

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL – UFMS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS E
PARASITÁRIAS**

GUILHERME AUGUSTO HENRIQUE DA SILVA

**DETECÇÃO MOLECULAR DE *Leishmania* spp. EM PESSOAS QUE VIVEM COM O
VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (PVHIV) ATENDIDOS EM SERVIÇOS
DE REFERÊNCIA DE MATO GROSSO DO SUL**

Campo Grande

2024

GUILHERME AUGUSTO HENRIQUE DA SILVA

**Detecção molecular de *leishmania* spp. em Pessoas Que Vivem Com O Vírus Da
Imunodeficiência Humana (PVHIV) atendidos nos serviços de referência de Mato
Grosso Do Sul**

Dissertação apresentada como exigência para a obtenção do título de mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina Dr. Hélio Mandetta da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, sob a orientação da Profa. Dra. Alexandra Rodrigues de Mendonça Favacho e coorientação do Prof. Dr. Eduardo de Castro Ferreira.

Campo Grande

2024

GUILHERME AUGUSTO HENRIQUE DA SILVA

**Detecção molecular de *leishmania* spp. em Pessoas Que Vivem Com O Vírus Da
Imunodeficiência Humana (PVHIV) atendidos nos serviços de referência de Mato
Grosso Do Sul**

Dissertação apresentada como exigência para a obtenção do título de mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina Dr. Hélio Mandetta da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Campo Grande, MS, 06 de agosto de 2024.

COMISSÃO EXAMINADORA

Dra. Alexsandra Rodrigues de Mendonça
Fundação Oswaldo Cruz - Mato Grosso do Sul

Dra. Ana Lúcia Lyrio de Oliveira
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Dra. Zulma Maria de Medeiros
Fundação Oswaldo Cruz - Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Neste derradeiro capítulo da minha jornada acadêmica, é com plenitude no coração que dedico estas palavras às almas generosas e aos lugares que moldaram meu percurso. Como um pássaro migratório que alça voos em direção ao conhecimento, reconheço que não teria alcançado tal altitude sem a orientação e o apoio daqueles que me acompanharam nesta jornada.

À Deus, minha bússola divina, agradeço por guiar-me pelas encruzilhadas do saber e dar-me a visão para enxergar além das fronteiras do entendimento.

À minha mãe, Elisângela Barros, você é o alicerce inabalável da minha jornada. Seu amor incondicional e apoio constante são a força que me sustentou e a inspiração que iluminou meu caminho.

Ao Professor Dr. Eduardo de Castro Ferreira, meu orientador, cujo desempenho abraçou os papéis de mestre e confidente. Como um farol na escuridão, suas orientações luminosas traçaram o mapa que segui, revelando os segredos deste vasto oceano do saber. Cada palavra sua, uma estrela no céu da minha mente, guiou-me através de mares tempestuosos para o porto seguro do entendimento.

À Professora Dr. Gláucia Marcon, pesquisadora da Fiocruz MS, minha gratidão transcende as palavras. Seu apoio generoso e domínio do conhecimento foram a pedra angular sobre a qual construí meu trabalho.

À Professora Dra. Aleksandra Rodrigues de Mendonça Favacho, que assumiu a orientação na fase final do projeto, expresse meu mais sincero agradecimento. Sua dedicação incansável e vasta expertise foram fundamentais para a conclusão bem-sucedida deste trabalho.

À Professora Dra. Adriana Franca, pesquisadora da UFMS, expresse minha mais profunda gratidão por todo apoio e auxílio durante os dias de coletas. Sua orientação e disponibilidade foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho, contribuindo de forma significativa para esse projeto.

À ilustre Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, expresse minha profunda gratidão por proporcionar o solo fértil onde as sementes do conhecimento germinaram e floresceram.

Aos locais que abrigaram minha pesquisa, o Hospital Dia e o CEDIP, meu profundo agradecimento por abrir suas portas e proporcionar o ambiente onde as sementes do conhecimento puderam germinar.

Aos amigos de jornada, Alanys, Mariana, Julia, Judson, Antônio e Michele, minha profunda gratidão. Suas companhias tornaram minha experiência acadêmica muito mais rica e

significativa. Nossas conversas profundas, debates acalorados, risadas sinceras e os momentos compartilhados no laboratório foram essenciais para tornar esta jornada agradável e memorável. Às ICs Lorena, Susana e Elis, minha mais sincera gratidão. O apoio e dedicação de vocês foram fundamentais para o sucesso deste trabalho. A disposição em colaborar, a competência demonstrada nas tarefas e o espírito de equipe fizeram toda a diferença. Agradeço o comprometimento e por contribuírem de maneira significativa para o desenvolvimento desta pesquisa.

À Paulo Daniel e Vinicius Klaus, meus heróis neste capítulo, minha gratidão é imensa. Em momentos cruciais, quando a dúvida surgia, vocês nunca deixaram de acreditar em mim. Sua amizade foi um verdadeiro refúgio em meio à pressão, e sou profundamente grato a ambos. Seus conselhos e apoio constante foram como um farol, guiando-me através das águas turbulentas da pesquisa.

A Larissa, Rayanne, Vitória e Isabelle, minhas amigas queridas, vocês são as flores do jardim da minha vida. Sua amizade foi o sol que aqueceu minha alma nos dias mais frios da pesquisa.

À Taylor Swift, cuja música serviu como trilha sonora da minha jornada. Suas canções me inspiraram e fortaleceram nos momentos mais desafiadores, proporcionando motivação e conforto ao longo do caminho.

A todos que cruzaram meu caminho como estrelas cintilantes na noite escura da pesquisa, minha gratidão é infinita. Este trabalho é a sinfonia resultante de nossas vozes harmoniosas e dos laços que nos uniram.

Por fim, agradeço à CAPES pelo financiamento do meu mestrado.

“A vida pode ser pesada, especialmente se você
tentar carregar tudo de uma vez só.”

(Taylor A. Swift)

RESUMO

Introdução As leishmanioses são doenças zoonóticas causadas por protozoários do gênero *Leishmania* e transmitidas por fêmeas de flebotomíneos infectadas, representando um desafio significativo para a saúde pública, especialmente em regiões tropicais. A coinfeção com HIV agrava a leishmaniose devido à imunossupressão, comprometendo o controle do parasito e potencializando sua disseminação sistêmica. **Objetivo** Este estudo teve como objetivo identificar casos de leishmaniose em pessoas vivendo com HIV no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, utilizando métodos moleculares. **Materiais e métodos** Entre março e maio de 2023, 103 participantes foram selecionados em serviços de referência, onde questionários foram aplicados para coletar dados sociodemográficos e epidemiológicos. Além disso, prontuários médicos foram analisados para obter informações sobre carga viral e contagem de células TCD4+. Foram coletadas amostras de sangue total para detectar *Leishmania* spp. por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), tendo como alvo o KDNA e a LnPcr com alvo SSUrRNA. **Resultado** Dos 103 participantes, 13 foram positivos para pelo menos um dos alvos da PCR, sendo que 7 foram positivos apenas para SSUrRNA, 4 apenas para KDNA e 2 para ambos. A maioria dos casos se concentraram em Campo Grande-MS, com predominância de homens e uma média de idade de 40 anos. Muitos dos afetados eram brancos, de baixa escolaridade ou donos de cães. A carga viral foi indetectável em participantes positivos para a PCR de *Leishmania*, assim como a contagem média de linfócitos T CD4+, foi semelhante à observada no grupo de portadores de HIV com resultados negativos para a PCR. **Conclusão** A positividade da coinfeção assintomática por *Leishmania*/HIV, avaliada pela PCR entre os participantes deste estudo foi de 12,62% (13/103), com 69,2% (9/13) dos participantes positivos sendo detectados pelo gene SSUrRNA. Destacando a importância do diagnóstico molecular para identificar essa condição em pacientes vivendo com HIV.

Palavras-chaves: Leishmanioses, HIV, Coinfeção leishmanioses e HIV, Diagnóstico Molecular, Desafios em Saúde Pública.

ABSTRACT

Introduction Leishmaniasis are zoonotic diseases caused by protozoa of the genus *Leishmania* and transmitted by infected female phlebotomine sandflies, representing a significant public health challenge, especially in tropical regions. Coinfection with HIV worsens leishmaniasis due to immunosuppression, compromising the control of the parasite and enhancing its systemic dissemination. **Objective** This study aimed to identify cases of leishmaniasis in people living with HIV in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil, using molecular methods. **Materials and Methods** Between March and May 2023, 103 participants were selected from reference services, where questionnaires were administered to collect sociodemographic and epidemiological data. Additionally, medical records were analyzed to obtain information on viral load and TCD4+ cell count. Whole blood samples were collected to detect *Leishmania* spp. Using Polymerase Chain Reaction (PCR), targeting KDNA and *Ln*PCR with SSUrRNA as the target. **Results** Of the 103 participants, 2 were positive for both molecular techniques, while 11 were positive only for KDNA or SSUrRNA. Most cases were concentrated in Campo Grande-MS, with a predominance of men and an average age of 40 years. Many of the affected individuals were white, had low educational levels, or were dog owners. The undetectable viral load in participants positive for *Leishmania* PCR, as well as the average TCD4+ lymphocyte count, was similar to that observed in the group of HIV carriers with negative *Leishmania* PCR results. **Conclusion** The positivity of asymptomatic *Leishmania*/HIV coinfection, assessed by PCR among the participants of this study, was 12.62% (13/103), highlighting the importance of molecular diagnosis to identify this condition in patients living with HIV.

Keywords: Leishmaniasis, HIV, Leishmaniasis and HIV Coinfection, Molecular Diagnosis, Public Health Challenges.,

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Formas evolutivas de parasitos do gênero <i>Leishmania</i>	18
Figura 02 – Ciclo biológico de parasitos do gênero <i>Leishmania</i>	22
Figura 03 – Estratificação de risco de infecção por Leishmaniose Tegumentar. Brasil, 2017 a 2019	24
Figura 04 – Estratificação de risco de infecção por Leishmaniose Visceral. Brasil, 2017 a 2019	26
Figura 05 – Composição Demográfica dos Participantes do Estudo por Gênero em Campo Grande, Brasil, 2023	41
Figura 06 – Distribuição geográfica dos participantes do estudo por município em Mato Grosso do Sul Brasil, 2023	42
Figura 07 – Relação entre Autodeclaração Étnica e Gênero dos Participantes do Estudo em Campo Grande, Brasil, 2023	43
Figura 08 – Distribuição do nível de escolaridade dos participantes do estudo por categoria educacional em Campo Grande, Brasil, 2023	44
Figura 09 – Relação entre a escolaridade e etnia dos participantes do estudo em Campo Grande, Brasil, 2023	44
Figura 10 – Relação entre gênero e nível de escolaridade dos participantes do estudo em Campo Grande, Brasil, 2023	45
Figura 11 – Conhecimento de Leishmaniose entre os participantes do estudo em Campo Grande, Brasil, 2023	46
Figura 12 – Distribuição do histórico familiar em relação à leishmaniose entre os participantes do estudo em Campo Grande, Brasil, 2023	46
Figura 13 – Distribuição de indivíduos com histórico prévio de leishmaniose entre os participantes do estudo em Campo Grande, Brasil, 2023	47
Figura 14 – Distribuição da posse de animais domésticos entre os participantes do estudo em Campo Grande, Brasil, 2023	48
Figura 15 – Diagnósticos e sintomas de leishmaniose canina entre animais de estimação dos participantes do estudo em Campo Grande, Brasil, 2023	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição da Carga Viral do HIV e Contagem de LTCD4+ entre os participantes do estudo, Campo Grande, Brasil, 2023	50
Tabela 2 – Características dos Participantes com Resultado Positivo na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para <i>Leishmania</i> em entre indivíduos testados em Campo Grande, Brasil	51
Tabela 3 – Comparação do Perfil Demográfico e Diagnóstico Molecular entre os participantes positivos para PCR de <i>Leishmania</i> spp. em Campo Grande, Brasil. 2023.	52
Tabela 4 – Comparação das características relacionadas à infecção pelo HIV entre participantes positivos para PCR de <i>Leishmania</i> spp. e negativos em Campo Grande, Brasil, 2023.	53
Tabela 5 – Comparação das características sociodemográficas entre participantes positivos para PCR de <i>Leishmania</i> spp. e negativos em Campo Grande, Brasil, 2023.	54
Tabela 6 – Perfil Clínico, Terapêutico e resultado da PCR de <i>Leishmania</i> spp.dos Participantes Previamente Diagnosticados com Leishmaniose, Campo Grande, Brasil, 2023	55

LISTA DE SIGLAS

AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (do inglês Acquired immunodeficiency Syndrome)
CD	Centro De Doenças Infecto Parasitárias
CEDIP	Centro De Doenças Infecto Parasitárias
DNA	Ácido Desoxirribonucleico (do inglês desoxyribonucleic acid)
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HD	Hospital Dia
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês Human Immunodeficiency Virus)
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFI	Imunofluorescência Indireta
KDNA	DNA Kinetoplástico
LT	Leishmaniose Tegumentar
LV	Leishmaniose Visceral
MS	Ministério da Saúde
MS	Mato Grosso do Sul
μL	Microlitros
mM	Milimolar
μM	Micromolar
ng	Nanograma
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Phosphate Buffer Solution – (Tampão salina fosfato)
Pb	Pares de bases
PCR	Reação em cadeia da Polimerase
PM	Peso Molecular
SAS	Secretaria Estadual de Saúde
SESAU	Secretaria Municipal de Saúde
SINAN	Sistema Nacional de Agravos Notificados
SSUrRNA	RNA ribossômico da subunidade pequena
TARV	Terapia Antirretroviral
RNA	Ácido Ribonucleico (do inglês, ribonucleic acid)

SSUrRNA	RNA ribossômico da subunidade pequena
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
UV	ultravioleta
WHO	World Health Organization

Sumário

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 ASPECTOS HISTÓRICOS DAS LEISHMANIOSES.....	16
2.2. ASPECTOS BIOLÓGICOS DOS PARASITOS DO GÊNERO <i>Leishmania</i>	18
2.2.1 Manifestações Clínicas das leishmanioses mais prevalentes no Brasil.....	20
2.2.1 Ciclo biológico da <i>Leishmania</i>	22
2.4 EPIDEMIOLOGIA DAS LEISHMANIOSES	24
2.5 ASPECTOS GERAIS DO HIV	28
2.6 EPIDEMIOLOGIA DO HIV NO BRASIL.....	30
2.7 COINFECÇÃO <i>Leishmania</i> -HIV	30
2.8 DIAGNÓSTICO DE LEISHMANIOSE EM PVHIV	34
2.8.1 Diagnóstico molecular.....	35
2.9 TRATAMENTO DE LEISHMANIOSE EM PVHIV	37
3 OBJETIVOS	38
3.1 OBJETIVO GERAL	38
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
4 MATERIAIS E MÉTODOS	39
4.1 TIPO DE ESTUDO.....	39
4.2 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	39
4.3 AMOSTRAGEM E SUJEITOS.....	39
4.4 COLETA DE DADOS	39
4.5 PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO.....	40
4.5.1 Extração de DNA	40
4.5.2 Detecção Molecular de <i>Leishmania</i> spp.....	40
4.5.3 Eletroforese	41
5 RESULTADOS	42
6 DISCUSSÃO	59
8 CONCLUSÃO	65
APÊNDICE A: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	74
APÊNDICE B: QUESTIONÁRIO SOCIODEMOGRÁFICO	79
ANEXO A: PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	83

1 INTRODUÇÃO

As Leishmanioses compreendem um grupo de zoonoses causadas por protozoários do gênero *Leishmania* e representam um desafio significativo para a saúde pública em regiões tropicais no Novo Mundo. A transmissão da *Leishmania* spp. ao ser humano ocorre por meio da picada do flebotomíneo, e a infecção não é de natureza contagiosa. As manifestações clínicas da doença variam amplamente de acordo com o agente etiológico, incluindo Leishmaniose Cutânea Localizada, Leishmaniose Cutânea Difusa, Leishmaniose Cutânea Disseminada, Leishmaniose Mucocutânea, Leishmaniose Cutânea Recidivante e Leishmaniose Visceral (GRIMALDI; MCMAHAN-PRATT, 1991).

A Leishmaniose Visceral (LV) representa a forma mais grave da doença e tem relevância clínica notável no Brasil, sendo a segunda doença mais fatal causada por protozoários. O Ministério da Saúde relata que a LV afeta anualmente cerca de 3.500 indivíduos no país. No estado do Mato Grosso do Sul, a Leishmaniose é endêmica, com ocorrência em quase todos os municípios. Entre os anos de 2011 e 2020, foram registrados 1.811 casos e 127 óbitos por LV (BRASIL, 2021).

Por outro lado, a Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida (AIDS) é causada pelos vírus da Imunodeficiência Humana (HIV-1 e HIV-2), resultando na deterioração progressiva do sistema imunológico, especialmente a redução dos linfócitos CD4+. Isso torna os pacientes suscetíveis a infecções oportunistas (HENNY et al., 2019). No Brasil, aproximadamente 30 mil novos casos de HIV são registrados anualmente, com cerca de 920 mil brasileiros vivendo com o vírus. No estado de Mato Grosso do Sul, entre os anos de 2007 e 2020, foram notificados 5.182 novos casos de HIV (BRASIL, 2023a)

Em áreas endêmicas para leishmaniose, como o estado do Mato Grosso do Sul, observa-se a possibilidade de coinfeção entre *Leishmania* e HIV, com a Leishmaniose Visceral (LV) exacerbando os sintomas clínicos do HIV e aumentando significativamente o risco de desenvolver LV. Além disso, a LV pode acelerar o curso da AIDS. A Leishmaniose Tegumentar (LT) também pode modificar a progressão da doença pelo HIV, e a imunodepressão causada por esse vírus facilita a progressão da LT. A avaliação do conjunto de manifestações clínicas da LT em pacientes portadores de HIV indica que não existe definição de um perfil clínico que possa ser indiscutivelmente associado à coinfeção. Dada a endemia de ambas as infecções na região, torna-se imperativo investigar a prevalência da coinfeção entre pacientes soropositivos, uma vez que muitos podem permanecer não diagnosticados (BRASIL, 2024, 2021).

No contexto da coinfeção entre *Leishmania* e HIV, a utilização de métodos moleculares se torna ainda mais relevante. A elevada especificidade e sensibilidade da Reação em Cadeia

da Polimerase (PCR) são fundamentais para detectar a presença do parasita em pacientes imunocomprometidos, onde a carga parasitária pode ser muito baixa e dificultar a identificação por métodos convencionais. A PCR permite a amplificação de sequências específicas do DNA de *Leishmania*, facilitando a identificação precisa das espécies envolvidas e, conseqüentemente, direcionando o tratamento de forma adequada (CRUZ et al., 2002).

A coinfeção de leishmaniose e HIV tem ganhado relevância crescente, especialmente em regiões endêmicas como Mato Grosso do Sul, onde a leishmaniose visceral é prevalente. Investigar a prevalência e os padrões de infecção por leishmaniose em pessoas vivendo com HIV atendidas nos serviços de saúde do estado é essencial para melhorar o diagnóstico precoce e o manejo clínico dessas condições com base em métodos diagnósticos mais sensíveis, como os testes moleculares. Deste modo o presente estudo tem como objetivo identificar casos de leishmaniose em pessoas vivendo com HIV no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, utilizando métodos moleculares.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS HISTÓRICOS DAS LEISHMANIOSES

As leishmanioses são enfermidades que remontam ao século XVIII, com relatos iniciais que descrevem indivíduos manifestando sintomas que se assemelham à atual forma da leishmaniose cutânea (LC) (BENCHIMOL et al., 2019). Naquela época, a condição era conhecida por vários nomes regionais que refletiam características clínicas ou a localização geográfica, principalmente “Botão do Oriente” (JOGAS, 2022). O primeiro relato documentado de lesões cutâneas ulceradas data de 1756, quando o pesquisador Alexandre Russell, na Síria, registrou essas manifestações clínicas. A doença era inicialmente considerada benigna e, frequentemente, apresentava uma resolução espontânea dentro de um ano. Entretanto, apenas a partir de 1844, as lesões cutâneas foram reconhecidas como um problema de importância, afetando soldados envolvidos em conflitos europeus no sul da Argélia (STEVERDING, 2017).

Já a leishmaniose visceral (LV), também conhecida como calazar, tem seus primeiros registros por volta do século XIX, na Índia. Sendo frequentemente confundida com a malária ou ancilostomíase e devido à similaridade dos sintomas crônicos e à ocorrência nas mesmas áreas endêmicas. O calazar afetava tanto a população nativa quanto os europeus na Índia, apresentando sintomas graves e alta taxa de mortalidade, o que suscitou grande interesse pelo seu estudo (BENCHIMOL et al., 2019).

O final do século XIX e o início do século XX testemunharam avanços substanciais no entendimento médico e na pesquisa científica. Isso se deve, em parte, às descobertas pioneiras de Louis Pasteur sobre a teoria dos germes e à identificação da relação entre doenças infecciosas e seus agentes patogênicos por Robert Koch (BONNET et al., 2020). Além disso, a introdução dos conceitos de vetores e hospedeiros intermediários, desenvolvidos por Patrick Mason e Ronald Ross, desempenhou um papel crucial. A comprovação da participação de insetos na transmissão de doenças em regiões tropicais, realizada por Walter Reed, contribuiu para o aprimoramento do conhecimento dessas afecções (MASCARINI, 2003).

As primeiras descrições do protozoário causador da LV e da LC ocorreram no século XX, especificamente em 1903. Nesse ano, os médicos ingleses William Leishman e Charles Donovan descreveram o microrganismo responsável pela LV em artigos distintos publicados no *British Medical Journal* (ALTAMIRANO-ENCISO et al., 2003; LAINSON, 2010). Alguns meses mais tarde, essa descoberta foi corroborada pelos pesquisadores Laveran e Mesnil, que propuseram o nome "*Leishmania donovani*" para o parasita. Na mesma época, o médico

americano James Homer Wright descreveu um parasita encontrado em lesões cutâneas semelhantes ao botão do Oriente, denominando-o de *Helcosoma tropicum* ou *Welcosoma tropicum* (ALTAMIRANO-ENCISO et al., 2003; JOGAS, 2017).

A partir de 1904, evidências começaram a surgir indicando uma estreita relação morfológica entre os microrganismos causadores da LV e LC (STRELKOVA; BARANOVA; KUHLS, 2020). Em 1906, o pesquisador alemão Max Luhe propôs a mudança de nome do parasita responsável pela LC para *Leishmania tropica*, estabelecendo assim o grupo de doenças denominado leishmanioses (JOGAS, 2022).

Com base nesse conhecimento, os pesquisadores da época perceberam que casos de LV (calazar) e LC (botão do Oriente) ocorriam em diversas partes do mundo, estimulando o interesse pelo estudo dessas doenças (BASANO; CAMARGO, 2004).

No Brasil, o primeiro relato do protozoário causador da leishmaniose data de 1909, quando Adolpho Lindenberg, Antonio Carini e Ulysses Paranhos observaram "corpúsculos de Leishman-Donovan" em lesões cutâneas e mucosas semelhantes ao botão do Oriente na cidade de Bauru, São Paulo (LAINSON, 2010) Esses achados impulsionaram pesquisas sobre a leishmaniose em diversas regiões da América do Sul. (JOGAS, 2022).

Na década de 1910, muitos pesquisadores começaram a suspeitar da existência de um protozoário distinto na América do Sul, devido à presença de lesões mucosas com características e evolução clínica diversas das encontradas no botão do Oriente (JOGAS, 2017). Em 1911, o pesquisador brasileiro Gaspar de Oliveira Vianna estabeleceu uma correlação entre essas lesões mucosas e um protozoário do gênero *Leishmania*, nomeando-o como *Leishmania braziliensis*.(BASANO; CAMARGO, 2004).

Os casos de LV foram confirmados no Brasil pela primeira vez em 1934, quando o pesquisador Penna analisou fragmentos hepáticos de 41 casos durante uma investigação sobre febre amarela, identificando os parasitas responsáveis pela leishmaniose (LAINSON, 2010; SILVEIRA et al., 2016).

A partir dessas observações, pesquisadores, tanto no Brasil quanto em outros países, intensificaram as investigações sobre essa enfermidade. Notavelmente, o médico sanitário brasileiro Evandro Chagas, junto com sua equipe, iniciou pesquisas sobre a leishmaniose visceral no estado do Pará (MASCARINI, 2003). Suas pesquisas revelaram que a doença se manifestava de maneira esporádica e que o parasito era transmitido por meio da picada de um inseto que vivia no peridomicílio, o *Phlebotomus longipalpis* (atualmente conhecido como *Lutzomyia longipalpis*) (BENCHIMOL et al., 2019).

Esse protozoário parasita provinha de uma fonte animal silvestre associada ao ciclo do parasita e ao inseto transmissor. Além disso, Chagas descreveu o parasito responsável pela LV, inicialmente nomeado como *Leishmania chagasi* e posteriormente classificado como *Leishmania infantum chagasi* (SILVEIRA et al., 2016). Nas décadas subsequentes, as pesquisas continuaram, e somente na década de 1960 foi possível realizar uma identificação mais precisa dos diferentes protozoários causadores da leishmaniose na América do Sul, graças ao desenvolvimento de métodos laboratoriais mais avançados (SILVEIRA et al., 2016).

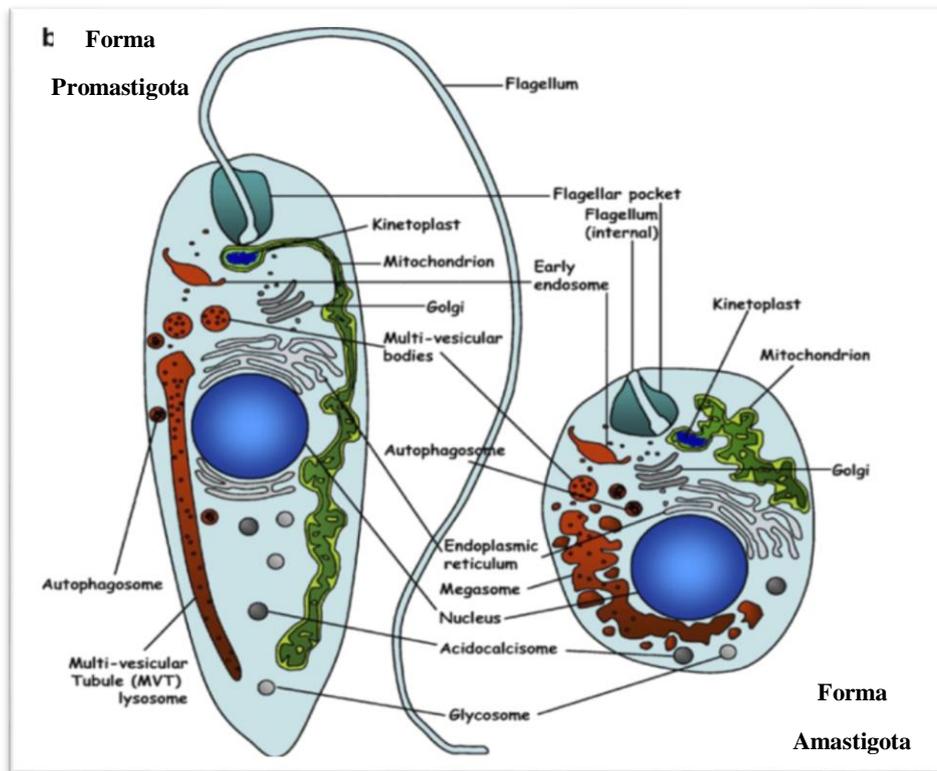
2.2. ASPECTOS BIOLÓGICOS DOS PARASITOS DO GÊNERO *Leishmania*

As leishmanioses são um grupo complexo de doenças parasitárias debilitantes que afetam os seres humanos. Elas são causadas por protozoários do gênero *Leishmania*, que pertencem à ordem Kinetoplastida. A ordem Kinetoplastida é caracterizada pela presença de uma única mitocôndria rica em DNA mitocondrial, conhecido como "kDNA" (GONTIJO; CARVALHO, 2003).

Dentro dessa ordem encontrasse a família Trypanosomatidae, que inclui principalmente parasitas. Os protozoários dessa família compartilham características morfológicas semelhantes, incluindo a presença de uma rede de microtúbulos subpeliculares, que é notavelmente rígida e contribui para a formação de diversas formas celulares bem definidas ao longo do ciclo evolutivo desses protozoários. As espécies do gênero *Leishmania* pertencem a essa família e são responsáveis pelas leishmanioses em seres humanos, apresentando um ciclo de vida complexo que envolve diferentes formas celulares ao longo de sua evolução.(GONTIJO; CARVALHO, 2003).

Sendo consideradas protozoários digenéticos, pois possuem em seu ciclo biológico hospedeiros vertebrados e invertebrados. Além de possuir duas formas evolutivas, amastigota e a promastigota. (**Figura 1**). No novo mundo sua transmissão ocorre durante o repasto sanguíneo da fêmea de flebotomíneos, insetos vetores da subfamília Phlebotominae, popularmente conhecidos como: Mosquito palha, birigui ou cangalha. (GONTIJO; CARVALHO, 2003).

Figura 1 Formas evolutivas de parasitos do gênero *Leishmania*



Fonte: Adaptação de Besteiro, et al., (2007, p. 6)

A leishmaniose - termo que apresenta desafios quando usado no singular - desafiava um princípio fundamental da microbiologia, que era a ideia de que cada doença tinha um agente etiológico específico. Já que na época, e por um bom tempo ainda, as doenças que aparentemente não tinham relação entre si eram causadas por protozoários que não podiam ser diferenciados com os recursos técnicos disponíveis naquele período (BESTEIRO et al., 2007).

Hoje sabe-se que o gênero *Leishmania* possui uma diversidade de espécies de protozoários que podem causar leishmaniose. Muitas dessas espécies foram identificadas com base em suas características morfológicas e biológicas, bem como por meio da análise das características clínicas e epidemiológicas das doenças. Além disso, para uma identificação mais precisa podem ser atribuídos métodos bioquímicos, imunológicos e moleculares (BESTEIRO et al., 2007).

No cenário brasileiro, que se destaca como um país caracterizado por abrigar uma notável diversidade de espécies pertencentes ao gênero *Leishmania*, delineia-se uma complexidade marcante que resulta em uma variedade significativa de manifestações clínicas das leishmanioses (VASCONCELOS et al., 2018). Descritas a seguir:

Leishmania braziliensis: Esta espécie figura como uma das mais proeminentes no contexto brasileiro, sendo primariamente vinculada à ocorrência da leishmaniose cutânea e mucocutânea.

Leishmania amazonensis: Encontrada sobretudo na região amazônica, essa espécie configura-se como uma causa significativa tanto da leishmaniose cutânea quanto da forma difusa da doença no Brasil.

Leishmania infantum: Anteriormente identificada como *L. chagasi*, esta espécie manifesta sua presença no território brasileiro, associando-se de forma destacada à leishmaniose visceral, uma das formas mais severas da patologia.

Leishmania guyanensis: Distribuída na região amazônica, esta espécie está notadamente relacionada à leishmaniose cutânea, apresentando lesões ulceradas que podem ser não apenas dolorosas, mas também persistentes.

Leishmania lainsoni: Classificada como uma espécie menos prevalente, contudo associada à leishmaniose cutânea, esta variante encontra sua ocorrência na Amazônia brasileira, contribuindo para a complexidade do panorama epidemiológico da região.

No contexto de Mato Grosso do Sul, a distribuição das espécies de *Leishmania* mostra que *Leishmania braziliensis* é prevalente, associada à leishmaniose cutânea e mucocutânea, especialmente em áreas rurais e florestais do estado (LIMA JUNIOR et al., 2009). A leishmaniose tegumentar é endêmica na região, com registros de casos desde 1975, sendo transmitida principalmente através do contato humano com o reservatório natural do parasita, frequentemente relacionado a atividades ocupacionais específicas. (DORVAL et al., 2006). *Leishmania amazonensis*, também encontrada na região, é conhecida por causar leishmaniose cutânea com lesões ulceradas, sendo mais frequentemente observada em áreas de transição para a Amazônia. *Leishmania infantum* pode estar presente em algumas regiões, contribuindo para casos esporádicos de leishmaniose visceral (LIMA JUNIOR et al., 2009).

2.2.1 Manifestações Clínicas das leishmanioses mais prevalentes no Brasil.

O complexo das leishmanioses engloba uma diversidade de manifestações clínicas que variam de acordo com a espécie do agente etiológico, características do vetor transmissor, resposta imunológica do hospedeiro, entre outros fatores (BESTEIRO et al., 2007). Dentro deste contexto, a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é um termo utilizado para descrever infecções por *Leishmania* que afetam a pele, mucosas e semimucosas. As principais formas clínicas dentro do grupo da LTA incluem a leishmaniose cutânea localizada,

leishmaniose cutânea difusa, leishmaniose cutânea disseminada, leishmaniose mucocutânea, e a leishmaniose cutânea recidivante. (CONCEIÇÃO-SILVA; ALVES, 2014)

Além da LTA, há a Leishmaniose Visceral (LV), que é uma forma grave da doença, afetando órgãos internos como o baço, fígado e medula óssea, sendo potencialmente fatal se não tratada adequadamente (BESTEIRO et al., 2007).

O gênero *Leishmania* compreende diversas espécies de protozoário, cada uma apresentando distintos perfis de patogenicidade e distribuição geográfica. Algumas das principais manifestações clínicas são descritas a seguir:

- **Leishmaniose Cutânea:** Conhecida popularmente como úlcera de Bauru, esta manifestação é caracterizada pela formação de úlceras única ou múltiplas na derme, geralmente no local da picada do vetor. Podem ser lesões abertas, nódulos ou feridas que não cicatrizam. As lesões apresentam bordas bem definidas, repletas de protozoários, e um fundo rosáceo, sendo indolores. A evolução da lesão inicia-se com o surgimento de um nódulo no local da picada do vetor, seguido pela ulceração inicial, úlceras superficiais com numerosos parasitos e infiltrados de linfócitos e macrófagos. Antes da cicatrização, a úlcera estabiliza-se, tornando-se mais profunda, com diminuição do número de parasitos, e inicia-se o processo inflamatório (NEVES, 2016)
- **Leishmaniose Mucocutânea:** Também conhecida como "nariz de anta", apresenta uma fase inicial semelhante à leishmaniose cutânea. Um aspecto característico da doença são as lesões destrutivas, que ocorrem meses ou anos após a lesão inicial, afetando mucosas e cartilagens, principalmente boca e nariz. Aproximadamente 70% dos casos com lesões de mucosas desenvolvem-se nos primeiros cinco anos após a lesão primária (NEVES, 2016)..
- **Leishmaniose Cutânea Recidivante:** Este subtipo é caracterizado pelo reaparecimento de lesões cutâneas após um período inicial de aparente cicatrização. As recidivas podem ocorrer próximas ao local da lesão original e são associadas a fatores imunológicos e persistentes do parasito (NEVES, 2016).
- **Leishmaniose Cutânea Difusa (LCD):** Caracteriza-se pela formação de lesões não ulceradas por toda a pele, contendo um grande número de parasitos. Essas lesões não são causadas por múltiplas picadas do inseto, mas sim pela metástase do parasito pelos vasos linfáticos. A LCD está associada a uma deficiência no sistema imunológico do

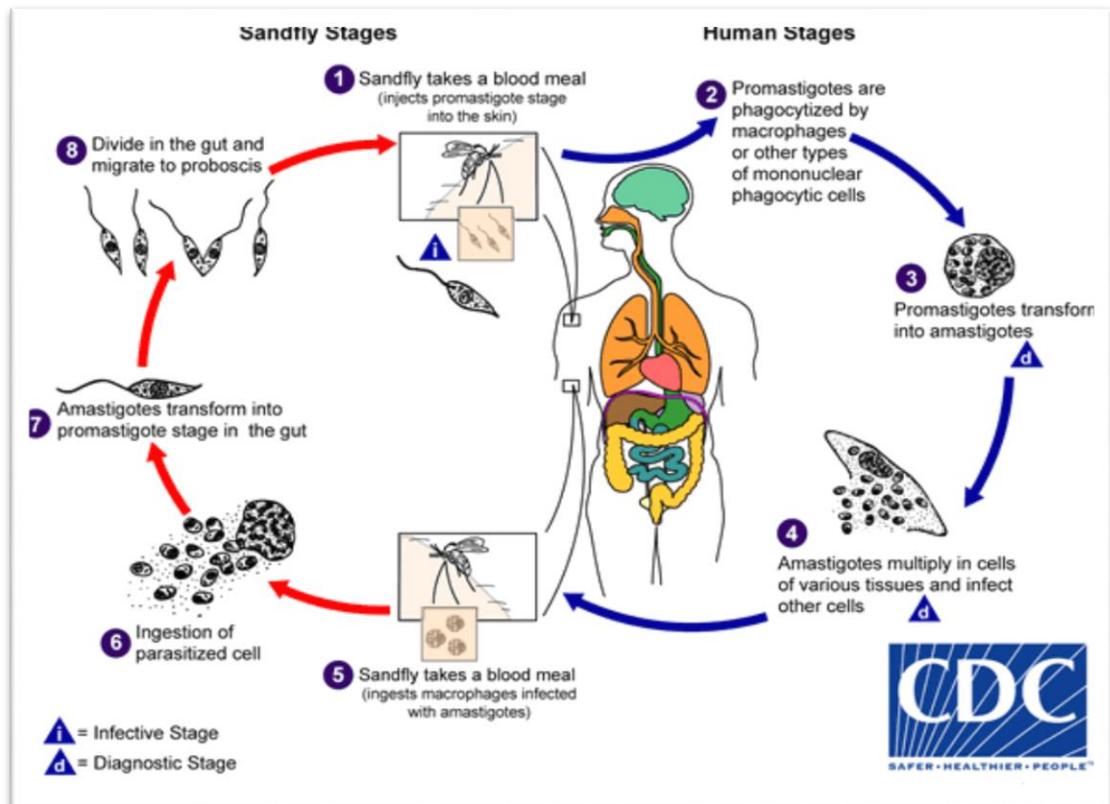
hospedeiro, tornando-o incapaz de desenvolver uma resposta inflamatória eficaz contra o parasito (NEVES, 2016).

- **Leishmaniose Visceral:** comumente conhecida como Calazar, representa a manifestação mais grave da doença, destacando-se por sintomas sistêmicos de considerável gravidade. Caracteriza-se pela presença de febre prolongada, anemia acentuada e comprometimento dos órgãos internos, com ênfase significativa no fígado, baço e medula óssea. Essa condição resulta na hepatoesplenomegalia, uma expressão clínica marcada pelo aumento volumétrico desses órgãos. Na Leishmaniose Visceral, a infecção pelo parasito do gênero *Leishmania* dissemina-se para os órgãos internos, resultando em uma resposta inflamatória sistêmica. A persistência do parasito no hospedeiro e sua propensão em afetar órgãos vitais contribuem para a complexidade clínica dessa forma da doença. (NEVES, 2016).

2.2.1 Ciclo biológico da *Leishmania*

A *Leishmania* é um protozoário digenético que envolve dois hospedeiros principais: um hospedeiro vertebrado (geralmente mamíferos, incluindo seres humanos) e um vetor, que é um flebotomíneo, um pequeno inseto voador. O que torna o ciclo de vida complexo, conforme pode ser visto na (Figura 2) (KILLICK-KENDRICK, 1990).

Figura 2- Ciclo biológico de parasitos do gênero *Leishmania*



Fonte: CDC, Centers for Disease Control and Prevention (2017).

- **Inoculação no Hospedeiro Vertebrado:**

Durante o repasto sanguíneo, o flebotomíneo infectado, pica um hospedeiro vertebrado suscetível (como um ser humano), e injeta as promastigotas metacíclicas neste hospedeiro. Essas promastigotas metacíclicas são altamente móveis e infectantes (KILLICK-KENDRICK, 1990).

- **Fagocitose pelas Células do Sistema Imunológico:**

As promastigotas metacíclicas são então fagocitadas pelas células do sistema imunológico do hospedeiro, como macrófagos e células dendríticas (KILLICK-KENDRICK, 1990).

- **Transformação em Amastigotas Intracelulares:**

Dentro dessas células do sistema imunológico, as promastigotas metacíclicas se transformam em outra forma chamada "amastigotas". Essas amastigotas são a forma

intracelular do parasita e se multiplicam dentro das células hospedeiras (KILLICK-KENDRICK, 1990).

- **Replicação e Infecção:**

As amastigotas se multiplicam ativamente e causam a infecção no hospedeiro vertebrado. À medida que as células do sistema imunológico são infectadas e a infecção se espalha, os sintomas da leishmaniose podem se desenvolver, dependendo da espécie de *Leishmania* envolvida e da resposta imunológica do hospedeiro (KILLICK-KENDRICK, 1990).

- **Retorno ao Vetor:**

Quando um flebotomíneo pica um hospedeiro infectado, ele ingere sangue contendo macrófagos infectados por amastigotas. Dentro do flebotomíneo, as amastigotas se transformam novamente em promastigotas. No trato digestivo do flebotomíneo, as formas promastigotas do parasita se desenvolvem em uma forma específica chamada promastigota metacíclica. Se dividem e migram para a probóscide do vetor. Reiniciando o ciclo (DORVAL et al., 2009; KILLICK-KENDRICK, 1990).

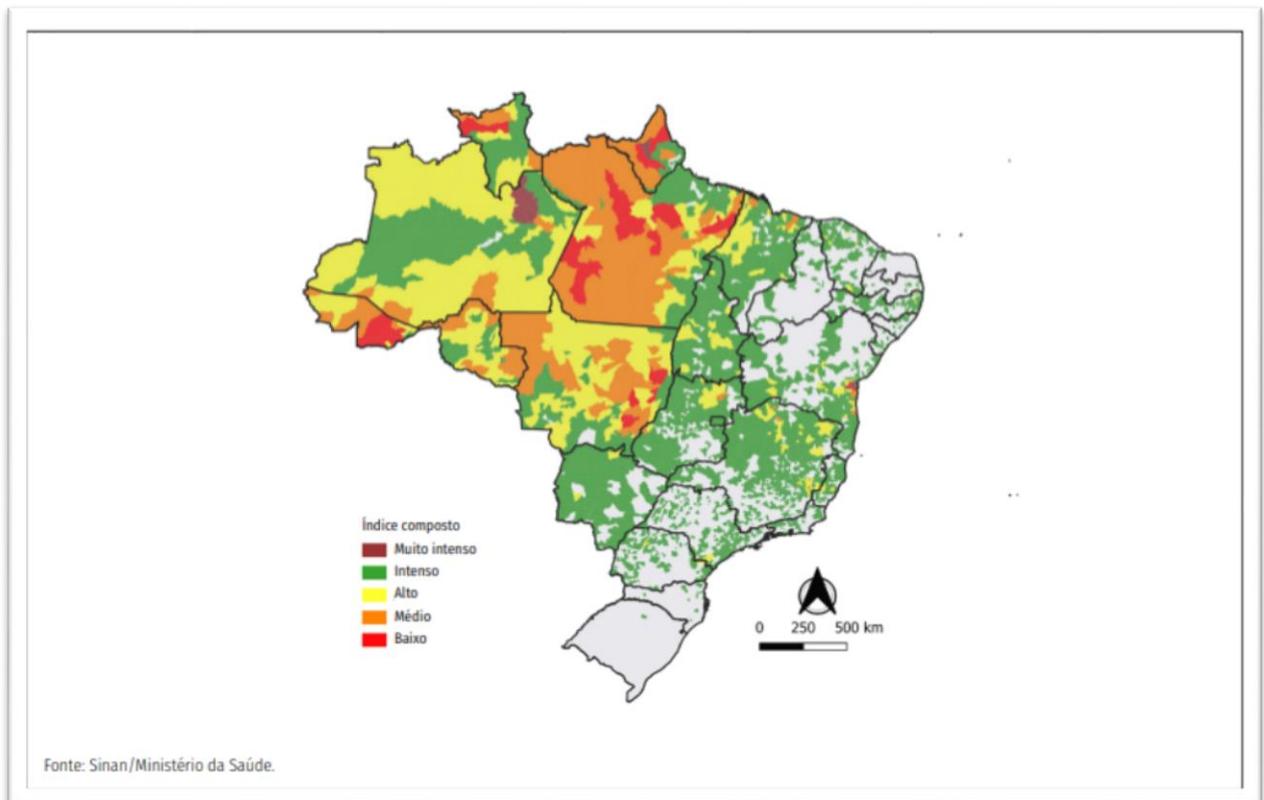
2.4 EPIDEMIOLOGIA DAS LEISHMANIOSES

As leishmanioses representam um conjunto de doenças com distribuição geográfica ampla e são mais prevalentes em regiões tropicais e subtropicais, incluindo partes da África, América do Sul, América Central, Ásia e Oriente Médio. São causadas por mais de 20 espécies pertencentes ao gênero *Leishmania*. Atualmente, mais de 1 bilhão de pessoas residem em áreas endêmicas para leishmaniose, sujeitas ao risco de infecção. Globalmente, são registrados anualmente aproximadamente 30.000 novos casos de LV e mais de 1 milhão de novos casos de LT (WHO, 2024)

A LTA exibe uma distribuição geográfica abrangente, englobando 18 países nas Américas, incluindo o Brasil, onde já se configura como uma questão significativa em termos de saúde pública. É pertinente destacar que a LTA é categorizada como uma doença negligenciada, visto que impacta predominantemente populações em condições de vulnerabilidade socioeconômica. No período de 2003 a 2018, estima-se que aproximadamente 300.000 casos tenham sido registrados, com uma notificação de 15.484 novos casos apenas em 2019. Esses dados resultam em um coeficiente de detecção de 7,37 casos por 100 mil habitantes ao ano. (BRASIL, 2021).

Considerando a estratificação no período de 2017 a 2019, realizado pelo Ministério da Saúde, é relevante destacar que o estado de Mato Grosso do Sul foi classificado como uma região de transmissão intensa da LT (BRASIL, 2021). (Figura 3).

Figura 3 Estratificação de risco de infecção por Leishmaniose Tegumentar. Brasil, 2017 a 2019.



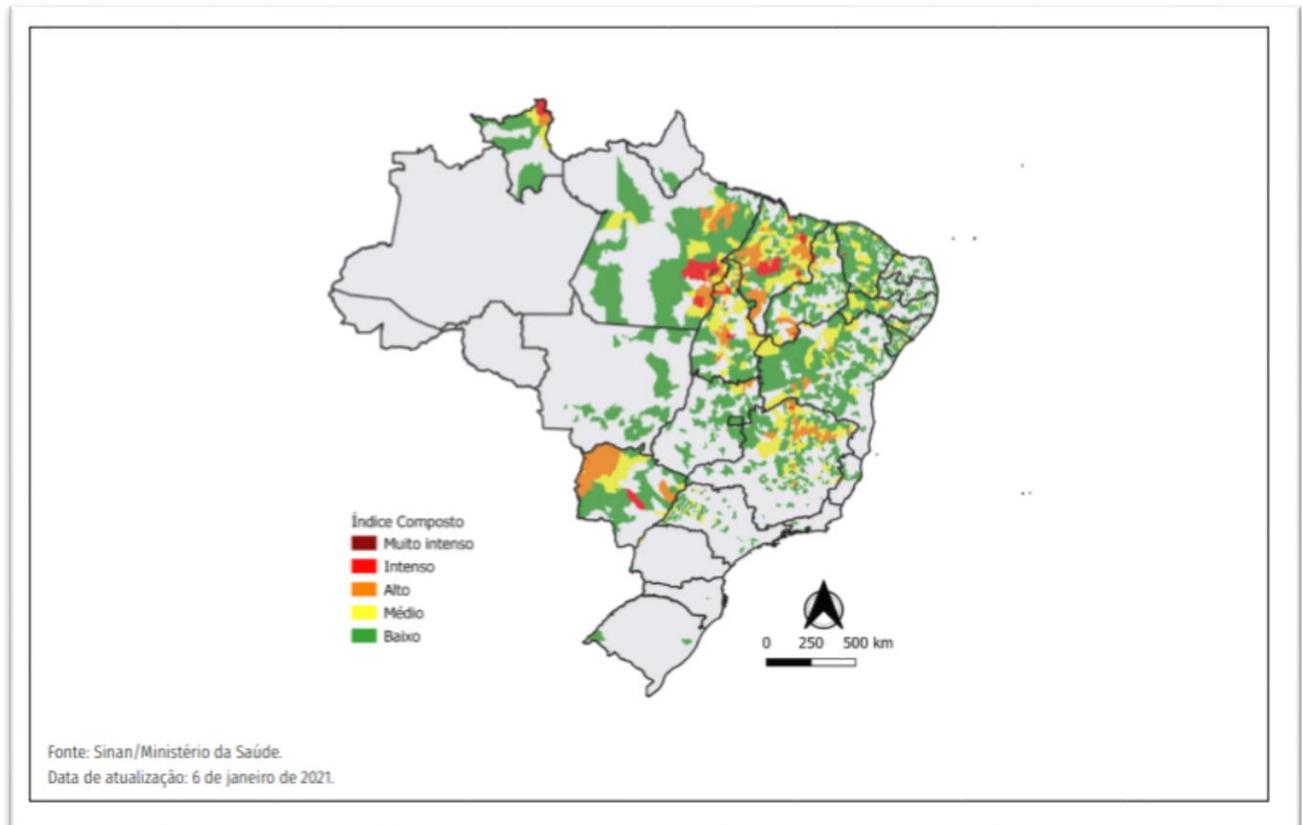
Em Mato Grosso do Sul, no ano de 2022, foram registrados 86 casos de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) em seres humanos, o que representa um aumento de 38,7% em relação ao ano anterior. A análise retrospectiva dos últimos dez anos indica uma tendência de estabilização da incidência da doença no estado, com os registros mantendo-se consistentemente abaixo de 100 casos anuais nos últimos seis anos. A coinfeção LTA-HIV foi identificada em 3% dos casos registrados, destacando a complexidade epidemiológica e clínica da LTA em Mato Grosso do Sul. No que se refere à forma de apresentação clínica da doença, observa-se maior ocorrência de leishmaniose cutânea, caracterizada por lesões ulcerativas na pele, sendo esta a manifestação predominante entre os casos notificados (MATO GROSSO DO SUL, 2023).

Por outro lado, a LV é a forma mais grave da doença, sendo também negligenciada em âmbito mundial. O Brasil responde por 95% dos casos de LV em humanos notificados em todo o continente americano (MORAIS et al., 2020). A LV no Brasil é causada pela espécie *Leishmania infantum* e transmitida por meio da picada de flebotomíneos infectados pertencentes às espécies *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi* (MENEGATTI et al., 2020).

A LV tem experimentado uma notável expansão no território brasileiro. Inicialmente confinada à região nordeste até meados dos anos 80, a doença agora registra notificações em todas as regiões do país anualmente (BRASIL, 2003). Durante o período entre 2003 e 2018, foram confirmados aproximadamente 50 mil casos humanos, com 2.529 novos casos reportados em 2019, resultando em uma taxa de incidência de 1,2 casos para cada 100 mil habitantes. Destaca-se que a região nordeste concentra o maior número de casos, embora a doença seja autóctone em todas as 26 unidades federativas do Brasil. (BRASIL, 2021; MARCONDES; ROSSI, 2013).

No que diz respeito à estratificação durante o período de 2017 a 2019, destaca-se que apenas o município de Eldorado dos Carajás, no estado do Pará, foi classificado com transmissão muito intensa para LV. Outros municípios em diferentes estados, como Roraima, Pará, Tocantins, Maranhão, Piauí, Ceará, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul, foram classificados com transmissão intensa. (BRASIL, 2021). (Figura 4)

Figura 4 Estratificação de risco de infecção por Leishmaniose Visceral. Brasil, 2017 a 2019



É pertinente destacar o aumento progressivo da coinfeção *Leishmania*/HIV ao longo dos anos em todo o cenário epidemiológico nacional, atingindo uma taxa de 11,1% do total de casos confirmados em 2019. Apesar da predominância de casos confirmados na região Nordeste, observou-se um incremento significativo no número de coinfectados em outras regiões, notadamente nos estados do Norte e Centro-Oeste durante o ano de 2019 (BRASIL, 2021).

Em Mato Grosso do Sul, no ano de 2022, foram diagnosticados 152 casos de Leishmaniose Visceral (LV) em humanos, com uma taxa de letalidade de 12,5%. Este número representa um aumento significativo de 50% em relação ao ano anterior. A análise dos últimos dez anos revela uma tendência de crescimento tanto no número de casos suspeitos quanto confirmados da doença na região. Sendo que 28% dos casos confirmados de Leishmaniose Visceral Humana (LVH) ocorreram em pacientes coinfectados com HIV. Esses dados destacam a importância da colaboração entre os setores de vigilância para promover discussões e aumentar a eficácia das medidas de controle e prevenção da doença, especialmente em populações vulneráveis (MATO GROSSO DO SUL, 2023).

2.5 ASPECTOS GERAIS DO HIV

O HIV (vírus da imunodeficiência humana) é um retrovírus pertencente à subclasse dos Lentivírus, conhecido por ser o agente causador da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Este vírus se distingue pela morfologia de seu nucleoide cilíndrico, uma característica única dentro da família Retroviridae (ROSA; SILVA; HORA, 2016). A síndrome foi inicialmente reconhecida em 1981 nos Estados Unidos, porém o HIV-1, identificado em 1983, é responsável pela maioria das infecções globais, enquanto o HIV-2, descoberto em 1986, predomina na África Ocidental e exibe menor virulência que o tipo 1 (FERREIRA; RIFFEL; SANT'ANA, 2010). A síndrome foi inicialmente reconhecida em 1981 nos Estados Unidos.

Ambos os retrovírus, HIV-1 e HIV-2, compartilham um mecanismo de infecção altamente específico, com predileção notável pelos linfócitos T CD4 do sistema imunológico. Mediante a atividade da enzima transcriptase reversa, ocorre a conversão do RNA viral em DNA, seguida pela integração do material genético viral ao genoma da célula hospedeira. Este intrincado processo molecular, fundamental para a biologia viral, culmina na replicação viral subsequente, conduzindo à síntese de proteínas virais e à liberação do vírus, possibilitando a infecção de novas células do hospedeiro. Essa sequência de eventos moleculares é essencial para a perpetuação e disseminação eficaz da infecção pelos retrovírus HIV-1 e HIV-2 no contexto do organismo hospedeiro (NYAMWEYA et al., 2013).

A propagação do HIV ocorre predominantemente por meio da exposição a fluidos corporais contaminados, tais como sangue, secreções vaginais e sêmen, durante relações sexuais desprotegidas, incluindo atividades vaginais, anais ou orais. Além disso, a transmissão vertical, que ocorre durante a gestação, parto ou aleitamento materno, constitui uma via significativa de disseminação. Outras modalidades de transmissão incluem procedimentos médicos invasivos, como transfusões sanguíneas, e o compartilhamento de instrumentos como agulhas (HASSAN et al., 2017).

Na ausência de intervenção terapêutica, a infecção pelo HIV evolui para a AIDS, caracterizada por uma significativa redução nos linfócitos CD4, tornando o indivíduo suscetível a doenças oportunistas, tais como tuberculose, micoses sistêmicas e parasitoses. Contrariamente aos indivíduos imunocompetentes, nos quais o sistema imunológico consegue controlar eficientemente essas infecções, pacientes imunocomprometidos enfrentam um elevado risco de morbidade e mortalidade. Essa vulnerabilidade a patógenos oportunistas destaca a importância crucial do manejo clínico precoce e efetivo para preservar a função imunológica e mitigar as

complicações associadas à imunossupressão decorrente da infecção por HIV (BHATTACHARYA; NEOGI, 2008).

Apesar de mais de três décadas desde o primeiro diagnóstico da AIDS, a cura ou a vacina ainda não estão disponíveis. Contudo, o tratamento, notadamente a Terapia Antirretroviral Combinada (TARV), tem ampliado significativamente a expectativa de vida. Enquanto os pacientes diagnosticados nos primeiros anos da epidemia enfrentavam uma expectativa de vida de apenas dois anos, atualmente, com a TARV, um indivíduo com 20 anos pode alcançar uma expectativa de vida projetada de 53 anos (EISINGER; FAUCI, 2018).

A prevenção continua a ser o pilar fundamental na abordagem da AIDS. Estratégias educacionais em pares, conforme proposto por He et al. (2020), demonstram eficácia na modificação de comportamentos e na redução da disseminação do vírus, especialmente em populações de alto risco. A promoção rigorosa de medidas preventivas, como o uso consistente de preservativos em todas as formas de atividade sexual, a adoção de práticas seguras em procedimentos médicos invasivos e a realização periódica de testes laboratoriais, são cruciais para conter a propagação do HIV (HE et al., 2020).

Desde 2017, o Ministério da Saúde implementou a Profilaxia Pré-Exposição (PrEP) como parte de suas políticas de saúde pública. A PrEP consiste na administração gratuita de uma combinação de dois medicamentos, Tenofovir e Emtricitabina, em uma única pílula diária, com o objetivo de prevenir a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) antes do contato. No entanto, a disponibilidade dessa medicação ainda não é universal, sendo direcionada principalmente para grupos considerados de maior risco de exposição ao HIV, como homens que fazem sexo com homens (HSH), pessoas trans e profissionais do sexo (BRASIL, 2023b).

A PrEP envolve a administração de comprimidos antes da atividade sexual, que ajuda o organismo a estar preparado para um possível contato com o HIV. Além disso, as pessoas que utilizam a PrEP são submetidas a acompanhamento regular de saúde, incluindo testagem para o HIV e outras Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST). É importante ressaltar que a PrEP é disponibilizada gratuitamente pelo Sistema Único de Saúde (SUS) e é específica para prevenir a infecção pelo HIV, não oferecendo proteção contra outras ISTs. Essas medidas combinadas visam reduzir significativamente o risco de transmissão do HIV e promover a saúde sexual e reprodutiva das pessoas em situação de vulnerabilidade. (BRASIL, 2023b).

2.6 EPIDEMIOLOGIA DO HIV NO BRASIL

O HIV permanece como uma das principais questões de saúde pública global, com estimativas indicando que mais de 40 milhões de pessoas em todo o mundo faleceram devido à AIDS. Até o final de 2021, aproximadamente 38 milhões de indivíduos estavam vivendo com o HIV, e cerca de 650 mil mortes relacionadas ao vírus foram registradas neste ano (WHO, 2022).

De acordo com dados do Ministério da Saúde (2023) no Brasil entre 2007 e junho de 2023, foram registrados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan) um total de 489.594 casos de infecção pelo HIV. Destes, 41,5% foram registrados na região Sudeste (203.227 casos), 21,3% no Nordeste (104.251 casos), 19,1% no Sul (93.399 casos), 10,2% no Norte (49.956 casos) e 7,9% no Centro-Oeste (38.761 casos). Entre os anos de 2020 e 2022, houve um aumento de 17,2% no número de casos de infecção pelo HIV no Brasil, com destaque para os aumentos nas regiões Norte (35,2%) e Nordeste (22,9%).

Entre 1980 e junho de 2023, o Brasil registrou um total de 1.124.063 casos de aids. Nos últimos cinco anos, a média anual de novos casos da doença foi de aproximadamente 35,9 mil. Durante o período de 2013 a 2017, observou-se uma redução média anual de 2,8% no número de casos de aids. Em anos subsequentes, essa redução foi menos pronunciada, com 1,0% em 2018 e 0,6% em 2019. A pandemia de covid-19 teve um impacto significativo nas notificações de aids, resultando em uma queda de 20,2% nos registros entre 2019 e 2020, equivalentes a 7.726 casos a menos. No entanto, em 2021, houve um aumento de 15,9% nos casos notificados, seguido por um incremento de 3,8% em 2022 em relação ao ano anterior, ainda que inferior aos números observados em 2019. (BRASIL, 2023a).

Em 2022, na região Centro-Oeste, foram notificados mais de 3 mil casos de HIV. No mesmo ano, Mato Grosso do Sul apresentou uma taxa de detecção de AIDS de 21,5 casos por 100 mil habitantes, colocando-o entre os estados com maiores índices no Brasil. Desde 2007 até 2023, o Sinan registrou um total de 6.794 casos de HIV no estado. (BRASIL, 2023a).

2.7 COINFECÇÃO *Leishmania*-HIV

A associação entre *Leishmania* e HIV ainda é recente, embora tenha relatos que os primeiros casos ocorreram em 1985 no Sul da Europa (SOUSA-GOMES; ROMERO; WERNECK, 2017). De acordo com Cipriano e colaboradores (2017), entre os anos de 2000 e 2007 em Portugal foram registrados 172 casos de leishmaniose visceral humana (LVH), sendo

que 66 eram pessoas imunocompetentes, enquanto 107 eram pessoas coinfectadas pelo HIV. Além disso, estima-se que a prevalência de HIV/LVH no noroeste da Etiópia seja de aproximadamente de 20% (CIPRIANO et al., 2017; MOHEBALI; YIMAM, 2020).

No Brasil, essa coinfecção vem aumentando ao longo dos anos em todo o país, em 2019 a coinfecção representava 11,1% do total de casos confirmados. A região nordeste detém o maior número de casos, porém, em 2019 houve aumento do registro de coinfectados em outras regiões, principalmente no Norte e Centro-Oeste. Um dos fatores que colabora com o aumento da coinfecção são as áreas endêmicas para leishmaniose, que merecem uma maior atenção, por se tratar de um problema emergente (BRASIL, 2021; MANNAN et al., 2021).

A dinâmica da leishmaniose em pacientes, conforme discutido por Cipriano et al (2017), revela uma característica distintiva dependendo do estado imunológico do indivíduo. Em indivíduos imunocompetentes, a leishmaniose pode permanecer em um longo período assintomático, sem a manifestação de quaisquer sintomas evidentes. Esta fase latente, no entanto, assume uma dimensão significativamente diferente em pacientes imunocomprometidos, particularmente naqueles infectados com o HIV. Neste grupo de pacientes, a progressão da leishmaniose tende a ser mais rápida e severa (CIPRIANO et al., 2017).

A disseminação do HIV/AIDS tem influenciado profundamente a trajetória da LV. A infecção pelo HIV aumenta substancialmente o risco de desenvolvimento de LV em áreas endêmicas, comprometendo a efetividade das terapias e aumentando as chances de recaída. Simultaneamente, a LV acelera a progressão da doença causada pelo HIV e o desenvolvimento da AIDS. Ambas as condições têm um efeito negativo sinérgico sobre a resposta imune celular (ALVAR et al., 2008).

Em indivíduos imunocomprometidos, a apresentação clínica da LV exibe ampla variabilidade. Nos pacientes coinfectados, são comuns manifestações clínicas e parasitológicas atípicas, frequentemente confundidas com outras infecções oportunistas (CARRANZA-TAMAYO et al., 2009). A maioria dos casos de coinfecção por leishmaniose e HIV, observados na Europa, ocorreu em indivíduos usuários de drogas injetáveis. Diversos estudos indicam a possibilidade de transmissão inter-humana desta protozoose por meio do compartilhamento de seringas contaminadas com sangue infectado por *Leishmania*. De fato, esse ciclo alternativo do parasita entre usuários de drogas é viável, dado que mais da metade dos pacientes coinfectados exibem a presença de amastigotas em monócitos do sangue periférico (BORGES et al., 1999).

Outro aspecto relevante é a capacidade de diversas espécies de *Leishmania* causarem doença em pacientes com AIDS, além de cepas predominantemente dermatópicas, como a *L.*

braziliensis, que podem visceralizar em indivíduos imunocomprometidos pelo HIV. Clinicamente, os casos de leishmaniose associados à AIDS podem apresentar manifestações incomuns, com parasitas localizados em órgãos raramente afetados na ausência de HIV, como esôfago, estômago, reto, pulmões, glândulas adrenais, miocárdio e até mesmo no sistema nervoso central (BORGES et al., 1999).

A progressão clínica das infecções por HIV e *L. infantum* está intimamente relacionada à resposta imunológica específica de cada indivíduo. Além disso, tanto a coinfeção LV-HIV quanto a infecção por qualquer um dos patógenos isoladamente podem afetar significativamente o sistema imunológico, acelerando a progressão das doenças. As manifestações clínicas da LV em pacientes com HIV são geralmente semelhantes às observadas em pacientes sem HIV, incluindo sintomas como febre, esplenomegalia e hepatomegalia. No entanto, a diarreia tende a ser mais comum em pacientes infectados. (LINDOSO et al., 2014).

Além disso, a esplenomegalia é menos comum em pacientes com ambas as infecções em comparação com aqueles que não têm HIV. O perfil dos pacientes com coinfeção LV - HIV geralmente não difere do perfil dos pacientes com LV na forma clássica, exceto pela taxa de mortalidade (SOUSA-GOMES; ROMERO; WERNECK, 2017).

Na coinfeção LV/HIV, a distinção entre infecção primária e reativação é desafiadora, pois pode tratar-se inicialmente de uma infecção primária por *Leishmania* favorecida pela imunossupressão decorrente da infecção pelo HIV ou, igualmente, de uma infecção latente por *Leishmania* reativada pela depleção imunológica. A LV promove a progressão clínica e o surgimento de condições definidoras de AIDS, aumentando a mortalidade dos pacientes infectados pelo HIV. O risco de desenvolvimento de LV em áreas endêmicas é de cem a mil vezes maior na presença do HIV. Além disso, a infecção pelo HIV compromete a resposta terapêutica e aumenta a probabilidade de recidivas, evidenciando o efeito cumulativo das duas doenças na imunossupressão dos indivíduos afetados (MARQUES et al., 2007).

Em pacientes infectados pelo HIV, a leishmaniose acelera a progressão para AIDS devido à imunossupressão cumulativa e ao estímulo à replicação viral. Também pode converter uma leishmaniose assintomática em sintomática (CIPRIANO et al., 2017).

É crucial notar que, enquanto em indivíduos imunocompetentes, a leishmaniose pode permanecer inativa por longos períodos, em pacientes com HIV, o processo de latência é frequentemente encurtado, aumentando a probabilidade de manifestações clínicas. Além disso, o curso da infecção pode adquirir uma intensidade notável, apresentando complicações adicionais para aqueles que já estão enfrentando um desafio imunológico substancial. A interação complexa entre o vírus HIV e a leishmaniose destaca a importância de abordagens de

pesquisa e práticas clínicas diferenciadas para esses pacientes, reconhecendo a aceleração e a gravidade potencial do desenvolvimento da leishmaniose em contextos imunocomprometidos (DIATTA et al., 2016).

De acordo com Borges et al. (1999), a reativação da doença pode ocorrer mais frequentemente quando o número de células T CD4+ cai abaixo de 200 células/mm³, o que é semelhante ao que ocorre com outras infecções oportunistas na AIDS.

É sabido que a presença de LV em pacientes infectados com HIV acelera a progressão dessa infecção ao promover a replicação do vírus, aumentando ainda mais o estado de imunossupressão. Por outro lado, estudos in vitro demonstram que o HIV induz a replicação de *Leishmania* ao diminuir as células T capazes de reconhecer os antígenos do parasita (OLIVEIRA et al., 2010). Além disso, Cruz et al. relataram que, além da *Leishmania*, o HIV pode invadir e replicar em macrófagos, mesmo que as células T CD4+ sejam as preferenciais. Portanto, é esperado que esses patógenos atuem de forma sinérgica para potencializar essas infecções em pacientes coinfectados (OLIVEIRA et al., 2010).

Nos últimos anos, especialmente nos países do sul da Europa, foi proposto um ciclo de transmissão alternativo para a leishmaniose, envolvendo o compartilhamento de seringas por usuários de drogas injetáveis. Este ciclo representa uma artificialização, pois as seringas substituem os flebotomíneos, eliminando a necessidade de metaciclogênese, já que as formas amastigotas são diretamente transmitidas. Além disso, trata-se de um ciclo antroponótico, onde os usuários de drogas injetáveis atuam como reservatórios dos parasitas. Outras vias de transmissão mais raras, semelhantes às do HIV, incluem transfusão sanguínea, prática de sexo anal, transmissão congênita e exposição ocupacional. Essas formas de transmissão poderiam favorecer a coinfeção de leishmaniose e HIV, (MARQUES et al., 2007).

No Brasil, o primeiro caso de coinfeção entre *Leishmania* e HIV foi registrado em 1987, seguido de um aumento gradual de casos nos anos subsequentes (RABELLO; ORSINI; DISCH, 2003).

As mudanças recentes nos padrões epidemiológicos do HIV/AIDS e da LV no Brasil, como a disseminação da infecção pelo HIV para áreas mais remotas juntamente com a urbanização da LV, e o aumento de casos na faixa etária de 20 a 49 anos, com uma taxa de mortalidade de cerca de 23% entre aqueles com mais de 50 anos, indicam uma maior exposição da população às duas infecções. As regiões do país com maior incidência de coinfeção estão no Nordeste e Sudeste, justamente onde predominam os casos de LV clássica e AIDS (SOUSA-GOMES; ROMERO; WERNECK, 2017).

O perfil epidemiológico do HIV no Brasil tem passado por mudanças significativas, com a epidemia se espalhando para regiões menos urbanizadas e para cidades de menor porte, além do aumento dos casos entre mulheres. Houve uma redução na mortalidade relacionada à AIDS nos últimos anos, em parte devido ao diagnóstico precoce, ao uso da Terapia Antirretroviral Altamente Efetiva (HAART) e ao acesso à prevenção de infecções oportunistas (BRASIL, 2015).

A sobreposição geográfica das áreas onde ocorrem leishmanioses e HIV/AIDS tem sido cada vez mais acentuada devido à urbanização das primeiras e à ruralização das segundas. O impacto epidemiológico desse aumento simultâneo, como demonstrado por vários estudos, é que os pacientes com HIV/AIDS que vivem em áreas endêmicas de leishmaniose têm um maior risco de desenvolver a doença, e a coinfeção entre HIV e *Leishmania* acelera o curso clínico da infecção pelo HIV. Assim, as leishmanioses têm ganhado importância como infecção oportunista entre pacientes com HIV, especialmente aqueles que vivem ou viveram em áreas consideradas endêmicas para essas parasitoses (ALVES; BEVILACQUA, 2004).

A coinfeção LVH/HIV tem sido um grande desafio para saúde pública, pois possui uma dificuldade em estabelecer um diagnóstico, baixa resposta ao tratamento com altas taxas de recidiva e evolução para óbito. Além disso, essas duas infecções atuam concomitantemente na imunossupressão, o que contribui para intensificar o quadro clínico da doença (GRAEPP FONTOURA et al., 2018).

2.8 DIAGNÓSTICO DE LEISHMANIOSE EM PVHIV

A coinfeção por *Leishmania*-HIV apresenta desafios significativos tanto no diagnóstico quanto no tratamento, em virtude da interação complexa entre essas duas condições. A presença simultânea dessas infecções pode complicar a abordagem clínica, uma vez que ambas afetam o sistema imunológico do hospedeiro. O diagnóstico preciso torna-se crucial, considerando a sobreposição de sintomas e a possibilidade de manifestações atípicas (MONGE-MAILLO et al., 2014).

Abordagem Clínica: A avaliação clínica em pessoas vivendo com HIV (PVHIV) e portadoras de Leishmaniose demanda atenção especial, dada a possibilidade de sobreposição de sintomas com outras condições associadas ao HIV (COTA et al., 2012). A presença de Leishmaniose em PVHIV frequentemente se manifesta de maneira atípica, caracterizando-se por formas disseminadas e viscerais, o que requer uma análise clínica mais aprofundada e sensível (COTA et al., 2014). A complexidade dessas apresentações clínicas ressalta a

necessidade de abordagens diagnósticas e terapêuticas personalizadas, considerando a interação complexa entre o HIV e a Leishmaniose, bem como as particularidades do sistema imunológico comprometido em indivíduos coinfectados (COTA et al., 2012).

Exames Laboratoriais: No âmbito do diagnóstico da Leishmaniose, os testes sorológicos, como a imunofluorescência indireta (IFI) e a aglutinação direta (DAT), ocupam posição proeminente. Estas técnicas fundamentam-se na detecção de anticorpos produzidos em resposta à infecção pelo parasita *Leishmania* (SUNDAR; SINGH, 2016). Entretanto, é essencial considerar a imunossupressão em pessoas vivendo com HIV (PVHIV), uma vez que tal condição pode comprometer a sensibilidade desses testes.

No contexto de imunossupressão, a produção de anticorpos pode ser reduzida, resultando em resultados falso-negativos ou atenuação da reatividade dos testes sorológicos. Estudos indicam que a sensibilidade dessas abordagens pode ser afetada em PVHIV, enfatizando a necessidade de uma interpretação cuidadosa dos resultados e a adoção de estratégias diagnósticas complementares e mais sensíveis. Isso se torna imperativo para garantir uma avaliação clínica precisa em indivíduos coinfectados. (SUNDAR; SINGH, 2016).

Diante das limitações dos testes sorológicos em ambientes de imunossupressão, a confirmação laboratorial torna-se ainda mais crucial. Esta abordagem envolve a detecção direta do parasita em amostras biológicas, como tecido, medula óssea ou aspirado esplênico (SUNDAR; SINGH, 2016).

A análise microscópica dessas amostras permite a identificação direta de formas parasitárias, proporcionando uma base sólida para o diagnóstico. Embora esse método seja mais invasivo em comparação com os testes sorológicos, ele oferece uma vantagem significativa em termos de especificidade, minimizando o impacto da imunossupressão na assertividade do diagnóstico. Destaca-se a aplicação eficaz da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) para a detecção sensível de DNA de *Leishmania* (MONGE-MAILLO et al., 2014).

2.8.1 Diagnóstico molecular

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é uma técnica essencial em investigações moleculares e estudos epidemiológicos devido à sua elevada especificidade e sensibilidade na detecção de patógenos. No contexto do diagnóstico da leishmaniose, assim como na identificação de agentes etiológicos de outras doenças infecciosas e parasitárias, a PCR se destaca por permitir a confirmação precisa da presença de parasitas em hospedeiros animais. Além disso, a técnica fornece dados críticos para estudos que investigam o papel de vetores e animais silvestres como possíveis reservatórios de patógenos (LOPES et al., 2016).

A metodologia da PCR envolve a detecção molecular de patógenos através do uso de primers, que são sequências específicas de oligonucleotídeos projetadas para hibridizar com regiões-alvo específicas do DNA do parasita. Esta hibridização permite a amplificação exponencial dessas regiões-alvo, facilitando a detecção do material genético do patógeno mesmo em amostras com baixa carga parasitária. Posteriormente, a sequência de DNA amplificada pode ser submetida ao sequenciamento, o que possibilita a identificação precisa da espécie envolvida na infecção, dependendo da região do genoma que foi amplificada pela PCR (LOPES et al., 2016; FERREIRA et al., 2015).

Entre os alvos genéticos, o DNA mitocondrial, especificamente o minicírculo k-DNA ou cinetoplasto, destaca-se por sua alta sensibilidade, devido à sua menor suscetibilidade a variações de nucleotídeos durante a replicação. O DNA do cinetoplasto (kDNA) de tripanossomatídeos, incluindo as espécies do gênero *Leishmania*, é composto por dois componentes principais: maxicírculos e minicírculos.(LOPES et al., 2016).

Os maxicírculos, presentes em aproximadamente 30 a 50 cópias por kDNA, codificam genes essenciais, incluindo RNA ribossomal e várias enzimas mitocondriais (DEGRAVE et al., 1994). Em contraste, os minicírculos são pequenas moléculas presentes em uma quantidade significativamente maior, variando entre 5.000 e 10.000 cópias, e representam cerca de 95% do kDNA na maioria das espécies de Tripanossomatídeos (SHAPIRO; ENGLUND, 1995).

Os minicírculos possuem uma região conservada de aproximadamente 200 pares de bases (pb) entre todas as espécies de *Leishmania*. Esta região conservada é amplamente utilizada como alvo molecular na detecção de *Leishmania* spp., empregando diversos oligonucleotídeos iniciadores para a amplificação de segmentos específicos dessa região. Uma abordagem amplamente adotada para a detecção envolve a amplificação de uma região de 120 pb da região conservada dos minicírculos do kDNA de *Leishmania* spp. (DEGRAVE et al., 1994; SHAPIRO; ENGLUND, 1995).

O gene SSUrRNA (RNA ribossômico de subunidade pequena) é uma outra região altamente conservada do DNA presente no genoma de diferentes espécies do gênero *Leishmania*, refere-se a uma região específica do DNA que codifica para o RNA ribossômico de subunidade pequena. Este gene é utilizado como alvo na técnica de PCR, para detecção específica de *Leishmania* spp. A PCR amplifica segmentos do DNA derivados do gene SSUrRNA presente no parasita, permitindo a identificação precisa da presença do patógeno em amostras biológicas como sangue, tecidos ou outros fluidos (CRUZ et al., 2002, 2006). Se distingue por sua elevada sensibilidade na detecção de regiões-alvo específicas de *Leishmania*. Por se tratar de uma Nested PCR (*LnPCR*) CRUZ e Colaboradores (2002) relatam que "a análise

de sequência dos primers R223 e R333 com os programas BLAST e FASTA confirmou que a especificidade desses primers é de 100% para *Leishmania* e que nenhuma amplificação ocorre com outros tripanosomatídeos.

A *Ln*-PCR, aplicada a amostras de sangue de pacientes coinfectados com *Leishmania* e HIV, demonstrou uma sensibilidade significativamente superior em comparação com métodos diagnósticos convencionais (CRUZ et al., 2002).

2.9 TRATAMENTO DE LEISHMANIOSE EM PVHIV

O tratamento da Leishmaniose em indivíduos coinfectados com HIV requer uma abordagem personalizada, levando em consideração a complexidade da imunossupressão e possíveis interações medicamentosas com terapias antirretrovirais (LINDOSO et al., 2018). A escolha do regime terapêutico deve ser cuidadosamente ponderada, considerando a espécie de *Leishmania* envolvida e a gravidade da infecção (LINDOSO et al., 2018).

A Terapia com Antimoniato Pentavalente, embora seja a base do tratamento, demanda ajustes individualizados de dose e duração, especialmente em indivíduos imunossuprimidos (LINDOSO et al., 2018). A monitorização rigorosa dos potenciais efeitos adversos, notadamente hepatotoxicidade, assume relevância crítica em pessoas vivendo com HIV (PVHIV) (SUNDAR; CHAKRAVARTY, 2015). Em casos de intolerância ou resistência ao antimoniato pentavalente, outras opções, como anfotericina B lipossomal, podem ser consideradas (SUNDAR; CHAKRAVARTY, 2010).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Identificar casos de leishmaniose em pessoas vivendo com HIV no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, utilizando métodos moleculares.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever as características epidemiológica, sociodemográficas dos participantes do estudo
- Correlacionar as características relacionadas à infecção por HIV em casos de coinfeção por *Leishmania*
- Comparar dois alvos específicos de PCR para *Leishmania* spp

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 TIPO DE ESTUDO

O presente projeto tratou-se de uma pesquisa observacional do tipo transversal e descritiva, que envolveu a coleta de dados primários.

4.2 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Foi obtida aprovação do Comitê de Ética em pesquisa humana da FIOCRUZ-Brasília para o manejo e uso de materiais biológicos humanos sob o parecer 5,868,118 e CAAE: 59031722.5.0000.8027. (Anexo)

4.3 AMOSTRAGEM E SUJEITOS

A técnica de amostragem adotada foi não-probabilística por conveniência. Foram convidados a participar da pesquisa 103 pacientes com idade igual ou superior a 18 anos, portadores do vírus HIV (CID B20 – B24), que eram atendidos nas unidades de referência de Campo Grande- MS, a saber, o Ambulatório de Moléstias Infecciosas do Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (HU/UFMS) e/ou o Centro Especializado em Doenças Infecciosas e Parasitárias (CEDIP). A participação na pesquisa foi condicionada à leitura, audição e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). (Apêndice 1).

4.4 COLETA DE DADOS

Após a aprovação do Comitê de Ética, a coleta de sangue para os testes laboratoriais foi realizada por um profissional qualificado no período de março a maio de 2023, durante as consultas de acompanhamento previamente agendadas no Ambulatório de Moléstias Infecciosas do HU/UFMS e/ou no CEDIP.

O procedimento de coleta de sangue foi de baixo risco, envolvendo apenas uma leve picada na pele, com a possibilidade eventual de formação de hematoma. A técnica de coleta de

sangue foi a punção venosa, conduzida por profissional devidamente habilitado. Foram coletados 6 mL em tubos com EDTA para a extração do DNA, a fim de realizar os testes moleculares.

Foram coletados dados epidemiológicos e sociodemográficos desses pacientes por meio de questionários estruturados (Apêndice 2). Esses questionários foram projetados para capturar informações relevantes, como idade, sexo, contato com animais, escolaridade.

Além disso, foi realizada uma análise minuciosa dos prontuários médicos dos pacientes para obter informações detalhadas sobre dados de carga viral e a contagem de células TCD4+ dos pacientes. Esses resultados foram extraídos diretamente dos registros médicos existentes, sem a realização de novos testes de laboratório.

4.5 PROCEDIMENTOS DE DIAGNÓSTICO

4.5.1 Extração de DNA

A extração de DNA das amostras de sangue total foi conduzida conforme as diretrizes do protocolo fornecido pelo fabricante do kit Wizard®- Genomic DNA Purification. Adicionalmente, a presença de inibidores e a integridade do DNA foram avaliadas por meio da amplificação do gene da β -globina humana utilizando os seguintes primers: PCO3+ (5' CCTCTGACACA ACTGTGTTCACTAGC 3') e PCO4+ (5'TCACCACCAACTTCATCCAC GTTCACC 3') (DE TOMMASO et al., 2005).

5.4.2 Detecção Molecular de *Leishmania* spp

A amplificação dos genes da *Leishmania* spp. foi conduzida por reação em cadeia da polimerase (PCR) convencional, tendo como alvo a região conservada do kDNA de *Leishmania* spp. Os primers utilizados foram A (5' (C/G)(C/G)(G/C) CC(C/A) CTA T(T/A)T TAC ACC AAC CCC) e B (5' GGG GAG GGG CGT TCT GCG AA) (SILVA et al., 2000). O mix reacional, com um volume final de 20 μ l, consistiu em água purificada para PCR (11,05 μ l), tampão (2,5 μ l), MgCl₂ (0,75 μ l), DMSO (2,5 μ l), dNTPs [1mM] (0,5 μ l), iniciadores kDNA A (1,0 μ l) e kDNA B (1,0 μ l), e Taq [5U/ μ l] (0,7 μ l). A amplificação foi realizada em um termociclador automático SimpliAmp™-Thermo Fisher Scientific™, com o seguinte ciclo: 1 x 94°C por 4 minutos, 35 ciclos de 94°C/30s, 60°C/30s, 72°C/30s, 1 x 72°C por 5 minutos.

Para a Nested PCR (Ln PCR), voltada à região SSUrRNA de *Leishmania* spp., na primeira reação foram empregados os primers específicos para Kinetoplastida R221 (GGTTCCTTTCCTGATTTACG) e R332 (GGCCGGTAAAGGCCGAATAG) (VAN EYS et al., 1992). O mix reacional, com um volume final de 50 µl, incluiu água purificada para PCR (27,6), tampão (5,0 µl), MgCl₂ (3,0µl), dNTPs [1mM] (1,0 µl), primers R221 (1,0µl) e R332 (1,0µl), Taq [5U/µl] (1,4µl) e amostra de DNA (10,0 µl). A amplificação seguiu o ciclo: 1 x 94°C por 4 minutos, 30 ciclos de 94°C/30s, 60°C/30s, 72°C/30s, 1 x 72°C por 10 minutos.

Na segunda reação, o material amplificado foi diluído (1:200) em água purificada de PCR. Foram utilizados primers R223 (TCCCATCGCAACCTCGGTT) e R333 (AAAGCGGGCGCGGTGCTG) (VAN EYS et al., 1992). O mix reacional, com um volume final de 35 µl, compreendeu água purificada para PCR (9,5 µl), tampão (2,5 µl), MgCl₂ (1,5 µl), dNTPs [1mM] (0,5 µl), primers R221 (0,5µl) e R332 (0,5µl), Taq [5U/µl] (0,7µl) e produto diluído da primeira reação (10,0 µl). A amplificação seguiu o ciclo: 1 x 94°C por 4 minutos, 30 ciclos de 94°C/30s, 65°C/30s, 72°C/30s, 1 x 72°C por 10 minutos.

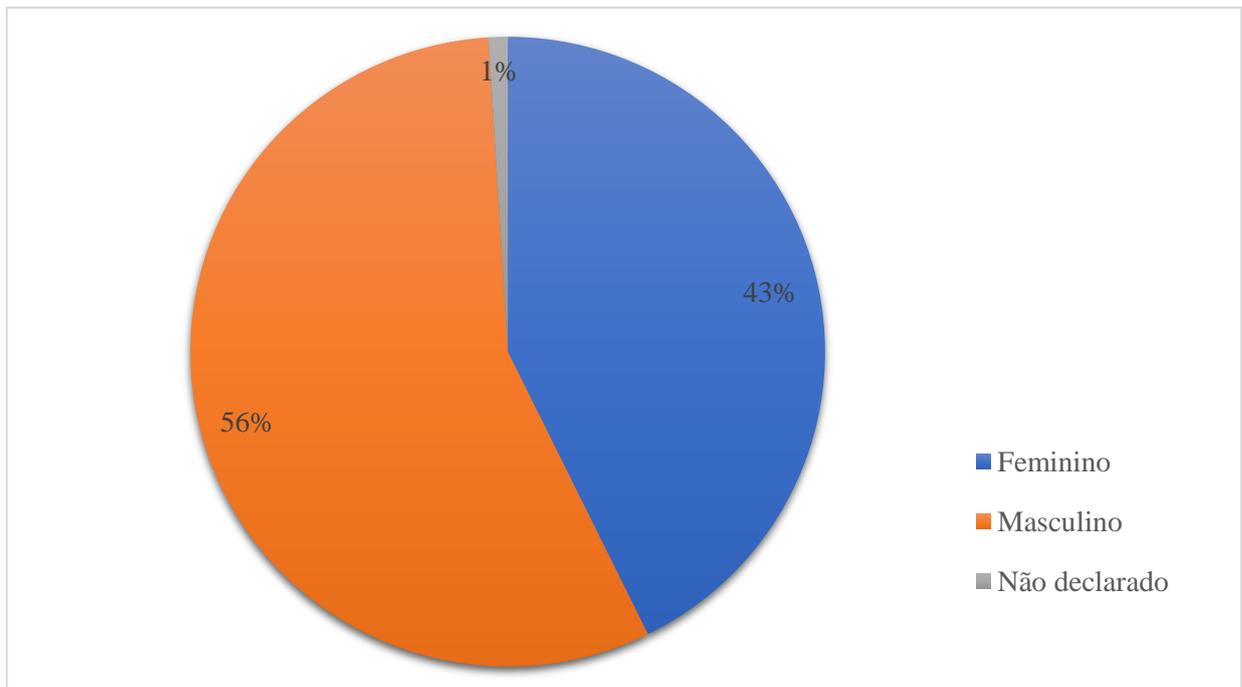
5.4.3 Eletroforese

Os produtos amplificados pela PCR, foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2%, previamente corado com SYBR® Safe DNA Gel (Invitrogen®), utilizando tampão de corrida TBE 1X. O processo de eletroforese foi conduzido sob condições específicas, iniciando-se a 60V por 15 minutos, seguido por 100V por 45 minutos. A presença de bandas com tamanhos específicos foi interpretada como resultado positivo para os genes alvo. Para o gene KDNA, a detecção de uma banda com 120 pares de bases (pb) foi considerada positiva, enquanto para o gene SSUrRNA, uma banda entre 358 pb foi atribuída como positiva. Os padrões de tamanho foram validados com o uso de um DNA ladder da Invitrogen®. Os resultados foram posteriormente visualizados e analisados utilizando um fotodocumentador dedicado à captura de imagens de géis de eletroforese, especificamente o L-PIX TOUCH (Loccus®).

5 RESULTADOS

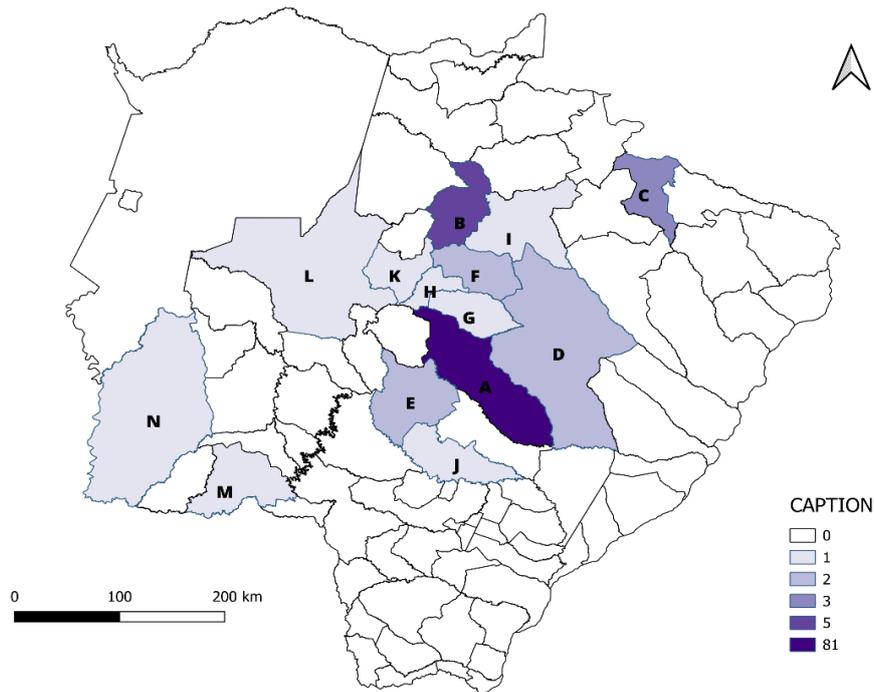
Durante o período do estudo, foram entrevistados 103 participantes, sendo que 56% eram do sexo masculino, 43% do sexo feminino, e 1 participante optou por não declarar sua identidade de gênero, conforme demonstrado na Figura 5. No que diz respeito à faixa etária, observou-se uma variação entre 22 e 71 anos, com uma média de 44 anos.

Figura 5. Composição Demográfica dos Participantes do Estudo por Gênero em Campo Grande, Brasil, 2023



As amostras foram compostas por residentes de 14 municípios do estado de Mato Grosso do Sul, conforme ilustrado na Figura 6 o número de residentes em cada município. Mais especificamente, 78,6% dos participantes (n=81) residiam na capital, Campo Grande. Os demais municípios representados na amostra incluíam São Gabriel do Oeste (n=5), Chapadão do Sul (n=3), Bandeirantes (n=2), Sidrolândia (n=2), Ribas do Rio Pardo (n=2), Aquidauana (n=1), Bela Vista (n=1), Camapuã (n=1), Corguinho (n=1), Jaraguari (n=1), Porto Murtinho (n=1), Rio Brilhante (n=1) e Rochedo (n=1).

Figura 6. Distribuição geográfica dos participantes do estudo por município em Mato Grosso do Sul Brasil, 2023.

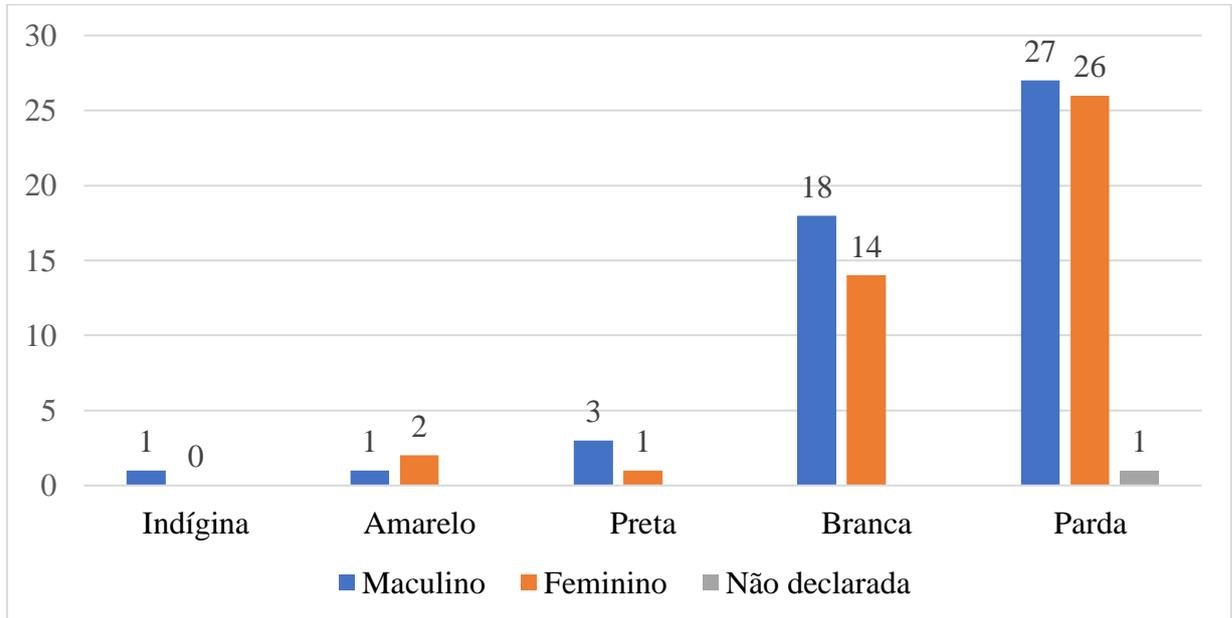


Fonte: IBGE, QGIS Adaptado pelo próprio autor

A representação gráfica na Figura 6 oferece uma visão geográfica da distribuição dos participantes nos diferentes municípios do estado, destacando a concentração expressiva em Campo Grande.

Também foi realizada uma investigação sobre a autodeclaração étnica, revelando que a etnia parda foi a mais prevalente, com 54 auto declarantes (n=54). Em seguida, temos a etnia Branca (n=32), seguida por Preta (n=13), Amarela (n=3), e Indígena (n=1). (Figura 7)

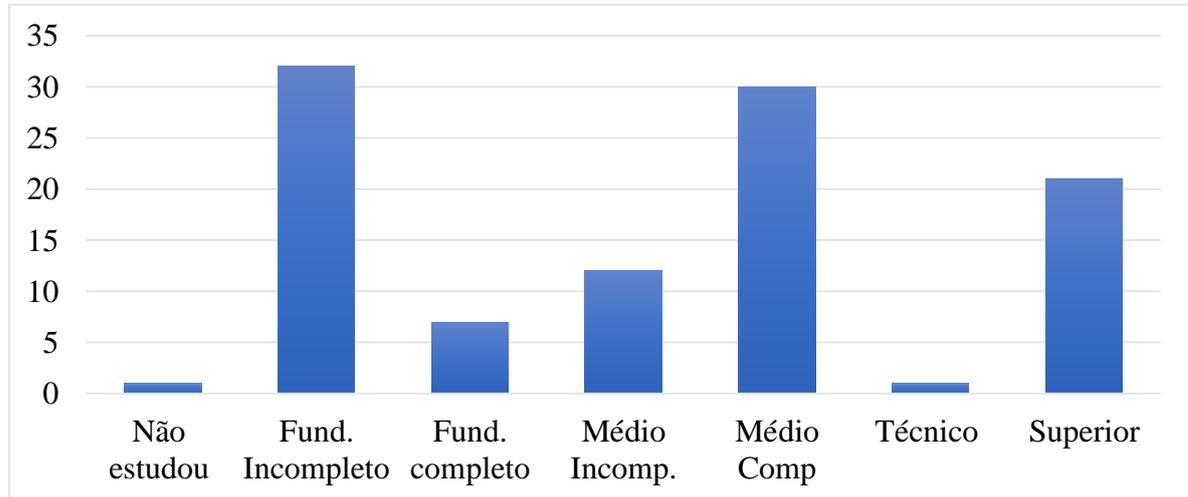
Figura 7. Relação entre Autodeclaração Étnica e Gênero dos Participantes do Estudo em Campo Grande, Brasil, 2023.



Esses resultados proporcionam uma visão quantitativa da distribuição étnica autodeclarada pelos participantes, destacando a diversidade étnica dentro da amostra estudada, conforme ilustrado na Figura 7.

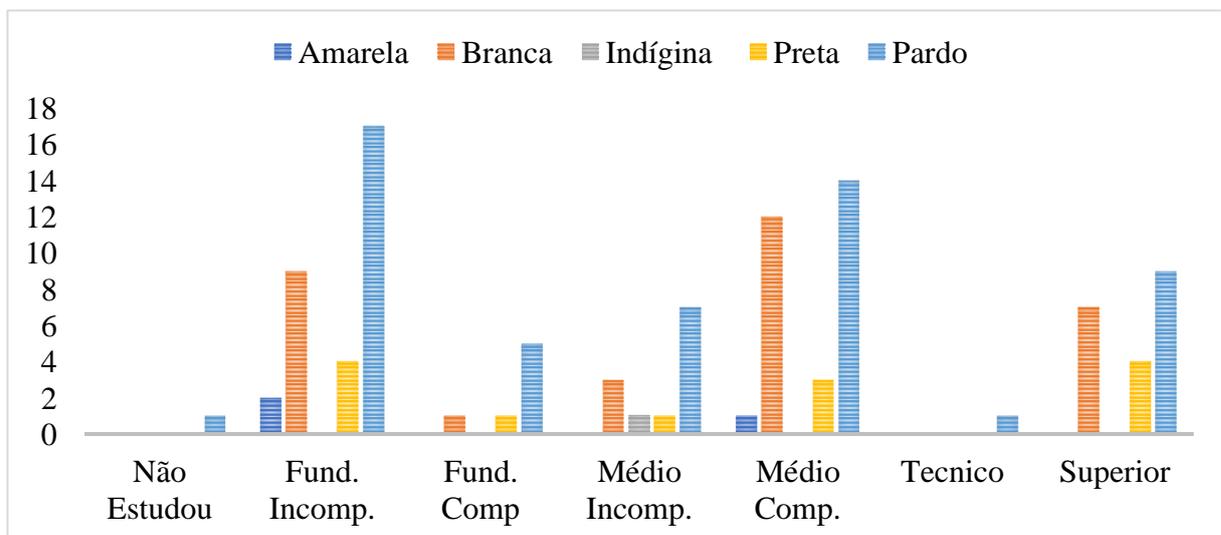
Em relação ao nível de escolaridade, constatou-se que 50,4% (n=52) dos participantes não haviam concluído o Ensino Médio, enquanto 49,6% (n=51) possuíam ao menos a conclusão do Ensino Médio. Esta distribuição está visualmente representada de maneira mais elucidativa na Figura 8. Detalhando as categorias educacionais, a composição é a seguinte: Fundamental Incompleto (n=32); Ensino Médio Incompleto (n=12); Fundamental Completo (n=7); Não Estudou (n=1); Ensino Médio Completo (n=30); Ensino Superior (n=20); Ensino Técnico (n=1).

Figura 8. Distribuição do nível de escolaridade dos participantes do estudo por categoria educacional em Campo Grande, Brasil, 2023.



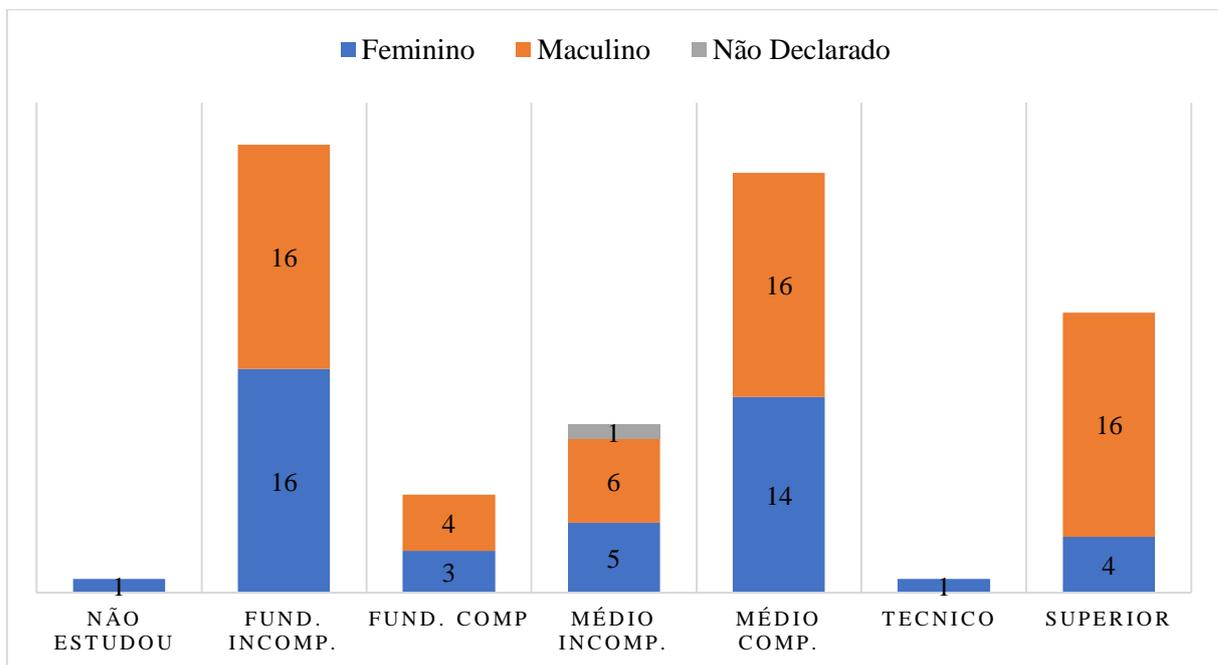
Na Figura 9, verifica-se a representação gráfica da relação entre a escolaridade e a etnia dos participantes, destacando uma prevalência significativa de indivíduos autodeclarados pardos que não concluíram o ensino médio

Figura 9. Relação entre a escolaridade e etnia dos participantes do estudo em Campo Grande, Brasil, 2023



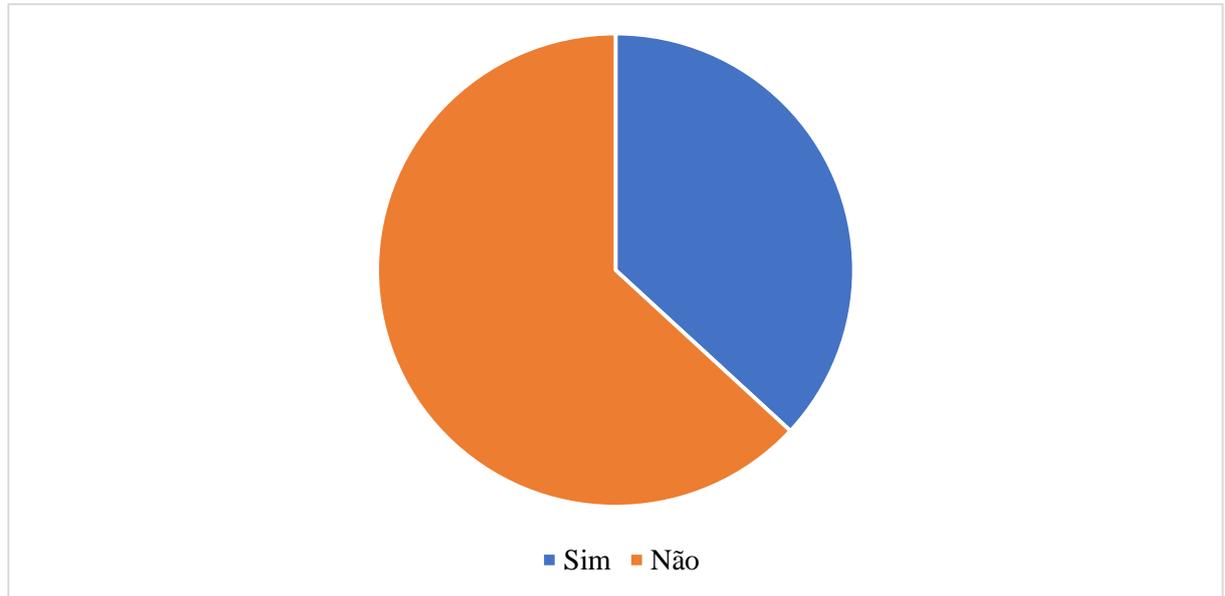
Além disso, como evidenciado na Figura 10, observa-se uma prevalência significativamente maior de indivíduos do sexo masculino com formação de nível superior em comparação sexo feminino, tanto em relação à conclusão do ensino médio quanto ao ensino superior.

Figura 10. Relação entre gênero e nível de escolaridade dos participantes do estudo em Campo Grande, Brasil, 2023.



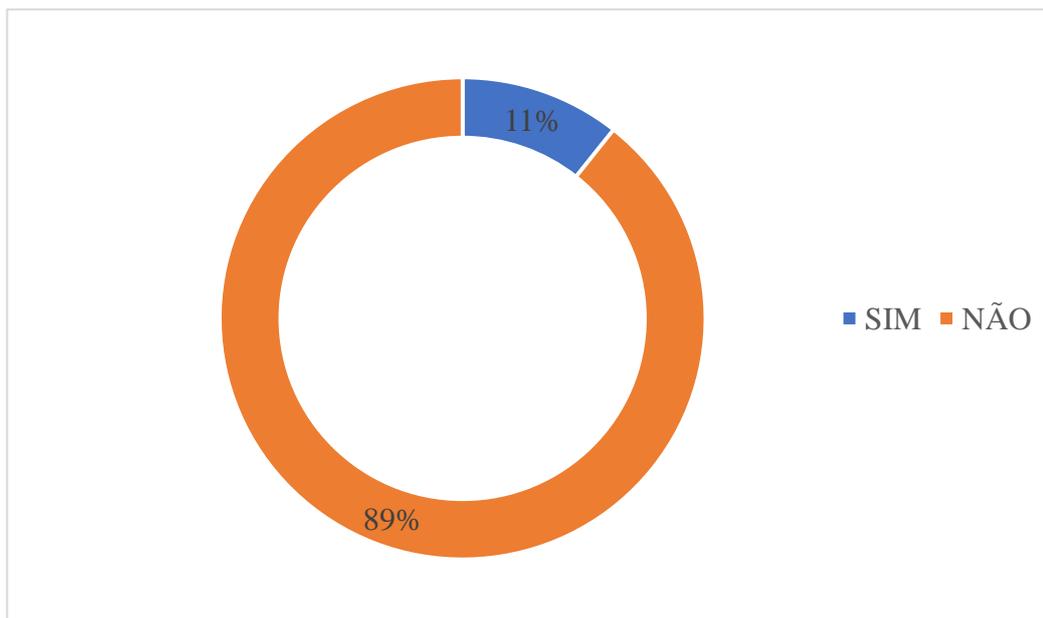
Durante a condução do estudo, os participantes foram questionados sobre sua familiaridade com a leishmaniose. A abordagem foi voltada para a identificação de conhecimento prévio ou se já tinham ouvido falar sobre a condição, sem uma análise mais aprofundada do nível desse conhecimento. Dos participantes, 36,8% (n=38) indicaram ter conhecimento, enquanto 63,2% (n=65) afirmaram não ter conhecimento ou nunca terem ouvido falar sobre a leishmaniose. (Figura 11).

Figura 11. Conhecimento de Leishmaniose entre os participantes do estudo em Campo Grande, Brasil, 2023.



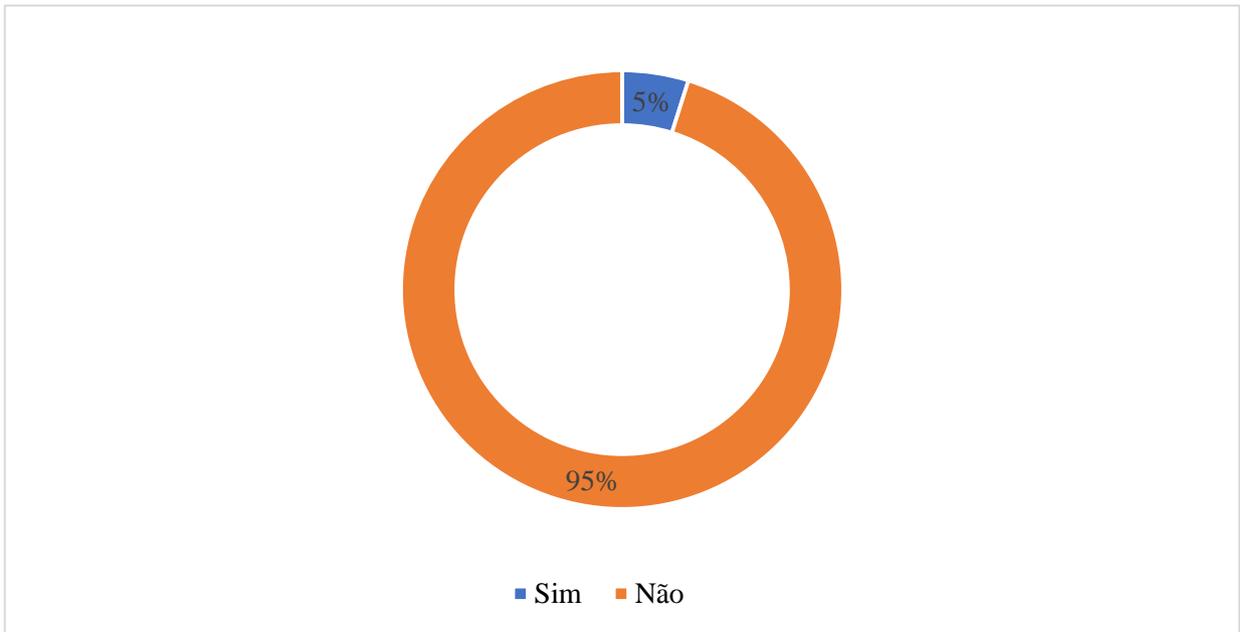
Também foram questionados sobre o histórico familiar em relação à leishmaniose, conforme descrito na Figura 12. Os resultados indicam que 10,6% (n=11) participantes relataram ter algum familiar que já teve leishmaniose, enquanto 89,4% (n=92) afirmaram que não têm histórico familiar da condição.

Figura 12. Distribuição do histórico familiar em relação à leishmaniose entre os participantes do estudo em Campo Grande, Brasil, 2023.



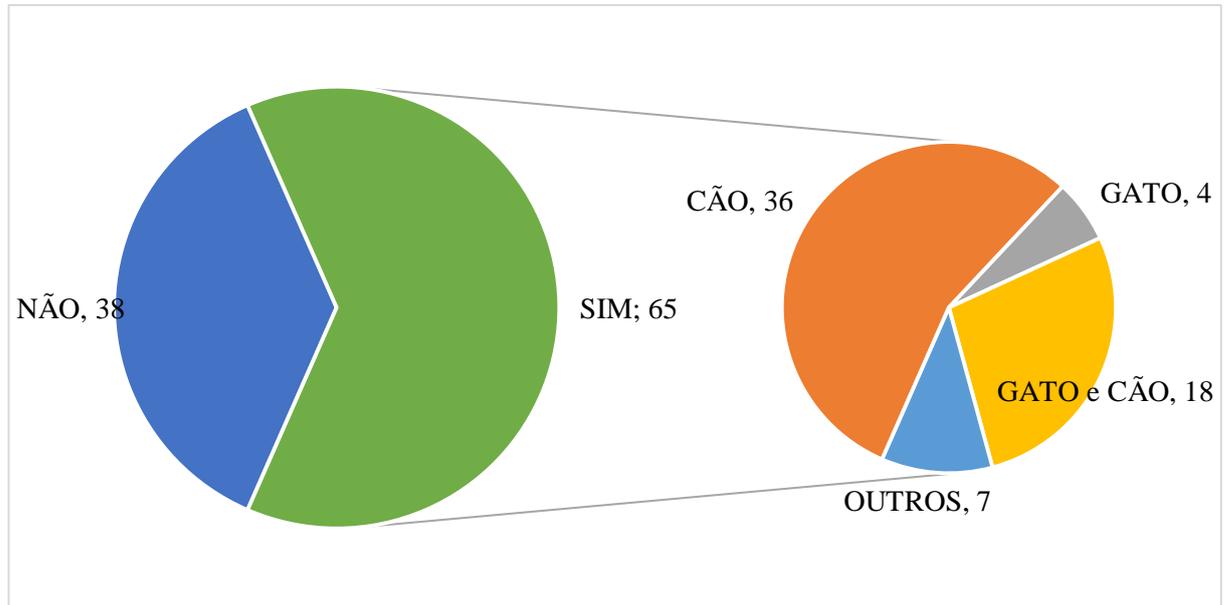
Foram obtidas informações sobre a presença de indivíduos diagnosticados anteriormente com leishmaniose, conforme delineado na Figura 13. Os resultados indicam que 6 pessoas que afirmaram já ter histórico de leishmaniose.

Figura 13. Distribuição de indivíduos com histórico prévio de leishmaniose entre os participantes do estudo em Campo Grande, Brasil, 2023.



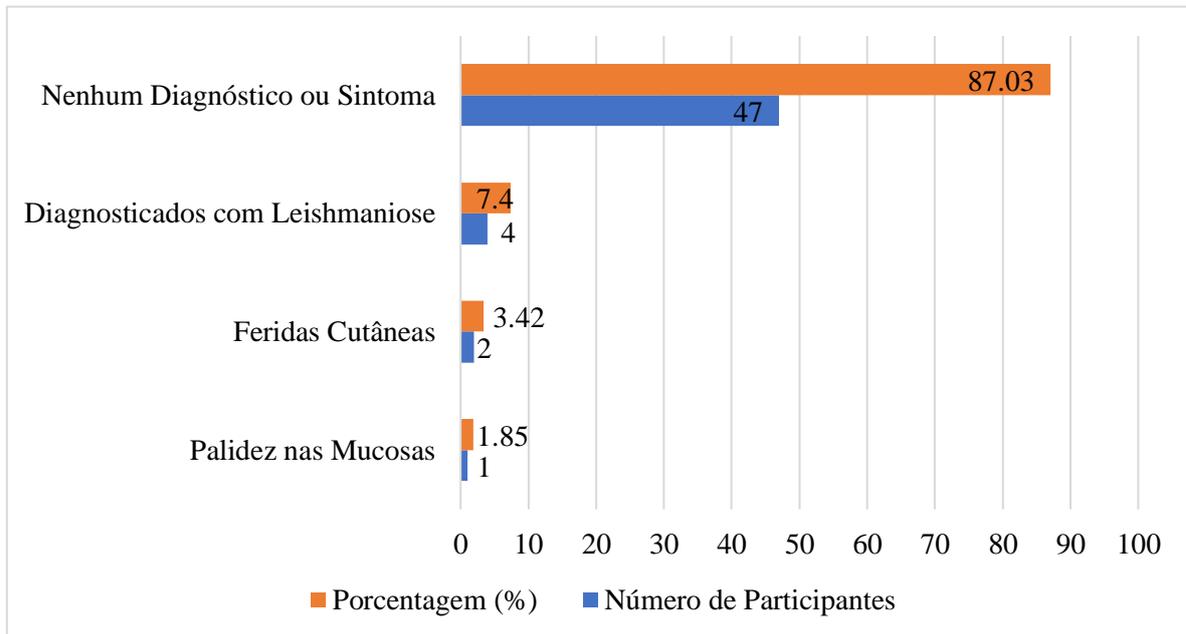
Durante o estudo, investigou-se a posse de animais domésticos entre os participantes, como ilustrado na Figura 14. Os resultados revelam que (n=65) dos entrevistados afirmaram possuir animais domésticos, enquanto (n=38) declararam não ter nenhum animal de estimação. Dos participantes que afirmaram possuir animais domésticos, a distribuição específica indicou que (n=4) mencionaram ter gatos, (n=36) relataram ter cachorros, e (n=18) declararam ter ambos e (n=7) outros tipos de animais domésticos.

Figura 14. Distribuição da posse de animais domésticos entre os participantes do estudo em Campo Grande, Brasil, 2023.



Adicionalmente, conduziu-se uma pesquisa entre os participantes que declararam possuíam cães (n=54), inquirindo sobre diagnósticos ou manifestações clínicas sugestivas de leishmaniose canina, como feridas cutâneas ou palidez nas mucosas. Entre os respondentes afirmativos, 4 participantes (7,4 %) indicaram que seus animais foram diagnosticados com leishmaniose canina, enquanto 1 participante (1,85%) relatou observar palidez nas mucosas e 2 participantes (3,42%) notaram a presença de feridas cutâneas. (Figura 15).

Figura 15. Diagnósticos e sintomas de leishmaniose canina entre animais de estimação dos participantes do estudo em Campo Grande, Brasil, 2023.



Na análise dos prontuários, entre os 103 participantes avaliados, foi observado que a grande maioria, correspondendo a 87,3% (n= 90), apresentou carga viral do HIV indetectável. Do restante, 11,6% (n= 12) foram identificados com carga viral de até 100.000 cópias/ml, enquanto apenas 0,9% (n= 1) exibiu uma carga viral superior a 100.000 cópias/ml. Esses dados sugerem uma predominância significativa de cargas virais baixas ou indetectáveis entre os participantes. Além disso, em relação à contagem de LTCD4+, dos 103 participantes, 11,7% (n= 12) tiveram uma contagem de até 200 células/mm³, 14,6% (n= 15) tiveram uma contagem entre 200 e 350 células/mm³, e a maioria, 73,8% (n= 76), apresentou uma contagem acima de 350 células/mm³.

Tabela 1. Distribuição da Carga Viral do HIV e Contagem de LTCD4+ entre os participantes do estudo, Campo Grande, Brasil, 2023.

	Variável	HIV	
		n	(%)
Carga viral do HIV (cópias/ml)			
	Indetectável (<50)	90	(87.3)
	Até 100.000	12	(11.6)
	100.000 ou mais		
Contagem de LTCD4+ (células/mm³)			
	Até 200	12	(11.7)
Em	200 a 350	15	(14.6)
PCR de Beta	350 ou mais	76	(73.8)
Humana, dos			

Em relação à Globulina Humana, dos 103 participantes analisados, todos apresentaram resultados positivos. No que diz respeito às PCRs para o diagnóstico molecular de *Leishmania*, 12,6% (n=13) apresentaram resultados positivos em pelo menos um dos alvos. A distribuição específica incluiu 3,8% (n=4) positivos apenas para o alvo KDNA, 6,8% (n= 7) apenas para SSUrRNA, e 1,9% (n=2) positivos para ambos os alvos. As características clínicas e demográficas dos 13 pacientes estudados estão descritas na Tabela 2

Tabela 2. Características dos Participantes com Resultado Positivo na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para *Leishmania* em entre indivíduos testados em Campo Grande, Brasil.

Participante	Idade (Ano)	Estado de Origem/ BR	Município de Residência	PCR KDNA	LnPCR SSURNA	Carga viral do HIV (cópias/ml)	Contagem de LTDD4+ (células/mm3)	Diagnóstico Prévio de Leishmaniose
HD14	36	Mato Grosso do Sul	Campo Grande-MS	(-)	(+)	ind.	>350	Não
HD15	34	Mato Grosso do Sul	Campo Grande-MS	(-)	(+)	ind.	>350	Não
HD17	25	Mato Grosso do Sul	Campo Grande-MS	(+)	(-)	ind.	>350	Não
HD19	29	Mato Grosso do Sul	Ribas do Rio Pardo MS	(+)	(-)	1295	360	Não
HD20	47	Mato Grosso do Sul	Campo Grande-MS	(-)	(+)	ind.	454	Não
HD21	53	Mato Grosso do Sul	Campo Grande-MS	(-)	(+)	ind.	488	Não
HD22	25	Mato Grosso do Sul	Campo Grande-MS	(-)	(+)	ind.	408	Não
HD23	54	Mato Grosso do Sul	Campo Grande-MS	(-)	(+)	ind.	383	Não
HD25	52	Mato Grosso do Sul	Porto Murtinho- MS	(-)	(+)	383000	64	leishmaniose visceral (2018)
CD05	48	Mato Grosso do Sul	Campo Grande-MS	(+)	(+)	ind.	49	leishmaniose visceral (2014)
CD40	37	Mato Grosso do Sul	Campo Grande-MS	(+)	(-)	ind.	937	Não
CD55	37	Alagoas	Campo Grande-MS	(+)	(-)	ind.	508	Não
CD59	45	Mato Grosso do Sul	Campo Grande-MS	(+)	(+)	ind.	66	Não

A tabela 3, descreve as características demográficas e os resultados do diagnóstico molecular em 13 casos de coinfeção por *Leishmania*/HIV. A distribuição por sexo destaca uma predominância masculina, com 7 casos em homens e 6 em mulheres, enquanto a faixa etária predominante situa-se entre 25 e 54 anos, com uma média de 40,15 anos e mediana de 37 anos. No âmbito do diagnóstico molecular, dos 13 participantes positivos para PCR, 30,7% (4/13) foram positivas apenas para a PCR, 53,8% (7/13) apenas para *Ln*PCR SSUrRNA e 15,3% 2/13 para os dois alvos, indicando uma abordagem abrangente no diagnóstico onde 2 amostras foram positivas tanto no gene SSUrRNA, quanto KDNA, 4 amostras foram positivas apenas no KDNA e 7 apenas SSUrRNA,

Tabela 3. Comparação do Perfil Demográfico e Diagnóstico Molecular entre os participantes positivos para PCR de *Leishmania* spp. em Campo Grande, Brasil. 2023

Características		<i>Leishmania</i> /HIV (n=13)
Sexo	Masculino	7
	Feminino	6
Idade	Faixa etária	25-54
	Média	40,15 ± 9,95
	Mediana	37
Diagnóstico Molecular	PCR KDNA	4 (30,7%)
	<i>Ln</i> PCR SSUrRNA	7 (53,8%)
	KDNA e SSUrRNA	2 (15,3%)

Na Tabela 4, são comparadas as características relacionadas ao HIV entre os participantes que testaram positivo nas PCRs para *Leishmania* e aqueles que testaram negativo. Esta análise comparativa examina detalhadamente a carga viral do HIV e a contagem de LTCD4+ em ambos os grupos.

Dos participantes que foram reagentes para as PCRs, 84,6% (n=11) apresentaram carga viral indetectável ou menor que 50 cópias/ml, e 76,9% (n=10) tinham uma contagem de LTCD4+ acima de 350 células/mm³. Em contraste, entre os participantes negativos para as

PCRs, 87,7% (n=79) tinham carga viral indetectável ou menor que 50 cópias/ml, e 73,3% (n=66) apresentaram uma contagem de LTCD4+ acima de 350 células/mm³.

No entanto, houve uma diferença notável na contagem de linfócitos T CD4+ entre os grupos. No grupo positivo para PCR *Leishmania*, 23,06% dos participantes tinham uma contagem de CD4+ até 200 células/mm³, enquanto no grupo HIV negativo para PCR *Leishmania*, apenas 10% apresentavam essa contagem baixa.

Tabela 4. Comparação das características relacionadas à infecção pelo HIV entre participantes positivos para PCR de *Leishmania* spp. e negativos em Campo Grande, Brasil, 2023.

Variável	HIV		HIV- <i>Leishmania</i>	
	n	(%)	n	(%)
Carga viral do HIV (cópias/ml)				
Indetectável (<50)	79	(87.7)	11	(84.6)
Até 100.000	11	(12.2)	1	(7.6)
100.000 ou mais			1	(7.6)
Contagem de LTCD4+ (células/mm³)				
Até 200	9	(10.0)	3	(23.06)
200 a 350	15	(16.6)		
350 ou mais	66	(73.3)	10	(76.9)

Na Tabela 5, são comparadas as características sociodemográficas entre os participantes que testaram positivo nas PCR para *Leishmania* e aqueles que testaram negativo. Esta análise comparativa examina detalhadamente fatores como nível educacional em ambos os grupos. Entre os participantes positivos em pelo menos uma das PCRs para *Leishmania*, observou-se uma maior prevalência entre aqueles que se autodeclararam brancos 46,1% (n=6). Em relação à escolaridade, destacou-se uma baixa escolaridade, especialmente entre aqueles com ensino médio incompleto.

Tabela 5. Comparação das características sociodemográficas entre participantes positivos para PCR de *Leishmania* spp. e negativos em Campo Grande, Brasil, 2023.

Variável	HIV (n=90)		HIV- <i>Leishmania</i> (n=13)	
	n	(%)	n	(%)
Raça				
Branca	26	(28.8)	6	(46.1)
Parda	50	(55.5)	4	(30.7)
Preta	11	(12.2)	2	(15.3)
Indígena	1	(1.1)		
Amarela	2	(2.2)	1	(7.6)
Escolaridade				
Sem escolaridade	1	(1.1)		
Fund. Incompleto	26	(28.8)	6	(46.1)
Fund. Completo	7	(7.7)		
Médio Incompleto	10	(11.1)	2	(15.3)
Médio Completo	29	(32.2)	1	(7.6)
Técnico	1	(1.1)		
Superior	16	(17.7)	4	(30.7)

Além disso, entre os 6 participantes previamente diagnosticados com leishmaniose, apenas 2 apresentaram resultado positivo para as reações de cadeia da polimerase (PCR). Especificamente, o participante CD05 demonstrou positividade em ambos os alvos, enquanto HD25 apresentou resultado positivo apenas para o alvo SSUrRNA. Com base nos registros dos prontuários médicos, é importante ressaltar que nenhum dos 6 participantes anteriormente

diagnosticados com leishmaniose relatou queixas ou sintomas durante as últimas consultas relacionadas à doença. Detalhes das características desses participantes estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Perfil Clínico, Terapêutico e resultado da PCR de *Leishmania* spp. dos Participantes Previamente Diagnosticados com Leishmaniose, Campo Grande, Brasil, 2023.

Participantes	Idade (Ano)	Carga viral do HIV (cópias/ml)	Contagem de LTDD4+ (células/mm ³)	Forma clínica da Leishmaniose	Ano de diagnóstico	Tratamento	Status Tratamento	PCR
CD05	48	Não Detectado	49	Leishmaniose Visceral	2014	Anfotericina B Lipossomal 200mg Dapsona + Pirimetamina+ácido fólico	Incompleto	(+)
HD12	44	Não Detectado	164	Leishmaniose Visceral	2019	Anfotericina B Lipossomal 200mg	Completo	(-)
HD25	52	383331	68	Leishmaniose Visceral	2018	Anfotericina B Lipossomal 100mg	Completo	(+)
HD33	39	Não Detectado	75	Leishmaniose Visceral	2013	Anfotericina B Lipossomal 200mg	Em Tratamento	(-)
HD34	30	198	166	Leishmaniose Cutânea	2023	Anfotericina B Lipossomal 250mg	Completo	(-)
HD47	35	< L. Mín.	226	Leishmaniose Visceral	2020	Anfotericina B Lipossomal 200mg	Em Tratamento	(-)

6 DISCUSSÃO

A disseminação crescente da leishmaniose humana emerge como uma preocupação abrangente em todo o território brasileiro, transcendendo os limites dos estados historicamente afetados para alcançar todas as regiões do país, incluindo Mato Grosso do Sul. Este fenômeno ganha uma dimensão ainda mais crítica ao considerarmos a população de indivíduos vivendo com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (PASQUALI et al., 2019).

No contexto específico de Mato Grosso do Sul, a confluência de casos de leishmaniose humana e HIV destaca a urgência na implementação de estratégias específicas e adaptadas a essa população. A interação entre a infecção pelo HIV e a leishmaniose demanda abordagens diagnósticas, terapêuticas e preventivas que considerem minuciosamente as particularidades dessas condições coexistentes. O rastreamento sistemático de pacientes com HIV para a leishmaniose, associado a medidas preventivas específicas, torna-se imperativo para assegurar diagnósticos precoces e gestão eficaz (COTA et al., 2014).

Neste estudo, a análise abrangeu a avaliação de 103 participantes, sendo que 78,6% destes eram residentes na capital do estado. Adicionalmente, foi observada a presença de pacientes provenientes de municípios circunvizinhos. Este fenômeno converge com a investigação conduzida por Werler et al. (2022), que identificou uma tendência entre os indivíduos vivendo com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) em buscar tratamento em localidades distintas de suas residências habituais (WERLE et al., 2022).

A escolha pela capital pode ser atribuída à presença de centros de saúde especializados, profissionais altamente qualificados, oferta abrangente de serviços relacionados ao tratamento do HIV, além do acesso a medicamentos e terapias inovadoras. Ademais, a capital frequentemente concentra recursos financeiros e infraestrutura de saúde mais robustos, proporcionando aos pacientes condições favoráveis para o gerenciamento eficaz da condição, fatores estes que podem influenciar na decisão de buscar cuidados médicos na capital em detrimento de municípios vizinhos, corroborando com descobertas de estudos pregressos.

A taxa de prevalência da coinfeção por *Leishmania*-HIV, neste estudo, foi registrada em 12,62% (13/103). Observaram-se discrepâncias relacionadas ao alvo da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), onde 2 amostras foram positivas tanto no gene SSUrRNA, quanto KDNA, 4 amostras foram positivas apenas no KDNA e 7 apenas SSUrRNA, totalizando 9 amostras reatividade para o gene SSUrRNA, uma pequena subunidade do RNA ribossômico. Conforme descrito por Cruz e colaboradores em 2002, a PCR utilizando os primers R221 e R332 demonstrou uma elevada sensibilidade e especificidade na detecção de cinetoplastos,

embora não sendo exclusiva para *Leishmania*, o que pode resultar em falsos positivos. Para mitigar esse risco, recomenda-se a realização de uma nested PCR (LnPCR) com os primers R223 e R333. Estudos anteriores mostraram que essa abordagem aumenta a sensibilidade da detecção para aproximadamente 95,45%, fornecendo resultados mais confiáveis na identificação da presença de *Leishmania* e minimizando os falsos positivos. Essa estratégia aprimorada de PCR é fundamental para garantir a precisão diagnóstica, especialmente em contextos clínicos onde a coinfeção *Leishmania*/HIV é uma preocupação significativa (CRUZ et al., 2002).

No mesmo estudo de Cruz e colaboradores (2002), que envolveu a análise de 38 pacientes com coinfeção *Leishmania*-HIV, a LnPCR utilizando sangue, foi encontrada uma positividade em 89% (34/38), uma taxa superior em comparação com o presente estudo, onde das 13 amostras positivas pela PCR, 9 foram positivas pela LnPCR, o que representa 69% (9/13) de positividade. No entanto, é importante ressaltar que esses resultados podem ser influenciados pelo número de amostras positivas, sendo 38 amostras no estudo de Cruz e 13 amostras no presente estudo.

A prevalência da coinfeção por *Leishmania*-HIV neste estudo (12,62%) foi superior à observada em um estudo anterior realizado em Brasília, por Carranza-Tamayo e colaboradores (2009), envolvendo pacientes sintomáticos HIV-positivos atendidos em um hospital universitário e submetidos ao diagnóstico molecular para *Leishmania* (1,8%; 3/163). No entanto, ao considerarmos o alvo utilizado, que foi o KDNA, e analisarmos as amostras positivas para esse mesmo alvo no presente estudo, a prevalência é de 5,3% (6/103), ainda assim mantendo-se maior.

Um fator adicional relevante a ser destacado é o contexto geográfico e epidemiológico. No momento da realização do estudo, Brasília não era uma região endêmica para a Leishmaniose, ao contrário do estado de Mato Grosso do Sul, onde o presente estudo foi conduzido que é considerado endêmico para a doença. Essa diferença na endemicidade destaca a importância de considerar a localização geográfica ao interpretar e comparar as taxas de coinfeção entre diferentes estudos. (CARRANZA-TAMAYO et al., 2009)

Em Pernambuco, uma região endêmica para a leishmaniose, um estudo prévio conduzido por Guedes et al. (2021) revelou uma prevalência de 9,11% (44/483) para a coinfeção *Leishmania*-HIV, semelhante à encontrada neste estudo. No entanto, é crucial salientar que o estudo anterior empregou uma abordagem multifacetada, incorporando métodos de diagnóstico tanto moleculares quanto sorológicos. Ao considerar exclusivamente os resultados moleculares, a prevalência reduziu para 2,28%.

Apesar do nosso trabalho apresentar maior prevalência quando comparada ao estudo de Guedes e colaboradores (2021), o presente estudo registrou mais casos (13 vs. 11), embora com menos indivíduos testados e um maior número de alvos genéticos investigados. Vale ressaltar que, no estudo anterior, o método diagnóstico com a maior prevalência foi o DAT (3,53%), sugerindo a pertinência de avaliar esse método diagnóstico em análises futuras. Essas observações destacam a complexidade na comparação de resultados, enfatizando a importância da metodologia adotada e da diversidade nos métodos diagnósticos utilizados. (GUEDES et al., 2021).

A abordagem dos testes diagnósticos para leishmaniose em pacientes coinfectados com HIV deve diferir daquela aplicada em pacientes não HIV, conforme destacado por um estudo conduzido na região do Mediterrâneo por Monge-Maillo e colaboradores (2014). Nesse contexto, a PCR é enfatizada devido à sua maior sensibilidade e especificidade, alcançando 92% e 96%, respectivamente. Isso sugere que a utilização de testes sorológicos para descartar casos de leishmaniose pode não ser apropriada, uma vez que esses testes detectam anticorpos produzidos pelo indivíduo, e a confiança nesses resultados é comprometida em pacientes com HIV devido a um déficit na resposta imune.

A sensibilidade da PCR realizada no sangue periférico em comparação com a medula óssea tem sido objeto de divergências em estudos. A detecção de *Leishmania* no sangue periférico demonstrou ser uma alternativa viável à análise medular em diferentes grupos populacionais. Estudos, como o de Antinori et al. (2007), reportaram resultados semelhantes entre amostras de sangue periférico e medula óssea em indivíduos tanto imunocompetentes quanto imunossuprimidos. (ANTINORI et al., 2007)

Por outro lado, uma pesquisa focada na detecção de *L. infantum* em crianças, utilizando a sequência de KDNA, indicou que amostras de sangue periférico revelaram positividade apenas quando os níveis de anticorpos anti-*Leishmania* eram substancialmente elevados (superiores a 5000) (FRAGA et al., 2010). Esses resultados poderiam explicar a discrepância observada neste estudo entre os alvos de PCR para KDNA e SSUrRNA, considerando a hipótese de que os níveis de anticorpos para *Leishmania* estavam baixos, sugerindo a possibilidade de infecções inativas.

Entre os participantes positivos para *Leishmania*, destaca-se que 61,5% (8/13) possuíam cães como animais domésticos. Essa informação é particularmente relevante, uma vez que os cães são reconhecidos como o reservatório urbano primordial e estão mais próximos dos seres humanos, especialmente no que diz respeito à leishmaniose visceral. Esse dado destaca a importância de realizar a vigilância e avaliar o estado de saúde desses animais. Vale ressaltar

que o cão desempenha um papel crucial no ciclo de transmissão da leishmaniose, muitas vezes atuando como um indicador precoce da presença da doença em uma região (DEREURE et al., 2003).

A compreensão da dinâmica da leishmaniose a partir dos cães é crucial para estratégias eficazes de controle, uma vez que, em muitos casos, a ocorrência inicial da infecção é identificada nos canídeos antes de se espalhar para os humanos. Essa interconexão destaca a importância da abordagem de "saúde única" (One Health), que reconhece a estreita ligação entre a saúde humana, animal e ambiental na prevenção e controle de doenças, como a leishmaniose (ANHOLT; BARKEMA, 2021). Desse modo, é de extrema importância que pessoas vivendo com HIV sejam orientadas a verificar regularmente se seus cães possuem leishmaniose, além de adotarem medidas de controle ambiental, como manter a limpeza do quintal e eliminar locais propícios para a proliferação do vetor.

Dos 6 participantes que relataram histórico prévio de leishmaniose, apenas 2 apresentaram resultado positivo para PCR, levantando a hipótese de persistência do parasito circulante ou recidiva da doença. Essa constatação ressalta a importância do acompanhamento desses pacientes por um período mínimo de 3 anos após o tratamento, visto que recidivas podem ocorrer nesse intervalo. O estudo de Cruz e colaboradores (2002) também revelou que 43,4% (n=10) dos participantes foram positivos apenas para a LnPCR após o tratamento, sem resultados positivos em outros métodos de diagnóstico. No entanto, é crucial considerar que 4 desses 10 casos eram recidivas, enquanto nos outros 6 mantearam-se assintomáticos, o que ele acredita que possivelmente a melhora do estado imunológico após o tratamento tenha levado ao controle dos parasitos, reduzindo a carga parasitária a níveis indetectáveis pelas demais técnicas diagnósticas disponíveis.

Em uma análise epidemiológica abrangente, evidenciam-se disparidades estatisticamente significativas associadas à raça e ao nível de escolaridade. No contexto brasileiro, é possível observar uma estreita interligação entre raça e condições socioeconômicas, sendo que a prevalência de doenças tropicais negligenciadas é mais pronunciada em regiões caracterizadas por índices educacionais mais baixos. A relação intrínseca entre raça e escolaridade destaca-se como um importante fator determinante nas dinâmicas epidemiológicas dessas enfermidades.(LINDOSO; LINDOSO, 2009). Os achados do presente estudo, reforçam a interligação entre raça, nível educacional e saúde, conforme observado na análise epidemiológica. Mais de 40% dos participantes detectado com coinfeção *Leishmania*-HIV não eram brancos, sendo predominantemente pretos ou pardos.

Além disso, mais de 50% desses participantes não possuíam sequer o ensino médio completo. Essas estatísticas ressaltam a influência significativa que a raça e o nível de escolaridade exercem na incidência de doenças tropicais negligenciadas, enfatizando a importância de políticas públicas e intervenções de saúde que abordem as desigualdades socioeconômicas e raciais para promover uma saúde equitativa e acessível a todos os grupos populacionais.

A contagem média de linfócitos T CD4+ em indivíduos coinfectados por *Leishmania*-HIV assemelhou-se à observada no grupo composto apenas por portadores de HIV. Cerca de 73,7% dos participantes deste estudo apresentaram uma contagem de linfócitos T CD4+ superior a 350 células/mm³. Estes resultados corroboram achados semelhantes ao estudo conduzido em Pernambuco por Guedes et al. (2021). Entretanto, é crucial analisar a adesão dessa população à terapia antirretroviral, o que poderia explicar o aumento dos níveis de LTCD4+ e, conseqüentemente, uma resposta mais eficaz em relação à infecção por *Leishmania* (LINDOSO et al., 2018). É válido ressaltar que um tratamento efetivamente administrado pode aumentar os níveis de CD4, proporcionando uma resposta imunológica mais robusta contra a infecção por *Leishmania*, e, por conseguinte, atuando como um fator de proteção contra recaídas.

Guedes e colaboradores (2021) observaram que 63% dos indivíduos sintomáticos, coinfectados por *Leishmania* apresentavam uma carga viral indetectável. No presente estudo, essa taxa foi de 84%, enfatizando a urgência de campanhas incentivadoras do correto uso da TARV em áreas endêmicas para leishmaniose.

No cenário brasileiro, até o presente momento, a recomendação vigente se concentra exclusivamente na profilaxia secundária para Leishmaniose Visceral (LV). O principal indicador utilizado para orientar essa medida profilática nos coinfectados é a contagem de Linfócitos T CD4+. Os fatores que determinam a persistência de um estado assintomático de LV ainda não foram completamente esclarecidos. O equilíbrio entre a infecção parasitária e a resposta imunológica do hospedeiro, como observado em doadores de sangue ou PVHIV, possivelmente transcende considerações relacionadas ao estado nutricional e fatores genéticos. Diante do aumento do risco de recaídas e do prognóstico desfavorável, torna-se crucial que PVHIV, especialmente aquelas que residem em áreas endêmicas de LV, estejam cientes de infecções prévias por *Leishmania*.(GUEDES et al., 2021).

Neste estudo, a PCR desempenhou um papel crucial no diagnóstico laboratorial molecular da coinfeção por *Leishmania*/HIV. Através da aplicação da PCR KDNA e da LnPCR SSUrRNA, pudemos identificar de forma precisa a presença do parasita *Leishmania* em

uma parcela significativa dos casos estudados. Esses achados são de extrema importância, pois fornecem uma ferramenta valiosa para o diagnóstico precoce e preciso dessa coinfeção, permitindo uma intervenção terapêutica eficaz e direcionada. Além disso, a detecção molecular por PCR não apenas auxilia na confirmação do diagnóstico, mas também contribui para uma melhor compreensão da epidemiologia e da patogênese da coinfeção *Leishmania*/HIV, sendo, portanto, essencial para a gestão clínica adequada desses pacientes.

8 CONCLUSÃO

Pode se concluir que a prevalência da coinfeção assintomática por *Leishmania*/HIV, avaliada pela PCR entre os participantes deste estudo foi de 12,62% (13/103), destacando a importância do diagnóstico molecular para identificar essa condição em pacientes vivendo com HIV.

- A análise molecular revelou uma positividade diferenciada entre os alvos de PCR para *Leishmania* spp., com 69,2% (9/13) dos participantes positivos sendo detectados pelo gene SSUrRNA, indicando seu potencial desse alvo na detecção da infecção nessa população.
- Os dados coletados revelaram uma concentração significativa de casos na capital, Campo Grande-MS, com uma predominância de homens e uma média de idade de (40 anos) entre os coinfectados. Além disso, uma parcela considerável da população afetada era composta por indivíduos brancos, ou com baixa escolaridade ou posse de cães.
- 84,6% (n=11) dos participantes positivo para PCR, apresentou uma carga viral de HIV indetectável ou menor que 50 cópias/ml ou indetectável e 76,9% (n=10) com contagem de LTCD4+ acima de 350 células/mm³.

Os resultados deste estudo oferecem uma visão abrangente da coinfeção por *Leishmania*/HIV, fornecendo informações cruciais sobre a aplicação dos métodos de diagnóstico molecular, características demográficas dos pacientes e seu estado imunológico, o que pode orientar estratégias de intervenção e manejo clínico.

REFERÊNCIAS

- ALTAMIRANO-ENCISO, A. J. et al. Sobre a origem e dispersão das leishmanioses cutânea e mucosa com base em fontes históricas pré e pós-colombianas. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 10, p. 853–882, dez. 2003.
- ALVAR, J. et al. The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 21, n. 2, p. 334–359, table of contents, abr. 2008.
- ALVES, W. A.; BEVILACQUA, P. D. Reflexões sobre a qualidade do diagnóstico da leishmaniose visceral canina em inquéritos epidemiológicos: o caso da epidemia de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 1993-1997. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 20, n. 1, p. 259–265, fev. 2004.
- ANHOLT, M.; BARKEMA, H. What is One Health? **The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne**, v. 62, n. 6, p. 641–644, jun. 2021.
- ANTINORI, S. et al. Clinical Use of Polymerase Chain Reaction Performed on Peripheral Blood and Bone Marrow Samples for the Diagnosis and Monitoring of Visceral Leishmaniasis in HIV-Infected and HIV-Uninfected Patients: A Single-Center, 8-Year Experience in Italy and Review of the Literature. **Clinical Infectious Diseases**, v. 44, n. 12, p. 1602–1610, 15 jun. 2007.
- BASANO, S. DE A.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, p. 328–337, set. 2004.
- BENCHIMOL, J. L. et al. Leishmanioses: sua configuração histórica no Brasil com ênfase na doença visceral nos anos 1930 a 1960. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas**, v. 14, n. 2, p. 611–626, ago. 2019.
- BESTEIRO, S. et al. Protein turnover and differentiation in Leishmania. **International Journal for Parasitology**, v. 37, n. 10, p. 1063–1075, ago. 2007.
- BHATTACHARYA, M.; NEOGI, S. B. Estimation of mortality due to AIDS--a review. **Indian Journal of Public Health**, v. 52, n. 1, p. 21–27, mar. 2008.
- BONNET, M. et al. Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. **New Microbes and New Infections**, v. 34, p. 100622, mar. 2020.
- BORGES, A. S. et al. Concomitância de leishmanioses e infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV): estudo de quatro casos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 6, p. 713–719, dez. 1999.
- BRASIL. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília, DF: Editora MS, 2003.
- BRASIL. **Boletim Epidemiológico - HIV e Aids 2023 — Departamento de HIV, Aids, Tuberculose, Hepatites Virais e Infecções Sexualmente Transmissíveis**. Disponível em:

<<https://www.gov.br/aids/pt-br/central-de-conteudo/boletins-epidemiologicos/2023/hiv-aids/boletim-epidemiologico-hiv-e-aids-2023.pdf/view>>. Acesso em: 11 jul. 2024a.

BRASIL. **Coinfecção de Leishmaniose Tegumentar (LT)/HIV**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/lt/coinfeccao-de-lt-hiv/coinfeccao-de-leishmaniose-tegumentar-lt-hiv>>. Acesso em: 11 jul. 2024.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de recomendações para diagnóstico, tratamento e acompanhamento de pacientes com a coinfeção leishmania-HIV — Ministério da Saúde**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/leishmaniose/manual-de-recomendacoes-para-diagnostico-tratamento-e-acompanhamento-de-pacientes-com-a-coinfeccao-leishmania-hiv.pdf/view>>.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Boletim Epidemiológico - Número Especial, mar.2021 - Doenças Tropicais Negligenciadas — Português (Brasil)**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/boletins-epidemiologicos/especiais/2021/boletim_especial_doencas_negligenciadas.pdf/view>. Acesso em: 26 maio. 2022.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **PrEP (Profilaxia Pré-Exposição)**. Disponível em: <<https://www.gov.br/aids/pt-br/assuntos/prevencao-combinada/prep-profilaxia-pre-exposicao/prep-profilaxia-pre-exposicao>>. Acesso em: 5 fev. 2024b.

CARRANZA-TAMAYO, C. O. et al. Prevalence of Leishmania infection in adult HIV/AIDS patients treated in a tertiary-level care center in Brasilia, Federal District, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 7, p. 743–748, jul. 2009.

CIPRIANO, P. et al. Visceral leishmaniasis in HIV-infected patients: the challenge of relapse and treatment failure. **Acta Médica Portuguesa**, v. 30, n. 6, p. 443–448, 2017.

CONCEIÇÃO-SILVA, F.; ALVES, C. R. **Leishmanioses do continente americano**. [s.l.] Editora Fiocruz, 2014.

COTA, G. F. et al. The diagnostic accuracy of serologic and molecular methods for detecting visceral leishmaniasis in HIV infected patients: meta-analysis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 6, n. 5, p. e1665, 2012.

COTA, G. F. et al. Leishmania-HIV Co-infection: Clinical Presentation and Outcomes in an Urban Area in Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 4, p. e2816, 17 abr. 2014.

CRUZ, I. et al. A nested polymerase chain reaction (Ln-PCR) for diagnosing and monitoring Leishmania infantum infection in patients co-infected with human immunodeficiency virus. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 96 Suppl 1, p. S185-189, abr. 2002.

CRUZ, I. et al. Comparison of new diagnostic tools for management of pediatric Mediterranean visceral leishmaniasis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 7, p. 2343–2347, jul. 2006.

DE TOMMASO, A. M. A. et al. High frequency of human cytomegalovirus DNA in the liver of infants with extrahepatic neonatal cholestasis. **BMC infectious diseases**, v. 5, p. 108, 1 dez. 2005.

DEGRAVE, W. et al. Use of molecular probes and PCR for detection and typing of Leishmania - a mini-review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, p. 463–469, set. 1994.

DEREURE, J. et al. Visceral leishmaniasis in eastern Sudan: parasite identification in humans and dogs; host-parasite relationships. **Microbes and Infection**, v. 5, n. 12, p. 1103–1108, out. 2003.

DIATTA, B.-A. et al. [Cutaneous leishmaniasis due to Leishmania infantum associated with HIV]. **Annales De Dermatologie Et De Venereologie**, v. 143, n. 10, p. 625–628, out. 2016.

DORVAL, M. E. C. et al. Phlebotomine fauna (Diptera: Psychodidae) of an American cutaneous leishmaniasis endemic area in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 695–702, ago. 2009.

DORVAL, M. E. M. C. et al. Ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Estado do Mato Grosso do Sul associada à infecção por Leishmania (Leishmania) amazonensis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 1, p. 43–46, fev. 2006.

EISINGER, R. W.; FAUCI, A. S. Ending the HIV/AIDS pandemic. **Emerging infectious diseases**, v. 24, n. 3, p. 413, 2018.

FERREIRA, R. C. S.; RIFFEL, A.; SANT'ANA, A. E. G. HIV: mecanismo de replicação, alvos farmacológicos e inibição por produtos derivados de plantas. **Química Nova**, v. 33, p. 1743–1755, 2010.

FRAGA, T. L. et al. Polymerase chain reaction of peripheral blood as a tool for the diagnosis of visceral leishmaniasis in children. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, p. 310–313, maio 2010.

GONTIJO, B.; CARVALHO, M. DE L. R. DE. Leishmaniose tegumentar americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, p. 71–80, 2003.

GRAEPP FONTOURA, I. et al. Epidemiological, clinical and laboratory aspects of human visceral leishmaniasis (HVL) associated with human immunodeficiency virus (HIV) coinfection: a *systematic review*. **Parasitology**, v. 145, n. 14, p. 1801–1818, dez. 2018.

GRIMALDI, G.; MCMAHAN-PRATT, D. Leishmaniasis and its etiologic agents in the New World: an overview. **Progress in Clinical Parasitology**, v. 2, p. 73–118, 1991.

GUEDES, D. L. et al. Asymptomatic Leishmania infection in HIV-positive outpatients on antiretroviral therapy in Pernambuco, Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 1, p. e0009067, 21 jan. 2021.

HASSAN, A. S. et al. Defining HIV-1 transmission clusters based on sequence data. **AIDS (London, England)**, v. 31, n. 9, p. 1211, 2017.

HE, J. et al. Peer education for HIV prevention among high-risk groups: a systematic review and meta-analysis. **BMC Infectious Diseases**, v. 20, p. 338, 12 maio 2020.

HENNY, K. D. et al. HIV-Related Training and Correlates of Knowledge, HIV Screening and Prescribing of nPEP and PrEP Among Primary Care Providers in Southeast United States, 2017. **AIDS and behavior**, v. 23, n. 11, p. 2926–2935, nov. 2019.

JOGAS, D. G. Trópicos, ciência e leishmanioses: uma análise sobre circulação de saberes e assimetrias. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 24, p. 1051–1070, dez. 2017.

JOGAS, D. G. The South American medical communities in the genesis of the tropical medicine: construction and circulation of knowledge on American leishmaniasis in the beginning of the twentieth century. **Medical History**, v. 66, n. 1, p. 64–84, jan. 2022.

KILLICK-KENDRICK, R. The life-cycle of *Leishmania* in the sandfly with special reference to the form infective to the vertebrate host. **Annales De Parasitologie Humaine Et Comparee**, v. 65 Suppl 1, p. 37–42, 1990.

LAINSON, R. Espécies neotropicais de *Leishmania*: uma breve revisão histórica sobre sua descoberta, ecologia e taxonomia. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 2, p. 13–32, jun. 2010.

LIMA JUNIOR, M. S. DA C. et al. Identificação de espécies de *Leishmania* isoladas de casos humanos em Mato Grosso do Sul por meio da reação em cadeia da polimerase. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 303–308, jun. 2009.

LINDOSO, J. A. et al. Visceral Leishmaniasis and HIV Coinfection in Latin America. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 9, p. e3136, 18 set. 2014.

LINDOSO, J. A. L. et al. Visceral leishmaniasis and HIV coinfection: current perspectives. **HIV/AIDS (Auckland, N.Z.)**, v. 10, p. 193–201, 15 out. 2018.

LINDOSO, J. A. L.; LINDOSO, A. A. B. P. Neglected tropical diseases in Brazil. **Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo**, v. 51, n. 5, p. 247–253, 2009.

LOPES, E. G. et al. PERFORMANCE OF CONVENTIONAL PCRs BASED ON PRIMERS DIRECTED TO NUCLEAR AND MITOCHONDRIAL GENES FOR THE DETECTION AND IDENTIFICATION OF *Leishmania* spp. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 58, p. 41, 24 maio 2016.

MANNAN, S. B. et al. Prevalence and associated factors of asymptomatic leishmaniasis: a systematic review and meta-analysis. **Parasitology International**, v. 81, p. 102229, abr. 2021.

MARCONDES, M.; ROSSI, C. N. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 50, n. 5, p. 341–352, 2013.

MARQUES, N. et al. Leishmaniose visceral e infecção por vírus da imunodeficiência humana na era da terapêutica anti-retrovírica de alta eficácia. 2007.

MASCARINI, L. M. Uma abordagem histórica da trajetória da parasitologia. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 8, p. 809–814, 2003.

MATO GROSSO DO SUL. **LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA – Vigilância em Saúde – SES MS**. Disponível em:

<<https://www.vs.saude.ms.gov.br/Geral/vigilancia-saude/vigilancia-epidemiologica/boletim-epidemiologico/leishmaniose-tegumentar-americana-boletim-epidemiologico/>>. Acesso em: 11 jul. 2024.

MATO GROSSO DO SUL. **BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO 2022 LEISHMANIOSE VISCERAL**. Disponível em: <<https://www.vs.saude.ms.gov.br/boletim-epidemiologico-2022-leishmaniose-visceral/>>. Acesso em: 11 jul. 2024.

MENEGATTI, J. A. et al. Fauna flebotomínica e soroprevalência para leishmaniose visceral canina em área urbana na região Centro-Oeste do Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, p. 1197–1205, 14 ago. 2020.

MOHEBALI, M.; YIMAM, Y. Prevalence estimates of human immunodeficiency virus (HIV) infection among visceral leishmaniasis infected people in Northwest Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. **BMC Infectious Diseases**, v. 20, p. 214, 12 mar. 2020.

MONGE-MAILLO, B. et al. Visceral Leishmaniasis and HIV Coinfection in the Mediterranean Region. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 8, p. e3021, 21 ago. 2014.

MORAIS, M. H. F. et al. Visceral leishmaniasis control actions: epidemiological indicators for its effectiveness evaluation in a Brazilian urban area. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, p. e00060219, 2020.

NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 13. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2016.

NYAMWEYA, S. et al. Comparing HIV-1 and HIV-2 infection: Lessons for viral immunopathogenesis. **Reviews in Medical Virology**, v. 23, n. 4, p. 221–240, jul. 2013.

OLIVEIRA, J. M. DE et al. Mortalidade por leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, p. 188–193, abr. 2010.

PASQUALI, A. K. S. et al. Dispersion of *Leishmania (Leishmania) infantum* in central-southern Brazil: Evidence from an integrative approach. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 8, p. e0007639, 29 ago. 2019.

RABELLO, A.; ORSINI, M.; DISCH, J. *Leishmania*/HIV co-infection in Brazil: an appraisal. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 97 Suppl 1, p. 17–28, out. 2003.

ROSA, M. C. DA; SILVA, N. M. O.; HORA, V. P. DA. Patogênese do HIV—características do vírus e transmissão materno-infantil. **RBAC**, v. 48, n. 4, p. 301–6, 2016.

SHAPIRO, T. A.; ENGLUND, P. T. The structure and replication of kinetoplast DNA. **Annual Review of Microbiology**, v. 49, p. 117–143, 1995.

SILVA, E. S. et al. Visceral leishmaniasis in the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in south-east Brazil. **The Veterinary Record**, v. 147, n. 15, p. 421–422, 7 out. 2000.

SILVEIRA, F. T. et al. Revendo a trajetória da leishmaniose visceral americana na Amazônia, Brasil: de Evandro Chagas aos dias atuais. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 7, n. esp, p. 15–22, dez. 2016.

SOUSA-GOMES, M. L. DE; ROMERO, G. A. S.; WERNECK, G. L. Visceral leishmaniasis and HIV/AIDS in Brazil: Are we aware enough? **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, n. 9, p. e0005772, 2017.

STEVERDING, D. The history of leishmaniasis. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 82, 15 fev. 2017.

STRELKOVA, M. V.; BARANOVA, A. M.; KUHLS, K. History of the E.I. Martzinovsky Institute of Medical Parasitology and Tropical Medicine: research on malaria and leishmaniasis. **História, Ciências, Saúde - Manguinhos**, v. 27, n. 4, p. 1097–1124, 2020.

SUNDAR, S.; CHAKRAVARTY, J. Liposomal Amphotericin B and Leishmaniasis: Dose and Response. **Journal of Global Infectious Diseases**, v. 2, n. 2, p. 159–166, 2010.

SUNDAR, S.; CHAKRAVARTY, J. An update on pharmacotherapy for leishmaniasis. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 16, n. 2, p. 237–252, fev. 2015.

SUNDAR, S.; SINGH, A. Recent developments and future prospects in the treatment of visceral leishmaniasis. **Therapeutic Advances in Infectious Disease**, v. 3, n. 3–4, p. 98–109, jun. 2016.

VAN EYS, G. J. et al. Sequence analysis of small subunit ribosomal RNA genes and its use for detection and identification of Leishmania parasites. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 51, n. 1, p. 133–142, mar. 1992.

VASCONCELOS, J. M. et al. Leishmaniose tegumentar americana: perfil epidemiológico, diagnóstico e tratamento. **RBAC**, v. 50, n. 3, p. 221–7, 2018.

WERLE, J. E. et al. HIV/AIDS and the social determinants of health: a time series study. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 75, p. e20210499, 15 abr. 2022.

WHO, W. H. O. **HIV Infection**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>>. Acesso em: 17 ago. 2022.

WHO, W. H. O. **Health topics Leishmaniasis**. Disponível em: <<https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis>>. Acesso em: 26 maio. 2022.

APÊNDICES

APÊNDICE A: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da pesquisa: INQUÉRITO SOROLÓGICO E MOLECULAR PARA A DOENÇA DE CHAGAS E LEISHMANIOSES EM PESSOAS QUE VIVEM COM O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA (PVHIV) ATENDIDOS NOS SERVIÇOS DE REFERÊNCIA DE MATO GROSSO DO SUL.

Responsável: Dra Gláucia Elisete Barbosa Marcon SIAPE 1990313

Instituição: Fundação Oswaldo Cruz – Mato Grosso do Sul.

Número do CAAE:

Você está sendo convidado a participar como voluntário de uma pesquisa que será realizada pela Fundação Oswaldo Cruz Mato Grosso do Sul no Ambulatório de Infectologia do Hospital-Dia Professora Esterina Corsini da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, UFMS ou CEDIP – Centro Especializado em Doenças Infecciosas e Parasitárias da SESAU (Secretaria Municipal de Saúde de Campo Grande). Este documento, chamado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), visa assegurar seus direitos como participante e é elaborado em duas vias, uma que deverá ficar com você e outra com o pesquisador.

Por favor, leia com atenção e calma, aproveitando para esclarecer suas dúvidas. Se houver perguntas antes ou mesmo depois de assiná-lo, você poderá esclarecê-las com o pesquisador. Se preferir, pode levar este termo para casa e consultar seus familiares ou outras pessoas antes de decidir participar. Não haverá nenhum tipo de penalização ou prejuízo se você não aceitar participar ou retirar sua autorização em qualquer momento.

Justificativa e objetivos:

A presença do vírus HIV em seu organismo pode levar à baixa imunidade. Como a doença de Chagas e a leishmaniose visceral são causadas por parasitas e estes podem aumentar em número nos casos de imunodepressão, é importante verificar a presença e/ou quantidade de parasitas *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania* spp em seu sangue, para melhorar os testes que auxiliam as condutas médicas, sendo esse resultado importante para estudos e pesquisas sobre as doenças negligenciadas no Brasil.

Procedimentos:

Você está sendo convidado a, durante uma consulta pré-agendada pelos médicos do seu ambulatório ou da Unidade de Saúde na qual é atendido a:

- Realizar a coleta de cerca de 12 mL de sangue (o equivalente a dois tubos de sangue), em única coleta, nessa data, com duração de no máximo, dez minutos.
- Caso seja necessário, poderá ser realizada mais uma coleta, em data pré-agendada.

Desconfortos e riscos:

Você **não** deve participar deste estudo se não estiver de acordo com os critérios da pesquisa.

A coleta de sangue e a pesquisa não apresentam riscos previsíveis, a não ser aqueles originados da punção de sangue durante a coleta, ou seja, o inconveniente de uma picada de agulha, podendo formar hematoma. Entretanto as coletas serão realizadas por profissionais capacitados e treinados, para atender de forma segura os participantes da pesquisa, seguindo as recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para coleta de Sangue Venoso. Sendo utilizados materiais estéreis e descartáveis por um profissional paramentado com EPIs (jaleco, luvas, máscara etc.).

Benefícios:

Essa pesquisa poderá identificar e quantificar os parasitas *Trypanosoma cruzi* causador da doença de Chagas e *Leishmania spp*, causador da leishmaniose em pacientes soropositivos para o HIV. Dessa forma, poderá auxiliar os clínicos a tomarem decisões relacionadas ao tratamento das doenças envolvidas. Os resultados também irão gerar conhecimento científico, com a aplicação de mais um teste diagnóstico voltado à doença de Chagas, leishmanioses relacionadas ao HIV.

Acompanhamento e assistência:

A coleta de sangue para essa pesquisa não traz danos previsíveis. No entanto, se eventualmente ocorrer algum dano, haverá assistência integral ao participante.

Após o término da pesquisa, os resultados serão repassados ao ambulatório ou à Unidade de Saúde onde você é atendido para que, se necessário, o clínico estabeleça o tratamento complementar àquele que você já realiza.

Sigilo e privacidade:

Você tem a garantia de que sua identidade será mantida em sigilo e nenhuma informação será dada a outras pessoas que não façam parte da equipe de pesquisadores. Na divulgação dos resultados desse estudo, seu nome não será citado nem iniciais ou qualquer outra forma que permita sua identificação.

Os resultados desse estudo poderão fazer parte do seu prontuário médico.

Ressarcimento e Indenização:

Não haverá ressarcimento de despesas, como transporte, alimentação e diárias. O estudo será feito durante a rotina do participante, como consulta médica pré-agendada no hospital ou Unidade de Saúde. Você terá a garantia ao direito a indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa.

Armazenamento de MATERIAL BIOLÓGICO:

As amostras coletadas ficarão armazenadas no Laboratório de Biologia Molecular, sala 327, bloco 3 da Universidade Anhaguera Uniderp, Rua Ceará, 333, Vila Antônio Vendas CEP 79003-010, Campo Grande MS, Brasil; telefone (67) 3348-8002, até o término da pesquisa e divulgação dos resultados. Caso seja necessário, a amostra poderá ser utilizada de para outras pesquisas. Ressalta-se que o uso da amostra para nova pesquisa estará condicionado a: (I) apresentação de novo projeto de pesquisa para ser analisado e aprovado pelo Sistema CEP/CONEP e (II) obrigatoriamente, ao consentimento do participante da pesquisa por meio de um TCLE específico, referente ao novo projeto de pesquisa (Resolução CNS 441/11, item 6 e Portaria MS 2.201/11, capítulo II, artigo 5 e capítulo IV, seção II, artigos 17, 18 e 22).

Diante disso:

- () concordo em participar do presente estudo, porém NÃO AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, devendo o mesmo ser descartado ao final desta pesquisa.
- () concordo em participar do presente estudo e AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, sendo necessário meu consentimento a cada nova pesquisa, que deverá ser aprovada pelo CEP institucional e, se for o caso, pela CONEP.

Você, ou seu representante legal, a qualquer tempo e sem quaisquer ônus ou prejuízos, pode retirar o consentimento da guarda e utilização do seu material biológico armazenado. O descarte do material armazenado será autorizado nas seguintes situações: I. a pedido do participante ou de seu representante legal; II. quando a amostra não apresentar qualidade para os testes propostos; III. ao término da pesquisa. As amostras a serem descartadas serão inativadas e depois incineradas.

Em caso de falecimento ou condição incapacitante, os direitos sobre o material armazenado deverão ser dados a: _____.

Contato:

Em caso de dúvidas sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com a pesquisadora: Gláucia Elisete Barbosa Marcon, Fundação Oswaldo Cruz Mato Grosso do Sul – FIOCRUZ MS. Rua Gabriel Abrão, 92. Jardim das Nações, Campo Grande – MS CEP 79081-746. Telefones: (15) 98182-6048 (67) 3346-4480 email: glauciamarcon@gmail.com; glaucia.marcon@fiocruz.br

Em caso de denúncias ou reclamações sobre sua participação e sobre questões éticas do estudo, você poderá entrar em contato com a secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FIOCRUZ Brasília, das 9h às 12h e das 14h às 17h Avenida L3 Norte, s/n, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Gleba A, Brasília - DF, 70904-130; telefone (61) 3329-4607 / 3329-4638, email: cepbrasil@fiocruz.br

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).

O papel do CEP é avaliar e acompanhar os aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos. A Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), tem por objetivo desenvolver a regulamentação sobre proteção dos seres humanos envolvidos nas pesquisas. Desempenha um papel coordenador da rede de Comitês de Ética em Pesquisa (CEPs) das instituições, além de assumir a função de órgão consultor na área de ética em pesquisas

Consentimento livre e esclarecido:

Após ter recebido esclarecimentos sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais riscos e o incômodo que esta possa acarretar, aceito participar e declaro estar recebendo uma via original deste documento assinada pelo pesquisador e por mim, tendo todas as folhas por nós rubricadas:

Nome do (a) participante:

Contato

telefônico:

e-mail

(opcional):

Data: ____/____/____.

(Assinatura do participante ou nome e assinatura do seu RESPONSÁVEL LEGAL)

Responsabilidade do Pesquisador:

Asseguro ter cumprido as exigências da resolução 466/2012 CNS/MS e complementares na elaboração do protocolo e na obtenção deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Asseguro, também, ter explicado e fornecido uma via deste documento ao participante. Informo que o estudo foi aprovado pelo CEP perante o qual o projeto foi apresentado. Comprometo-me a utilizar o material e os dados obtidos nesta pesquisa exclusivamente para as finalidades previstas neste documento ou conforme o consentimento dado pelo participante.

Data:

____/____/____.

(Assinatura do pesquisador)

APÊNDICE B: QUESTIONÁRIO SOCIODEMOGRÁFICO

Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz Mato Grosso do Sul

Pesquisa: Inquérito sorológico e molecular para a doença de Chagas em pessoas que vivem com o vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) atendidos nos serviços de referência de Mato Grosso do Sul;

Pesquisa: Detecção molecular e sorológica de *Leishmania spp.* em Pessoas que vivem com o Vírus da Imunodeficiência Humana (PVHIV) atendidos nos Serviços de referência de Mato Grosso do Sul

Pesquisadores responsáveis: Dra. Gláucia Elisete Barbosa Marcon / Dr. Eduardo de Castro Ferreira

Código da pesquisa: _____ Código do prontuário: _____ Data: _____

1. Nome: _____ Data de nascimento: _____

2. Documento: CPF _____ RG: _____ telefone: _____

e-mail: _____

3. Em qual cidade e estado nasceu?

_____ estado _____

Em qual cidade reside?

_____ estado _____

4. Identidade de gênero:

() feminino () masculino () outra

5. Você se autodeclara: _____

6. Você possui qual escolaridade?

() não estudou () fundamental incompleto

() fundamental completo () médio incompleto

() médio completo () superior

7. Você sabe o que é doença de Chagas?

() sim () não

8. Alguém da sua família tem ou teve a doença de Chagas?

() sim () não

9. Você conhece o barbeiro, inseto transmissor da doença?

() sim () não

10. Você já teve contato com o inseto transmissor da doença?

() sim () não

11. Já fez transfusão sanguínea? Se positivo, em qual ano?

() sim ano _____ () não

12. Tem conhecimento se é positivo ou negativo para a doença de Chagas?

- () sim () não
13. Sente cansaço quando realiza pouco esforço?
() sim () não
14. Sente dificuldade para engolir ou para evacuar?
() sim () não
15. Você sabe o que é Leishmaniose?
() sim () não
16. Alguém da sua família tem ou teve a leishmaniose?
() sim () não
17. Caso positivo, foram tratados? Em qual ano?
() sim () não ano:
18. Você conhece como se adquire a leishmaniose?
() sim () não
19. Você já teve contato com inseto transmissor da leishmaniose?
() sim () não
20. Tem conhecimento se é positivo ou negativo para a leishmaniose?
() sim () não
21. Em caso positivo, foi tratado?
() sim () não ano:
22. Tem animal doméstico?
() sim () não especifique: _____
23. Tem ou teve animal doméstico com leishmaniose?
() sim () não ano:
24. Notou aparecimento de feridas no corpo?
() sim () não
25. Notou palidez na pele ou mucosa?
() sim () não
26. Notou algum inchaço na região do abdômen?
() sim () não

ANEXO

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
(FIOCRUZ - BRASÍLIA)



Continuação do Parecer: 5.868.118

Endereço: Av L3 Norte Campus Darcy Ribeiro, Gleba A, SC 4 CAMPUS UNIVERSITARIO DARCY RIBEIRO - Bloco
Bairro: ASA NORTE **CEP:** 70.904-130
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3329-4607 **E-mail:** cepbrasil@fiocruz.br

ANEXO A: PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INQUÉRITO SOROLÓGICO E MOLECULAR PARA A DOENÇA DE CHAGAS E LEISHMANIOSES EM PESSOAS QUE VIVEM COM O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA (PVHIV) ATENDIDOS NOS SERVIÇOS DE REFERÊNCIA DE MATO GROSSO DO SUL.

Pesquisador: Gláucia Elisete Barbosa

Marcon Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 59031722.5.0000.8027

Instituição Proponente: FUNDACAO OSWALDO CRUZ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.868.118

Apresentação do Projeto:

No Brasil, a prevalência da doença de Chagas (DC) é de 1,8 a 2,4 milhões de indivíduos na fase crônica, com alta carga de morbimortalidade. A coinfeção do *Trypanosoma cruzi* com o HIV comporta-se como oportunista e estima-se 16.000 casos dessa coinfeção, que pode levar à reativação da DC, caracterizadas pela miocardite e/ou meningoencefalite. O estado de Mato Grosso do Sul não é endêmico para a DC, e apresenta baixa prevalência dessa enfermidade. No entanto, recebe migrantes latino-americanos e de outras regiões do Brasil. A leishmaniose visceral é causada pela *Leishmania infantum*. Tem grande importância clínica, pois é a segunda doença mais fatal causada por protozoário. De acordo com o Ministério da Saúde, por ano, a LV acomete cerca de 3.500 pessoas no país e no estado do Mato Grosso do Sul, a Leishmaniose é considerada um problema endêmico, sendo que de 2011 a 2020 foram registrados 1.811 casos e 127 óbitos por LV. Os testes sorológicos disponíveis podem apresentar reação cruzada entre ambas as espécies por

Endereço:	Av L3 Norte Campus Darcy Ribeiro, Gleba A, SC 4 CAMPUS UNIVERSITARIO DARCY RIBEIRO - Bloco		
Bairro:	ASA NORTE	CEP:	70.904-130
UF:	DF	Município:	BRASILIA
Telefone:	(61)3329-4607	E-mail:	cepbrasil@fiocruz.br

Continuação do Parecer: 5.868.118

apresentarem epítomos comuns. Assim sendo, é de suma importância realizar um inquérito sorológico e molecular da DC e da LV dentre as pessoas que vivem com o HIV (PVHIV) para definir adequado tratamento e acompanhamento, especialmente em relação à DC, mais negligenciada pela menor prevalência, mas com potencial de complicação importante dentre PVHIV. Metodologia: Serão realizados testes sorológicos (ELISA e IFI) e de biologia molecular (NPCR

Página 01 de

e PCR convencional) em amostras de conveniência entre os indivíduos atendidos no ambulatório de infectologia e no Hospital-Dia Professora Esterina Corsini e CEDIP – Centro Especializado em Doenças Infeciosas e Parasitárias da SESAU (Secretaria Municipal de Saúde de Campo Grande) no momento da consulta médica de rotina. Resultados esperados: conhecer a prevalência de Doença de Chagas e de LV entre PVHIV, assim como identificar possíveis casos de reação cruzada com *Leishmania* spp. Os prontuários físicos e eletrônicos serão revisados para obtenção de dados secundários a fim de identificar epidemiologia, manifestações clínicas e evolução da DC, LV e da infecção pelo HIV. Os resultados serão sistematizados e publicados na forma de artigos, podendo ainda gerar recomendações e protocolos de atendimento relativos aos temas abordados. Para os pacientes, serão informados dos resultados dos exames e poderão ter indicação de tratamento para DC caso identificada infecção ativa, conforme protocolo do Ministério da Saúde. Para o serviço de atendimento, a contrapartida é a de reforçar a importância de protocolo de rastreamento das infecções, assim como proposta de protocolos para condutas na Unidade de doenças infecciosas e parasitárias (UDIP).

No Brasil, a prevalência da doença de Chagas é de 1,8 a 2,4 milhões de indivíduos na fase crônica, com alta carga de morbimortalidade. Atualmente, esses pacientes têm maior sobrevida e podem estar envolvidos em processos migratórios e de urbanização. Dessa forma, a probabilidade de ocorrência de comorbidades é maior, sendo infecciosas ou não, como por exemplo, a coinfeção do *Trypanosoma cruzi* com o HIV. No Brasil, o *T. cruzi* comporta-se como oportunista na coinfeção *T. cruzi* /HIV. Estima-se 16.000 casos dessa coinfeção. A imunodeficiência avançada, causada pelo HIV, tratamento para o câncer, transplante de órgãos e outras causas, pode levar à reativação da doença de Chagas, caracterizadas pela miocardite e/ou meningoencefalite (WHO 2015; WHO 2022a). Segundo o PCDT (Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas) (BRASIL, 2018) para o manejo da infecção pelo HIV em adultos, a sorologia para a DC deve ser solicitada na triagem de indivíduos originários de áreas endêmicas.

Endereço:	Av L3 Norte Campus Darcy Ribeiro, Gleba A, SC 4 CAMPUS UNIVERSITARIO DARCY RIBEIRO - Bloco		
Bairro:	ASA NORTE	CEP:	70.904-130
UF:	DF	Município:	BRASILIA
Telefone:	(61)3329-4607	E-mail:	cepbrasil@fiocruz.br

Continuação do Parecer: 5.868.118

O estado de Mato Grosso do Sul não é considerado região endêmica para a doença de Chagas, e apresenta baixa prevalência dessa enfermidade (POMPILIO et al., 2005). No entanto, recebe migrantes latino-americanos e de outras regiões do Brasil. Assim sendo, é de suma importância realizar um inquérito sorológico e molecular da doença de Chagas dentre as pessoas que vivem com o HIV (PVHIV) atendidas nos serviços de referência do estado. Outras ferramentas como a detecção do DNA pela PCR e quantificação do parasito pela qPCR pode auxiliar na monitorização da parasitemia pelo *T. cruzi* nos coinfectados Chagas / HIV. Testes parasitológicos ou moleculares

Página 02 de

são indicados devido à baixa quantidade de anticorpos observados nas PVHIV. Dessa forma, o acompanhamento e tratamento etiológico poderão ser determinantes na prevenção da reativação da doença de Chagas nos coinfectados.

As leishmanioses, tegumentar ou visceral, causadas pelo protozoário *Leishmania* spp também são consideradas doenças tropicais negligenciadas e estudos apontam a emergência da leishmaniose como uma importante doença oportunista ao vírus da AIDS. É transmitida ao homem pela picada do flebotomíneo, podendo desencadear um quadro clínico mais brando como feridas na pele e mucosa (leishmaniose cutânea) e casos mais graves afetando as vísceras, que podem levar a óbito. A taxa de letalidade é perto de 8% na população geral e maior em PVHIV (GRAEPP et al., 2018).

Como ambas as infecções acometem o sistema imunológico do paciente, tanto o HIV quanto a LV podem intensificar os sintomas de leishmaniose visceral, além de provocar uma aceleração no surgimento de condições características da AIDS. No caso da LT, de acordo com o Ministério da Saúde é forma clínica mais prevalente na coinfeção, podendo ocorrer a leishmaniose cutânea disseminada, na qual órgãos atípicos são afetados pelas lesões, esse efeito é conhecido como visceralização da LT (Brasil, 2015). A maior prevalência dos casos de coinfeção ocorre principalmente em áreas endêmicas à leishmaniose, como por exemplo, no estado de Mato Grosso do Sul. Assim sendo, é de suma importância investigar as infecções causadas por *Leishmania* spp. em PVHIV atendidas nos serviços de referência do estado, uma vez que muitos pacientes não têm o diagnóstico de LT ou LV. Os testes moleculares são indicados devido à baixa quantidade de anticorpos observados nas PVHIV. Dessa forma, o acompanhamento e tratamento etiológico poderão ser determinantes na melhor qualidade de vida nos coinfectados.

Endereço:	Av L3 Norte Campus Darcy Ribeiro, Gleba A, SC 4 CAMPUS UNIVERSITARIO DARCY RIBEIRO - Bloco		
Bairro:	ASA NORTE	CEP:	70.904-130
UF:	DF	Município:	BRASILIA
Telefone:	(61)3329-4607	E-mail:	cepbrasil@fiocruz.br

Continuação do Parecer: 5.868.118

Objetivo da Pesquisa:

3. Objetivos Gerais e Específicos

3.1 Objetivo Geral

- Realizar um inquérito sorológico e molecular para a doença de Chagas e leishmanioses nas pessoas que vivem com o HIV, atendidos nos serviços de referência do estado de Mato Grosso do Sul.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a frequência de solicitação de testes para DC e leishmanioses em PVHIV
- Realizar duas sorologias com diferentes princípios para a doença de Chagas nos portadores do vírus HIV.

Página 03 de

- Realizar a Nested-PCR para a doença de Chagas nos portadores do vírus HIV.
- Quantificar e genotipar o *Trypanosoma cruzi* pela qPCR e sequenciamento em HIV positivos portadores da doença de Chagas.
- Realizar teste sorológico imunofluorescência indireta (IFI) e molecular (PCR) para identificar a leishmaniose em PVHIV.
- Identificar e quantificar as espécies de *Leishmania* spp em HIV positivos portadores de leishmaniose; • Avaliar os marcadores da imunidade como células T CD4, carga viral e TARV em PVHIV e relacionar com os agravos em estudo.
- Levantar dados socioepidemiológicos sobre a DC, leishmanioses e HIV através da aplicação de questionário.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Endereço:	Av L3 Norte Campus Darcy Ribeiro, Gleba A, SC 4 CAMPUS UNIVERSITARIO DARCY RIBEIRO - Bloco		
Bairro:	ASA NORTE	CEP:	70.904-130
UF:	DF	Município:	BRASILIA
Telefone:	(61)3329-4607	E-mail:	cepbrasil@fiocruz.br

Continuação do Parecer: 5.868.118

. O risco envolvido será o da coleta de sangue: uma leve picada, podendo eventualmente formar hematoma. As coletas serão realizadas por profissionais capacitados e treinados, para atender de forma segura os participantes da pesquisa, seguindo as recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para coleta de Sangue Venoso e de acordo com os critérios de biossegurança adotados pela Fiocruz MS. Caso haja alguma intercorrência durante a coleta de sangue, o participante será encaminhado imediatamente para atendimento médico. Os tubos, agulhas, seringas, algodão, álcool, luvas descartáveis, jalecos, caixa térmica serão de total responsabilidade dos pesquisadores.

O risco envolvido será o da coleta de sangue: uma leve picada, podendo eventualmente formar hematoma. As coletas serão realizadas por profissionais capacitados e treinados, para atender de forma segura os participantes da pesquisa, seguindo as recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para coleta de Sangue Venoso e de acordo com os critérios de biossegurança adotados pela Fiocruz MS. Caso haja alguma intercorrência durante a coleta de sangue, o participante será encaminhado imediatamente para atendimento médico. Os tubos, agulhas, seringas, algodão, álcool, luvas descartáveis, jalecos, caixa térmica serão de total responsabilidade dos pesquisadores.

A equipe conta com dois pesquisadores da Fiocruz MS, uma doutoranda (Jaqueline Zequini), um mestrando

(Guilherme H. A. Silva) e uma aluna de Iniciação científica (Susana, Lageano). Esse grupo

Página 04 de

ficará responsável pela codificação das amostras, aplicação do TCLE e o questionário. Os questionários (ANEXO 1) serão aplicados em um ambiente que proporcione privacidade, com uma abordagem humanizada, garantindo explicações necessárias para responder as questões. Os questionários não serão identificados nominalmente garantindo o anonimato, as respostas serão confidenciais, utilizadas apenas para fins científicos, não publicando nome nem iniciais ou qualquer outra forma que permita a identificação do participante. Além disso, os pós-graduandos e pesquisadores deverão buscar os dados contidos nos prontuários dos participantes, comprometendo-se com o sigilo de informações.

Os tubos com as amostras de sangue coletadas de cada participante serão imediatamente datados e identificados através de códigos constantes em planilha, resguardando a identidade e iniciais dos participantes. As amostras serão acondicionadas em caixa térmica e levadas ao Laboratório de

Endereço:	Av L3 Norte Campus Darcy Ribeiro, Gleba A, SC 4 CAMPUS UNIVERSITARIO DARCY RIBEIRO - Bloco		
Bairro:	ASA NORTE	CEP:	70.904-130
UF:	DF	Município:	BRASILIA
Telefone:	(61)3329-4607	E-mail:	cepbrasil@fiocruz.br

Continuação do Parecer: 5.868.118

Biologia Molecular e Parasitologia da Universidade Anhanguera-Uniderp, Campo Grande- MS, local onde serão processadas, armazenadas e posteriormente testadas pelos exames descritos nesse projeto.

Todos os dados levantados ficarão em documento digital, protegido por senha e sob a responsabilidade dos coordenadores da pesquisa, preservando assim o vazamento de dados, perda ou troca de material. As amostras de soro e de DNA ficarão em biorrepositório, acondicionadas em ultrafreezer por até 10 anos após o término da pesquisa e publicação dos resultados. No entanto, somente poderão ser utilizadas para outra pesquisa se houver nova aprovação do sistema CEP/Conep para a nova pesquisa e com o consentimento do participante a cada novo estudo (conforme orientação da Resolução CNS 441/11 e Portaria MS 2.201/11).

Os resultados dos testes diagnósticos realizados serão assinados, mesmo que eletronicamente, por profissional habilitado e deverão ser entregues ao participante durante o seu retorno, agendado pela equipe médica, a partir de 60 dias após a coleta de sangue. Caso o retorno do participante ocorrer em mais de 60 dias após a coleta, os resultados serão repassados quando a consulta estiver agendada.

Os resultados farão parte do prontuário médico das unidades de saúde nas quais o participante é atendido. No caso dos testes sorológicos e/ou moleculares para o diagnóstico da doença de Chagas e leishmanioses apresentarem resultados positivos, os participantes serão orientados e encaminhados para o tratamento clínico em centro de referência.

Benefícios:

Será o primeiro inquérito sorológico e molecular da doença de Chagas e leishmanioses em pessoas

Página 05 de

que vivem com o HIV (PV IV) no estado de Mato Grosso do Sul, para que assim haja identificação e encaminhamento de novos casos de coinfeção para acompanhamento e tratamento. A Tecnologia e Inovação estão representadas na aplicação e implementação de técnicas de diagnóstico molecular como a PCR e Nested PCR, sem a necessidade de técnicas laboriosas e demoradas como a hemocultura e

xenodiagnóstico no diagnóstico da doença de Chagas.

Endereço:	Av L3 Norte Campus Darcy Ribeiro, Gleba A, SC 4 CAMPUS UNIVERSITARIO DARCY RIBEIRO - Bloco		
Bairro:	ASA NORTE	CEP:	70.904-130
UF:	DF	Município:	BRASILIA
Telefone:	(61)3329-4607	E-mail:	cepbrasil@fiocruz.br

Continuação do Parecer: 5.868.118

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A originalidade e relevância científica: este é o primeiro inquérito sorológico e molecular da doença de Chagas e leishmanioses em pessoas que vivem com o HIV (PVHIV) no estado de Mato Grosso do Sul, para que assim haja identificação e encaminhamento de novos casos coinfeção para acompanhamento. A Tecnologia e Inovação estão representadas na aplicação e implementação de técnicas de diagnóstico molecular como a PCR e qPCR (PCR quantitativa), sem a necessidade de técnicas laboriosas e demoradas como a hemocultura e xenodiagnóstico no diagnóstico da doença de Chagas, além de serem técnicas com elevada sensibilidade e especificidade que podem esclarecer casos de reação cruzada durante a realização das técnicas sorológicas de diagnóstico da DC e leishmanioses.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- Folha de rosto: Apresentado
- Termo de Compromisso do Pesquisador: APRESENTADO
- Curriculum Vitae: Apresentado
- Termo de Concordância/Anuência Institucional: APRESENTADOS
- Cronograma da pesquisa: REAPRESENTADO
- Planilha de Orçamento: Apresentado
- TCLE: REAPRESENTADO
- Projeto Básico: REAPRESENTADO
- Critérios de Inclusão e Exclusão: Apresentado
- Riscos e Benefícios: REAPRESENTADO

Todas as pendências foram atendidas e os documentos de apresentação obrigatória foram apresentados.

Página 06 de

Recomendações:

Endereço:	Av L3 Norte Campus Darcy Ribeiro, Gleba A, SC 4 CAMPUS UNIVERSITARIO DARCY RIBEIRO - Bloco		
Bairro:	ASA NORTE	CEP:	70.904-130
UF:	DF	Município:	BRASILIA
Telefone:	(61)3329-4607	E-mail:	cepbrasil@fiocruz.br

Continuação do Parecer: 5.868.118

O pesquisador assume o compromisso de garantir o sigilo que assegure o anonimato e a privacidade dos participantes da pesquisa e a confidencialidade dos dados coletados. Os dados obtidos na pesquisa deverão ser utilizados exclusivamente para a finalidade prevista no seu protocolo. O pesquisador deverá encaminhar relatório parcial e final de acordo com o desenvolvimento do projeto da pesquisa, conforme Resolução CNS/MS nº 466 de 2012 e da Resolução CNS nº 510, de 7 de abril de 2016.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Situação do Projeto: Aprovado com as recomendações do item anterior.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1951540.pdf	17/01/2023 16:00:07		Aceito
Outros	Termo_compromisso_pesquisadorassinado2023.pdf	17/01/2023 15:57:21	Gláucia Elisete Barbosa Marcon	Aceito
Outros	Carta_resposta_CEP_BSB.pdf	17/01/2023 15:55:46	Gláucia Elisete Barbosa Marcon	Aceito
Outros	AutorizacaoResponsabilidade_CEDIP.pdf	17/01/2023 15:54:37	Gláucia Elisete Barbosa Marcon	Aceito
Outros	Autorizacao_HospUnivers.pdf	17/01/2023 15:53:20	Gláucia Elisete Barbosa Marcon	Aceito
Outros	Anuencia_LabUniderpassinado.pdf	17/01/2023 15:51:32	Gláucia Elisete Barbosa Marcon	Aceito
Outros	Anuencia_Fiocruz_MSassinado.pdf	17/01/2023 15:51:04	Gláucia Elisete Barbosa Marcon	Aceito
Outros	Quest_Chagas_Leish_HIV.pdf	17/01/2023 15:50:21	Gláucia Elisete Barbosa Marcon	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_HIV_Chagas_Leish_v_limpa.pdf	17/01/2023 15:41:11	Gláucia Elisete Barbosa Marcon	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_HIV_Chagas_Leish_destaque.pdf	17/01/2023 15:40:57	Gláucia Elisete Barbosa Marcon	Aceito

Endereço: Av L3 Norte Campus Darcy Ribeiro, Gleba A, SC 4 CAMPUS UNIVERSITARIO DARCY RIBEIRO - Bloco
Bairro: ASA NORTE **CEP:** 70.904-130
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3329-4607 **E-mail:** cepbrasil@fiocruz.br

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
(FIOCRUZ - BRASÍLIA)



Continuação do Parecer: 5.868.118

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Chagas_Leish_HIV_modif.pdf	17/01/2023 15:39:50	Gláucia Elisete Barbosa Marcon	Aceito
---	---------------------------------	------------------------	-----------------------------------	--------

Página 07 de

Folha de Rosto	folhaDeRosto_Chagas_HIV_Leish.pdf	06/09/2022 12:25:21	Gláucia Elisete Barbosa Marcon	Aceito
----------------	-----------------------------------	------------------------	-----------------------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BRASILIA, 30 de Janeiro de 2023

Assinado por:
BRUNO LEONARDO ALVES DE ANDRADE
(Coordenador(a))

Endereço: Av L3 Norte Campus Darcy Ribeiro, Gleba A, SC 4 CAMPUS UNIVERSITARIO DARCY RIBEIRO - Bloco
Bairro: ASA NORTE **CEP:** 70.904-130
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3329-4607 **E-mail:** cepbrasil@fiocruz.br

