | 36      | 26,7 |
| Fe não def.         | 134     | 77,45 | 99      | 73,3 |

## 8.2 PERFIL SOROLÓGICO DOS NÍVEIS DE METAIS NO POVOADO DE SÃO GONÇALO/MUNICÍPIO DE CONTENDAS DO SINCORÁ.

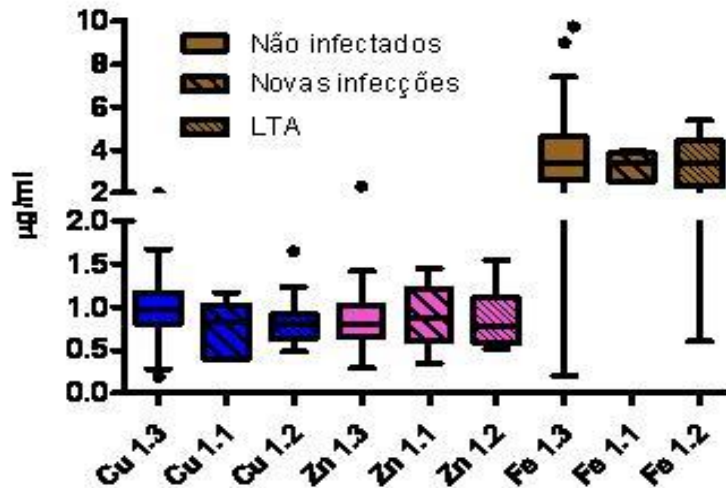
A figura 5 mostra os níveis de Cu, Zn e Fe detectados em amostras de plasma de indivíduos analisadas nas 2 etapas do estudo. Pode-se observar que houve aumento nos níveis de Cu e diminuição de Zn e Fe da 1ª para a 2ª etapa. Como sabemos que há competição entre Cu e Zn pelo mesmo substrato, podendo haver interferência nos níveis plasmáticos desses

metais, resolvemos calcular a razão entre Cu e Zn e encontrou-se aumento dessa razão. Além disso, faz-se necessário salientar que mesmo os níveis mais baixos de Fe apresentados na etapa 2 mantiveram-se em níveis considerados fisiológicos. Entretanto, as diferenças observadas na 2ª etapa do estudo, em relação à 1ª etapa, ocorreram independentemente da ausência ou presença de novas infecções.



**Figura 5:** Quantificação dos níveis plasmáticos de Cu, Zn e Fe nos indivíduos cadastrados nas duas etapas do estudo (1)n=142; e (2)n=134) além das razões Cu/Zn (teste t não paramétrico e pós teste Mann Whitney,  $p < 0.0001$  para todas as comparações Cu(1) vs Cu(2), Zn(2)).

Quando avaliamos em amostras de plasma a comparação quantitativa dos níveis de Cu, Zn e Fe nos subgrupos de indivíduos: (1.3) não infectados; (1.1) novas infecções, e (1.2) LTA, na 1ª etapa, não observou-se diferença estatisticamente significativa entre os subgrupos analisados pelos métodos estatísticos ANOVA, pós-teste Kruskal-Wallis, como mostra a Figura 6.

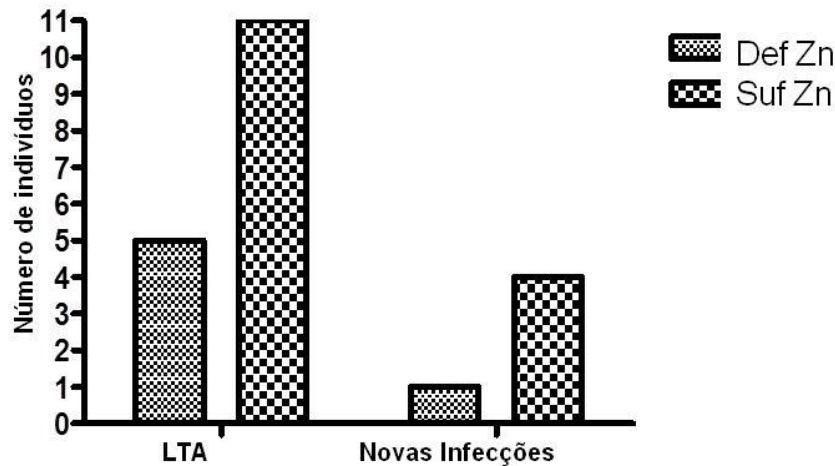


**Figura 6:** Quantificação dos níveis plasmáticos de Cu, Zn e Fe nos indivíduos da 1ª etapa do estudo (n=87) e comparação entre os subgrupos: (1.3) não infectados (n=58); (1.1) novas infecções (n=5); (1.2) LTA (n=16).

Nas figuras 5 e 6, observamos a diminuição dos níveis de Zn na população analisada da 1ª para a 2ª etapa do estudo, não havendo diferença quando comparamos os subgrupos de não infectados, novas infecções e LTA. Nossa próxima etapa então foi analisar se os níveis reduzidos de Zn apontavam para o risco de ocorrência de doença. Realizamos análise qualitativa entre os subgrupos: (1) novas infecções e (2) pacientes com LTA, separando os indivíduos de cada subgrupo em deficiente (Def. Zn) e suficiente de Zn (Suf. Zn) para a 1ª etapa, conforme mostrado na figura 7. Como se pôde notar 5/16(31,25%) pacientes com LTA apresentaram deficiência de Zn, enquanto que 11/16(68,75%) apresentaram suficiência dos níveis de Zn.

Em relação às novas infecções, encontramos somente 1/6(16,67%) indivíduo com deficiência de Zn, enquanto que os outros 5/6(83,33%) indivíduos restantes eram suficientes. Pode-se observar, dentre os indivíduos com deficiência de Zn, que a frequência relativa de novos indivíduos infectados (16,67%) é cerca de 50% da frequência de pacientes com LTA (31,25%). Entretanto, não foi encontrada uma associação dos níveis de Zn com aumento significativo do risco para desenvolvimento da doença pelo teste Fisher ( $p=1.000$  e  $RR=1,563$ , intervalo 0,1595-20,73) (Figura 7).



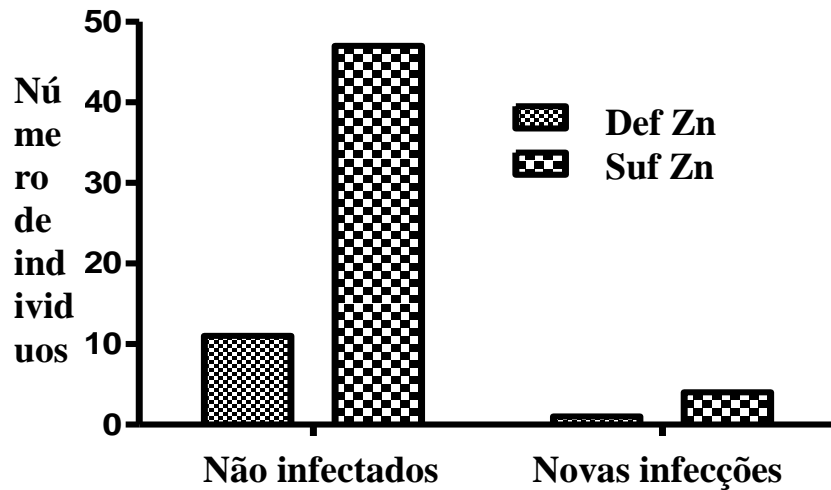


**Figura 7: Comparação qualitativa dos níveis plasmáticos de Zn nos indivíduos da 1ª etapa do estudo (n=21), entre os subgrupos de novas infecções e LTA.**

Na análise qualitativa dos níveis de Zn entre os subgrupos não infectados e novas infecções, separando os indivíduos de cada subgrupo em Def. Zn e Suf. Zn (Figura 8). Como se observa 11/58(18,96%) indivíduos não infectados apresentaram deficiência de Zn, enquanto 47/58(81,03%) apresentaram suficiência dos níveis de Zn.

Em relação às novas infecções, encontramos somente 1/5(20%) indivíduo com deficiência de Zn, enquanto que os outros 4/5(80%) indivíduos restantes eram suficientes. Pode-se observar, dentre os indivíduos com deficiência de Zn, que a frequência relativa de indivíduos não infectados (18,96%) é muito semelhante à frequência de novos indivíduos infectados (20%), sugerindo, de acordo com estes dados, que a ocorrência ou não de infecção independe dos níveis de Zn. Portanto, como esperado até o momento, não foi encontrado aumento do risco associado aos níveis de Zn para infecção (teste Fisher,  $p=1.000$  e  $RR = 0,95$ ) (Figura 8).

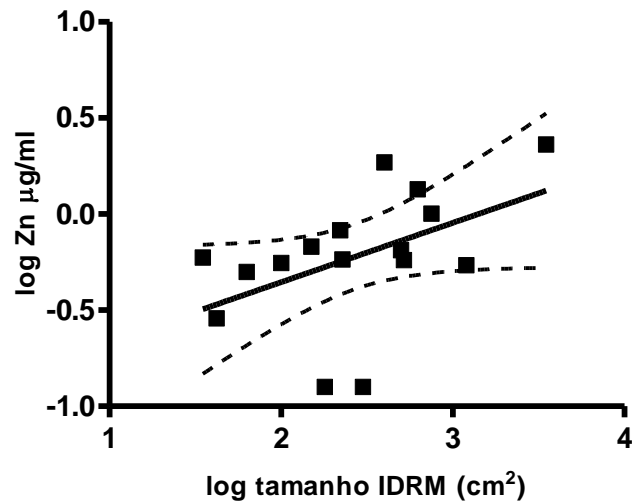
A incidência de infecção encontrada no grupo dos indivíduos com deficiência de zinco foi de 9% em 9 meses, enquanto que no grupo suficiente de zinco a incidência foi de 7,8% no mesmo período



**Figura 8:** Comparação qualitativa dos níveis plasmáticos de Zn nos indivíduos da 1ª etapa do estudo (n=63), entre os subgrupos de não infectados e novas infecções.

#### 8.2.1 Correlação entre níveis plasmáticos de Zn e tamanho da IDRM de infectados e pacientes LTA.

Para avaliar a prevalência e incidência de LT, o teste de IDRM é o exame mais utilizado. Como não foram observadas diferenças qualitativas nos níveis de Zn para os diferentes grupos analisados, nem aumento do risco de doença ou infecção, realizou-se uma análise de correlação entre os níveis de Zn e tamanho da IDRM. Na figura 9, observa-se a análise de correlação entre tamanho ( $\text{cm}^2$ ) da IDRM e a concentração plasmática de Zn ( $\mu\text{g/ml}$ ) dos indivíduos. Entretanto, não foi encontrada correlação significativa ( $p=0.062$ ,  $r^2=0.22$ , Spearman).



**Figura 9:** Correlação entre tamanho (cm<sup>2</sup>) da IDR e concentração plasmática (µg/ml) de Zn (ambos transformados em log) em pacientes com LTA na 1<sup>a</sup> etapa. Teste de Correlação de Spearman,  $r^2=0,22$ ;  $p=0,062$ ,  $n= 16$ .

8.2.2. Perfil dos níveis de proteínas plasmáticas dos indivíduos do Povoado de São Gonçalo na 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> etapa do estudo.

Na figura 10A, observa-se que não houve alteração nos níveis da enzima FA detectada em amostras de plasma de indivíduos, da 1<sup>a</sup> fase (FA1) para a 2<sup>a</sup> (FA2). Estes dados mostraram que a FA não pode ser utilizada como marcador de desnutrição dos indivíduos analisados na 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> etapa deste estudo, diferente do encontrado para o Zn (Figura 1). Já em relação à ferritina (figura 10B), detectamos um aumento dos níveis dessa proteína da 1<sup>a</sup> para a 2<sup>a</sup> etapa, enquanto que os níveis de Fe (Figura 5) diminuíram de uma etapa para outra. Estes dados nos sugerem que o aumento detectado nos níveis de ferritina reflita um aumento da necessidade de Fe para tecidos onde houve um aumento da demanda por esse micronutriente, nesses indivíduos.

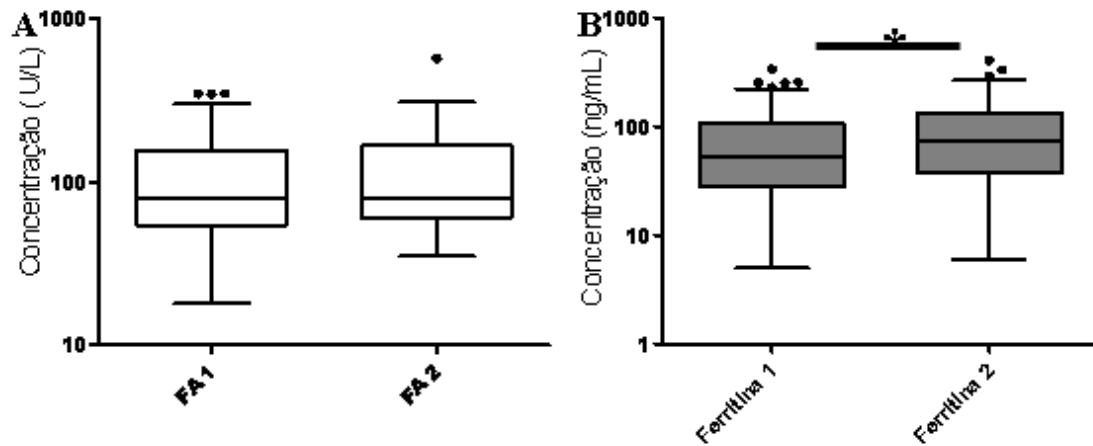


Figura 10: Quantificação dos níveis plasmáticos de fosfatase alcalina (FA) em todos os indivíduos do estudo nas etapas 1 (n=150) e 2 (n=170);

Figura 10B. Quantificação dos níveis plasmáticos de ferritina em todos os indivíduos do estudo nas etapas 1 (n=140) e 2 (n= 121).

### 8.2.3. Avaliação “*ex-vivo*” da imunidade humoral de indivíduos dos diferentes subgrupos

No que diz respeito à imunidade humoral o subgrupo de pacientes com LTA (tratados ou não) apresentou níveis mais elevados de IgG-anti-*Leishmania*, que diferiram somente em relação ao subgrupo de não infectados ( $p=0.008$ ), e não ao subgrupo de novas infecções. Também não houve diferença entre os subgrupos de não infectados, comparados com o subgrupo de novas infecções ( $p=0.7$ ). Entretanto, o valor de  $p=0.065$  para a comparação novas infecções vs LTA sugere que houve somente uma tendência a diferença nos níveis de IgG entre esses 2 subgrupos (Figura 11).

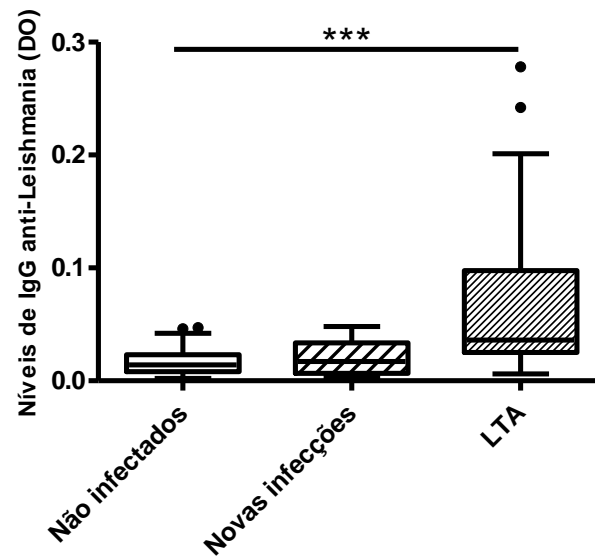


Figura 11: Quantificação dos níveis plasmáticos de IgG anti-Leishmania dos indivíduos de São Gonçalo participantes na 1ª etapa do estudo e comparação entre os subgrupos: não infectados (n=58), novas infecções (n=5) e LTA (n=16). ANOVA,  $p=0.008$ , Kruskal-Wallis; Teste de múltiplas comparações de Dunn  $p<0.05$ , LTA vs não infectados. Os níveis de IgG detectados são representados em intensidade óptica (DO) obtido a um filtro de 405nm.

### 8.3 RESULTADOS DO ESTUDO NO DISTRITO DE FLORESTAL (MUNICÍPIO DE JEQUIÉ –BAHIA).

#### 1ª Fase do estudo

- Visita e Mapeamento da área estudada no Município de Jequié (Sudoeste da Bahia);
- Identificação das casas demarcadas, contatos com seus moradores definindo o estudo a ser realizado nos locais escolhidos segundo objetivos propostos no estudo;
- Realização de palestras educativas sobre a doença leishmaniose tegumentar, métodos de prevenção, e conduta diante de um caso suspeito nas localidades estudadas.

Realizou-se a primeira parte do inquérito, com o objetivo de determinar o perfil sócio-demográfico, e a prevalência da infecção por *Leishmania spp.* e da LT em Florestal. Neste período, foi realizado censo populacional com mapeamento de todas as casas e cadastramento dos moradores perfazendo um total de 480 indivíduos distribuídos em 129 casas.

Dos 480 indivíduos residentes no Distrito de Florestal, a idade destes variou entre 1 e 93 anos (média de  $31,9 \pm 22,3$ ), sendo 56,7% do sexo masculino. A atividade principal dos moradores foi o trabalho agrícola com 34,1% seguida de 24,3% de estudantes (tabela 14).

**Tabela 14: Frequências das variáveis sociais e laborais dos indivíduos do Distrito de Florestal - Jequié - Bahia.**

| <b>Características</b> | <b>Frequência Absoluta</b> | <b>Frequência Relativa</b> |
|------------------------|----------------------------|----------------------------|
| <b>Sexo</b>            |                            |                            |
| Masculino              | 271                        | 56,7                       |
| Feminino               | 209                        | 43,3                       |
| <b>Idade</b>           |                            |                            |
| 01-10                  | 83                         | 17,3                       |
| 11-20                  | 99                         | 20,6                       |
| 21-30                  | 81                         | 16,9                       |
| 31-40                  | 52                         | 10,8                       |
| 41-50                  | 59                         | 12,3                       |
| ↑ 51                   | 106                        | 22,1                       |
| <b>Ocupação</b>        |                            |                            |
| Lavrador               | 164                        | 34,1                       |
| Estudante              | 116                        | 24,3                       |
| Aposentado             | 32                         | 6,8                        |
| Doméstica              | 82                         | 17,2                       |
| Outros                 | 9                          | 1,6                        |
| Ignorado               | 77                         | 15,0                       |

Quando analisamos o perfil sócio-econômico dos moradores observamos que 69,8% das famílias tinham renda mensal inferior a 1 salário mínimo, 66,6% das construções era feita de alvenaria, 50,4% tinha o piso de cimento e 54,3% dos moradores utilizavam água da rede

pública. Quanto ao destino do lixo 55% queimavam o lixo e 31,2% desprezava seus dejetos em vala (tabela 15).

**Tabela 15: Frequência das condições sócio-econômicas dos indivíduos cadastrados no estudo, procedentes do Distrito de Florestal – Jequié – Bahia.**

| <b>Número de pessoas por domicílio (média) 3,72± 2,42</b> |                            |                            |
|---|----------------------------|----------------------------|
|   | <b>Frequência Absoluta</b> | <b>Frequência Relativa</b> |
| <b>Renda mensal familiar</b>                              |                            |                            |
| < 1 salário mínimo (sm)                                   | 81                         | 69,8                       |
| 1 a 2 sm  | 27                         | 23,3                       |
| 2 a 4 sm  | 03                         | 2,6                        |
| > 5 sm  | 02                         | 1,7                        |
| Ignorado  | 03                         | 2,6                        |
| <b>Tipo de parede</b>                                     |                            |                            |
| Alvenaria   | 84                         | 66,6                       |
| Adobe   | 36                         | 28,6                       |
| Não rebocada  | 02                         | 1,6                        |
| Taipa   | 04                         | 3,2                        |
| <b>Tipo de cobertura</b>                                  |                            |                            |
| Telha   | 117                        | 90,7                       |
| Palha   | 06                         | 4,7                        |
| Outros  | 04                         | 3,0                        |
| Ignorado  | 02                         | 1,6                        |
| <b>Tipo de piso</b>                                       |                            |                            |
| Cimento   | 64                         | 50,4                       |
| Chão batido   | 08                         | 6,3                        |
| Cerâmica  | 55                         | 43,3                       |
| <b>Origem da água</b>                                     |                            |                            |
| Poço comum, cacimba                                       | 13                         | 10,1                       |
| Rio, riacho, lagoa  | 45                         | 34,8                       |
| Chafariz  | 1                          | 0,8                        |
| Rede pública  | 70                         | 54,3                       |
| <b>Destino dos dejetos</b>                                |                            |                            |
| Rede de esgoto  | 02                         | 1,6                        |
| Fossa séptica   | 18                         | 14,0                       |
| Fossa negra   | 09                         | 7,0                        |
| Vala  | 40                         | 31,0                       |
| Outro   | 54                         | 41                         |
| Ignorado  | 06                         | 4,5                        |
| <b>Destino do lixo</b>                                    |                            |                            |
| Coleta  | 03                         | 1,6                        |
| Queimado  | 71                         | 55,0                       |
| Terreno baldio  | 47                         | 36,4                       |
| Mais que uma opção  | 05                         | 3,9                        |
| Outros  | 03                         | 3,1                        |

A tabela 16 mostra o perfil de prevalência da infecção por *Leishmania spp.* na população de acordo com IDRM, e ELISA, onde 12,7% e 19,6% dos indivíduos apresentaram positividade respectivamente. Para a determinação dos indivíduos que já tiveram a doença foi

realizado além do relato, exame físico, onde era constatada a presença de cicatriz característica. Observou-se que 10,6% dos indivíduos entrevistados apresentaram histórico para LT.

**Tabela 16: Frequência da prevalência de infecção por *Leishmaniaspp* (n=480) do Distrito de Florestal Município de Jequié- Bahia.**

|              | <b>Infecção e doença</b>   |                            |
|--------------|----------------------------|----------------------------|
|              | <b>Frequência Absoluta</b> | <b>Frequência Relativa</b> |
| <b>IDRM</b>  |                            |                            |
| Sim          | 61                         | 12,7                       |
| Não          | 160                        | 33,3                       |
| *SI          | 259                        | 54,0                       |
| <b>TOTAL</b> | <b>480</b>                 | <b>100</b>                 |
| <b>ELISA</b> |                            |                            |
| Sim          | 94                         | 19,6                       |
| Não          | 253                        | 52,7                       |
| *SI          | 133                        | 27,7                       |
| <b>TOTAL</b> | <b>480</b>                 | <b>100</b>                 |
| <b>LTA</b>   |                            |                            |
| Sim          | 51                         | 10,6                       |
| não          | 428                        | 89,2                       |
| *SI          | 01                         | 0,2                        |
| <b>TOTAL</b> | <b>480</b>                 | <b>100</b>                 |

\*SI- sem informação

### **Condições associadas à infecção**

Foram avaliadas condições que poderiam estar associadas à infecção: 92,2% das famílias negaram uso de mosquiteiros; 85,3% não usavam repelentes. A criação de animais domésticos no domicílio foi referida por 70,5% das famílias, sendo que 48,8% possuem mais de uma espécie de animal no domicílio, e 77,5% no peri-domicílio, a maioria das residências estava próximo a rio, lago, vegetação e criação de animais (porcos e ou galinhas), (tabela 17).



**Tabela 17: Frequência das variáveis relacionadas ao padrão de moradia (n=129) e hábito das famílias na comunidade rural de Florestal – Jequié/Ba.**

| <b>Situação intra-domiciliar</b>   |                            |                               |
|------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|
|                                    | <b>Frequência Absoluta</b> | <b>Frequência Relativa(%)</b> |
| <b>Animais domésticos</b>          |                            |                               |
| Sim                                | 91                         | 70,5                          |
| Não                                | 36                         | 27,9                          |
| Ignorado                           | 02                         | 1,6                           |
| <b>Espécie de animal doméstico</b> |                            |                               |
| Cão                                | 23                         | 17,8                          |
| Gato                               | 08                         | 6,2                           |
| Galinha                            | 04                         | 3,1                           |
| Outros                             | 02                         | 1,6                           |
| Mais que uma opção                 | 63                         | 48,8                          |
| Não possui                         | 29                         | 22,5                          |
| <b>Uso de repelentes</b>           |                            |                               |
| Sim                                | 18                         | 14,0                          |
| Não                                | 110                        | 85,3                          |
| Ignorado                           | 01                         | 0,8                           |
| <b>Uso de mosquiteiro</b>          |                            |                               |
| Sim                                | 10                         | 7,8                           |
| Não                                | 119                        | 92,2                          |
| <b>Animais nas imediações</b>      |                            |                               |
| Cão                                | 15                         | 11,6                          |
| Gato                               | 03                         | 2,3                           |
| Sariguê                            | 01                         | 0,8                           |
| Mais que uma opção                 | 100                        | 77,5                          |
| Ignorado                           | 10                         | 7,8                           |
| <b>Residência próxima</b>          |                            |                               |
| Rio ou lago                        | 24                         | 18,6                          |
| Mata                               | 13                         | 10,1                          |
| Criação de galinhas                | 01                         | 0,8                           |
| Mais que uma opção                 | 91                         | 70,5                          |

Quando associamos o padrão familiar com a ocorrência de LT (tabelas 18 e 19) observamos uma razão de prevalência de 3,2 maior o risco de contrair a doença, nos indivíduos que residiam em casas que buscavam água em poço comum ou chafariz, não sendo significativa estatisticamente.

**Tabela 18: Análise da associação entre as variáveis relacionadas ao padrão de moradia das famílias (n=129) e a LT no Distrito de Florestal, Município de Jequié, Bahia.**

| Variáveis                | Histórico de LT na residência |      |            |      | Razão de prevalência | <i>p-valor</i> |
|--------------------------|-------------------------------|------|------------|------|----------------------|----------------|
|                          | Sim (n=39)                    |      | Não (n=89) |      |                      |                |
|                          | nº                            | %    | nº         | %    |                      |                |
| <b>Origem da água</b>    |                               |      |            |      |                      | 0,55           |
| Rede pública             | 20                            | 28,6 | 50         | 71,4 | Referência           |                |
| Poço comum               | 06                            | 46,2 | 07         | 53,8 | 1,6                  |                |
| Rio, Riacho              | 13                            | 28,9 | 32         | 71,1 | 1,0                  |                |
| <b>Tipo (n=126)</b>      |                               |      |            |      |                      | 0,19           |
| Alvenaria                | 26                            | 31,0 | 58         | 69   | Referência           |                |
| Taipa                    | 01                            | 25   | 03         | 75   | 0,8                  |                |
| Adobe                    | 10                            | 27,8 | 26         | 72,2 | 0,9                  |                |
| Sem reboco               | 02                            | 100  | 00         | 00   | 3,2                  |                |
| <b>Piso (n=127)</b>      |                               |      |            |      |                      | 0,93           |
| Cerâmica                 | 17                            | 30,9 | 38         | 69,1 | Referência           |                |
| Cimento                  | 20                            | 31,3 | 44         | 68,8 | 1,0                  |                |
| Chão batido              | 02                            | 25   | 06         | 75   | 0,8                  |                |
| <b>Cobertura (n=127)</b> |                               |      |            |      |                      | 0,68           |
| Telha                    | 35                            | 29,9 | 82         | 70,1 | Referência           |                |
| Palha                    | 02                            | 33,3 | 04         | 66,7 | 1,1                  |                |
| Outros                   | 02                            | 50   | 02         | 50   | 1,7                  |                |

**Tabela 19: Análise da associação entre as variáveis sócio-demográficas relacionadas ao hábito de moradia das famílias (n=129), e a LT no Distrito de Florestal, Município de Jequié, Bahia.**

| Variáveis                          | Histórico de LT na residência |      |     |      | Razão de prevalência | <i>p-valor</i> |
|------------------------------------|-------------------------------|------|-----|------|----------------------|----------------|
|                                    | Sim                           |      | Não |      |                      |                |
|                                    | n°                            | %    | n°  | %    |                      |                |
|                                    |                               |      |     |      |                      | 0,52           |
| <b>Destino do lixo</b>             |                               |      |     |      |                      |                |
| Terreno baldio                     | 15                            | 31,9 | 32  | 68,1 | Referência           |                |
| Queimado                           | 20                            | 28,2 | 51  | 71,8 | 0,9                  |                |
| Mais de uma opção                  | 03                            | 60,0 | 02  | 40,0 | 1,9                  |                |
| Outros                             | 01                            | 25,0 | 03  | 75,0 | 0,8                  |                |
| <b>Destino dos dejetos</b>         |                               |      |     |      |                      | 0,70           |
| Vala                               | 13                            | 32,5 | 27  | 67,5 | Referência           |                |
| Rede de esgoto                     | 01                            | 50,0 | 01  | 50   | 1,54                 |                |
| Fossa séptica                      | 06                            | 33,3 | 12  | 66,7 | 1,0                  |                |
| Fossa negra                        | 01                            | 11,1 | 08  | 88,9 | 0,35                 |                |
| Outros                             | 18                            | 33,3 | 36  | 66,7 | 1,0                  |                |
| <b>Possui animais domésticos</b>   |                               |      |     |      |                      | 0,23           |
| Não                                | 08                            | 22,2 | 28  | 77,8 | Referência           |                |
| Sim                                | 30                            | 33,3 | 61  | 67,0 | 1,5                  |                |
| <b>Espécie de animal doméstico</b> |                               |      |     |      |                      | 0,09           |
| Cão                                | 05                            | 21,7 | 18  | 78,3 | Referência           |                |
| Gato                               | 01                            | 12,5 | 07  | 87,5 | 0,58                 |                |
| Galinha                            | 00                            | 0    | 04  | 100  |                      |                |
| Mais de uma opção                  | 26                            | 41,3 | 37  | 58,7 | 1,9                  |                |
| <b>Uso mosqueteiro</b>             |                               |      |     |      |                      | 0,47           |
| Sim                                | 01                            | 10,0 | 09  | 90   | Referência           |                |
| Não                                | 38                            | 31,9 | 81  | 68,1 | 3,19                 |                |

Quando analisamos a associação entre as variáveis do peri-domicílio com a ocorrência de LT, observamos uma razão de prevalência de 3,3 maior o risco para a ocorrência da doença em indivíduos que residem nas casas que abrigam gatos (tabela 20). Entretanto não foi significativo estatisticamente.

**Tabela 20: Análise da associação entre as variáveis relacionadas ao ambiente peri-domiciliar das famílias (n=129) e a LT, em comunidades rurais do Distrito de Florestal, Município de Jequié, Bahia.**

| Variáveis                     | Histórico de LT na residência |      |     |      | Razão de prevalência | <i>p-valor</i> |
|-------------------------------|-------------------------------|------|-----|------|----------------------|----------------|
|                               | Sim                           |      | Não |      |                      |                |
|                               | nº                            | %    | nº  | %    |                      |                |
| <b>Animais nas imediações</b> |                               |      |     |      |                      | <i>0,378</i>   |
| Cão                           | 03                            | 20,0 | 13  | 80,0 | Referência           |                |
| Gato                          | 02                            | 66,7 | 01  | 33,3 | 3,3                  |                |
| Mais de uma opção             | 31                            | 31,0 | 69  | 69,0 | 1,6                  |                |
| <b>Residência próxima</b>     |                               |      |     |      |                      | <i>0,623</i>   |
| Rio ou lago                   | 05                            | 20,8 | 19  | 79,2 | Referência           |                |
| Mata                          | 04                            | 30,8 | 10  | 69,2 | 1,48                 |                |
| Mais de uma opção             | 30                            | 33,0 | 61  | 67,0 | 1,59                 |                |

Ao analisarmos as variáveis sócio-demográficas com a IDRM, encontrou-se uma razão de prevalência de 1,8 vezes maior para a infecção na faixa etária entre 41-50 anos, com significância estatística ( $p= 0,000$ ) e uma razão de prevalência de 3,1 vezes maior para a infecção em lavradores, com  $p = 0,004$  (tabela 21).

**Tabela 21: Associação entre variáveis sócio-demográficas e o teste IDRM em comunidades rurais do Distrito de Florestal, Município de Jequié - Bahia (n=213)**

| Variáveis       | IDRM     |      |          |      | Razão de prevalência | <i>p-valor</i> |
|-----------------|----------|------|----------|------|----------------------|----------------|
|                 | Positivo |      | Negativo |      |                      |                |
|                 | nº       | %    | nº       | %    |                      |                |
| <b>Sexo</b>     |          |      |          |      |                      | <i>0,730</i>   |
| Feminino        | 30       | 28,0 | 77       | 72,0 | Referência           |                |
| Masculino       | 32       | 30,2 | 74       | 69,8 | 1,1                  |                |
| <b>Idade</b>    |          |      |          |      |                      | <i>0,000</i>   |
| 01-10           | 3        | 6,4  | 44       | 93,6 | Referência           |                |
| 11-20           | 8        | 21,6 | 29       | 78,4 | 3,4                  |                |
| 21-30           | 3        | 10,7 | 25       | 89,2 | 1,7                  |                |
| 31-40           | 8        | 30,8 | 18       | 69,2 | 4,8                  |                |
| 41-50           | 12       | 36,4 | 21       | 63,3 | 5,7                  |                |
| 51- ↑           | 27       | 54,0 | 23       | 46,0 | 8,4                  |                |
| <b>Ocupação</b> |          |      |          |      |                      | <i>0,004</i>   |
| Escolar         | 09       | 15,5 | 49       | 84,5 | Referência           |                |
| Lavrador        | 30       | 47,6 | 33       | 52,4 | 3,1                  |                |
| Aposentado      | 03       | 33,3 | 06       | 66,7 | 2,1                  |                |
| Doméstica       | 16       | 34,0 | 31       | 66,0 | 2,2                  |                |
| Outros          | 01       | 14,3 | 06       | 85,7 | 0,9                  |                |

Analisando as variáveis sócio-demográficas e o ELISA encontramos uma razão de prevalência de 1,2 vezes maior para a infecção nos homens, a faixa etária acima de 50 anos apresentou uma razão de prevalência de 8,1 vezes maior para a infecção com  $p = 0,000$ , e uma razão de prevalência de 4 vezes maior para lavradores, sendo estatisticamente significativa  $p = 0,001$  (tabela 22).

**Tabela 22: Associação entre sexo, idade, e atividades laborais com ELISA em indivíduos estudados no Distrito de Florestal, Município de Jequié, Bahia.**

| Variáveis       | ELISA    |      |          |      | Razão de prevalência | <i>p</i> -valor |
|-----------------|----------|------|----------|------|----------------------|-----------------|
|                 | Positivo |      | Negativo |      |                      |                 |
|                 | nº       | %    | nº       | %    |                      |                 |
| <b>Sexo</b>     |          |      |          |      |                      | 0,200           |
| Feminino        | 39       | 24,4 | 121      | 75,6 | Referência           |                 |
| Masculino       | 55       | 29,4 | 132      | 70,6 | 1,2                  |                 |
| <b>Idade</b>    |          |      |          |      |                      | 0,000           |
| 01-10           | 03       | 5,6  | 50       | 94,4 | Referência           |                 |
| 11-20           | 9        | 3,2  | 59       | 96,8 | 0,6                  |                 |
| 21-30           | 11       | 22,0 | 39       | 78,0 | 3,9                  |                 |
| 31-40           | 15       | 34,9 | 28       | 65,1 | 6,2                  |                 |
| 41-50           | 16       | 34,7 | 30       | 65,3 | 6,2                  |                 |
| 51- ↑           | 39       | 45,3 | 47       | 54,7 | 8,1                  |                 |
| <b>Ocupação</b> |          |      |          |      |                      | 0,001           |
| Escolar         | 08       | 10,3 | 70       | 89,7 | Referência           |                 |
| Lavrador        | 49       | 41,2 | 70       | 58,8 | 4,0                  |                 |
| Aposentado      | 10       | 35,7 | 18       | 64,3 | 3,5                  |                 |
| Domestica       | 21       | 31,3 | 46       | 68,7 | 3,0                  |                 |
| Outros          | 01       | 10,0 | 09       | 90,0 | 0,97                 |                 |

Encontramos uma forte associação entre a IDRМ e a ocorrência de LT nos indivíduos que participaram do estudo, o que corrobora com o uso deste como parâmetro para avaliar a ocorrência de doença com  $p = 0,00$  (tabela 23).

**Tabela 23: Associação entre o teste IDRМ e a ocorrência de LT nos indivíduos estudados no distrito de Florestal- Jequié /Ba (n=163)**

| História de LT | IDRМ     |      |          |      | Razão de prevalência | <i>p</i> -valor |
|----------------|----------|------|----------|------|----------------------|-----------------|
|                | Positivo |      | Negativo |      |                      |                 |
|                | nº       | %    | nº       | %    |                      |                 |
| Sim            | 26       | 92,9 | 2        | 7,1  | Referência           | 0,000           |
| Não            | 36       | 19,5 | 149      | 80,5 | 0,21                 |                 |
| Total          | 62       | 100  | 153      | 100  |                      |                 |

Encontramos associação entre o teste de ELISA e a ocorrência de LT nos indivíduos que participaram do estudo, estatisticamente significância com  $p = 0,00$  (tabela 24).

**Tabela 24: Associação entre o teste IDRDM e a ocorrência de LT nos indivíduos estudados no distrito de Florestal- Jequié /Ba (n=163)**

| Variável              | ELISA    |      |          |      | Razão de prevalência | <i>p-valor</i> |
|-----------------------|----------|------|----------|------|----------------------|----------------|
|                       | Positivo |      | Negativo |      |                      |                |
|                       | n°       | %    | n°       | %    |                      |                |
| <b>História de LT</b> |          |      |          |      |                      | <i>0,000</i>   |
| Sim                   | 27       | 65,8 | 14       | 34,2 | Referência           |                |
| Não                   | 67       | 22,2 | 235      | 77,8 | 0,34                 |                |
| Total                 | 94       | 100  | 249      | 100  |                      |                |

Participaram da primeira fase do estudo 421 indivíduos e na segunda fase 381 indivíduos de acordo com o quadro abaixo:

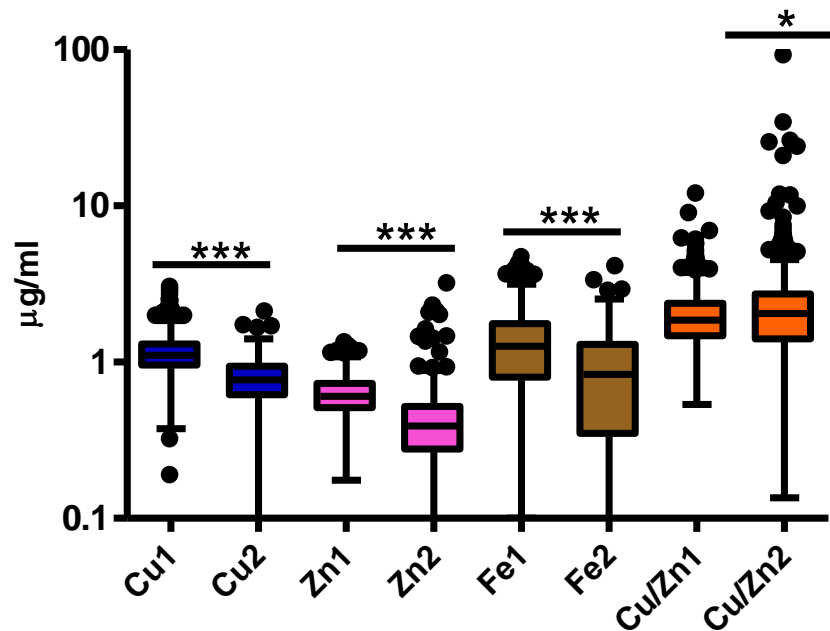
**Quadro 3: : Frequência das variáveis laboratoriais estudadas nos indivíduos do Distrito de Florestal**

| Variáveis Estudadas | 1ª Fase |       | 2ª Fase |       |
|---------------------|---------|-------|---------|-------|
|                     | n= 421  | %     | n= 381  | %     |
| IDRM+               | 65      | 15,44 | 123     | 32,28 |
| IRDM -              | 190     | 45,13 | 176     | 46,19 |
| ELISA +             | 110     | 26,13 | 65      | 17,06 |
| ELISA -             | 284     | 67,46 | 282     | 74,02 |
| Zn def.             | 104     | 24,70 | 245     | 64,30 |
| Zn não def.         | 290     | 68,88 | 98      | 25,72 |
| Cu def.             | 5       | 1,19  | 45      | 11,81 |
| Cu não def.         | 389     | 92,40 | 298     | 78,15 |
| Fe def.             | 42      | 1,00  | 116     | 30,45 |
| Fe não def.         | 352     | 83,61 | 227     | 59,58 |

#### 8.4. PERFIL SOROLÓGICO DOS NÍVEIS DE METAIS NO DISTRITO DE FLORESTAL/MUNICÍPIO DE JEQUIÉ

A figura 12 mostra os níveis de Cu, Zn e Fe detectados em amostras de plasma de indivíduos do Distrito de Florestal analisadas nas 2 etapas deste estudo. Pode-se observar que houve diminuição nos níveis de Cu, Zn e Fe da (1ª fase) para a 2ª fase, diferente do encontrado no povoado de São Gonçalo. Como se sabe que há uma competição entre Cu e Zn pelo mesmo substrato, o que pode interferir nos níveis plasmáticos desses metais, resolvemos calcular a razão entre Cu e Zn, e encontramos uma diminuição dessa razão. Também

diferentemente do encontrado em São Gonçalo, verificamos que houve uma diminuição da razão Cu/Zn nos indivíduos da (1ª fase) para a (2ª fase) do estudo em Florestal.



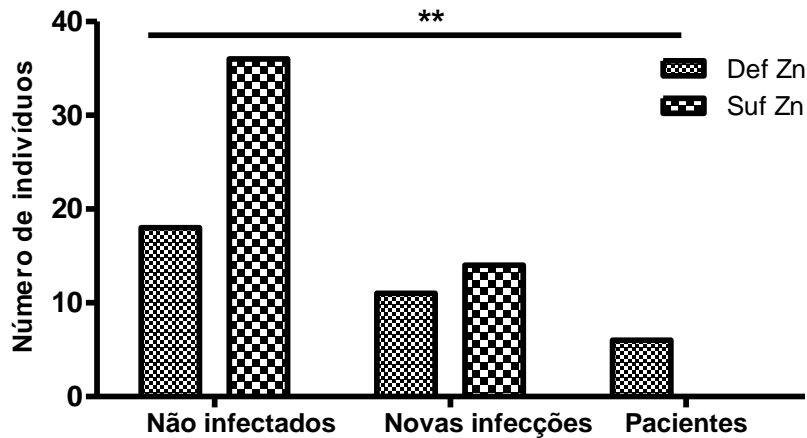
**Figura 12:** Quantificação dos níveis plasmáticos de Cu, Zn e Fe nos indivíduos do estudo nas duas etapas (1) n=394; e (2) n=341) além das razões Cu/Zn (teste t não paramétrico e pós teste Mann Whitney,  $p < 0.0001$  para as comparações Cu(1) vs Cu(2), Zn(1) vs Zn(2), Fe(1) vs Fe(2), e  $p=0.024$  para CuZn(1) vs Cu/Zn(2).

No que diz respeito à comparação qualitativa dos níveis plasmáticos de Zn entre indivíduos do distrito de Florestal, não infectados, novas infecções e novos pacientes LT, a figura 13, observou-se a diminuição dos níveis de Cu, Zn e Fe na população analisada, da (1ª) fase para a (2ª) fase. Nossa pergunta seguinte consistiu em analisar então se os níveis reduzidos de Zn apontavam para o risco de ocorrência de doença. Realizamos uma análise qualitativa entre os subgrupos não infectados, novas infecções e pacientes de LT, separando os indivíduos de cada subgrupo em deficiente (Def. Zn) e suficiente de Zn (Suf. Zn) para a (1ª) fase do estudo (Figura 13).

Como se pode notar, nos indivíduos não infectados, 18/54(33,33%) apresentaram deficiência de Zn, enquanto 36/54(66,67%) apresentaram suficiência dos níveis de Zn. Nos indivíduos com novas infecções, encontramos 11/25(44%) indivíduos com deficiência de Zn, enquanto que os outros 14/25(56%) indivíduos restantes eram suficientes. Nos novos pacientes, surpreendentemente, encontramos que todos (6/6) apresentaram deficiência de Zn, sugerindo fortemente uma correlação dos níveis de Zn com a progressão de infecção para doença.



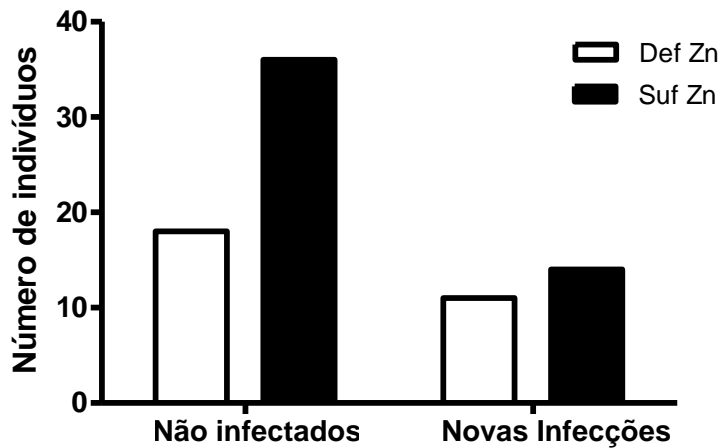
A incidência de infecção em cinco anos, encontrada no grupo dos indivíduos com suficientes de zinco foi de 28%, sendo que nenhum destes indivíduos evoluíram para a doença, enquanto que no grupo deficientes de zinco a incidência foi de 48% no mesmo período, sendo que destes 17% progrediram para a doença.



**Figura 13:** Comparação qualitativa dos níveis plasmáticos de Zn nos indivíduos da (1ª) fase do estudo (n=85), entre os subgrupos de não infectados (n=54), novas infecções (n=25) e novos pacientes (n=6), (Teste de X2 para análise de risco (p=0,0067, p trend=0,0059)

Realizou-se uma análise qualitativa dos níveis de Zn entre os subgrupos de não infectados e com novas infecções, separando os indivíduos de cada subgrupo em Def. Zn e Suf. Zn, conforme mostrado na Figura 14. Como se observa, 18/54 (33,33%) indivíduos não infectados apresentaram deficiência de Zn, enquanto 36/54 (66,67%) apresentaram suficiência dos níveis de Zn.

Já em relação às novas infecções, encontramos 11/25 (44%) indivíduos com deficiência de Zn, enquanto que os outros 14/25 (56%) restantes eram suficientes. Pode-se observar, dentre os indivíduos com deficiência de Zn, que houve uma diferença de 32% na frequência relativa de indivíduos não infectados (33,33%) em relação à frequência de novos indivíduos infectados (44%), sugerindo, de acordo com estes dados, que a ocorrência de infecção poderia depender dos níveis de Zn. Entretanto, não foi encontrado aumento do risco associado aos níveis de Zn para infecção (teste de Fisher, RR = 0,76 [0,42 – 1,35], p=0,45).



**Figura 14:** Comparação qualitativa dos níveis plasmáticos de Zn nos indivíduos da 1ª etapa do estudo (n=63), entre os subgrupos de não infectados (n=54) e novas infecções (n=25). Teste de Fisher para análise de risco (RR=0,76 [0,42-1,35], p=0,45).

#### 8.4.1 Correlação entre níveis plasmáticos de metais e tamanho da IDRM de indivíduos não infectados e infectados do distrito de Florestal.

Observamos anteriormente diferenças qualitativas nos níveis de Zn dos novos pacientes (figura 13), mas não nas novas infecções (figura 13 e 14). Assim, fizemos uma avaliação da análise de risco realizando o teste de Fisher e encontramos aumento do risco somente de doença e não de infecção (figuras 13 e 14), ou seja, a progressão para doença depende dos níveis de Zn, mas a infecção não. Portanto, na tentativa de encontrar uma associação entre níveis de metais e IDRM nos indivíduos dos subgrupos não infectados e novas infecções, do distrito de Florestal, realizamos uma análise de correlação entre os níveis de Zn e tamanho da IDRM.

Assim, obtivemos correlação positiva entre IDRM e níveis de Fe ( $p=0,046$ ,  $r=0,25$ ) somente, mas não de Zn. (figura 15).

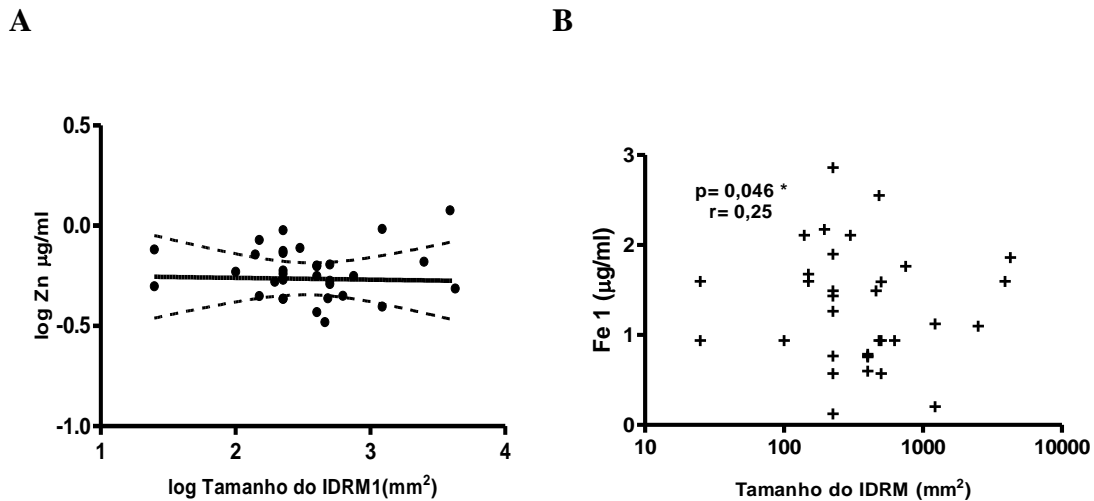


Figura 15: Correlação entre níveis plasmáticos de metais Zn (A) ou Fe (B) e tamanho da IDRM de indivíduos (n=33) não infectados e infectados da 1ª etapa do estudo do distrito de Florestal. Teste de Correlação de Spearman, ns (A);  $p=0,046$ ,  $r=0,25$  (B).

#### 8.4.2 Correlação entre níveis plasmáticos de FA e tamanho da IDRM de indivíduos não infectados e infectados da 1ª etapa do estudo do distrito de Florestal.

Assim como observado no povoado de São Gonçalo na 1ª etapa, os níveis da enzima FA, detectada em amostras de plasma dos indivíduos do estudo no Distrito de Florestal (dados não mostrados) foram semelhantes. Todavia, como se pode observar na figura 16, encontramos uma correlação negativa entre os níveis de FA e o tamanho da IDRM, ou seja, quanto maior os níveis de FA, menor é a área de IDRM nos indivíduos não infectados e infectados da 1ª etapa do estudo ( $p = 0,038$ ,  $r = -0,36$ , teste de correlação de Spearman).

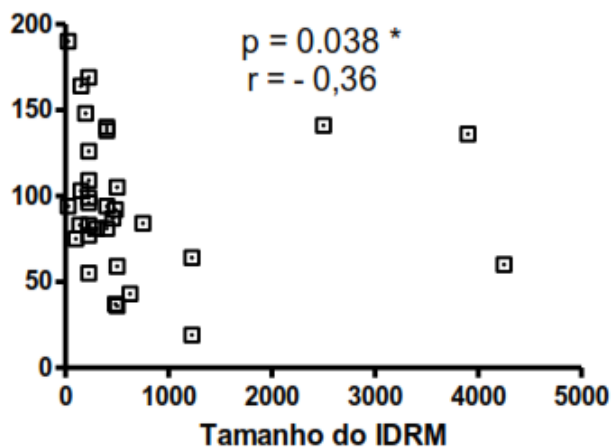


Figura 16: Correlação entre níveis plasmáticos de FA e tamanho da IDRM de indivíduos não infectados e infectados da 1ª etapa do estudo do distrito de Florestal (n=33). Teste de Correlação de Spearman  $p=0,038$ ,  $r = - 0,36$ .

## 9 DISCUSSÃO

### 9.1 CARACTERÍSTICAS SOCIOECONÔMICAS DEMOGRÁFICAS E AMBIENTAIS

A dinâmica da LT pode apresentar características clínicas e epidemiológicas distintas, entre os locais de ocorrência em função das variáveis relacionadas aos parasitos, aos vetores, aos ecossistemas e aos processos sociais de produção e de uso do solo (MARZOCHI *et al.* 1992; MS, BRASIL, 2007<sub>a,b</sub>). As características demográficas de uma população são fundamentais para o entendimento da morbidade da população como também para o planejamento de ações preventivas e de controle para as doenças infecto parasitárias (DIPs). As DIPs ocupam um papel relevante entre as causas de morte no Brasil se revestindo de importância por seu expressivo impacto social, já que está diretamente associado à pobreza e a má qualidade de vida, relacionada com condições de moradia, alimentação e higiene precária (PAES & SILVA, 1999).

Foi observada nas populações de São Gonçalo e Florestal, um baixo poder aquisitivo, onde 73% e 69,8% das famílias apresentaram respectivamente uma renda familiar menor que um salário mínimo por mês, porcentagem semelhante (66,7%) encontrada por Santos *et al.*, 2000, em seu estudo na região de Corte de Pedra e por Nascimento *et al.*, 2005, na localidade Jardim Tropical leste da Ilha de São Luís do Maranhão, onde 65% das famílias recebiam menos que um salário mínimo. De acordo com avaliação do IPEA (Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada), este cenário de vulnerabilidade confirma a atualidade e urgência da reforma agrária como única forma de superar as condições precárias de vida e a pobreza que caracteriza o meio rural brasileiro.

Em relação à distribuição da população por faixa etária observou-se que no Povoado de São Gonçalo 28% da população pertencia a indivíduos na faixa etária entre 11-20 e no Distrito de Florestal encontramos 22,1% da população pertencia a indivíduos adultos com faixa etária acima de 51 anos. De acordo com dados da literatura (BARRETTO *et al.*, 1981; SANTOS *et al.*, 2000), o povoado de São Gonçalo mantém o padrão de faixa etária onde a maior frequência são de crianças e adolescentes de 6-15 anos, porém o mesmo não ocorre no Distrito de Florestal, este achado pode ser explicado pela evasão da população jovem do Distrito de Florestal em busca de melhores condições de vida e também pela diminuição das taxas de natalidade e mortalidade, além de ser a faixa etária mais efetiva como mão de obra na região.

Em São Gonçalo o sexo feminino apresentou uma pequena predominância em relação ao masculino (55,9%), já em Florestal o gênero masculino obteve uma pequena

predominância em relação ao feminino (56,7%) resultado este que se assemelha aos de Nunes *et al.*, 2006, com 50,6% de homens na população do Brejo de Mutambal em Minas Gerais e 68,5% no estado de Bolívar (Venezuela), que segundo González *et al.* (2000), consequência da maior migração do gênero feminino nos últimos anos no fenômeno denominado feminização dos fluxos migratórios ou dos deslocamentos populacionais (BILAC, 1995; LISBOA, 2007).

Em ambas as áreas de estudo, a maioria da população tem como ocupação o trabalho rural, São Gonçalo (55,5%) e Florestal (34,1%), o traçado do perfil laboral da região, demonstra a pobreza das localidades, dado que corrobora com os achados de Nunes *et al.* (2006); Santos *et al.* (2000) e Rebelo *et al.* (2009). Dessa maneira, grande parte das populações estudadas encontram-se dentro de grupos considerados de risco, sendo estes grupos de alto risco para aquisição da doença: agricultores, obreiros de fazendas, madeireiros, caçadores, excursionistas e naturalistas (DOURADO *et al.*, 1989; GONZÁLEZ *et al.*, 2000).

Assim o perfil das populações demonstra maior susceptibilidade à infecção, pois segundo Sosa-Estani (2001), existem três fatores importantes responsáveis pelo incremento de casos da doença em determinadas áreas: a destruição das florestas, as profundas alterações do meio ambiente e a situação sócio-econômica da população.

Na comunidade de São Gonçalo parte das famílias encontra-se em condições precárias de habitação, com 86,5% das casas construídas de adobe. Já a comunidade de Florestal vive com boa estrutura de moradia e energia elétrica, porém encontramos ainda uma parte das famílias em condições precárias de habitação, com 28,6% das casas construídas de adobe e 4,7% com cobertura tipo palha, contudo esses números são inferiores aos dados de Silveira *et al.* (1996); Caldas, (1998); Santos *et al.* (2000); Nascimento *et al.* (2005), onde encontraram um predomínio de construção tipo taipa e adobe e cobertura de palha, que segundo estes autores, este tipo de moradia de construções mais abertas pode favorecer a entrada do vetor. Segundo o PNAD (Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios), existem diferenças marcantes entre os Estados do Nordeste quanto ao tipo de moradia das famílias.

Quanto ao abastecimento de água 100% das residências em São Gonçalo e 45,7% das residências de Florestal não possuíam água encanada. Dados encontrados por Caldas (1998), em um estudo feito em duas comunidades do Maranhão: Vila Nova e Bom Viver demonstraram que apenas 26,1% e 11,7% das comunidades respectivamente possuíam água encanada enquanto que Nascimento *et al.*, 2005, descreveram que somente 2,5% das habitações possuíam água encanada, podendo esta água muitas vezes ser canalizada de fontes naturais, que chegam aos domicílios para uso diverso sem qualquer tratamento prévio

(VANZELI e KANAMURA 2007), pois a localização de residências afastadas torna difícil o acesso a serviços públicos.

Se tratando do destino dos dejetos no Povoado de São Gonçalo, 86,4% das residências relataram o uso de vala ou os mesmos eram lançados no ambiente, enquanto que no Distrito de Florestal 31,0% das residências utilizavam valas e apenas 15,6% das moradias relataram possuir rede de esgoto ou fossa séptica. Em relação ao destino do lixo 51,4% das residências de São Gonçalo relataram lançar o lixo em terreno baldio, já a maior parte da população de Florestal queimava ou jogava no terreno próximo a sua casa 55,0% e 36,4% respectivamente, fatos já observados por Caldas (1998) e Gama *et al.* (1998). O acúmulo de lixo e dejetos na região do peridomicílio atraem alguns mamíferos e animais sinantrópicos (reservatórios) que irão favorecer a formação da biocenose artificial da LT da qual o homem faz parte (GOMES, 1983).

A ausência de animais domésticos nas residências das comunidades de São Gonçalo e Florestal ocorreu em apenas 16,2 e 27,9% respectivamente, porcentagens similares foram encontradas por Santos, *et al.* (2000) e Caldas, (1998), que constataram a ausência de animais em 19,6% e 13,4% respectivamente, corroborando assim, com o padrão da família rural brasileira, onde temos famílias compostas por seres humanos e animais domésticos. Vale ressaltar que são geralmente encontrados mais que uma espécie de animal no ambiente domiciliar (CALDAS, 1998). A presença de animais domésticos pode aumentar o risco de infecção ao homem, visto que o sangue destes animais pode exercer atração sobre os flebótomos transmissores, possibilitando que estes insetos invadam o ambiente domiciliar, expondo seus moradores (BARROS *et al.*, 1985; PEDROSA, 2007).

Como a transmissão da LT se dá através da picada do inseto vetor, perguntamos no inquérito sobre a presença de mosquitos (insetos) em suas residências, 64,9% das famílias de São Gonçalo referiram existir mosquitos no domicílio, enquanto Florestal apresentou valor relativamente maior com 79%, sendo que estes percentuais estão próximos aos encontrados por Caldas (1998) com 63,8% e 67,4% nas comunidades de Vila Nova e Bom Viver respectivamente. A domiciliação do vetor pode ser estimulada pela destruição de seus ecotópos, onde encontram nas residências abrigos e alimentação farta representada pelos moradores, animais domésticos e pelo acúmulo de lixo, que propicia a proliferação do vetor, fatos observados na comunidade (BARROS *et al.* 1985; BRASIL 2007). Apesar da presença dos mosquitos a maioria dos indivíduos não utilizava proteção individual como o uso de repelentes ou mosquiteiros.

De acordo Marzochiet *et al.*, 1997, residências próximas à criação de animais, rios ou vegetação é uma característica relevante na epidemiologia das leishmanioses. 83,7% das residências de São Gonçalo e 92,2% de Florestal apresentaram animais em seu peridomicílio, e 94,6% e 70,5% das residências de São Gonçalo e Florestal, respectivamente, situavam-se próximas a vegetações, rios e criações de animais, dados que se assemelham a outras regiões rurais estudadas no Brasil (CALDAS *et al.*, 2002; TEODORO *et al.*, 2007).

## 9.2 ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO

As condições ambientais de uma população estão estreitamente relacionadas com as condições sócio-econômicas das famílias e têm um importante papel no desenvolvimento das DIPs. Os elementos fundamentais que servem como indicadores para avaliar incremento na qualidade de vida, são: o acesso à água potável, destino do lixo e moradia adequada (TONIAL & SILVA, 1997).

Na comunidade de Florestal as residências que não possuíam água encanada tiveram uma prevalência maior para infecção por *Leishmania spp.*, do que aquelas que possuíam água encanada, já na comunidade de São Gonçalo não possui um sistema de abastecimento de água canalizada, todos os moradores se deslocam para buscar água, fato que indica maior exposição ao vetor, o que aumenta o risco de infecção, apesar de não ter sido estatisticamente significativo este dado, existe consistência com dados da literatura (CALDAS *et al.*, 2002; NASCIMENTO *et al.*, 2005; PASSOS *et al.*, 2001).

As residências cuja cobertura era feita de palha apresentaram uma maior razão de prevalência à infecção com 1.5 e 1.1 vezes respectivamente para São Gonçalo e Florestal, porém, esses dados não são estatisticamente significantes. Casas de construções mais abertas podem favorecer a entrada do vetor, predominando a cobertura de palha e construção tipo taipa (CALDAS *et al.*, 2002). Segundo Caldas *et al.*, 2002, casa com cobertura de palha, paredes de taipa, piso de chão batido, ausência de abastecimento de água e coleta de lixo apresentaram prevalência maior de infecção por *Leishmania spp.*

A presença de animais domésticos mostrou uma maior prevalência à infecção principalmente quando se tratava da presença de varias espécies, dado similar aos de Pedrosa (2007) e Nascimento *et al.*, 2005, onde contrário a este estudo, obteve uma relação estatisticamente significativa entre presença de animais domésticos e IDRM. Entretanto a presença isolada do cão assim como neste estudo não teve relação com a infecção. Animais domésticos incrementam o risco quando se encontram em número de igual ou superior a três (TEODORO *et al.*, 1995; SOSA- ESTANI *et al.*, 2001). Isto contribui com os achados que

associam a LT com a presença de animais como galinhas, suínos, vacas, equinos e cachorros em domicílio e peridomicílio (VELA, 1996; REBELO *et al.*, 2009). A positividade de cães, equinos e roedores domésticos infectados por *Leishmania spp.*, sugere a participação dos mesmos na domiciliação da LT (FOLLADOR *et al.*, 1999). Sosa-Estani *et al.*, 2001, mostra um risco significativo na transmissão de LT em ambiente domiciliar precário com presença de animais domésticos. Sendo assim, basta que a infecção entre em circuito peridoméstico, por intermédio de animais sinantrópicos ou domésticos, para que a doença se estabeleça e se incremente devido às condições insalubres e miseráveis de vida (MARTINS *et al.*, 2004). Na comunidade de Florestal, o uso de mosquiteiros apresentou uma redução na prevalência apesar de não ter sido significante  $p= 0,47$ . Nascimento (2005), não observou a utilização do mosquiteiro como fator protetor o qual justifica o resultado pelo uso inadequado do mesmo.

Estudos realizados por diversos autores demonstraram que a infecção por *Leishmania spp.* pode ocorrer no peridomicílio e está associada a moradias próximas as florestas (FOLLADOR *et al.*, 1999; CAMPBELL-LEDUM *et al.*, 2001, VANZELI e KANAMURA, 2007). Neste estudo, encontramos que casas próximas a rios, vegetações e a criação de galinhas, tiveram uma maior prevalência, não mostrando, porém significância estatística.

As casas próximas às matas nas comunidades, tanto de São Gonçalo quanto de Florestal, deixam os indivíduos mais expostos ao vetor, aumentando assim a possibilidade de serem infectados, dados que corroboram com diversos estudos quando afirmam que alterações ambientais implicam diretamente quanto ao risco do homem adquirir a infecção, pois se atribui as formas de ocupação dos ambientes florestais como fator determinante para aquisição da doença (FALQUETO *et al.*, 1986; FOLLADOR *et al.*, 1999; MARTINS *et al.*, 2004; VANZELI e KANAMURA *et al.*, 2007). As moradias próximas aos rios com bosque e animais domésticos ajudam a propagação do vetor no domicílio e peridomicílio tanto em ambientes rurais como periurbanos (SOSA-ESTANI, 2001).

No que se refere ao gênero e a infecção tanto a IDRM quanto o ELISA, o gênero feminino apresentou uma pequena proteção com razão de prevalência de 1,1 e 1,2 em Florestal e 1,8 e 1,2 em São Gonçalo, mas não foram significantes estatisticamente. Esta carência de associação quanto ao gênero pode ser devida a existência de um ciclo de transmissão da infecção na região do peridomicílio e domicílio (DOURADO *et al.*, 1989; FOLLADOR *et al.*, 1999; MONTEIRO *et al.*, 2008). GONZÁLEZ *et al.*, (2000) justificaram a infecção entre as mulheres, pela exposição destas nos horários vespertinos na região do peridomicílio para atividades próprias do lar como: lavar roupas e louças, varrer o pátio e molhar o jardim. Contrário aos nossos dados, Nunes *et al.* (2006) em seu estudo encontrou



uma maior predominância de homens infectados com um OR para a população masculina de 1,67 com significância de  $p=0,002$ . O que corrobora com os achados de vários outros estudos (MARTINS *et al.*, 2004; CHAGAS *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2007; REBELO *et al.*, 2009). Demonstrando uma transmissão extradomiciliar já que este gênero passa a maior parte do tempo fora do domicílio, por estar hipoteticamente relacionado à inserção nas atividades produtivas.

A correlação entre idade e infecção também não diferiu quanto aos testes realizados (IDRM e ELISA), sendo ambos estatisticamente significantes, mostrando que existe uma relação entre infecção e idade, onde a prevalência da infecção aumentava com a idade, semelhante aos dados encontrado por Dourado *et al.* (1989), que observaram um crescimento contínuo da taxa de infecção quando se observava as faixas etárias mais jovens até as faixas de 55 a 74 anos, onde se situava o pico da infecção com uma prevalência de 56,3%. Barreto *et al.* (1981), também verificaram o aumento na taxa de infecção a partir do grupo de 21-30 anos, corroborando com os achados prévios de Gonzalez *et al.* (2000); Martins *et al.* (2004); Silva *et al.* (2007) e Nunes *et al.* (2006) observaram que o OR crescia diretamente com a idade. Vale ressaltar que estas faixas etárias com índice maior de infecção são as faixas mais solicitadas para as atividades laborais.

O tipo de ocupação assim como a idade mostrou correlação com a infecção constatada pelo IDRM e pelo teste sorológico ELISA. Os lavradores tiveram maior prevalência à infecção, resultado que se assemelha a outros autores. Dourado *et al.* (1989) observando a relação entre infecção por *Leishmania spp.*, e a ocupação desempenhada pelos indivíduos, viu que os lavradores e garimpeiros são os mais infectados (66,8%) do que os indivíduos que exercem outras ocupações inclusive as donas de casa (39,0%). Martins *et al.* (2004) encontraram uma predominância da doença em lavradores, seguidos pela ocupação doméstica e Nogueira e Sampaio (2001) verificaram que a ocupação com maior prevalência a infecção por *Leishmania spp.*, foi a de trabalhadores ligados ao meio rural (29,7,1%), outros grupos que tiveram prevalência importante foram os estudantes (17,1%) e as donas de casa (14,9%).

A maior parte da dos indivíduos das comunidades de São Gonçalo e Florestal é composta por homens lavradores, nas faixas etárias mais ativas no campo, que desenvolve a aragem de terra, plantio e colheita, atividades que recaem no período diurno estendendo-se quase sempre à noite o que permite um maior contato com o vetor. O mesmo perfil foi encontrado por Santos *et al.*, (2000) na região de Corte de Pedra – BA e por Silva *et al.*, (1979) em trabalhos pioneiros na região de Buriticupu - MA, onde já discorria sobre a incidência da doença, sobretudo em lavradores adultos do gênero masculino, onde estes

estavam mais propícios à transmissão. O presente estudo reafirma os achados descritos por Silva, que encontrou maior incidência da doença em adultos e trabalhadores rurais.

O perfil descrito confere a LT o caráter de doença ocupacional. Contudo o aumento de mulheres atendidas, assim como, pessoas com ocupação doméstica e estudante, demonstra certa alteração nesse caráter que se deve a transmissão peridomiciliar ou intradomiciliar. A elevação de mulheres atingidas pode ser devido ao fato de estarem atuando em áreas antes restritas ao gênero masculino (NOGUEIRA e SAMPAIO, 2001).

### 9.3. PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR LEISHMANIA SPP.

A IDRM constitui uma ferramenta útil em estudos epidemiológicos, para verificar a exposição prévia da população aos antígenos dos parasitos do gênero *Leishmania*, considerando ter mais de 90% de sensibilidade e especificidade aplicadas a amostras representativas da população rural de determinadas áreas, sendo considerado um bom teste para avaliar o caráter endêmico da LT (FOLLADOR *et al.*, 1999; GOZÁLEZ *et al.*, 2000). Onde nossos dados corroboram com estes autores visto que foi encontrado apenas 7,1% de falsos negativos, contrário ao ELISA que obteve um número maior 34,2%.

Testes sorológicos são de utilidade clínica limitada para o diagnóstico da LM, forma onde a sensibilidade e especificidade são baixas (ZAJTCHUK *et al.*, 1989). Ao contrário, esses mesmos testes são altamente sensíveis para o diagnóstico da LV. O problema relacionado ao seu uso no diagnóstico da LV consiste na especificidade, pois há falso positivo em infecções assintomáticas por *Leishmania spp.*, ou em outras doenças infecciosas (LOUREIRO *et al.*, 1998).

Em nosso estudo a prevalência da infecção por *Leishmania spp.*, nas comunidades de São Gonçalo e Florestal, foi obtida através do teste de Montenegro (IDRM) e do exame sorológico ELISA, sendo os valores dessa prevalência praticamente similares para ambos os testes (IDRM - 23,3%), enquanto que, (ELISA - 25,3%) em São Gonçalo e em Florestal (IDRM - 28,8%) e (ELISA - 27,4%). Estas prevalências ou porcentagens de positividade se mostraram similares a outras populações rurais como em Las Rosas e Valle Hondo com prevalências respectivas de 22,6% e 24,8% (AGUILAR, 1985). Nunes *et al.*, (2006) aplicaram a IDRM em 1.120 indivíduos no Brejo de Mutambal (Distrito Varzelândia/Minas Gerais) com leitura de teste em 1020 identificarão 282(27,6%) de casos positivos, já a pesquisa de anticorpos anti *-Leishmania spp.*, pelo RIFI (reação de imunofluorescência indireta) e ELISA mostrou positividade em 127(13,1%) e 170 (17,5%) respectivamente. Segundo o autor a alta prevalência de reatividade a IDRM (27,6%) dos casos, foi também

assinalada em outras áreas endêmicas de LT. Prevalências superiores também foram encontradas em outras comunidades rurais dentre elas estão uma comunidade rural da Venezuela com prevalência de 33,9 (GONZÁLEZ *et al.*, 2000), e em áreas rurais de Lençóis/Bahia com 43,3% de prevalência (DOURADO *et al.*, 1989).

O nosso estudo se torna relevante por demonstrar dados epidemiológicos e sorológicos de pacientes e indivíduos infectados com LT de diferentes regiões da Bahia. Reforça também o nível de complexidade que envolve esta doença, que vai desde fatores intrínsecos (moleculares, bioquímicos, celulares, fisiológicos, nutricionais, resposta imune), até extrínsecos (parasita, vetor, condições socioeconômicas, demográficas, habitacionais e ambientais). As diversas combinações resultantes dessas diferentes possibilidades podem variar desde a resistência até a susceptibilidade, passando gradativamente pelos indivíduos não infectados, assintomáticos, infectados e pacientes com as formas mais graves. Todos estes aspectos deveriam ser avaliados e considerados no tocante a esquemas de tratamento e vacinação para leishmaniose, que teriam elevado impacto para o desenvolvimento científico e tecnológico relativo não só a leishmaniose, como também para outras doenças infectoparasitárias.

#### 9.4. PERFIL SOROLÓGICO DOS NÍVEIS DE METAIS (Zn, Cu, Fe) NAS COMUNIDADES DE SÃO GONÇALO E FLORESTAL

Doenças parasitárias e desnutrição permanecem como os maiores problemas de saúde nas áreas tropicais e subtropicais. Carências nutricionais envolvem, geralmente, escassez de proteínas, calorias e vários micronutrientes. Estudos sobre desnutrição apontam deficiências graves, principalmente de vitamina A e dos minerais cobre (Cu), zinco (Zn) e magnésio (Mg). De acordo com Chandra (1997), a desnutrição proteico-calórica está associada com falha significativa da resposta imune mediada por células, além da função fagocitária, do sistema complemento, da concentração de IgA secretada e da produção de citocinas. Os micronutrientes são elementos químicos essenciais para replicação celular, crescimento e desenvolvimento dos sistemas fisiológicos (MACEDO *et al.*, 2010).

De acordo com Prasad (2000), indivíduos sadios quando submetidos a uma dieta deficiente de Zn, apresentam diminuição da produção de citocinas Th1. Deficiências de um único nutriente, como: Zn, selênio (Se), ferro (Fe), Cu, vitaminas A, C, E, B6 e ácido fólico, têm resultado em alteração da resposta imune.

Há relatos sobre a importância do Zn na resposta imune em algumas doenças infecciosas e não infecciosas (PRASAD, 1995; ARAUJO, 2007; FRANKER, *et al.*, 2000).

Entretanto, são poucos os dados sobre o possível papel do Zn na patogênese da leishmaniose humana. Um estudo mostra que em pacientes turcos com LC houve baixos níveis de Zn e Fe, ambos corrigidos após tratamento com  $Sb^{+5}$  (KOCYYIGIT *et al.*, 1998). Em outro estudo realizado por nosso grupo (WEYENBERG, *et al.*, 2004), observamos que em pacientes com LCL, LM e LV, houve diminuição ou até marcante deficiência dos níveis de Zn.

Contribui para essas observações, o resultado visto em biópsia de pacientes com LCL, no qual a Superóxido-dismutase (CuZnSOD-1) apresentava níveis elevados nas lesões desses pacientes, sustentando a inflamação crônica (KHOURI, *et al.*, 2009). Sabe-se que o Zn e o Cu são requeridos como cofatores da SOD, e como vimos em nossos dados que os níveis de Zn sérico estavam diminuídos nos indivíduos de Florestal, podemos sugerir assim que uma diminuição de Zn sérico poderia estar associada ao aumento de SOD na lesão. Logo, os metais estariam sendo deslocados do soro para participar da composição de novas enzimas SOD, recém-produzidas nos macrófagos teciduais residentes ou que migraram para o local, levando ao aumento da produção de superóxido, metabólito que é tóxico e, em excesso, aumentaria o tamanho da lesão. Por outro lado, níveis suficientes de Zn, Cu e Fe são necessários para o desenvolvimento da resposta imune, tanto para proliferação e maturação das células do sistema imune, quanto para mudanças de seus níveis séricos em processos inflamatórios e infecciosos. Dessa maneira, quanto maior os níveis de Zn, maior a resposta imune celular controlada como observado em nosso estudo.

Apesar de não encontrarmos associação de aumento do risco para infecção com os níveis dos metais, esse aumento do risco para infecção foi observado nas duas localidades quando associado com as condições sócio-econômicas. Observou-se ainda associação dos níveis de Zn com o aumento significativo do risco para desenvolvimento da leishmaniose nos indivíduos que participaram do estudo na área endêmica do distrito de Florestal. Além disso, foi interessante notar que houve uma gradação tanto nos números absolutos quanto relativos de indivíduos com deficiência de Zn, partindo dos não infectados (18/54 ou 33,33%), para novos infectados (11/25 ou 44%) até os pacientes (6/6 ou 100%), de maneira semelhante ao que aconteceu com os níveis de IgG nos indivíduos de São Gonçalo.

No que diz respeito à fosfatase alcalina (FA), uma diminuição nos seus níveis poderia estar correlacionada com deficiências no estado nutricional, assim como, a diminuição nos níveis de Zn da 1ª para 2ª etapa do estudo. Além disso, o Zn funciona como um cofator da enzima FA. A ferritina, por sua vez, é a mais importante proteína de reserva do ferro e é encontrada em todas as células. Seus níveis, portanto, refletem os níveis de Fe. Assim, tivemos o interesse em avaliar o perfil dos níveis das proteínas ferritina e FA, que fazem parte

do grupo das proteínas de fase aguda, ou seja, elevam-se em resposta a infecções, e, portanto, poderiam ter algum papel na resposta imune, patogênese ou diagnóstico da LT.

## 10 CONCLUSÕES

Após a realização do estudo nas áreas de São Gonçalo (Município de Contendas do Sincorá) e Florestal (Município de Jequié) em dois momentos distintos, pode-se considerar as seguintes conclusões:

### 10.1. ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO E IMUNOALÉRGICO

- Necessidade de elaborar estratégias de vigilância e controle da LT nas áreas estudadas, após termos conhecido os possíveis focos de transmissão da *Leishmania spp.*, no circuito de transmissão domiciliar e extradomiciliar;
- A IDRМ mostrou-se mais indicado como marcador de infecção por *Leishmania spp.*, nas áreas estudadas, quando comparado ao teste sorológico (ELISA), tendo sido importante tanto na detecção da infecção quanto da LT, entretanto há necessidade de associarmos outros exames (imunológicos e parasitológicos), juntamente a clínica, para podermos validar o diagnóstico final;
- A maior prevalência de infecção por *Leishmania spp.*, foi observada em indivíduos adultos, trabalhadores rurais, gênero masculino nas comunidades estudadas entretanto sem significância estatística.

### 10.2 ESTUDO DOS MICRONUTRIENTES (Zn, Cu, Fe)

- Quando foram avaliados os níveis de Zn, Cu, Fe nos indivíduos nas duas fases do estudo, notou-se que a deficiência de Zn sugere aumento do risco para o desenvolvimento da doença LT, mas não para a infecção por *Leishmania spp.*, no Distrito de Florestal;
- Os níveis plasmáticos de Zn não se correlacionaram com a resposta imune celular (tamanho medido em mm da IDRМ) nas duas comunidades;

- A deficiência de Zn na LT indica a possibilidade de sua administração, associado a uma droga leishmanicida para o tratamento da LT, podendo constituir-se em uma das alternativas de tratamento inclusive das formas consideradas mais agressivas.

## **11 LIMITAÇÕES EM NOSSO ESTUDO**

### **11.1 TRABALHO DE CAMPO**

Os estudos foram desenvolvidos nas localidades de São Gonçalo/Contendas do Sincorá e Florestal/Jequié, Bahia, cerca de 430 km e 385 km respectivamente da cidade de Salvador. Para esta etapa inicialmente formamos um grupo de profissionais (Médico infectologista, Biólogos, Pós-graduandos, Estudantes de Graduação, Técnicos de Saúde do PIEJ). Nesta etapa, contamos com o apoio da Coordenação do PIEJ (Centro de Referência do Estado da Bahia), liberando os seus técnicos e veículos para que pudéssemos nos deslocar até as localidades trabalhadas. Com as dificuldades financeiras, o desenvolvimento do projeto ficou prejudicado, inclusive com o abandono de alguns técnicos que estavam trabalhando na fase inicial do mesmo.

### **11.2. ATIVIDADES NO LABORATÓRIO**

Esta etapa também sofreu solução de continuidade por um bom tempo em função das dificuldades de aquisição de kits e insumos para o processamento das amostras,

## **12 PERSPECTIVAS DO ESTUDO**

Espera-se que os resultados obtidos em nosso estudo, que mostra a deficiência de (Zn) em pacientes com a doença LT, possa servir como alerta a classe médica para a possibilidade de sua utilização associado a uma droga leishmanicida no tratamento da leishmaniose cutânea localizada (LCL) em nosso meio.

## REFERÊNCIAS

ACUÑA, K.; CRUZ, T. Avaliação do estado nutricional de adultos e idosos e situação nutricional da população brasileira. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 48, p. 345-361, 2004.

AGUILAR, C. **Leishmaniasis tegumentária em loscaseríos Solano y Valle Hondo Del Estado Cojedes. Participación de los animales domésticos**. 1985. 126 f. Tese (Doutorado) - Universidade de Carabobo, Valência.

ARAÚJO FILHO, N. A. Leishmaniose Tegumentar Americana e o desmatamento na Amazônia. **Acta Amazônica**, v.11, p.187- 189, 1981.

BADARÓ, R.; JONES, T. C.; LORENÇO, R.; CERF B.J. A prospective study of visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. **Journal of Infectious Diseases**, v. 154, p. 1003-1011, 1986.

BARRAL, A.; PEDRAL-SAMPAIO, D.; GRIMALDI, J.R.G.; MOMEN, H, MCMAHON-PRATT D, ALMEIDA R. Leishmaniasis in Bahia Brazil: evidence that *Leishmania amazonensis* produces a wide spectrum of clinical disease. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 44, p. 536-546, 1991.

BARRAL, A.; COSTA J.M.L.; BITTENCOURT, A.L. ; BARRAL-NETTO ,M.; CARVALHO, E.M.Polar and Subpolar diffuse cutaneous leishmaniasis in Brazil: clinical and immunopathologic aspects. **International Journal of Dermatology**, v. 34, p. 474-479,1995.

BARRAL, A.; COSTA, J. **Leishmanias e a Leishmaniose Tegumentar nas Américas**. 1a ed., Editora Gráfica Contexto, 2011. 236 p.

BARRETO, A.C.; CUBA, C.A.C.; MARSDEN, P.D.; VEXANAT, J.A.; DeBELDER, M. Características epidemiológicas da leishmaniose tegumentar



americana em uma região endêmica do estado da Bahia, Brasil. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, v. 90, p. 415-424, 1981.

BARROS, G.C.; SESSA, P.A.; MATTOS, E.A.; CARIAS, V.R.D.; MAYRINK, W.; ALENCAR, J.T.A.; FALQUETO, A.; JESUS, A.C. Foco de leishmaniose tegumentar americana nos municípios de Viana e Cariacica, Estado do Espírito Santo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 19, p. 146-156, 1985.

BILAC, E.D. Gênero, família e migrações internacionais. In PATARRA, Neide L. (coord.). Emigração e Imigração internacionais no Brasil. **Contemporâneo**. São Paulo, Funap. 1995.

BITTENCOURT, A.L.; BARRAL-NETTO, M.- Leishmaniasis. IN: DOERR W.; SEIFERT, G. eds. **Tropical Pathology**. Berlin: Springer-Verlag, p. 597-651, 1995.

BOMFIM, G.; NASCIMENTO, C.; COSTA, J.; CARVALHO, E.M.; BARRAL-NETTO, M.; BARRAL, A. Variations of cytokine patterns related to therapeutic responses in diffuse cutaneous leishmaniasis. **Experimental Parasitology**, v.84, p. 188-194, 1996.

BRANDONISIO, O.; SPINELLA, R.; PEPE, M. Dendritic cells in *Leishmania* infection. **Microbes Infection**, v. 6, p. 1402–1409, 2004.

BREWER, G.J.; DICK, R.D.; JOHNSON, V.D.; BRUNBERG, J.A.; KLUIN K.J.; FINK, J.K. Treatment of Wilson's disease with zinc: XV long-term follow-up studies. **Journal of Laboratorial Clinical Medicine**, v. 132, p. 264- 268, 1998.

CABRERA, M.; SHAW, M.A.; SHARPLES, C.; WILLIAMS, H.; CASTES, M.; CONVIT, J. & BLACKWELL, J.M. Polymorphism in tumor necrosis factor genes associated with mucocutaneous leishmaniasis. **Journal of Experimental Medicine**, v. 182, p. 1259-1264, 1995.

CALDAS, A.J.M. **Infecção por *Leishmania (Leishmania) chagasi* em crianças de uma área endêmica de Leishmaniose visceral americana na ilha de São Luís – Maranhão Brasil.** 1998. 150 f. Dissertação. (Dissertação em saúde e ambiente) - Universidade Federal do Maranhão, Maranhão.

CALDAS, A.; COSTA, J.M.; SILVA, A.A.; VINHAS, V.; BARRAL, A. A risk factors associated with asymptomatic infection by *Leishmania chagasi* in Northeast Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine Hygiene**, v. 96, p. 21-28, 2002.

CAMPBELL-LENDRUM, D.; DUJARDIN, J.P.; MARTINEZ, E.; FELICIANGELI, M.D.; PEREZ, J.E.; PASSERRAT, D.S. Domestic and peridomestic transmission of American cutaneous leishmaniasis: changing epidemiological patterns present new control opportunities. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 159-162, 2001.

CARVALHO, E.M.; BARRAL, A.; BADARÓ, R.; BARRAL-NETTO, M.- Immunology of human visceral leishmaniasis and perspective of the use of immunomodulators. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 82 (suppl.II), p. 137-146, 1987.

CASTELLANO, L.R.C. Resposta imune anti-*Leishmania* e mecanismos de evasão. **VITAE Academia Biomédica Digital**, v. 25, p. 1-10, 2005.

CHAGAS, A.C.; PESSOA, F.A.C.; MEDEIROS, J.F.; PY-DANIEL, V.; MESQUITA, E.C.; BALESTRASSI, D.A. Leishmaniose tegumentar americana (LTA) em uma vila de exploração de minérios- Pitinga, município de Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 9, p. 186-192, 2006.

CHANDRA, R.K E KUMARI, S. Nutrition and immunity: an overview. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 124 (suppl 8), p. 1433S – 1435S, 1994

CHANDRA, R.K. Nutrition and the immune system: an introduction. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 66, p.460S, 1997.

COLMENARES, M.; KAR, S.; GOLDSMITH-PESTANA, K.; MCMAHON-PRATT, D. Mechanisms of pathogenesis: differences amongst *Leishmaniaspecies*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. V. 96 (suppl 1), p. 3–7., 2002.

COSTA, J.M.L. Estudo clínico-epidemiológico de um surto epidêmico de leishmaniose tegumentar americana em Corte de Pedra-Bahia. Brasília-DF, Tese de Mestrado - **Universidade de Brasília, UNB, Brasília, DF**, 1986.

COSTA, J.M.L.; VALE, K.C.; FRANÇA, F.; SALDANHA, A.C.R.; SILVA, J.O.S.; LAGO, E.L.; MARSDEN, P.D.; MAGALHÃES, A.V.; SILVA, C.M.P.; SERRA-NETO, A.; GALVÃO, C.E.S.- Cura espontânea da leishmaniose causada por *Leishmania Viannia braziliensis*, em lesões cutâneas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 23, p. 205-208, 1990.

COSTA, J.M.L. Leishmaniose tegumentar americana: origens e histórico no Brasil. **Acta Amazônica**, v. 22, p. 71-77, 1992.

COSTA, J.M.L.; SALDANHA, A.C.R.; PEDROSO, C.M S.; BRANCO, M.R.F.C.; BARRAL, A.; CARVALHO, E.M.; BITTENCOURT, A.L. Spontaneous regional healing of extensive skin lesions in diffuse cutaneous leishmaniasis (DCL). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 28, p. 45-47,1995.

COSTA, J.M.L.; BALBY ITA, E.J.S.R.; SILVA, A.R.; REBÊLO, J.M.M.; FERREIRA, L.A.; GAMA, M.E.A.; BRANCO, M.R.F.C.; BURATTINI, M.N.; SOARES, N.J.S. Estudo Comparativo da Leishmaniose Tegumentar Americana em crianças e adolescentes procedentes das áreas endêmicas de Buriticupu (Maranhão) e Corte de Pedra (Bahia), Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, p. 279-288, 1998.

COSTA, J.M.L. Epidemiologia das leishmanioses no Brasil, **Gazeta Médica da Bahia**, v. 75, p. 1:3-17, 2005.

COSTA, J.M.L.; SALDANHA, A.C.R.; NASCIMENTO, D.; SAMPAIO, G.; CARNEIRO, F.; LISBOA, E.; SILVA, L.M.; NASCIMENTO, E.G.; BARRAL, A. Modalidades Clínicas, Diagnóstico e Abordagem Terapêutica da Leishmaniose Tegumentar no Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 79 (Suppl. 3), p. 70 - 83, 2009.

CROFT, S.L.; BRAZIL, R.P. Effects of pentamidine isethionate ultrastructural and morphology of *Leishmania Mexicana amazonensis* in vitro. **Annals of Tropica Medicine and Parasitology**, v. 76, p. 37-43, 1982.

CUBA-CUBA, C.A.; MARSDEN, P.D.; BARRETTO, A.C.; JONES, T.C.; RICHARDS, F. The use of different concentrations of leishmanial antigen in skin of the **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 72, p. 676, 1978.

CUBA-CUBA, C.; LLANOS-CUENTAS, E.A.; BARRETO, A.C.; MAGALHÃES, A.V.; LAGO, E.L.; REED, S.G. Human mucocutaneous leishmaniasis in Três Braços, Bahia-Brazil. an area of *Leishmania braziliensis* transmission. I. Laboratory diagnosis. **Revista da Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, v. 17, p. 161-167, 1984.

DE MOURA, T.R.; NOVAIS, F.O.; OLIVEIRA, F.; CLARENCIO, J.; NORONHA, A.; BARRAL, A.; BRODSKYN, C.; DE OLIVEIRA, C.I. Toward a novel experimental modelo infection to study American cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis*. **Infection and Immunity**, v. 73, p. 5827–5834, 2005.

DIAZ, N.L.; ARVELAEZ, F.A.; ZERPA, O.; TAPIA, F.J. Inducible nitric oxide synthase and cytokine pattern in lesions of patients with American cutaneous leishmaniasis. **Clinical Experimental Dermatology**, v. 31, p. 114-117, 2006.

DILLINGHAM, R. & GUERRANT, R.L. Childhood stunting: measuring and stemming the staggering costs of inadequate water and sanitation. **Lancet**, v. 3636, p. 94-95, 2004.

DONNELLY, H.; BERNARD, E.M.; ROTHOKOTTER, H.; GOLD, J.W.M.; ARMSTRONG, D. Distribution of pentamidine in patients with AIDS. **Journal of Infectious Diseases**, v. 157, p. 985-989, 1988.

DOURADO, M.I.C.; NORONHA, C.V.; ALCANTARA, N.; ICHIHARA, M.Y.T.; LOUREIRO, S. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana e suas relações com a lavoura e o garimpo em localidades do Estado da Bahia (Brasil). **Revista de Saúde Pública**, v. 23, p. 2-8, 1989.

DYE, C & WILLIAMS, B.G. Malnutrition, age and the risk of parasitic disease: visceral leishmaniasis revisited. **Proceedings of the Royal Society of London - B - Biological Science**, v. 1339, p. 1-74, 1993.

EVANS, G.T.; TEIXEIRA, J.M.; MCAULIFFE, T.I.; VASCONCELOS, B.A.I.; VASCONCELOS, W.A.; SOUSA, Q.A.; LIMA, W.J.; PEARSON, D.R. Epidemiology of visceral leishmaniasis in Northeast Brazil. **Journal of Infectious Diseases**, v. 166, p. 1124-32, 1992.

FALQUETO, A.; COURA, J.R.; BARROS, G.C.; GRIMALDI, G.Jr.; SESSA, P.A.; CARIAS, V.R.D.; JESUS, A.C.; ALENCAR, J.T.A. Participação do cão no ciclo de transmissão da leishmaniose tegumentar no município de Viana, estado do Espírito Santo, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, p. 155-163, 1986.

FERREIRA, C.C.; MAROCHIO, G.G.; PARTATA, A.K. Estudo sobre a leishmaniose tegumentar americana enfoque na farmacoterapia. **Revista Científica do ITAPAC**, v. 5, p. 11-18, 2012.

FOLLADOR, I.; ARAUJO, C.; CARDOSO, M.A; TAVARES-NETO, J.; BARRAL, A.; MIRANDA, J.C. Surto de leishmaniose tegumentar americana em Canoa, Santo Amaro, Bahia, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, p. 497-503, 1999.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde/SVS. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. 2.ed: Brasília, DF, 2007(a). 171p.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana. Brasília, 2007 (b). 182p.

FRAKER, P.J.; KING, L.E.; LAAKKO, T.; VOLLMER, T.L. The dynamic link between the integrity of the immune system and zinc status. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1399S. 2000.

GAMA, M.E.A.; BARBOSA, J.S. PIRES, B.; CUNHA, A.K.B.; FREITAS, A.L.; RIBEIRO, I.R. Avaliação do nível de conhecimento que populações residentes em áreas endêmicas têm sobre leishmaniose visceral, Estado do Maranhão Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 14, p. 381-390,1998.

GOMES, N.A.; BARRETO-DE-SOUZA, V.; WILSON, M.E.; DOS REIS, G.A. Unresponsive CD4+ T lymphocytes from *Leishmania chagasi* - infected mice increase cytokine production and mediate parasite killing after blockade of B7-1/CTLA-4 molecular pathway. **Journal of Infectious Diseases**, v. 178, p. 1847-1851, 1998.

GOMES, A.C. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar. Observações naturais sobre o ritmo diário de atividade de *Ps. intermedius* em ambiente floresta e extraflorestal. **Revista de Saúde Pública**, v. 17, p. 23-30. 1983.

GONTIJO, B.C.M.L. American Cutaneous Leishmaniasis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, p. 70-80.2003.

GONZÁLEZ, R.M; DEVERA, R.; MADRID, R.; SUDAN, C.Z. Evaluación de un brote de leishmaniasis tegumentaria americana en una comunidad rural del Estado Bolívar, Venezuela. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, p. 31-37, 2000.

GRIMALDI Jr, G.; TESH, R.B.; MACMOHON-PRATT, D. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the new world. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 41, p. 687-725, 1989.

GUEDES, A.C.M.; CUCÉ, L.C.; FURTADO, T. Avaliação imunológica e histopatológica de reação de Montenegro. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 65, p. 34S-405, 1990.

HOSEINI, SG.; SHAGHAYEGH, H.; JAVANMARD, S.H.; ZARKESH1, ALI.; KHAMESIPOUR, L.; RAFIEI, K.; KARBALAIE, M.; NILFOROUSHZADE, M.; BAGHAEI, S.; HEJAZI, H. Regulatory T-cell profile in early and late lesions of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania major*. **Journal of Research in Medical Sciences**, v. 12, p. 513-518, 2012.

ISAZA, M.R. La reacion de Montenegro em la epidemiologia de la leishmaniasis sudamericana. **Boletin Oficina Sanitaria Panamericana**, v. 89, p. 130-136, 1980.

JONES, TC.; JOHNSON, W.D.; BARRETO, A.C.; LAGO, E.; BADARO, R.; CERF, B.; REED, S.G.; NETTO, E.M.; TADA, M.S.; FRANCA, F.; WIESE, K.; GOLIGHTY, L.; FIKRIG, E.; COSTA, J.M.L.; CUBA, C.C.; MARSDEN, P.D. Epidemiology of american cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis*. **Journal of Infectious Diseases**, v. 153, p. 73-83, 1987.

KAGER, PA.; REES, P.H. Haematological investigations in visceral leishmaniasis. **Tropical Geography Medicine**, v. 38, p. 371-379, 1986.

KAYE, P.; ROGERS, N.; CURRY, A.; SCOTT, J. Deficient expression of co-stimulatory molecules on *Leishmania*-infected macrophages. **European Journal of Immunology**, v. 24, p. 2850-2854, 1994.

KHOURI, R.; BAFICA, A.; SILVA, M.P.; NORONHA, A.; KOLB, J.P.; WIETZERBIN, J.; BARRAL, A.; BARRAL-NETTO, M.; WEYENBERG, J.V. Ifn-beta impairs superoxide-dependent parasite killing in human macrophages: evidence for a deleterious role of sod1 in cutaneous leishmaniasis. , v. 15, p. 182(4) 2525-31, 2009.

KIMA, P.E.; CONSTANT, S.L.; HANNUM, L.; COMENARES, M.; LEE, K.S.; HABERMMAN, A.M.; SHLOMCHIK, M.J.; McMAHON-PRATT, D. Internalization of *Leishmania Mexicana* complex amastigotes via the Fc receptor is required to sustain infection in murine cutaneous leishmaniasis. **Journal of Experimental Medicine**, v. 191, p. 1063-1067, 2000.

KOCYIGIT, A.; EREL, O.; GUREL, M.S.; AVCI, S.; AKTEJE, N .Alterations of serum selenium, zinc, copper and iron concentrations and some related antioxidant enzyme activities in patients with cutaneous leishmaniasis. **Biology Trace Elements Research**, v. 65, p. 271-281, 1998.

LAINSON, R.; SHAW, JJ. Evolution, classification and geographical distribution. In: Peters W, Killick-Kendrick R, editors. The Leishmaniasis in Biology and Medicine: Volume I Biology and Epidemiology. London: **Academic Press Incorporation**, v.1, p. 1-120, 1987.

LIMA, E.B.; MOTTA, J.O.C.; PORTO, C.; SAMPAIO, R.N.R. Tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, p. 111-24, 2007.

LISBOA, T.K. Fluxos migratórios de mulheres para o trabalho reprodutivo: a globalização da assistência. **Estudos Feministas, Florianópolis**, v.15, p.100, 2007.



LOUREIRO, C.C.P.; DADALTI, P.; GUTIERREZ, M.C.G.; RAMOS E SILVA, M. Leishmaniose: Métodos diagnósticos. **Folha Médica**, v. 117, p. 131-134, 1998.

LOUZIR, H.; MELBY, P.C.; BEN SALAH, A.; MARRACAKCHI, H.; AOUN, K.; BEN ISMAIL, R.; DELLAGI, K. Immunologic determinants of disease evolution in localized cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania major*. **Journal of Infectious Diseases**, v. 177, p. 1687–95, 1998.

LOWRY, O.H.; ROSENBROUGH, M.I.; FARA, A.L.; DALL, R.S. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.

LUZ, G.K.; SUCCI, M.C.R.; TORRES, E. Nível sérico da vitamina A em crianças portadoras de leishmaniose visceral. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, p. 381-384, 2001.

MARTINS, L.M; REBELO, J.M.M.; COSTA, J.M.L; SILVA, A.R; FERREIRA, L.A. Ecoepidemiologia da leishmaniose tegumentar no Município de Buriticupu, Amazônia do Maranhão, Brasil, 1996 a 1998. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 20, p. 735-743, 2004.

MARTINS-NETTO, E. Avaliação de procedimentos imunodiagnósticos numa área endêmica de leishmaniose tegumentar na Bahia. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Bahia. Salvador, 1990.

MARSDEN, P.D. Mucosal Leishmaniasis (“espundia” Escomel, 1911). **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 80, p. 859-876, 1986.

MARZOCHI, MCA.; COUTINHO, S.G.; SABROSA, P.C.; SOUZA, W.J.S. Reação de imunofluorescência indireta e intradermorreação para leishmaniose tegumentar americana em moradores na área de Jacarépagua (Rio de Janeiro). Estudo comparativo dos resultados observados em 1974 e 1978. **Revista do**

**Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 22, p. 149-155, 1980.

MARZOCHI, M.C.A. Leishmanioses no Brasil. As leishmanioses tegumentares. **Jornal Brasileiro de Medicina**, v. 63, p. 82-104, 1992.

MARZOCHI, M.C.A.; MARZOCHI, K.B.F. Leishmaniose em áreas urbanas **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, p. 162-165, 1997.

MARZOCHI, K.B.; MARZOCHI, M.A.; SILVA, A.F.; GRATIVOL, N.; DUARTE, R.; CONFORT, E.M.; MODABBER, F. Phase I of an inactivated vaccine against American tegumentary leishmaniasis in normal volunteers in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, p. 205-212, 1998.

MEDEIROS, A.C.R.; ROSELINO, A.M.F. Leishmaniose Tegumentar Americana: do histórico aos dias de hoje. **Anais Brasileiros de Dermatologia, Rio De Janeiro**, v. 74, p. 329- 336,1999.

MELO, N.M.; MAYRINK, W.; COSTA, C.A.; MAGALHÃES, P.A.; DIAS, M.; WILLIAMS, P.; ARAÚJO, F.G.; COELHO, N.V.; BATISTA, S.M. Padronização do antígeno de Montenegro. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 13, p. 161-164, 1977.

MIRANDA, J.; REIS, E.; SCHRIEFER, A.; GONÇALVES, M.S.; REIS, M.G.; CARVALHO, L.; FERNANDES, O.; BARRAL-NETTO, M.; BARRAL, A. Frequency of infection of *Lutzomyia phlebotomus* with *Leishmania amazonensis* in Brazilian endemic area as assessed by pinpoint capture and polymerase chain reaction. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, RJ**, v. 97, p. 185-188, 2002.

MOCHEGANI, E.; MUZZIOLI, M. Therapeutic application of zinc in human immunodeficiency virus against opportunistic infections. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1424S, 2000.

MONTEIRO, W.M.; NEITZKE, H.C.; LONARDONI, M.V.C.; SILVEIRA,

T.G.V.; FERREIRA, E.M.C.; TEODORO, U. Distribuição geográfica e características epidemiológicas da leishmaniose tegumentar americana em áreas de colonização antiga do estado do Paraná, sul do Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 24, p. 1291 -1303, 2008.

NASCIMENTO, M.D.S.B.; SOUZA, E.C.; SILVA, L.M.; LEAL, P.C.; CANTANHEDE, K.L.; BEZERRA, G.F.B; VIANA, G.M.C. Prevalência de infecção por *Leishmania chagasi* utilizando os métodos de ELISA (rK39 e CRUDE) e intradermoreação de Montenegro em área endêmica do Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, RJ, v. 6, p. 1801-1807, 2005.

NASCIMENTO, M.D.S.B.; ALCÂNTARA-NEVES, N.M.; MUNIZ, M.E.B.; NUNES, S.F.; PARANHOS, M.; CARVALHO, L.C.P. Induction and modulation of the immune response to *Leishmaniaby* Montenegro's skin test. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, p. 91-93, 1993.

NOGUEIRA, LSC.; SAMPAIO, R.N.R. Estudo hospitalar da leishmaniose tegumentar americana (LTA): epidemiologia e tratamento. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v.76, p. 51-62, 2001.

NUNES, A.D.; PAULA, E.V.; TEODORO, R.; PRATA, A.; SILVA-VERGARA, M.L. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana em Varzelândia, Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, RJ, v. 22, p. 1343-1347, 2006.

OLLIARO, P.; BRYCESON, A.D.M. Pratical progress and new drugs forchanging patterns of leishmaniasis. **Parasitology Today**, v. 9, p. 323-338, 1993.

PAES, N.A.; SILVA, L.A.A. Doenças infecciosas e parasitárias no Brasil: uma década de transição. **Revista Panamericana de Saúde Pública**, v. 6, p. 99-109, 1999.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION / WORLD HEALTH ORGANIZATION (2009). The 49<sup>th</sup> Directing Council (CD49.R19). Elimination of Neglected Diseases and Other Poverty-Related Infections. Washington DC; PAHO; 2009.

PASSOS, V.M.A.; SANDHI, MB.; ROMANHA, A.J.; KRETTLI, A.U.; VOLPINI, A.C.; GONTIJO, C.M.F.; FALCÃO, A.L.; LIMA-COSTA, M.F.F. Leishmaniose tegumentar na região metropolitana de Belo Horizonte: aspectos clínicos, laboratoriais, terapêuticos e evolutivos. **Revista Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, p. 5-12, 2001.

PEDROSA, F.A. Fatores de risco para leishmaniose tegumentar americana (LTA) no Estado de Alagoas, Brasil. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) Universidade Federal de Pernambuco- Recife, 84 pag, 2007.

PESSOA, S.B & PESTANA, B.R. A intradermorreação de Montenegro nas campanhas sanitárias contra a leishmaniose. **Arquivos de Higiene, São Paulo** v. 6, p. 124-137, 1941.

PESSOA, S.B & BARRETO, M.P. Leishmaniose tegumentar americana. Rio de Janeiro: **Ministério da Educação e Saúde. Serviço de Documentação**. 527p, 1948.

PRASAD, A.S. Clinical, Biochemical and Nutritional Spectrum of Zinc deficiency in Human Subjects: An Update. **Nutritional Review**, v. 41, p. 7, 1983.

PRASAD, A.S. Zinc: an overview. **Nutrition**, v. 11, p. 93, 1995.

PRASAD, A.S. Effects of zinc deficiency on Th1 and Th2 cytokine shifts. **Journal of Infectious Diseases**, v. 182 (Suppl 1), p. S62. 2000.

QI, H.; JI, J.; WANASU, N.; SOONG, L. Enhanced replication of *Leishmania*

*amazonensis* amastigotes in gamma interferon – stimulated urine macrophages: implications for the pathogenesis of cutaneous leishmaniasis. **Infection and Immunity**, v. 72, p. 988-995, 2004.

RABELLO, E. Contribuição ao estudo da leishmaniose tegumentar no Brasil. II. Formas clínicas. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 1, p. 1-25, 1925.

REBÊLO, J.M.M.; JÚNIOR, A.N.A.; SILVA, O.; MORAES, J.L.P.; NASCIMENTO, F.R.F.; PEREIRA, Y.N.O.; COSTA, J.M.L. Foco emergente de leishmaniose tegumentar (LT) no entorno do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Nordeste, Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 79, p. 103-109, 2009.

RINK, L.; KIRCHNER, H. Zinc-Altered Immune Function and Cytokine Production. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1407S – 1411, 2000.

SACKS, D.L.; SCOTT, P.A.; ASOFSKY, R.; SHER, F.A. Cutaneous leishmaniasis in anti-IgM-treated mice: enhanced resistance due to functional depletion of a B cell-dependent T cell involved in the suppression pathway. **Journal of Immunology**, v. 132, p. 2072-2077, 1984.

SACKS, D. & NOBAN-TRAUTH, N. The immunology of susceptibility and resistance to *Leishmania major* in mice. **Nature Review of Immunology**, v. 2, p. 845-858, 2002.

SALDANHA, A.C.R.; ROMERO, G.A.S.; MERCHAN-HAMANN, E.; MAGALHÃES, A.V.; MACEDO, V.O. Estudo comparativo entre estilbogluconato de sódio BP 88R e antimoniato de meglumina no tratamento da leishmaniose cutânea: I. Eficácia e segurança. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, p. 383-387, 1999.

SALDANHA, A.C.R.; MOREIRA LIMA, A.A.U.; COSTA, J.M.L. Clinical Cure in Diffuse Cutaneous Leishmaniasis (DCL) in Brazil. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 79 (Supl.3), p. 52-61, 2009.

SANTANA, G.S. **Estudo da associação entre os níveis plasmáticos de zinco e resposta imune na leishmaniose humana**. 2004. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia – Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador.

SANTOS, A. J. O.; PARANHOS, M.; NASCIMENTO, E.G.; PONTES, L.C. Situação atual das leishmanioses (tegumentar e visceral) na região sudoeste da Bahia: aspectos clínicos e epidemiológicos. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, p. 324-327, 1993.

SANTOS, J.B.; LAUAND, L.; SOUZA, G.S.; MACÊDO, V.O. Fatores sócio-econômicos e atitudes em relação à prevenção domiciliar da leishmaniose tegumentar americana, em uma área endêmica do sul da Bahia, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 16, p. 701-708, 2000.

SCHILSKY, M. L. Diagnosis and treatment of Wilson's disease. **Pediatric Transplantation**, v. 6, p. 15. 2002.

SCOTT, P. Interferon gamma modulates the early development of Th1 and Th2 responses in a murine model of cutaneous leishmaniasis. **Journal of Immunology**, v. 147, p. 3149-3155, 1991.

SHARQUIE, K.E.; NAJIN, R.A.; FARJOU, I.B.; AL-TIMIMI, D.J. Oral zinc sulphate in the treatment of cutaneous leishmaniasis. **Clinical Experimental Dermatology**, v. 26, p. 21-26, 2001.

SHAW, J.J.; LAINSON, R. Ecology and epidemiology: New World. In *The Leishmaniasis in Biology and Medicine*, Vol. 1, W Peters, R Killick-Kendrick,(eds), **Academic Press**, London, p. 291-363, 1987.

SHAW, J.J. The leishmaniasis – survival and expansion in a changing world. Amini-review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, p. 541-547, 2007.

SMELT, S.C.; COTTERELL, S.E.J.; ENGEVERDA, C.R.; KAYE, P.M. B cell deficient mice are highly resistant to *Leishmaniadonovani* infection, but develop neutrophil-mediated tissue pathology. **Journal of Immunology**, v. 164, p. 3681-3688, 2000.

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. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v. 21, p. 43-50, 1979.

SILVA, L.M.R.; CUNHA, P.R. A urbanização da leishmaniose tegumentar americana no município de campinas-São Paulo (SP) e região; magnitude do problema e desafios. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, p. 515-519, 2007.

SILVEIRA, T.G.; TEODORO, U.; LONARDONI, M.V.; GUILHERME, A.L.; TOLEDO, M.; RAMOS, M. Epidemiological aspects of cutaneous leishmaniasis in an endemic area of the state of Paraná, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 12, p. 141-147, 1996.

SILVEIRA, F.T.; LAINSON, R.; CORBETT, C.E.P. Clinical and immunological spectrum of american cutaneous leishmaniasis with special reference to the disease in Amazon Brazil – A Review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 239-251, 2004.

SOKAL, J.E. Measurement of delayed skin test responses. **New England Journal of Medicine**, v. 293, p. 501-502, 1975.

SOONG, L.; CHANG, C.H.; SUN, J.; LONGELY Jr, J.; RUDDLE, N.H.; FLAVELL, R.A.; McMAHON-PRATT, D. Role of CD4<sup>+</sup> cells in pathogenesis associated with *Leishmania amazonensis* infection. **Journal of Immunology**, v. 158, p. 5374-5383, 1997.

SOSA-ESTANI, S.S; SEGURA, E.L; GOMES, A.; SALOMON, O.D.; PERALTA, M.; COUTADA,V.; RUIZ, L.M. Leishmaniose cutânea no Norte da Argentina. Fatores de risco identificados num estudo caso-coorte em três municípios de Salta. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, p. 511-517, 2001.

TEODORO, U. **Características Ecológicas de Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em habitats antrópicos, município de Jussara, Paraná, Brasil.** 1995. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

TEODORO, U.; LONARDONI, M.V.C.; SILVEIRA, T.G.V.; DIAS, A.C.; ABBAS, M.; ALBERTON, D.; SANTOS, D.R. Light and hems as attraction factors of *Nyssomyia whitmani* in rural area, Sourthern Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, p. 83-388, 2007.

TERABE, M.; KUROMOCHI, T.; ITO, M.; HATABU, T.; SANJOBA, C.; CHANG, K.P.; ONODERA, T.; MATSUMOTO, Y. CD4+ T cells are indispensable for ulcer development in murine cutaneous leishmaniasis. **Infection and Immunity**, v. 68, p. 4574-4577, 2000.

TONIAL, S.R.; SILVA, A.A.M. Saúde, nutrição e mortalidade infantil no Maranhão. São Luís. UFMA: Secretaria do Estado da Saúde: **UNICEF**, 115p, 1997.

VANNIER-SANTOS, M. A.; MARTINY, A.; DE SOUZA, W. Cell biology of *Leishmaniaspp*: invading and evading. **Current Pharmaceutical Design**, v. 8, p. 297–318, 2002.

VANZELI, A.C.; KANAMURA, H.Y. Estudo de fatores socioambientais associados à ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no município de Ubatuba, SP, Brasil. **Revista Panamericana de infectologia**. 9: 20-25, 2007.

VELA, J.S.A. **Fatores de risco para a transmissão de leishmaniose cutânea em crianças de 0-5 anos em uma área endêmica de *Leishmania (Viannia)***



*braziliensis*. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília, 92 pag. 1996.

VEXENAT, J.A.; BARRETO, A.C.; CUBA, C.C.; MARSDEN, P.D. Características epidemiológicas da leishmaniose tegumentar americana em uma região endêmica do estado da Bahia. III. Fauna flebotomínica. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, p. 293-301, 1986.

VEXENAT, J.A.; BARRETO, A.C.; ROSA, A.C.; SALES, C.C.; MAGALHÃES, A.V. Infecção natural de *Equus asinus* por *Leishmania braziliensis braziliensis* em Bahia, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, p. 239-240, 1986.

VICTORA, C.G.; VAUGHAN, J.P.; KIRKWOOD, B.R.; MARTINES, J.C.; BARCELOS, L.B. Risk factors for malnutrition in Brazilian children: the role of social and environmental variables. **Bulletin World Health Organization**, v. 64, p. 299-309, 1986.

WEYENBERGH, J.V.; SANTANA, G.S.; DOLIVEIRA Jr, A.; SANTOS Jr, A.F.; COSTA, C.H.; CARVALHO, E.M.; BARRAL, A.; NETTO, M.B. Zinc/Copper imbalance reflects immune dysfunction in human leishmaniasis: a *ex vivo* and *in vitro* study. **British Medical Journal Infectious Diseases**, v. 4, p. 50-57, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Leishmaniasis Geographical distribution, 2000.

WORLD HEALTH ASSEMBLY (WHO). The World Assembly Resolution (WHA 60.13) on the “Control of Leishmaniasis”. **World Health Organization. Geneva, Switzerland, 2007.**

WORLD HEALTH ORGANIZATION, Control of Leishmaniasis: report of the meeting of the WHO Expert committee on the control of leishmaniasis, Geneva: **World Health Organization Technical Report Series**, v. 949, p.186, 2010.

ZAJTCHUK, J.T.; CASLER, J.D.; MARTINS-NETTO, E.; GROGL, M.; NEAFIE, R.C.; HESSEL, C.R.; MAGALHÃES, A.C.; MARSDEN, P.D. Mucosal leishmaniasis in Brazil. **Laryngoscope**, v. 99, p.925-39, 1989.

**ANEXOS****Anexo I****CENSO POPULACIONAL****Nº DA FICHA:** \_\_\_\_\_ **DATA DO PREENCHIMENTO:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_**LOCALIDADE:** \_\_\_\_\_**MUNICÍPIO:** \_\_\_\_\_**CHEFE DA FAMÍLIA:** \_\_\_\_\_**APELIDO:** \_\_\_\_\_**ENDEREÇO (rua, nº, quadra, nº da FNS, etc)**  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_**TOTAL DE MORADORES DA CASA:** \_\_\_\_\_**DADOS DOS MORADORES:** \_\_\_\_\_**01 – NOME** \_\_\_\_\_ **D.N.** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_**02 – NOME** \_\_\_\_\_ **D.N.** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_**03 – NOME** \_\_\_\_\_ **D.N.** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_**04 – NOME** \_\_\_\_\_ **D.N.** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_**05 – NOME** \_\_\_\_\_ **D.N.** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_**EXISTEM CÃES NA CASA? SIM (1) NÃO (2) QUANTOS?** \_\_\_\_\_**RESPONSÁVEL PELO CENSO:** \_\_\_\_\_

**Anexo II****Inquérito Epidemiológico e Imunoalérgico - Questionário Familiar:**

Casa Nº \_\_\_\_\_ Data do Preenchimento \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**1 – Dados de Identificação**

1 – Nome \_\_\_\_\_ Apelido \_\_\_\_\_

2 – Data de Nascimento \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade \_\_\_\_\_

3 – Sexo ( ) 1 – Mas. ( ) 2 – Fem. ( ) 9 – NSI

4 – Cor ( ) 1 – Branca ( ) 2 – Negra ( ) 3 – Parda  
( ) 4 – Amarela ( ) 9 – NSI

5 – Última procedência \_\_\_\_\_

6 – Residência atual \_\_\_\_\_

7 – Há quanto tempo? \_\_\_\_\_

8 – Endereço para contato \_\_\_\_\_

Ponto de Referência \_\_\_\_\_

9 – Situação conjugal do entrevistado: ( ) 1 - casado ( ) 2 - solteiro ( ) 3 - morando  
junto ( ) 4 - separado ( ) 5 - divorciado ( ) 6 - viúvo ( ) 9 – NSI

9 – Atividade principal do entrevistado \_\_\_\_\_

**2 – Dados demográficos e Sociais**

10- Quantos moram na residência \_\_\_\_\_

11 – Sabe ler e escrever? ( ) 1 – Sim ( ) 2 – Não ( ) 9 - NSI

Pai ( ) 1- Sim ( ) 2 - Não ( ) 3 - Só assina ( ) 4 - Ignorado

Mãe ( ) 1 - Sim ( ) 2 - Não ( ) 3 - Só assina ( ) 4 - Ignorado

13 – Quantas pessoas trabalham na casa? \_\_\_\_\_

14 – Qual a renda mensal?

( ) 1 - &lt; 1 salário mínimo ( ) 2 - 1 a 2 salários mínimos

( ) 3 - 2 a 4 salários mínimos ( ) 4 - &gt; 5 salários mínimos ( ) 9 - NSI

15 – De onde vem a água da casa para beber?

( ) 1 - Rede pública – água encanada ( ) 2 - Poço artesiano

( ) 3 - Poço comum, cacimba ( ) 4 - Rio, riacho, lagoa

( ) 5 - Chafariz ( ) 6 -outros \_\_\_\_\_

16 – Qual o destino dos dejetos?

( ) 1 - Rede de esgoto ( ) 2 - Fossa séptica ( ) 3 - Fossa negra

( ) 4 - Vala ( ) 5 - Outros ( ) 9 - NSI

17 – Onde se joga o lixo?

( ) 1 - Carro de lixo da prefeitura ( ) 2 - Terreno baldio ( ) 3 - Queimado

( ) 4 – Outros ( ) 9 – NSI

18 – Existe energia elétrica na Residência

( ) 1 – Sim ( ) 2 – Não ( ) 9 - NSI

Classes Econômicas:

Posse de Itens: Circular o Quadrado Correspondente

|  | Não tem | Tem |   |   |        |
|--|---------|-----|---|---|--------|
|  |         | 1   | 2 | 3 | 4 ou + |
| Televisão em cores   | 0       | 2   | 3 | 4 | 5      |
| Rádio  | 0       | 1   | 2 | 3 | 4      |
| Banheiro   | 0       | 2   | 3 | 4 | 4      |
| Automóvel  | 0       | 2   | 4 | 5 | 5      |
| Empregada mensalista   | 0       | 2   | 4 | 4 | 4      |
| Aspirador de pó  | 0       | 1   | 1 | 1 | 1      |
| Máquina de lavar   | 0       | 1   | 1 | 1 | 1      |
| Videocassete ou DVD  | 0       | 2   | 2 | 2 | 2      |
| Geladeira  | 0       | 2   | 2 | 2 | 2      |
| Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex) | 0       | 1   | 1 | 1 | 1      |

19. Classificação Econômica Brasil  
Total de pontos para posse de itens

POSSE

**20. Grau de instrução do chefe de família**

- (0) Analfabeto/primário incompleto
- (1) Primário completo/ginasial incompleto
- (2) Ginasial completo/colegial incompleto
- (3) Colegial completo/superior incompleto
- (5) Superior completo

OBS: primário corresponde hoje da 1ª. à 4ª. Série do ensino fundamental (antigo primeiro grau), o ginasial da 5ª. À 8ª. Série do ensino fundamental e o colegial correspondente ao antigo segundo grau.

Total de pontos para grau de instrução do chefe de família

INSTRUCAO

**3 – Reservatórios/moradia**

21 – Você reside em casa

- ( ) 1 - Própria      ( ) 2 - Alugada      ( ) 3 - Cedida  
( ) 4 - Outros

22 – Tipo de Moradia

- ( ) 1 - Alvenaria      ( ) 2 - Palha      ( ) 3 - Taipa      ( ) 4 - Adobe  
( ) 5 - Não rebocada      ( ) 9 - NSI

23 – Tipo de cobertura

- ( ) 1 - Telha      ( ) 2 - Palha      ( ) 3 - Laje      ( ) 4 - Outros      ( ) 9 - NSI

24 – Tipo de piso

- ( ) 1 - Cerâmica      ( ) 2 - Cimento      ( ) 3 - Chão batido      ( ) 4 - Outros

25 – Número de cômodos

- ( ) 1 - 01      ( ) 2 - 02      ( ) 3 - 03      ( ) 4 - > 03

26 – Quantas pessoas dormem em um mesmo cômodo (média)



40 – Foi tratado?

1 – Sim

2 – Não

9 - NSI

41 - Com que?

1 – Antimonial pentavalente (Glucantime)

2 – Medicação caseira

3 – Regressão espontânea

4 – Outros

9 – NSI

42 – Existência de pessoas com LT na vizinhança no último ano?

1 - Sim

2 – Não

9 - NSI

Exames Laboratoriais realizados:

1ª Fase: IDR/ Data \_\_\_\_\_ Leitura após 48/72hs resultado \_\_\_\_\_mm

2ª Fase: IDR/ Data \_\_\_\_\_ Leitura após 48/72hs resultado \_\_\_\_\_mm

1ª Fase: ELISA/Data \_\_\_\_\_

2ª Fase: ELISA/Data \_\_\_\_\_

**Anexo III****QUESTIONÁRIO INDIVIDUAL:**

Casa Nº \_\_\_\_\_ Data do Preenchimento \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**1 – Dados de Identificação**

1 – Nome \_\_\_\_\_ Apelido \_\_\_\_\_

2 – Data de Nascimento \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade \_\_\_\_\_

3 – Sexo ( ) 1 – Mas. ( ) 2 – Fem. ( ) 9 – NSI

4 – Cor ( ) 1 – Branca ( ) 2 – Negra ( ) 3 – Parda

( ) 4 – Amarela ( ) 9 – NSI

5 – Última procedência \_\_\_\_\_

6 – Residência atual \_\_\_\_\_

7 – Há quanto tempo? \_\_\_\_\_

8 – Endereço para contato \_\_\_\_\_

Ponto de Referência \_\_\_\_\_

9 – Situação conjugal do entrevistado:

( ) 1 - casado ( ) 2 - solteiro ( ) 3 – morando junto

( ) 4 - separado ( ) 5 - divorciado ( ) 6 - viúvo ( ) 9 – NSI

9 – Atividade principal do entrevistado \_\_\_\_\_

10 – Teve LT ou apresenta alguma sintomatologia sugestiva

( ) 1 - Sim ( ) 2 – Não ( ) 9 – NSI

11 – Foi tratado?

( ) 1 – Sim ( ) 2 – Não ( ) 9 - NSI

12 - Com que?

( ) 1 – Antimonial pentavalente (Glucantime) ( ) 2 – Medicação caseira

( ) 3 – Regressão espontânea ( ) 4 – Outros ( ) 9 – NSI

Exames Laboratoriais realizados:

1ª Fase: IDR/ Data \_\_\_\_\_ Leitura após 48/72hs resultado \_\_\_\_\_ mm

2ª Fase: IDR/ Data \_\_\_\_\_ Leitura após 48/72hs resultado \_\_\_\_\_ mm

1ª Fase: ELISA/ Data \_\_\_\_\_

2ª Fase: ELISA/ Data \_\_\_\_\_



## Anexo IV

### CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O objetivo desta pesquisa é determinar o que leva algumas pessoas a desenvolver a doença leishmaniose tegumentar (ferida brava). Nós estamos convidando você e a sua família para participarem neste estudo intitulado “Estudo da Associação de Micronutrientes (Zinco, Cobre e Ferro) na Infecção e ou Progressão para a Leishmaniose Tegumentar em duas Comunidades Rurais do Estado da Bahia”, porque vocês residem em uma região onde a LT é comum. Nós acompanharemos sua família com visitas domiciliares, com objetivo de identificar se alguém da família foi infectada pelo parasita que causa a leishmaniose tegumentar. Para isto, nós consultaremos as pessoas que moram em casa. Solicitaremos que vocês doem um pouco de sangue (aproximadamente uma colher de sopa = 15cc). Este sangue será usado para avaliar a resposta imune (defesas) contra o parasita que causa a leishmaniose. Nós também realizaremos os testes intradérmicos para determinar exposição à leishmaniose. Se alguém apresentar algum sinal de doença será encaminhado a um centro de saúde ou hospital para realização de exames laboratoriais e tratamento, caso seja necessário.

### PROCEDIMENTOS

Abaixo está descrito o procedimento a ser seguido para aqueles que concordarem em participar:

1. Responder um questionário referente a sua saúde;
2. Realização de exame físico;
3. Doação de sangue, você poderá ingerir sua dieta normalmente no dia da doação. Nós faremos a assepsia do seu braço com álcool e em seguida usaremos o torniquete. Nós coletaremos sangue do seu braço, utilizando técnica estéril.
4. O teste intradérmico será realizado através da colocação dos antígenos de *Leishmania* (teste de Montenegro) na face anterior do antebraço, utilizando seringas de 1cc. Retornaremos após 48 horas para avaliar a resposta e entregar o resultado dos exames realizados.

### RISCOS

Os riscos possíveis associados à participação neste estudo são os seguintes: Os riscos relacionados à coleta de sangue são sangramentos ou equimoses, infecção e desmaio. Os riscos do teste cutâneo são infecção e uma área grande de endureção cujo tratamento será feito utilizando esteróide tópico.

### BENEFÍCIOS

Os benefícios em participar deste estudo são que você, os membros de sua família serão monitorizados para avaliar se apresentam algum sinal de infecção ou se são imunes a desenvolver a LT. Para os doadores de sangue, não há benefício aparente. No entanto, espera-se que o resultado deste estudo seja medidas mais efetivas para o controle da LT.

Além de nossa pesquisa, nós realizaremos testes sanguíneos e de pele que podem indicar se você tem algum problema médico. Nós trataremos os problemas médicos mais simples. Não haverá ônus para você em decorrência dos testes ou tratamento que realizaremos. Para problemas médicos mais complexos, você será encaminhado a um posto de saúde ou hospital. Este estudo não reembolsará por tratamento realizado.

## CONFIDENCIALIDADE DO ESTUDO

Registro da participação neste estudo será mantido confidencial, até o limite permitido pela lei. No entanto, agências Federais regulamentadoras no Brasil, o comitê de Ética da Fundação Oswaldo Cruz-FIOCRUZ- Bahia, pode inspecionar e copiar registros pertinentes a pesquisa e estes podem conter informações identificadoras.

Nós guardaremos os registros de cada indivíduo, em sala trancada, e somente os médicos trabalhando na equipe terão acesso a estas informações. Cada indivíduo receberá um número para ser utilizado no laboratório. Se qualquer relatório ou publicação resultar deste trabalho, a identificação do paciente não será revelada. Resultados serão relatados de forma sumarizada e o indivíduo não será identificado.

## DANO ADVINDO DA PESQUISA

Se houver algum dano ou se algum problema ocorrer decorrente deste estudo, o tratamento médico será fornecido sem ônus para o paciente e será providenciado pelo Dr. Jackson Mauricio Lopes Costa ou médico que esteja trabalhando com ela. Se houver despesas oriundas de outras clínicas ou hospitais, cada indivíduo será responsável pelas despesas.

## PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA

Toda participação é voluntária. Não há penalidade para alguém que decida não participar neste estudo. Ninguém também será penalizado se decidir desistir de participar do estudo, em qualquer época. O tratamento para a LT não será diferente caso você decida participar ou não desta pesquisa.

## PERGUNTAS

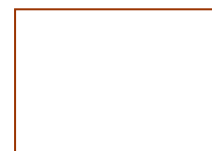
Estimulamos que vocês façam perguntas a respeito da pesquisa. Se houver alguma pergunta, por favor, contate o Dr. Jackson M.L.Costa (71) – 3176-2200 Ramal 351 no Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz-FIOCRUZ Bahia, Rua Waldemar Falcão, no 121, Candeal, Salvador, Bahia, CEP 40.296-710, Brasil.

Nome da pessoa (*letra de forma*): \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Responsável

\_\_\_\_\_  
Testemunha

Família \_\_\_\_\_



Assinatura do responsável

## COMPROMISSO DO INVESTIGADOR

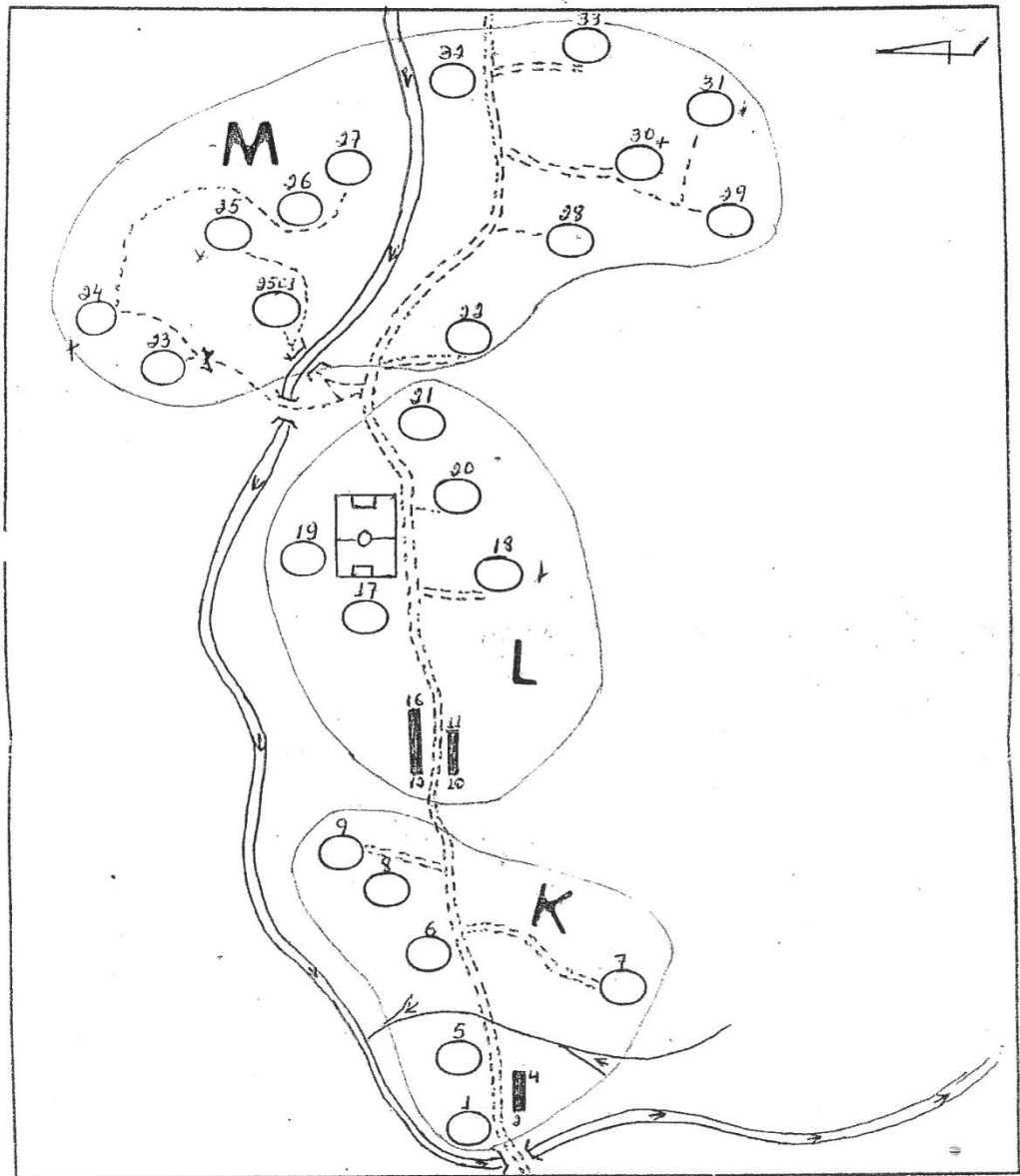
Eu discuti as questões acima apresentadas com os indivíduos participantes no estudo ou com o seu representante legalmente autorizado. É minha opinião que o indivíduo entende os riscos, benefícios e obrigações relacionadas a este projeto.

Salvador-BA, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Pesquisador

Anexo V

Mapas das Fazendas Cadastradas Durante o Estudo de Campo na localidade do Distrito de Florestal Jequié- BA



CONVENÇÕES

|                 |                     |
|-----------------|---------------------|
| CASA            | VIA PAVIMENTADA     |
| ESCOLA          | VIA NÃO PAVIMENTADA |
| POSTO DE SAÚDE  | CAMINHO             |
| IGREJA          | PONTE               |
| CASA DESABITADA | RIO PERMANENTE      |
| DEMOLIDA        | RIO TEMPORÁRIO      |
| CASAS AGRUPADAS | CORREGO PERMANENTE  |
|                 | CORREGO TEMPORÁRIO  |
|                 | LAGOA               |
|                 | SERRA               |

PROGRAMA DE LEISHMANIOSE - LTA

LOCALIDADE: AGUA VERMELHA FAZ

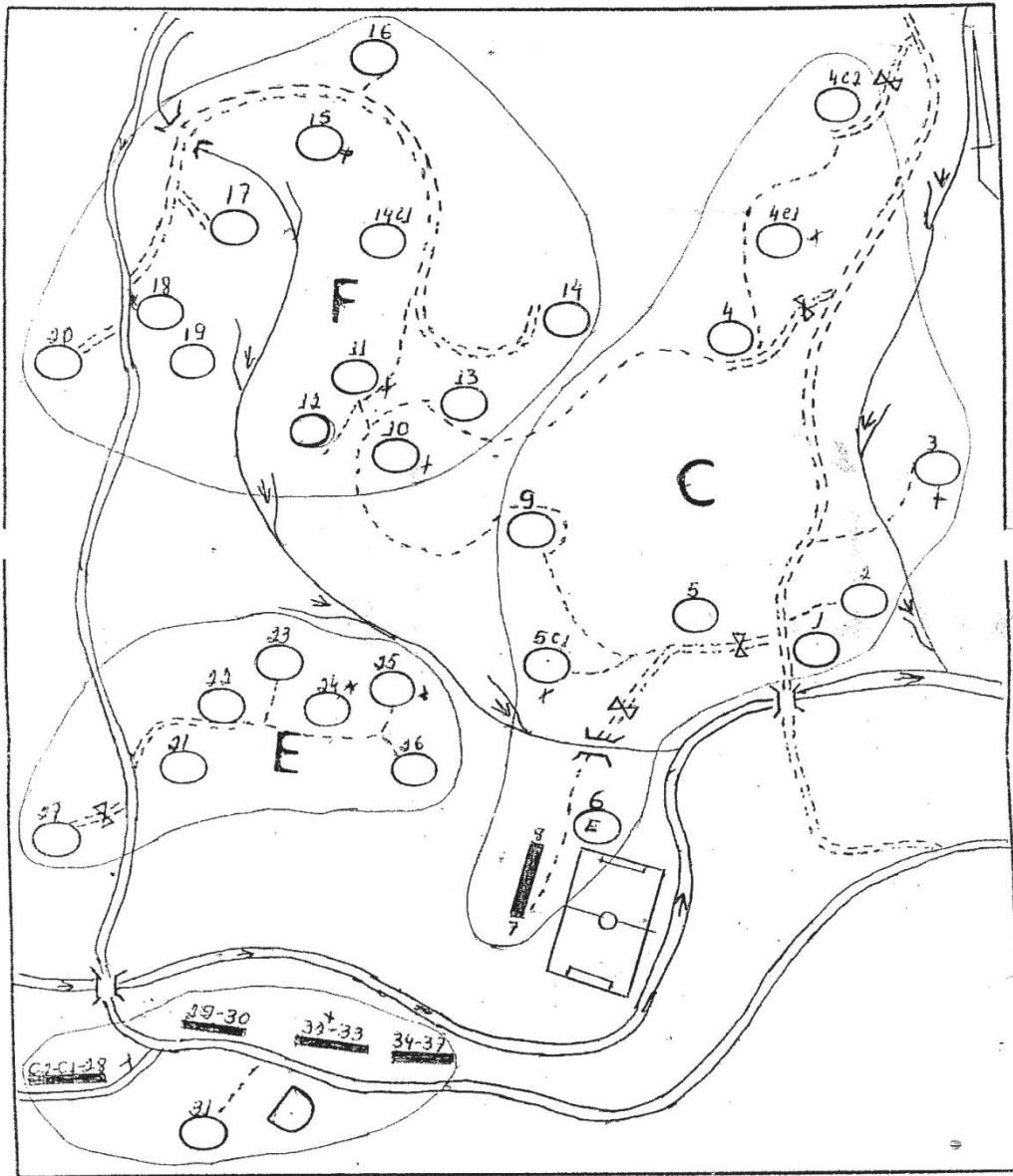
MUNICÍPIO: JEQUIÉ

ESTADO: BAHIA

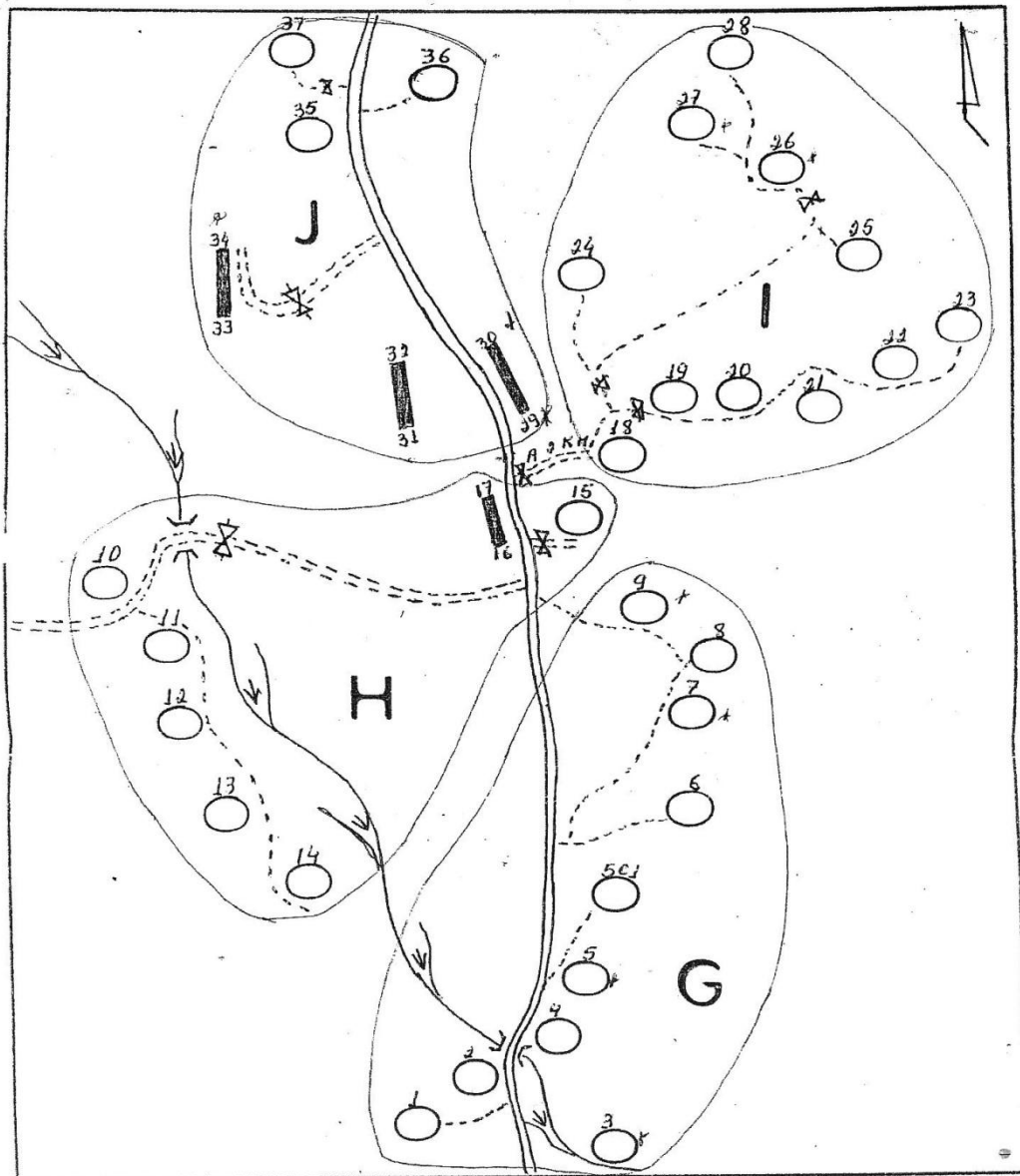
NÚMERO DE PREDIOS: 33

DATA: 24-06-10

R.G.: Antonio Almeida Filho



| CONVENÇÕES      |                     | PROGRAMA DE LEISHMANIOSE - LTA     |  |
|-----------------|---------------------|------------------------------------|--|
| CASA            | VIA PAVIMENTADA     | LOCALIDADE: <u>BATEIA FAZ</u>      |  |
| ESCOLA          | VIA NÃO PAVIMENTADA | MUNICÍPIO: <u>JERQUIÉ</u>          |  |
| POSTO DE SAÚDE  | CAMINHO             | ESTADO: <u>BAHIA</u>               |  |
| IGREJA          | PONTE               | NÚMERO DE PREDIOS: <u>40</u>       |  |
| CASA DESABITADA | RIO PERMANENTE      | DATA: <u>19-6-10</u>               |  |
| DEMOLIDA        | RIO TEMPORÁRIO      | R.G.: <u>Antonio Almeida Filho</u> |  |
| CASAS AGRUPADAS | CORREGO PERMANENTE  |                                    |  |
|                 | CORREGO TEMPORÁRIO  |                                    |  |
|                 | LAGOA               |                                    |  |
|                 | SERRA               |                                    |  |



**CONVENÇÕES**

|  |                         |
|--|-------------------------|
| <input type="checkbox"/> CASA            | ==== VIA PAVIMENTADA    |
| <input type="checkbox"/> ESCOLA          | --- VIA NÃO PAVIMENTADA |
| <input type="checkbox"/> POSTO DE SAÚDE  | - - - CAMINHO           |
| <input type="checkbox"/> IGREJA          | ⌵ PONTE                 |
| <input type="checkbox"/> CASA DESABITADA | ~ RIO PERMANENTE        |
| <input type="checkbox"/> DEMOLIDA        | ~ RIO TEMPORÁRIO        |
| <input type="checkbox"/> CASAS AGRUPADAS | ~ Córrego PERMANENTE    |
|  | ~ Córrego TEMPORÁRIO    |
|  | ~ LAGOA                 |
|  | ~ SERRA                 |

**PROGRAMA DE LEISHMANIOSE - LTA**

LOCALIDADE: BEIÇA FLÔR FAZ


MUNICÍPIO: JEQUÊ

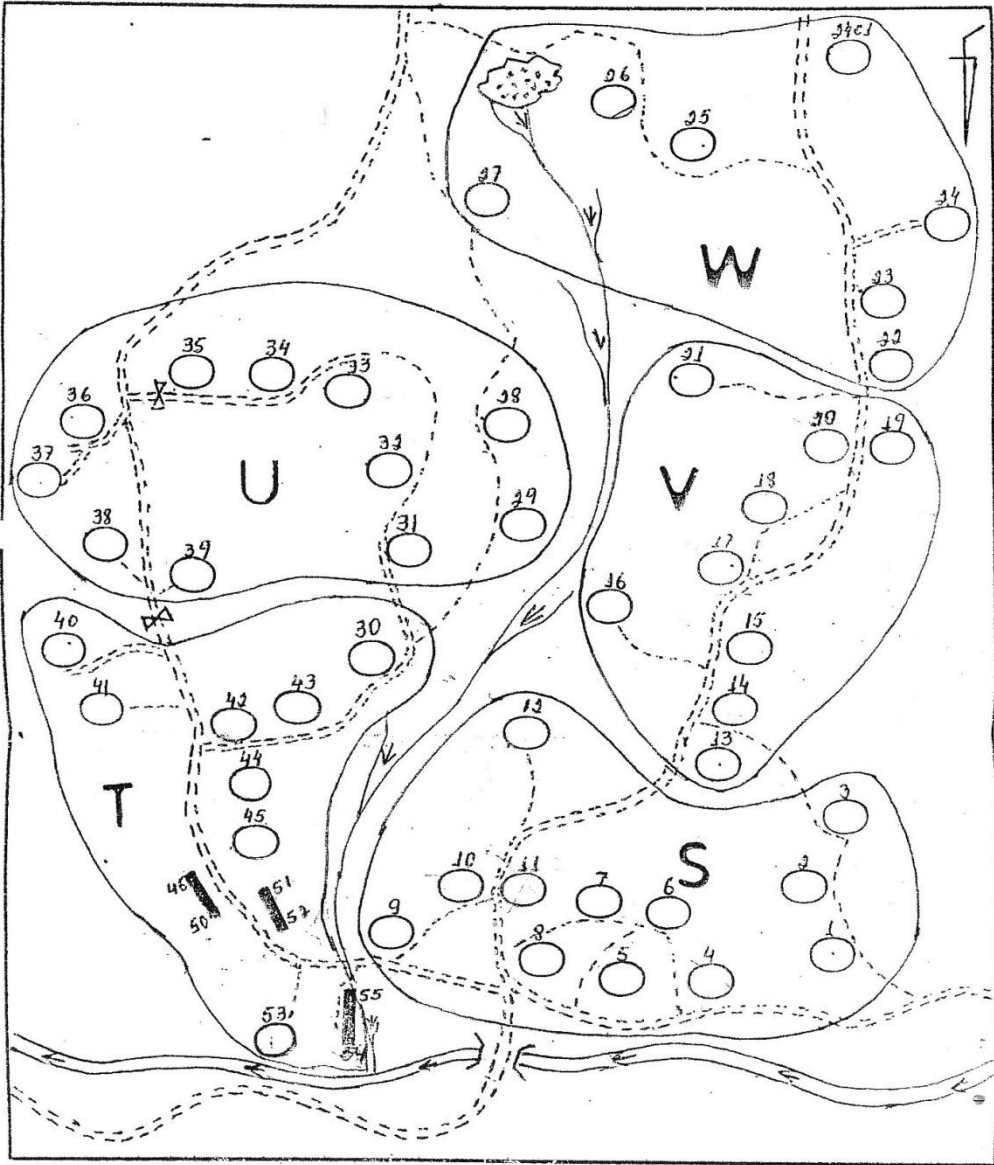
ESTADO: BAHIA

NÚMERO DE PREDIOS: 37

DATA: 31-06-10

R.G.: Antonio Almeida Filho





**CONVENÇÕES**

|   |                           |
|---|---------------------------|
| <input type="checkbox"/> CASA                       | == VIA PAVIMENTADA        |
| <input checked="" type="checkbox"/> ESCOLA          | - - - VIA NÃO PAVIMENTADA |
| <input checked="" type="checkbox"/> POSTO DE SAÚDE  | - - - CAMINHO             |
| <input checked="" type="checkbox"/> IGREJA          | ⌘ PONTE                   |
| <input checked="" type="checkbox"/> CASA DESABITADA | ~ RIO PERMANENTE          |
| <input checked="" type="checkbox"/> DEMOLIDA        | ~ RIO TEMPORÁRIO          |
| <input checked="" type="checkbox"/> CASAS AGRUPADAS | ~ CORREGO PERMANENTE      |
|   | ~ CORREGO TEMPORÁRIO      |
|   | ~ LAGOA                   |
|   | ~ SERRA                   |

**PROGRAMA DE LEISHMANIOSE - LTA**

LOCÂLIDADE: CAMPO LARGO 1ª FAZ


MUNICÍPIO: JERQUIÉ

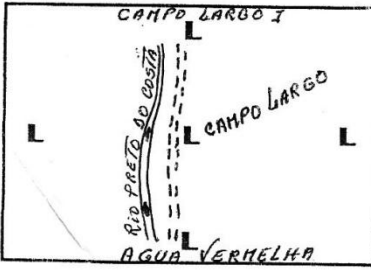
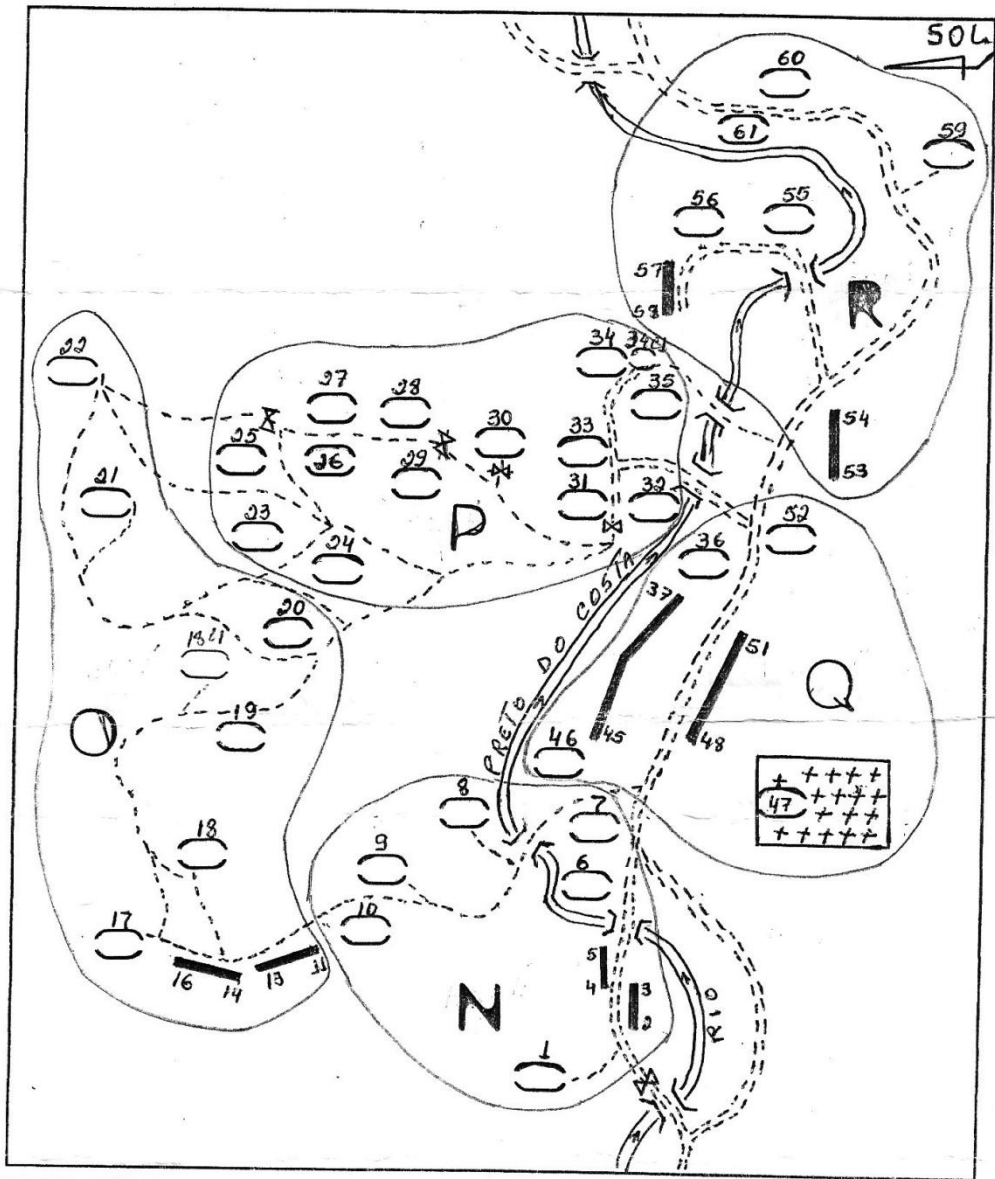
ESTADO: BAHIA

NÚMERO DE PRÉDIOS: 56

DATA: 25-6-10

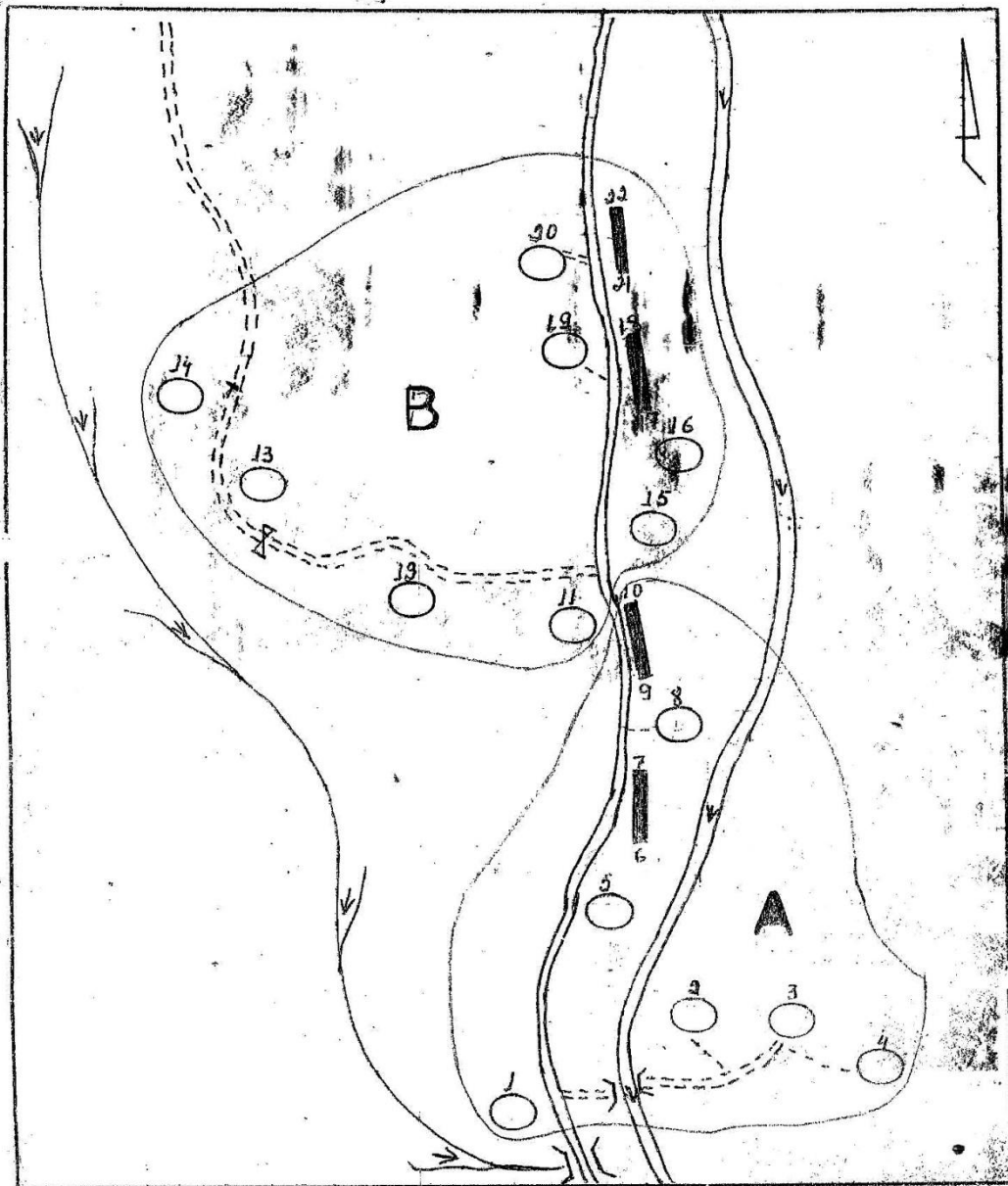
R.G.: Antonio Almeida Filho





**Programa Leishmaniose LTA**

|                    |                          |
|--------------------|--------------------------|
| LOCALIDADE:        | CAMPO LARGO FAZ          |
| MUNICÍPIO:         | JEQUÉ                    |
| ESTADO:            | BAHIA                    |
| NÚMERO DE PRÉDIOS: | 63 63                    |
| DATA:              | 28/11/06                 |
| R.G.:              | Antonio de Almeida Filho |



CONVENÇÕES

|                 |                    |
|-----------------|--------------------|
| CASA            | VÍA PAVIMENTADA    |
| ESCOLA          | VÍANÃO PAVIMENTADA |
| POSTO DE SAÚDE  | CAMINHO            |
| IGREJA          | PONTE              |
| CASA DESABITADA | RIO PERMANENTE     |
| DEMOLIDA        | RIO TEMPORÁRIO     |
| CASAS AGRUPADAS | CÓRREGO PERMANENTE |
|                 | CÓRREGO TEMPORÁRIO |
|                 | LAGOA              |
|                 | SERRA              |

**PROGRAMA DE LEISHMANIOSE - LTA**

LOCALIDADE: FLORESTA FAZ

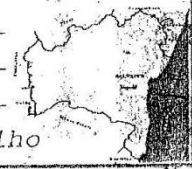
MUNICÍPIO: JERQUIÉ

ESTADO: BAHIA

NÚMERO DE PRÉDIOS: 33

DATA: 03-06-10

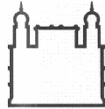
R.G.: Antonio Almeida Filho





## Anexo VI

## Avaliação do Comitê de Ética do CPqGM – Projeto “Relação parasita-hospedeiro na co-infecção HIV x Leishmania e sua Evolução para a Leishmaniose Tegumentar”



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz

### PARECER Nº 79/2005

Protocolo: 173

Projeto de Pesquisa: intitulado “Relação parasita-hospedeiro na co-infecção HIV X *Leishmania sp* e sua evolução para a Leishmaniose tegumentar”.

Pesquisador Responsável: Dr. Jackson Mauricio Lopes Costa

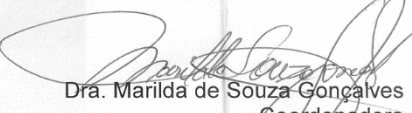
Instituição ou Departamento: LIP/FIOCRUZ

#### Considerações:

Após análise ética do projeto e realização dos esclarecimentos solicitados pelo responsável, o CEP considera que o projeto atende aos princípios éticos de autonomia, beneficência, não maleficência, equidade e justiça.

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisas do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz (CEP-CPqGM/FIOCRUZ), conforme atribuições conferidas pela CONEP/CNS/MS (Carta Doc.32/04/97), com base na Resolução 196/96, julga **aprovado** o projeto supracitado.

Salvador, 28 de dezembro de 2005

  
Dra. Marilda de Souza Gonçalves  
Coordenadora  
CEP – CPqGM/FIOCRUZ

Comitê de Ética em Pesquisa - Rua Waldemar Falcão, nº 121, Brotas, Salvador, Bahia, CEP 40295-001, Brasil

Tel: (71) 3356-8785 ramal: 239 Fax: (71) 3356-2155  
e-mail: cep@cpqgm.fiocruz.br