



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Araçatuba

LUCIENNE FORMIGA FEITOSA BERBIGIER

**DETECÇÃO E AVALIAÇÃO DE ANTICORPOS PARA
Leishmania spp. EM DOADORES DE SANGUE
DE HEMONÚCLEO DE ÁREA ENDÊMICA PARA A
LEISHMANIOSE VISCERAL NO ESTADO DA
PARAÍBA, BRASIL**

ARAÇATUBA

2021

LUCIENNE FORMIGA FEITOSA BERBIGIER

**DETECÇÃO E AVALIAÇÃO DE ANTICORPOS PARA
Leishmania spp. EM DOADORES DE SANGUE
DE HEMONÚCLEO DE ÁREA ENDÊMICA PARA A
LEISHMANIOSE VISCERAL NO ESTADO DA
PARAÍBA, BRASIL**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, da Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Fisiopatologia Médica e Cirúrgica).

Orientador: Prof. Dr. Wagner Luis Ferreira

ARAÇATUBA

2021

B484d	Berbigier, Lucienne Formiga Feitosa Detecção e avaliação de anticorpos para <i>Leishmania</i> ssp., em doadores de sangue de Hemonúcleo de área endêmica para a leishmaniose visceral no estado da Paraíba, Brasil / Lucienne Formiga Feitosa Berbigier. – Araçatuba, 2021 65 p. : il., tabs., mapas Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba Orientador: Wagner Luis Ferreira 1. <i>Leishmania infantum</i>. 2. Transfusão de sangue. 3. Sorologia. 4. ELISA. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

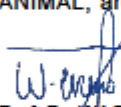
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: DETECÇÃO E AVALIAÇÃO DE ANTICORPOS PARA LEISHMANIA spp. EM DOADORES DE SANGUE DE HEMONÚCLEO DE ÁREA ENDÊMICA PARA A LEISHMANIOSE VISCERAL NO ESTADO DA PARAÍBA, BRASIL

AUTORA: LUCIENNE FORMIGA FEITOSA BERBIGIER

ORIENTADOR: WAGNER LUIS FERREIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. WAGNER LUIS FERREIRA (Participação Virtual)

Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Prof. Dr PAULO SERGIO PATTO DOS SANTOS (Participação Virtual)

Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Profa. Dra. MARCIA DALASTRA LAURENTI (Participação Virtual)

Departamento de Patologia / Faculdade de Medicina da USP

Araçatuba, 19 de janeiro de 2021.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: DETECÇÃO E AVALIAÇÃO DE ANTICORPOS PARA LEISHMANIA spp. EM DOADORES DE SANGUE DE
HEMONÚCLEO DE ÁREA ENDÊMICA PARA A LEISHMANIOSE VISCERAL NO ESTADO DA PARAÍBA, BRASIL

AUTORA: LUCIENNE FORMIGA FEITOSA BERBIGIER

ORIENTADOR: WAGNER LUIS FERREIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA
ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. WAGNER LUIS FERREIRA (Participação Virtual)
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de
Araçatuba/Unesp

Prof. Dr PAULO SERGIO PATTO DOS SANTOS (Participação Virtual)
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de
Araçatuba/Unesp

Profa. Dra. MARCIA DALASTRA LAURENTI (Participação Virtual)
Departamento de Patologia / Faculdade de Medicina da USP

Araçatuba, 19 de janeiro de 2021.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título:

AUTORA: LUCIENNE FORMIGA FEITOSA BERBIGIER

ORIENTADOR: WAGNER LUIS FERREIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. WAGNER LUIS FERREIRA (Participação Virtual)
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Prof. Dr. PAULO SERGIO PATTO DOS SANTOS (Participação Virtual)
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Profa. Dra. MARCIA DALASTRA LAURENTI (Participação Virtual)
Departamento de Patologia / Faculdade de Medicina da USP

Araçatuba, 19 de janeiro de 2021.

AGRADECIMENTOS

Aos doadores, que sem hesitação se disponibilizaram a colaborar ao participarem da pesquisa, com intuito de com os resultados serem coadjuvantes nas implementações de ações que visem melhorias e qualidade nos serviços.

Ao meu esposo Eduardo Berbigier e aos meus filhos Edson Neto e Luiz Eduardo, pelo carinho e incentivo em todos os momentos. Obrigada por dividirem comigo a vida em todos os momentos. Os louros desta vitória são de vocês!

Aos meus irmãos, cunhados e sobrinhos, por serem meus.

Ao meu orientador Prof. Dr. Wagner Luís Ferreira, agradeço a confiança por sempre acreditar que poderíamos realizar o proposto. A visão diferenciada ao respeitar meus limites, saber e condições, foi fundamental para que pudesse vencer e superar os obstáculos, incentivando-me no crescimento profissional.

Ao Prof. Dr. Francisco Leydson Formiga Feitosa, pelo apoio incondicional em todas as etapas do curso. Essa conquista também é sua!

À Professora Dra. Mary Marcondes, pelo auxílio durante toda a fase de amadurecimento do sonho a realizar.

À Dra. Marcia Dalastra Laurenti e equipe pelo apoio no processamento bioquímico.

Aos Professores do curso de Pós-graduação, alvos de minha admiração por exercerem com maestria e excelência suas funções.

À Walter Bertequini Nagata, pelo auxílio da análise estatística.

À Diretora do Hemonúcleo de Cajazeiras, a Enfermeira Nuarah Yraponirah, por disponibilizar o serviço para a realização da pesquisa, e aos demais funcionários que compõem o serviço.

Ao Dr. Francisco Iramirton Braga, que no exercício da sua função presta com excelência, dedicação, respeito e confiança aos doadores.

À UNESP – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA) e funcionários.

À equipe de enfermagem do Hemonúcleo Dr. Waldemar Pires: Namíbia, Francimar, D. Edilza, Aldenir e Francisca. Meus agradecimentos em especial, cujos membros ao longo da pesquisa demonstraram que são exemplos vivos de

trabalho em equipe e altruísmo. Sem vocês, seria impossível a realização da pesquisa.

À Neusa Bonifácio e Joice Santos, meu profundo agradecimento pela lealdade, exemplos vivos de que amigos existem.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

LUCIENNE FORMIGA FEITOSA BERBIGIER- Possui graduação em Enfermagem pela Faculdade Santa Emília de Rodat (1991). Funcionária Pública desde 1991 da Prefeitura Municipal de Cajazeiras. Concluiu Especialização em Saúde Pública (2004). Tem experiência na área de Enfermagem, com ênfase em Saúde Pública e Saúde Mental. Em agosto de 1991, assumiu a Coordenação do PNACS- Programa Nacional de Agentes Comunitários de Saúde como instrutora-supervisora até o ano de 2002, quando foi implantado o PSF- Programa Saúde da Família que coordenou até o ano de 2008 e 2013-2016. Adicionalmente assumiu a Coordenação de Vigilância Epidemiológica, Diretora da Subdivisão da Saúde da Mulher, Diretora de divisão da Atenção Básica, Diretora de Divisão de Controle Hospitalar e Ambulatorial da Secretaria Municipal de Saúde e Conselheira titular do Conselho Municipal de Saúde, na oportunidade eleita secretária executiva, representante dos Enfermeiros pelo período de 14 anos. Certificada pelo Conselho Regional de Enfermagem-PB como Responsável Técnica pelos profissionais de Enfermagem da Rede Básica de Saúde do município de Cajazeiras. Especialista em Psicanálise Aplicada à Educação e Saúde pela Faculdade Anchieta do Recife-PE em novembro de 2014, Mestrado Livre em Psicanálise na Educação e Saúde, em maio de 2017. Cursando Mestrado Acadêmico em Ciência Animal, da Faculdade de Medicina Veterinária -FMVA, Campus de Araçatuba-SP, na Área de Concentração: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica, sob a orientação do Professor Dr. Wagner Luis Ferreira. <http://lattes.cnpq.br/7155490011777844>

Que não seja preciso mais do que uma simples alegria
Pra me fazer aquietar o espírito
E que o teu silêncio me fale cada vez mais
Porque metade de mim é abrigo
Mas a outra metade é cansaço.
Que a arte nos aponte uma resposta
Mesmo que ela mesma não saiba
E que ninguém a tente complicar
Porque é preciso simplicidade pra fazê-la florescer
Porque metade de mim é plateia
A outra metade é canção
E que a minha loucura seja perdoada
Pois metade de mim é amor
E a outra metade também!

(Oswaldo Montenegro)

Aos meus pais Edson Feitosa e Eucésia Formiga Feitosa (in memoriam).

Dedico!

BERBIGIER, L. F. F. **Detecção e avaliação de anticorpos para *Leishmania* spp. em doadores de sangue de Hemonúcleo de área endêmica para a leishmaniose visceral no Estado da Paraíba, Brasil.** 2021, 65f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, 2021.

RESUMO

Em função do risco de transmissão da leishmaniose visceral (LV) por meio de transfusão sanguínea, particularmente em áreas endêmicas para a doença, e pelo fato de a doença não se encontrar listada naquelas pesquisadas antes da doação de componentes sanguíneos, no presente o objetivo foi pesquisar a presença de anticorpos para *Leishmania* spp., pela técnica de ELISA, em doadores de sangue de um Hemonúcleo situado em área endêmica para LV no Nordeste do Brasil. Entre os 300 indivíduos avaliados, 145 (48,33%) foram considerados infectados por *Leishmania* spp. Destes, 99 (68,27%) eram do sexo masculino, 46 (31,729%) do sexo feminino, 11 (7,58%) possuíam entre 18 e 19 anos, 130 (89,65%) entre 20 e 59 anos e 4 (2,75%) tinham mais de 60 anos. Quanto à área de residência, 108 (74,48%) eram provenientes da zona urbana e 37 (25,51%) da rural. Assim, não foi observada associação estatisticamente significativa entre a presença de anticorpos para *Leishmania* spp. e o sexo ($p=0,61$), faixa etária ($p=0,82$) ou local de residência ($p=0,85$). A análise destes dados não permitiu confirmar a ocorrência de transmissão transfusional de LV, uma vez que a simples sorologia positiva não implica a presença das leishmanias viáveis no sangue periférico. Porém, também não é possível anular este risco potencial. Testes de rotina devem ser implementados nos hemocentros, para excluir doadores soropositivos para *Leishmania* spp., aumentando a segurança dos pacientes que recebem este sangue.

Palavras-chave: *Leishmania infantum*. Transfusão de sangue. Sorologia. ELISA.

BERBIGIER, L. F. F. **Detection and evaluation of serum levels of antibodies to *Leishmania* spp. in blood donors from Hemonúcleo in an endemic area for visceral leishmaniasis in the State of Paraíba, Brazil** 2020, 64f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, 2020.

ABSTRACT

Due to the risk of transmission of visceral leishmaniasis (VL) through blood transfusion, particularly in areas endemic for the disease, and because the disease was not listed in those surveyed before the donation of blood components, the present study had the aim to investigate the presence of anti-*Leishmania* spp. antibodies, using the ELISA technique, in blood donors from a blood center located in an endemic area for VL in Northeast Brazil. Of the 300 individuals evaluated, 145 (48.33%) were considered infected by *Leishmania* spp. Of these, 99 (68.27%) were male, 46 (31.72%) female, 11 (7.58%) were between 18 and 19 years old, 130 (89.65%) were between 20 and 59 years old and 4 (2.75%) were over 60 years old. As for the area of residence, 108 (74.48%) came from urban areas and 37 (25.51%) from rural areas. There was no statistically significant association between the presence of anti-*Leishmania* spp. antibodies and sex ($p = 0.61$), age group ($p = 0.82$) or place of residence ($p = 0.85$). These data did not allow confirming the occurrence of LV transfusion transmission, since simple positive serology does not imply the presence of viable leishmanias in peripheral blood. However, it is also not possible to rule out this potential risk. Routine tests should be implemented in blood centers to exclude seropositive donors for *Leishmania* spp., increasing the safety of patients receiving blood.

Keywords: *Leishmania infantum*. Blood transfusion. Serology. ELISA.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Formas e fatores determinantes da leishmaniose visceral.....22
- Figura 2** Mapa do estado da Paraíba. Distribuição do *Lutzomyia longipalpis*.30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Prevalência de doadores de sangue voluntários do Hemocentro de área endêmica para Leishmaniose visceral, município de Cajazeiras – PB, considerados expostos segundo a presença de anticorpos para *Leishmania spp.*.....32

Tabela 2 – Prevalência de infecção assintomática por leishmania em pesquisas realizadas na Região Nordeste do Brasil, e em doadores nos serviços de Hemoterapia do Nordeste do Brasil, de acordo com a literatura científica.....36

LISTA DE ABREVIATURAS

CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
GRS	Gerência Regional de Saúde
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas
LVC	Leishmaniose Visceral Canina
LVH	Leishmaniose Visceral Humana
LV	Leishmaniose Visceral
LT	Leishmaniose Tegumentar
LMC	Leishmaniose Muco Cutânea
MS	Ministério da Saúde
OPAS	Organização Panamericana de Saúde
PNCLV	Programa Nacional de Controle de Leishmaniose Visceral
SAGE	Sala de Apoio à Gestão Estratégica
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SIM	Sistema de Informação de Mortalidade
SMS- CZ	Secretaria Municipal de Saúde de Cajazeiras
SVS-MS	Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde
SES-PB	Secretaria de Estado de Saúde da Paraíba
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
WHA	Assembleia Mundial de Saúde (WORLD HEALTH ASSEMBLY)
WHO	Organização Mundial de Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION)
PB	Paraíba
NE	Nordeste
HIV	Vírus da imunodeficiência adquirida
SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	16
1.1 Considerações Gerais.....	17
2 CAPÍTULO 1 - DETECÇÃO E AVALIAÇÃO DE NÍVEIS SÉRICOS DE ANTICORPOS PARA <i>Leishmania ssp.</i> EM DOADORES DE SANGUE DE HEMONÚCLEO DE ÁREA ENDÊMICA PARA LEISHMANIOSE VISCERAL NO ESTADO DA PARAÍBA, BRASIL.....	25
2.1 Resumo.....	25
2.2 Abstract.....	26
2.3 Introdução.....	27
2.4 Material e Métodos.....	29
2.4.1 Princípios Éticos.....	29
2.4.2 Local de Estudo e População Avaliada.....	29
2.4.3 ELISA para pesquisa de anticorpos para <i>Leishmania spp.</i>	31
2.4.4 Análise estatística.....	31
2.5 Resultados.....	32
2.6 Discussão.....	32
2.7 Conclusão.....	36
2.8 Referências.....	36
APÊNDICES.....	42
ANEXOS.....	53

1 INTRODUÇÃO GERAL

A leishmaniose visceral (LV) é uma antropozoonose de importância clínica e epidemiológica comprovadas no contexto da saúde pública no Brasil, cuja incidência elevou-se de maneira expressiva nas últimas décadas, devido à crescente urbanização e busca humana por recursos naturais, modificando, portanto, a estabilidade dos habitats de diversas espécies silvestres, dentre as quais estão as que compõem o circuito de transmissibilidade do referido agravo (BRASIL, 2006). Diante desse contexto, a LV apresenta caráter endêmico em mais de 90 países do mundo, considerada como uma das doenças tropicais prioritárias, pela Organização Mundial de Saúde^{1,2}.

No Brasil, a condição acomete população de todos os grupos etários, no entanto crianças menores de 10 anos, idosos, imunossuprimidos, e outras condições estão mais suscetíveis a infecção, fato que se atribui à imunidade celular e/ou a maior exposição das mesmas aos vetores. Quanto ao espectro clínico, este pode variar desde as formas assintomáticas que correspondem à maioria, as oligossintomáticas, podendo evoluir a óbito, resultado das formas refratárias e mais graves do agravo, quando não identificadas e tratadas em tempo hábil³.

Quando presentes, as manifestações clínicas consistem em febre duradoura, hepatomegalia, esplenomegalia, hipergamaglobulinemia, que pode evoluir para pancitopenia e, conseqüentemente, ocasionar quadros hemorrágicos^{1,4}.

A maior parte dos sintomas decorre da intensa proliferação celular e diferenciação plasmocitária do sistema fagocítico mononuclear. Alguns determinantes estão diretamente ligados ao desenvolvimento da doença, como por exemplo: grau de virulência das cepas, potencial de resistência do hospedeiro e a carga de formas infectantes que foi inoculada. Além desses, outro fator que aumenta a complexibilidade da transmissão da *Leishmania* é o período de incubação bastante variável, que oscila entre 10 dias e 24 meses, no homem^{1,4}.

Ainda que a forma mais prevalente de transmissão da *Leishmania* seja através da picada das fêmeas de flebotomíneos, existem casos reportados na

literatura que apontam para outras vias que possibilitam a transmissibilidade do parasito, como é o caso do transplante de órgãos, a via transplacentária e a transfusional. Esta última possibilidade é sustentada, do ponto de vista teórico, além disso, a elevada incidência da parasitose em pacientes com o vírus da imunodeficiência adquirida/síndrome da imunodeficiência adquirida (HIV/SIDA) e entre usuários de drogas endovenosas corrobora este tipo de transmissão⁵.

O risco da transmissão inadvertida da LV por via transfusional é preocupante, justamente devido não haver uma triagem sorológica obrigatória para a doação e, ao fato do doador apresentar uma fase que pode ser assintomática e não gerar suspeita quanto à infecção. Afora isto, os casos confirmados ratificam que o processamento e a conservação rotineira dos hemocomponentes, nos hemocentros, não são suficientemente eficazes na eliminação deste patógeno⁵.

1.1 Considerações Gerais

As leishmanioses são doenças infecciosas causadas por diferentes espécies de protozoários intracelulares obrigatórios pertencentes à ordem *Kinetoplastida*, família *Trypanosomatidae* e ao gênero *Leishmania*, transmitidos por flebotomíneos do gênero *Phlebotomus* no Velho Mundo e *Lutzomyia* no Novo Mundo que infectam o cão e uma ampla variedade de vertebrados, incluindo o homem^{6,7}. As espécies de *Leishmania* pertencem a dois subgêneros, *Viannia* e *Leishmania*⁸. Neste último encontram-se a leishmanias do complexo *Leishmania donovani*, agentes etiológicos da LV. A *Leishmania donovani* é o agente causador da LV na África e Ásia, a *Leishmania infantum* na África, Ásia e Europa e a *Leishmania infantum* (*syn chagasi*) nas Américas^{9,10,11}. Estima-se que há 360 milhões de pessoas em risco de contrair a infecção, com incidência de 2 milhões de novos casos a cada ano¹². Os dados são considerados subnotificados, haja vista que dos 98 países considerados endêmicos, apenas 33 adotam o agravo como sendo de notificação compulsória.

A LV é a forma mais grave da doença, também conhecida como Calazar, é uma antroponose negligenciada com larga distribuição nas regiões tropicais e subtropicais do planeta, de importância clínica em países da América Central e do Sul, África, Ásia e Europa^{12,13}. Em áreas endêmicas, o diagnóstico

da infecção, mesmo na presença de quadro clínico, tem sido considerado um grande desafio pela falta de estrutura do sistema de saúde. Apesar de, no Brasil, ser considerada uma doença de notificação compulsória (CID-B55), a maioria dos casos e óbitos não são notificados. Desta forma, ocorre subnotificação da doença, fazendo com que o número de casos notificados de LV seja inferior ao número real de indivíduos infectados, repercutindo na redução das taxas de incidência, morbidade e mortalidade, o que prejudica a priorização de medidas de controle¹⁴.

Nas Américas os casos de LV em humanos foram descritos desde o México até a Argentina, em 12 países, sendo reportados 63.331 casos novos humanos de LV no período de 2001 a 2018, resultando em uma média anual de 3.518 casos. No ano de 2019, do total de casos relatados, 97% (3.446) são provenientes do Brasil¹⁵. No Brasil, a LV encontrava-se inicialmente concentrada em áreas rurais pobres no Nordeste do país. Entretanto, desde a década de 1980 as epidemias ocorreram nas grandes cidades, e os relatos de cães e humanos infectados se estenderam gradualmente para o Sudeste, Centro-Oeste e Sul do país¹⁶.

Atualmente a LV foi identificada em 26 dos 27 Estados do Brasil. Foram reportados 36.361 casos confirmados no período de 2010 a 2019, registrando uma taxa de incidência que variou de 1,52 a 1,97. Apenas na região Nordeste do país no período de 2010 a 2019 a soma do número de casos de LV (19.913) foi superior à de todas as outras regiões (16.448). Desde o ano de 2010 a região Nordeste é responsável por 54,76% dos casos humanos de LV no Brasil, com uma média de 1.991,3 casos de 2010 a 2019¹⁷.

Dos 223 municípios do Estado da Paraíba, 127 (57%) registraram casos de LV no período de 2014 a 2018, sendo que 55% dos casos ocorreram em área urbana. No período de 2010 a 2019 foram notificados 619 casos, com 260 confirmados (42%), perfazendo uma média anual de 52 casos. Embora a letalidade da doença no ano de 2010 tenha atingido os mais elevados valores da região Nordeste, com uma taxa de 20,8%, a letalidade média da doença de 2010 a 2019 foi de 10% e o coeficiente de incidência variou de 1,2 a 1,6 por 100.000 habitantes. No mesmo período, foram identificados 46 casos de coinfeção com o HIV dentre as notificações registradas. A faixa etária mais acometida foi a de crianças menores de 9 anos correspondendo a 43,5% dos casos, e o sexo

masculino representou mais da metade dos casos, correspondendo a 62,3% dos indivíduos acometidos¹⁸.

No passado a LV era descrita como uma doença de ambientes silvestres ou rurais. Entretanto, nas últimas décadas ocorreu uma transição para ambientes urbanos devido a transformações ambientais provocadas pelo desmatamento, estabelecimento de assentamentos rurais, industrialização e construção de rodovias, gasoduto Bolívia-Brasil, barragens e usinas hidrelétricas, pelo intenso processo migratório e pela crescente urbanização. As rotas ajudam a evidenciar os fatores de risco para a dispersão de *L. infantum*, incluindo a falta de políticas conjuntas com os países vizinhos ao Brasil.

Todos esses fatores acabaram levando a uma adaptação dos reservatórios silvestres e dos flebotomíneos aos novos ambientes, levando a uma expansão das áreas endêmicas, com o aparecimento de novos focos da doença em muitos municípios^{19,20,21,11,16}. A migração concomitante de cães domésticos infectados, a pobreza e a falta de saneamento básico e as medidas pouco eficazes de controle da doença e dos vetores também são fatores importantes na disseminação da doença¹¹.

As leishmanias apresentam duas formas; uma aflagelada ou amastigota, intracelular obrigatória, encontrada nas células do sistema fagocítico mononuclear dos hospedeiros vertebrados e, outra, flagelada ou promastigota, encontrada no tubo digestório dos insetos vetores. Estes são flebotomíneos, conhecidos popularmente no Brasil como mosquito palha ou birigui, pertencem a várias espécies do gênero *Lutzomyia*, sendo a *Lutzomyia longipalpis* o mais importante vetor da LV no Brasil²². Durante o repasto sanguíneo em um hospedeiro vertebrado infectado o flebotomíneo ingere macrófagos parasitados por formas amastigotas de *Leishmania sp.*, as quais sofrem divisão binária, multiplicação e diferenciação em formas paramastigotas. Estas colonizam o tubo digestório do vetor e diferenciam-se em formas promastigotas metacíclicas, que são as formas infectantes. O ciclo biológico completa-se com a picada do flebótomo infectado e inoculação de formas promastigotas do parasito em um novo hospedeiro vertebrado, as quais diferenciam-se em formas amastigotas no interior de macrófagos. Ocorre então a disseminação linfática para outros tecidos ricos em células do sistema mononuclear fagocitário^{22,23}.

Outros mecanismos de transmissão da LV foram identificados, entre eles a via transplacentária, o transplante de órgãos, a transfusão de sangue^{24,25,26}, além de agulhas de injeção e infecções adquiridas por acidentes em laboratório^{26,27,28}. Em relação à via transfusional, diversos estudos têm demonstrado que ela pode ocorrer principalmente se o doador apresentar infecção ativa. No entanto, doadores assintomáticos também são capazes de transmitir a doença, inclusive em áreas não endêmicas^{28,27}.

Após a Guerra do Golfo, no início dos anos 90, vários casos de infecção por *Leishmania* spp. foram documentados nos produtos sanguíneos dos soldados provenientes do Iraque²⁹. Nesta época a OMS vislumbrou a possibilidade da transmissão por leishmania via transfusão de sangue²⁴. Apesar de a transmissão de LV por via transfusional já ter sido comprovada, a doença não consta no elenco das doenças de investigação para a doação de sangue nos hemocentros do Brasil. Além disso, o fato de haver transmissão por essa via demonstra que o processamento e a conservação rotineira dos hemocomponentes nos hemocentros não são eficazes na eliminação deste patógeno.

A legislação brasileira dos serviços de hemoterapia (Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária-RDC nº 153 de 2004 - sobre Regulamentos Técnicos para os procedimentos soroterápicos) atualizada pela Portaria Nº 1.353 de 13 de junho de 2011, preconiza como rotina a obrigatoriedade da investigação por anamnese e triagem sorológica dos doadores de sangue para Hepatite B e C, doença de Chagas, sífilis, HIV 1 e 2, HTLV I e II e malária em áreas endêmicas³⁰. Porém, não faz referência à pesquisa para LV, ainda que na sua redação trata de maneira genérica, no item B 5.2.6, sobre as doenças infecciosas transmissíveis pelo sangue e considera inaptos permanentes os candidatos à doação que já tiveram história de LV^{31,32}.

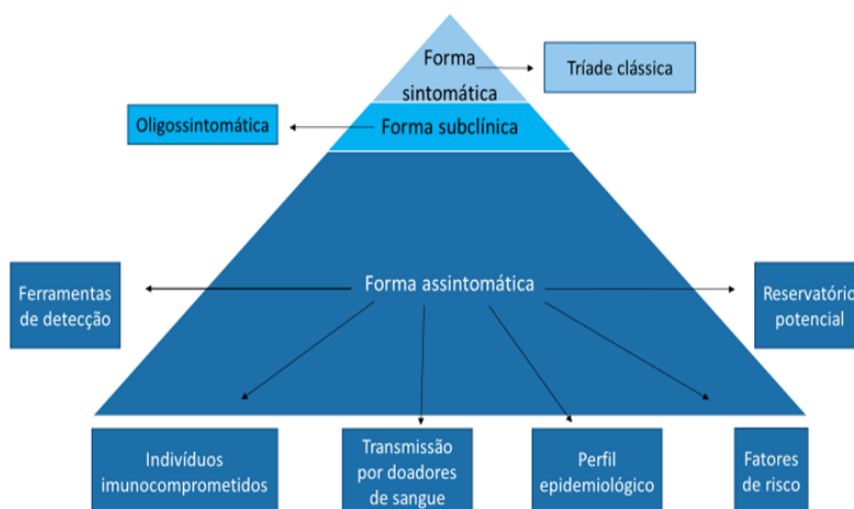
Embora o potencial de transmissão transfusional e sua relevância ainda não se encontrem bem esclarecidos^{32,33,34,28}, o risco de transmissão de *Leishmania* spp. por transfusão sanguínea, baseado na sororeatividade das amostras de sangue, vem sendo descrito em várias partes do mundo como em Istambul com índice de 6,40%³⁵, Itália com índice variando de 0,76% a 36,40% conforme a técnica utilizada³⁶, Bangladesh com soropositividade de 0,30%³⁷, Ilhas Baleares com taxas de 3,1%³⁸ e França com sororeatividade de 13,45%³⁹.

No Brasil, um estudo realizado no Estado da Bahia constatou que a soroprevalência de anticorpos para *Leishmania spp.* em doadores do hemocentro HEMOBA/SESAB era de 5,4% de uma população de 421 doadores³². Essa prevalência aumenta no Ceará para valores de 16%³⁴. Na região Centro-Oeste do Brasil detectou-se a presença de sororeatividade para *Leishmania spp.* em doadores de sangue em 15,6% das amostras de sangue avaliadas⁴⁰. No Estado do Rio Grande do Norte, foi identificado um índice de 22% em 300 bolsas de doadores de sangue na região Metropolitana⁴¹. Esses estudos demonstram a importância de que, principalmente em áreas endêmicas, existe a necessidade de ampliar a base de doenças investigadas na triagem inicial dos candidatos à doação de sangue e hemoderivados, minimizando o possível risco de contaminação³³.

A LV apresenta quadro clínico e evolução clínica variados, podendo apresentar tanto formas assintomáticas quanto uma evolução para formas graves, com altas taxas de letalidade, embora o número de indivíduos expostos à infecção ou infectados em algumas áreas é superior ao número de casos detectados⁴². Estudo refere que devido ocorrer acometimento sistêmico e a manifestação clínica relacionada à sintomatologia comum e outras doenças infecciosas ou não, o diagnóstico tardio é um dos fatores que contribuem para o aumento da letalidade⁷. Contudo, estudos demonstram que parte da população de áreas endêmicas permanece assintomática ou recupera-se espontaneamente da infecção^{43,26}.

Do ponto de vista didático e considerando a evolução clínica da LV, esta pode ser dividida em três períodos: inicial, período de estado e final. O período inicial, ou fase aguda da doença, é caracterizado por febre com duração inferior a quatro semanas, palidez cutâneo-mucosa e hepatoesplenomegalia. Nessa fase uma pequena percentagem de indivíduos pode evoluir para cura espontânea. O período de estado caracteriza-se por febre irregular, geralmente associada a emagrecimento progressivo, palidez cutâneo-mucosa e agravamento da hepatoesplenomegalia. Na figura 1, é possível observar o disposto na literatura quanto as formas clínicas da LV.

Figura 1 – Formas e fatores determinantes da leishmaniose visceral.



As alterações clínicas permanecem por mais de dois meses, acompanhadas de comprometimento do estado geral do paciente. Se o indivíduo não for diagnosticado e adequadamente tratado, evoluirá para a estágio final, com febre persistente e comprometimento mais intenso do estado geral. Os pacientes apresentam desnutrição, hemorragias (epistaxe, gengivorragia e petéquias), icterícia e ascite. Nestes pacientes, o óbito geralmente é determinado por infecções bacterianas e/ou sangramentos^{6,22}. A gravidade do quadro clínico pode estar relacionada à virulência das cepas infectantes, o potencial de resistência do hospedeiro e a carga parasitária inoculada. O período de incubação no homem é bastante variável, oscilando entre 10 dias e 24 meses^{6,22}.

Os casos de infecção por *L. infantum* que cursam de forma assintomática podem representar grande parte da população infectada, e podem apresentar uma prevalência em áreas endêmicas variando de 0 a 36,4% de acordo com a técnica utilizada e com o tamanho da população avaliada^{24,44}. Indivíduos assintomáticos que passam por processos de imunossupressão, como por exemplo pacientes HIV-positivos, ocorrência de doenças neoplásicas, uso de imunossupressores, agentes citotóxicos e os beneficiários de transplantes de órgãos, podem passar a desenvolver a forma clínica da doença^{27,24}.

Por ser uma doença de notificação compulsória e com características clínicas de evolução grave, o diagnóstico da LV deve ser feito de forma precisa e o mais precocemente possível. O diagnóstico pode ser realizado por meio de técnicas sorológicas, tais como a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), técnica mais utilizada para o diagnóstico da doença no Brasil, e o ensaio imunoenzimático indireto (ELISA). A RIFI é considerada positiva em diluições a partir de 1:80. Na presença de alterações clínicas e laboratoriais, um teste sorológico reagente reforça o diagnóstico de LV.

Anticorpos para *Leishmania* spp. desenvolvem-se principalmente durante a fase aguda da infecção e tendem a decrescer e até tornarem-se negativos após a resolução dos sintomas²². Outra técnica para avaliar o estado imunológico de um paciente com suspeita de LV é a intradermoreação de Montenegro (IDRM), ou teste para leishmania. Ao contrário do que ocorre na leishmaniose tegumentar, a IDRM sempre negativa durante o período de doença, mas torna-se positiva após a cura clínica, na maioria dos pacientes²².

O diagnóstico parasitológico que consta da identificação de formas amastigotas em amostras de aspirado esplênico é considerada o teste ouro para o diagnóstico de LV devido à sua elevada especificidade. Além do baço, é possível obter amostras de linfonodos, medula óssea e fígado. Estas, no entanto, possuem menor sensibilidade quando comparadas à avaliação do tecido esplênico⁴⁵. A punção de medula óssea costuma ser a técnica mais utilizada por ser uma técnica mais segura²².

As técnicas moleculares também são uma importante ferramenta no diagnóstico da LV. A reação em cadeia da polimerase (PCR) possui elevada sensibilidade e especificidade, e possibilita a detecção de diversas espécies de *Leishmania* em diferentes amostras, tais como sangue periférico, medula óssea, aspirado esplênico e de linfonodos⁴⁶. A PCR em tempo real é a técnica mais indicada por possuir maior sensibilidade, além de permitir a avaliação da carga parasitária⁴⁷. A sensibilidade e especificidade da PCR podem variar de acordo com o tecido avaliado^{48,45}.

Em muitos estados brasileiros os serviços de saúde não possuem equipamentos para realização de exames para leishmaniose na sua rotina, sendo a doença diagnosticada pela apresentação do quadro clínico principalmente em seu estágio final. No entanto, mesmo em áreas endêmicas

onde existem recursos para o diagnóstico de LV, a doença é ainda subdiagnosticada. Um estudo realizado em área endêmica para LV no Estado de São Paulo demonstrou que de 284 pacientes com alterações clínicas que deram entrada em um hospital sem suspeita de LV, 21,1% foram considerados expostos à *Leishmania* spp.⁴⁹.

Em função do risco de transmissão da LV por meio de transfusão sanguínea, particularmente em áreas endêmicas para a doença, o presente estudo teve como objetivo pesquisar a presença de anticorpos para *Leishmania* spp. em doadores de sangue do Hemonúcleo de Cajazeiras- PB.

2 CAPÍTULO 1 - DETECÇÃO E AVALIAÇÃO DE NÍVEIS SÉRICOS DE ANTICORPOS PARA *Leishmania spp.* EM DOADORES DE SANGUE DE HEMONÚCLEO DE ÁREA ENDÊMICA PARA LEISHMANIOSE VISCERAL NO ESTADO DA PARAÍBA, BRASIL

2.1 Resumo

Em função do risco de transmissão da leishmaniose visceral (LV) por meio de transfusão sanguínea, particularmente em áreas endêmicas para a doença, e pelo fato de a doença não se encontrar listada naquelas pesquisadas antes da doação de componentes sanguíneos, no presente o objetivo foi pesquisar a presença de anticorpos para *Leishmania spp.*, pela técnica de ELISA, em doadores de sangue de um Hemonúcleo situado em área endêmica para LV no Nordeste do Brasil. Entre os 300 indivíduos avaliados, 145 (48,33%) foram considerados infectados por *Leishmania spp.* Destes, 99 (68,27%) eram do sexo masculino, 46 (31,72%) do sexo feminino, 11 (7,58%) possuíam entre 18 e 19 anos, 130 (89,65%) entre 20 e 59 anos e 4 (2,75%) tinham mais de 60 anos. Quanto à área de residência, 108 (74,48%) eram provenientes da zona urbana e 37 (25,51%) da rural. Assim, não foi observada associação estatisticamente significativa entre a presença de anticorpos para *Leishmania spp.* e o sexo ($p=0,61$), faixa etária ($p=0,82$) ou local de residência ($p=0,85$). A análise destes dados não permitiu confirmar a ocorrência de transmissão transfusional de LV, uma vez que a simples sorologia positiva não implica a presença das leishmanias viáveis no sangue periférico. Porém, também não é possível anular este risco potencial. Testes de rotina devem ser implementados nos hemocentros, para excluir doadores soropositivos para *Leishmania spp.*, aumentando a segurança dos pacientes que recebem este sangue.

Palavras-chave: *Leishmania infantum*. Transfusão de sangue. Sorologia. ELISA.

DETECTION AND EVALUATION OF SERUM LEVELS OF ANTIBODIES TO *Leishmania* spp. IN BLOOD DONORS FROM HEMONÚCLEO IN AN ENDEMIC AREA FOR VISCERAL LEISHMANIASIS IN THE STATE OF PARAÍBA, BRAZIL

2.2 Abstract

Due to the risk of transmission of visceral leishmaniasis (VL) through blood transfusion, particularly in areas endemic for the disease, and because the disease was not listed in those surveyed before the donation of blood components, the present study had the aim to investigate the presence of anti-*Leishmania* spp. antibodies, using the ELISA technique, in blood donors from a blood center located in an endemic area for VL in Northeast Brazil. Of the 300 individuals evaluated, 145 (48.33%) were considered infected by *Leishmania* spp. Of these, 99(68.27%) were male, 46(7.58%) female, were between 18 and 19 years old, 130(89.65%) were between 20 and 59 years old and 4(2.75%) were over 60 years old. As for the area of residence, 108(74.48%) came from urban areas and 37(25.51%) from rural areas. There was no statistically significant association between the presence of anti-*Leishmania* spp. antibodies and sex ($p = 0.61$), age group ($p = 0.82$) or place of residence ($p = 0.85$). These data did not allow confirming the occurrence of LV transfusion transmission, since simple positive serology does not imply the presence of viable leishmanias in peripheral blood. However, it is also not possible to rule out this potential risk. Routine tests should be implemented in blood centers to exclude seropositive donors for *Leishmania* spp., increasing the safety of patients receiving blood.

Keywords: *Leishmania infantum*. Blood transfusion. Serology. ELISA.

2.3 Introdução¹

A leishmaniose visceral (LV) é uma antropozoonose negligenciada com larga distribuição nas regiões tropicais e subtropicais do planeta, de importância clínica em países da América Central e do Sul, África, Ásia e Europa^{1,2}. Nas Américas, a LV em humanos tem sido descrita desde o México até a Argentina, em 12 países, sendo reportados 63.331 casos novos no período de 2001 a 2018, resultando em uma média anual de 3.518. Em 2019, do total de casos relatados, 97% (3.446) são provenientes do Brasil³. Em nosso país, esta enfermidade estava inicialmente concentrada em áreas rurais pobres no Nordeste. Entretanto, desde a década de 80 grandes cidades têm se tornado áreas endêmicas, e os registros de cães e humanos infectados se estenderam gradualmente para o Sudeste, Centro-Oeste e Sul do país⁴.

Atualmente, a LV já foi identificada em 26 dos 27 Estados do Brasil, sendo evidenciados 36.361 casos no período de 2010 a 2019, registrando uma taxa de incidência de 1,52% a 1,97%. Apenas na região Nordeste do país, neste mesmo período a soma do número de casos de LV (19.913) foi superior a de todas as outras regiões (16.448). Desde o ano de 2010, a região Nordeste é responsável por 54,76% dos casos humanos de LV no Brasil, com uma média anual de 1.991,30 casos de 2010 a 2019⁵. Dos 223 municípios do Estado da Paraíba, 127 (57%) registraram casos de LV no período de 2014 a 2018, sendo que 55% dos casos ocorreram em área urbana. No período de 2010 a 2019 foram notificados 619 casos, com 260 confirmados (42%), perfazendo uma média anual de 52 casos⁶. A faixa etária mais acometida foi a de crianças menores de nove anos correspondendo a 43,5% dos casos, e o sexo masculino representou mais da metade dos casos, correspondendo a 62,3% dos indivíduos acometidos⁶.

O principal mecanismo de transmissão da LV ocorre pela picada de flebotomíneos, pertencem a várias espécies do gênero *Lutzomyia*, sendo a espécie *longipalpis* o mais importante vetor no Brasil⁷. Outros mecanismos de transmissão já foram identificados, entre eles a via transplacentária, o

¹Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo – Anexo B

transplante de órgãos, a transfusão de sangue^{8,9,10}, além de agulhas de injeção e infecções adquiridas por acidentes em laboratório^{11,12,13}.

Em relação à via transfusional, diversos estudos têm demonstrado que ela pode ocorrer principalmente se o doador apresentar infecção ativa. No entanto, indivíduos assintomáticos também são capazes de transmitir a doença, inclusive em áreas não endêmicas^{13,12}.

Embora o potencial de transmissão transfusional e sua relevância ainda não se encontrem bem esclarecidos, o risco de transmissão de *Leishmania* spp. por transfusão sanguínea, baseado na sororeatividade das amostras de sangue, vem sendo descrito em vários países^{14,15,16,17} e inclusive no Brasil^{18,19,13,20}. Apesar de a transmissão de LV por via transfusional já ter sido comprovada, a doença não consta no elenco das doenças de investigação para a doação de sangue nos hemocentros do Brasil. Entretanto, principalmente em áreas endêmicas existe a necessidade de ampliar a base de doenças investigadas na triagem inicial dos candidatos à doação de sangue e hemoderivados, minimizando o possível risco de contaminação²¹.

Em áreas endêmicas, o diagnóstico da infecção, mesmo na presença de quadro clínico, tem sido considerado um grande desafio pela falta de estrutura do sistema de saúde. Por ser uma doença de notificação compulsória e com características clínicas de evolução grave, o diagnóstico da LV deve ser realizado de forma precisa e o mais precocemente possível. O diagnóstico pode se basear em técnicas sorológicas, tais como a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), técnica mais utilizada para o diagnóstico da doença no Brasil, e o ensaio imunoenzimático indireto (ELISA); no diagnóstico parasitológico, com a identificação de formas amastigotas em amostras de aspirado de tecidos linfóides, considerado o teste ouro para o diagnóstico de LV devido à sua elevada sensibilidade e especificidade; e por técnicas moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR)^{22,23,7}.

Algumas técnicas empregadas nos métodos sorológicos convencionais apresentam limitações, podendo ocorrer altos índices de reação cruzada com *Trypanosoma cruzi* (Doença de Chagas), devido a reação das amostras de soro de indivíduos sororreagentes para leishmania com polipeptídeos de *T. cruzi* é considerada um produto de estimulação específica, pela presença de epítomos comuns a ambos os parasitos, podendo ocorrer resultados falso-positivos.

A LV apresenta quadro clínico e evolução variados, podendo apresentar tanto formas assintomáticas quanto uma evolução para formas graves, com altas taxas de letalidade²⁴. Os casos de infecção por *L. infantum* que cursam de forma assintomática podem representar grande parte da população infectada, com elevadas prevalências em áreas endêmicas, podendo representar um risco de transmissão da LV por meio transfusional⁸.

Em função do risco de transmissão da LV por meio de transfusão sanguínea, particularmente em áreas endêmicas para a doença, e pelo fato de a doença não se encontrar listada naquelas pesquisadas antes da doação de componentes sanguíneos, no presente estudo o objetivo foi pesquisar a presença de anticorpos para *Leishmania* spp. em doadores de sangue do Hemonúcleo de Cajazeiras- PB, área endêmica para LV no Nordeste do Brasil.

2.4 Material e Métodos

2.4.1 Princípios Éticos

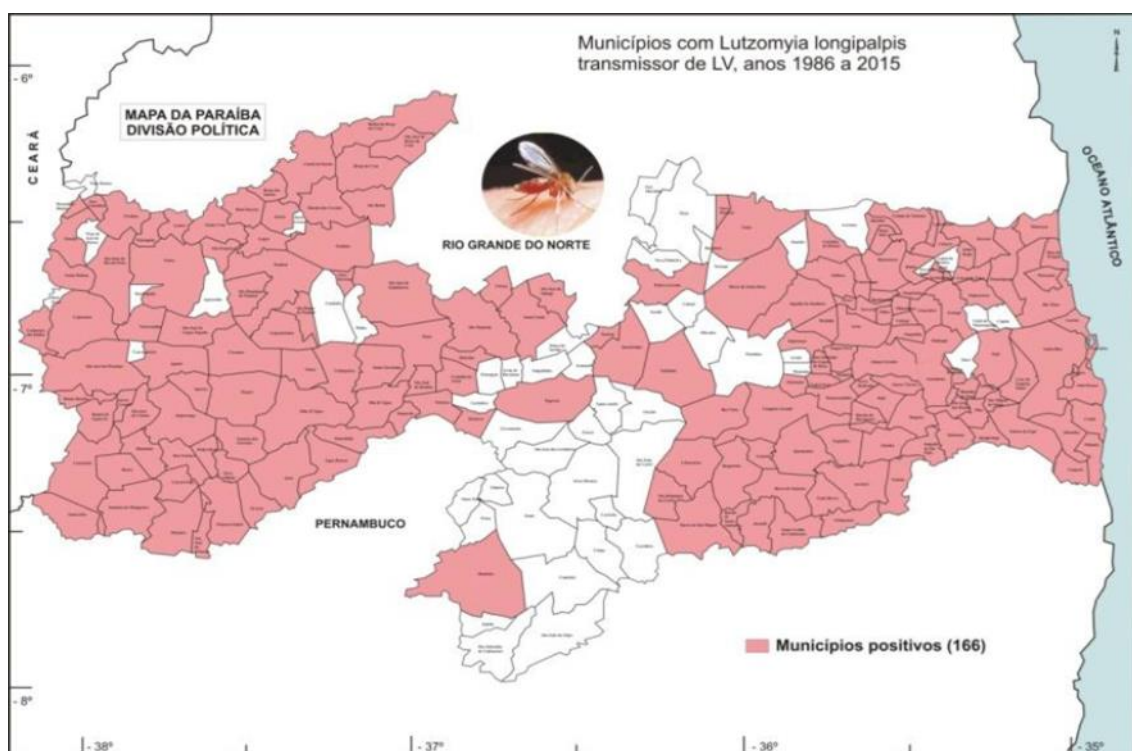
Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa para Experimentação Envolvendo Seres Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Campus de Araçatuba, sob protocolo CAEE: 07764919.0.0000.5420 (ANEXO A).

2.4.2 Local do Estudo e População Avaliada

A pesquisa foi conduzida no município de Cajazeiras, localizado no oeste do Estado da Paraíba, a 468 quilômetros (km) da capital do Estado, com uma população de 58.446 habitantes, em uma área de 562,703 km², pouco mais de 1% da superfície estadual²⁵. Esta localidade é sede da Região Metropolitana de Cajazeiras, que reúne quinze municípios da Paraíba, sendo considerada como área de transmissão esporádica de LV (PB/SES/SVS/2019).

A população estudada foi composta por 300 doadores de sangue voluntários, cadastrados no Hemonúcleo Dr. Waldemar Pires, em Cajazeiras-PB, que possui um cadastro de 14 mil doadores, com uma média de 300 doações mensais.

Figura 2: Estado da Paraíba. Distribuição do *Lutzomyia longipalpis*.



Fonte: SES-PB/SVS. Mapas; Estado da Paraíba, Cajazeiras e região

Os critérios de inclusão foram considerados os que preconizam os serviços de hemoterapia padronizados no país: ser cadastrado no serviço, ser maior de 18 anos, estar apto após triagem clínica (QUESTIONÁRIO/ANEXO C), e não apresentar histórico de LV, este último proposto pela pesquisa.

A colheita de sangue para a realização das provas sorológicas foi realizada no período de 11 de abril a 21 de maio de 2019. Amostras séricas em um volume final de 10mL foram coletadas por profissionais do serviço como enfermeiros e técnicos de enfermagem, por punção da veia cefálica, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A). O sangue foi mantido em um tubo de ensaio à temperatura ambiente até a coagulação e retração visível do coágulo e centrifugado a 3000 rpm durante dez minutos para aquisição do soro, que foi distribuído em três alíquotas de 1 mL, armazenadas e congeladas a -20°C até a realização da técnica de ELISA.

2.4.3 ELISA para pesquisa de anticorpos para *Leishmania* spp.

A pesquisa de anticorpos para *Leishmania* spp. foi realizada por meio de ensaio imunoenzimático (ELISA) com o uso de antígeno total de *L. infantum* (cepa MHOM/BR/74/PP75) na concentração de 10 µg/mL em tampão carbonato (0,01M, pH 9,5), e incubadas por toda a noite, a 4°C. Após lavagem as placas foram bloqueadas com 150 µL de PBS e 10% de leite Molico® e incubadas à temperatura ambiente, durante uma hora. Foram, então, adicionados a cada poço 100 µL de amostra de soro diluído na concentração de 1:200 em PBS-T, e incubados por três horas à temperatura ambiente. Em seguida, adicionaram-se, em cada poço, 100 µL de conjugado anti-IgG humano (Anti-human IgG Peroxidase Conjugate nº A6029 – Sigma®, Saint Louis, MO, EUA), diluído na concentração de 1:20.000. Depois de um período de incubação de 45 minutos em temperatura ambiente, foram adicionados a cada poço 100 µL de tetrametilbenzidina (TMB Substrate Reagent Set nº 555214 - BD®) durante 30 minutos. A reação foi interrompida utilizando-se 50 µL de solução de ácido sulfúrico 2N. Entre cada uma das etapas, foram realizadas três lavagens com tampão fosfato salina 0,05M acrescido de Tween (PBS-T 0,05%). A densidade óptica foi avaliada em duplicata, em espectrofotômetro a 450 nm. A determinação do ponto de corte foi estabelecida utilizando-se a média das densidades ópticas de indivíduos sorologicamente negativos e de área não endêmica para LV, acrescida de três desvios padrões. Em todas as placas foi incluída, como controle positivo das reações, uma amostra de soro de paciente acometido por LV, proveniente de área endêmica para a doença.

2.4.4 Análise Estatística

A análise dos dados foi realizada por meio de estatística descritiva e inferencial, utilizando cálculo de frequência, teste de qui-quadrado e teste exato de Fisher para verificar associação entre as avaliações sorológicas entre os resultados dos doadores e as variáveis sexo, faixa etária e origem rural ou urbana. As estatísticas foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

2.5 Resultados

Dos 300 indivíduos avaliados, 145 (48,33%) foram considerados infectados por *Leishmania* spp. Destes, 46 (31,72%) eram do sexo feminino, 99 (68,27%) do sexo masculino, 11(7,58%) possuíam entre 18 e 19 anos, 130 (89,65%) de 20 a 59 anos, e 4 (2,75%) de 60 a 68 anos. Quanto à área de residência, 108(74,48%) eram provenientes de zona urbana e 37(25,51%) de zona rural (Tabela 1).

Tabela 1 – Prevalência de doadores de sangue voluntários do Hemocentro de área endêmica para leishmaniose visceral, município de Cajazeiras – PB, considerados expostos segundo a presença de anticorpos para *Leishmania* spp.

Sexo	População Total (n=300)	População Infectada (n=145)
Masculino	210 (70%)	99 (68,27%)
Feminino	90 (30%)	46 (31,72%)
Faixa etária		
18-19 anos	20 (6,67%)	11 (7,58 %)
20-59 anos	271 (90,33%)	130 (89,65%)
> 60 anos	9 (3%)	4 (2,75%)
Local de Residência		
Zona Urbana	221 (73,67%)	108 (74,48%)
Zona Rural	79 (26,33%)	37 (25,51%)

Fonte: Dados da autora, 2020.

Não foi observada associação estatisticamente significativa entre a presença de anticorpos contra *Leishmania* spp. e o sexo ($p = 0,61$), a faixa etária ($p = 0,82$) ou o local de residência ($p = 0,85$).

2.6 Discussão

Neste estudo foram identificados anticorpos para *Leishmania* spp. em 48,33% dos doadores de sangue do Hemonúcleo de Cajazeiras-PB. Importante evidenciar que uma vez que a sorologia positiva não implica a presença da leishmanias viáveis no sangue periférico e a consequente transmissão transfusional de LV, porém, também não é possível afastar este risco potencial.

A prevalência de anticorpos para *Leishmania* spp. identificada em quase metade da população avaliada no presente estudo foi muito superior à observada em estudos realizados previamente no Brasil, como os conduzidos na Bahia (5,4%)¹³, em Minas Gerais (5,5%)¹⁸, no Mato Grosso do Sul (15,6%)¹⁹ e em um estudo multicêntrico conduzido no Ceará, Piauí e Minas Gerais (6,1%)²⁰.

É importante ressaltar que o teste de ELISA pode apresentar reações cruzadas com outros patógenos, a exemplo do *Trypanosoma cruzi*, devido a alta sensibilidade, porém não são específicos, o que pode justificar os altos índices de reações cruzadas com *Leishmania* visto que a região é endêmica para os dois agravos. Seria necessária a realização de testes imunológicos específicos para diferenciar os patógenos e mostrar se trata de uma infecção cruzada, subnotificação ou muitos casos assintomáticos de leishmaniose.

A utilização de hemoderivados para o tratamento de doenças é uma área relativamente jovem, que se desenvolveu a partir da segunda metade do século passado. Muito rapidamente, no entanto, ficou claro que esse tipo de tratamento poderia levar a problemas, dentre eles a possível transmissão de agentes infecciosos. Inicialmente esse risco era aceito por médicos e pacientes, entretanto, na atualidade bancos de sangue precisam utilizar estratégias para minimizar as chances de que isso ocorra²⁶.

Também não foi possível correlacionar uma maior prevalência de sororeatividade em doadores na dependência de idade, sexo ou local de origem, no presente estudo. Por outro lado, em um estudo realizado na Índia foi constatada uma amostra de 997, a maioria dos casos para o sexo feminino²⁷.

A infecção assintomática por *L. infantum* pode ser detectada inicialmente pela presença de anticorpos. À medida que vai se desenvolvendo uma resposta imune do tipo celular o título de anticorpos tende a cair. Desta forma, conforme verificado no presente estudo, uma elevação no título de anticorpos pode sugerir uma infecção aguda, na presença ou não de sintomas¹³, ou ser apenas o resultado de uma exposição prévia ao parasita, especialmente em áreas endêmicas¹⁹. As técnicas moleculares também podem ser usadas em hemoderivados para verificar a possibilidade de infecção, entretanto a amplificação do DNA de *Leishmania* spp. no sangue não indica necessariamente a presença de micro-organismos viáveis, e deve ser interpretada com cautela¹³. Embora os testes moleculares possam apresentar

um melhor desempenho em relação aos sorológicos, apresentam grande variabilidade, com indivíduos com testes previamente positivos tornando-se negativos e vice-versa²⁰.

Em muitos estados brasileiros os serviços de saúde não possuem equipamentos para realização de exames para leishmaniose na sua rotina, sendo a doença diagnosticada pela apresentação do quadro clínico principalmente em seu estágio final. Mesmo em áreas endêmicas onde existem recursos para o diagnóstico de LV, a doença é ainda subdiagnosticada. Em um estudo realizado em área endêmica para LV no Estado de São Paulo foi demonstrado que 284 pacientes com alterações clínicas que admitidos em um hospital sem suspeita de LV, 21,1% foram considerados expostos à *Leishmania* spp²⁸. Em relação a leishmaniose, por meio dos resultados do presente estudo foi evidenciada a necessidade de uma melhor avaliação dos pacientes assintomáticos e uma estruturação laboratorial que permita a realização rotineira de exames diagnósticos.

No Brasil, são efetuadas anualmente cerca de 3 milhões de doações de sangue, sendo ainda frequentes problemas de desabastecimento. De acordo com a OMS, para um país manter os estoques de sangue e derivados regularizados, é ideal que 2,5% da população seja doadora de sangue. Todavia, o percentual de doadores brasileiros é de apenas 1,7% por ano, segundo dados da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa)¹⁸. No estudo em tela, ressalta-se o ineditismo quanto a avaliação sorológica de *leishmania* em um importante Hemonúcleo no Estado da Paraíba, principalmente por se tratar de uma área endêmica.

A legislação brasileira dos serviços de hemoterapia (Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária-RDC nº 153 de 2004 - sobre Regulamentos Técnicos para os procedimentos soroterápicos) atualizada pela Portaria Nº 1.353 de 13 de junho de 2011, preconiza como rotina a obrigatoriedade da investigação por anamnese e triagem sorológica dos doadores de sangue para Hepatite B e C, Doença de Chagas, Sífilis, HIV 1 e 2, HTLV I e II e Malária em áreas endêmicas²⁹. Porém, não faz referência à pesquisa para LV, ainda que na sua redação trata de maneira genérica, no item B 5.2.6, sobre as doenças infecciosas transmissíveis pelo sangue e considera inaptos permanentes os candidatos à doação que já tiveram história de LV^{30,18}.

Frente aos resultados que obtivemos, sugere-se que a pesquisa da leishmaniose possa integrar uma obrigatoriedade de triagem sorológica, mesmo em pacientes assintomáticos. Ressaltando tal aspecto, verifica-se que em um estudo prévio foi identificada uma conversão sorológica e molecular em dois de seis pacientes que receberam transfusões de doadores soropositivos, demonstrando um risco potencial de transmissão de LV por transfusão de sangue de 33,33%. Esse risco é semelhante ao observado para a Doença de Chagas, transmitida por transfusão sanguínea em regiões endêmicas no auge da endemicidade²⁰.

Uma limitação do presente estudo é o fato de que foi realizada apenas a sorologia pelo método de ELISA para a identificação de possíveis portadores de LV assintomáticos, sem que tivesse sido realizada a técnica de PCR. No entanto, a elevada prevalência de sororeatividade nos doadores do Hemonúcleo de Cajazeiras-PB, requer atenção pelo risco de uma possível infecção causada por via transfusional. Como a LV está se expandindo e as medidas de controle não são eficientes, seria importante que se considerasse o risco de transmissão de LV por transfusão sanguínea, incluindo a doença no rol das pesquisadas nos bancos de sangue. Testes de rotina devem ser implementados nos Hemonúcleos, para excluir doadores soropositivos para *Leishmania* spp., aumentando a segurança dos pacientes que recebem este sangue.

Esta foi a primeira pesquisa realizada no estado da Paraíba para detecção de anticorpos para leishmania em doadores de sangue.

Tabela 2 - Prevalência de infecção assintomática por leishmania em pesquisas realizadas na Região Nordeste do Brasil, e em doadores nos serviços de Hemoterapia do Nordeste do Brasil, de acordo com a literatura científica*.

Estados / Nordeste	Técnica	Nº de sujeitos	Resultado %	Referência
Bahia	IDRM/ELISA	135	45/27	D' Oliveira Junior et al. (2007)
Brotas	ELISA	920	10,3	Jeronimo et al. (2000)
Bahia*	ELISA	700	12,4	Fukutani et al. (2014)
Ceará*	ELISA/PCR	351	12,2/4,3	Monteiro (2013)
Maranhão	IDRM/ELISA/rk39	1.520	61,1/19,4/19,7	Nascimento et al. (2005)
Maranhão	Western blot	1.100	0,6	Mendes et al. (2007)
Pernambuco*	PCR	500	6,2	Silva (2020)
Piauí	IDRM/ELISA	167/168	50/13,9	Werneck et al. (2002)
Piauí	PCR/ IDRM	101/87	7,9/71	Costa et al. (2002)
Rio Grande do Norte	ELISA(rk39)/ELISA	168	2,9/8,3	Braz et al. (2002)
Rio Grande do Norte	ELISA	27	0,005	Passos et al. (2005)
Rio Grande do Norte*	ELISA	300	22	Oliveira Filho (2013)
Rio Grande do Norte*	ELISA	1.194	9	Luz et al. (2000)
Rio Grande do Norte*	ELISA/PCR	116	24/43	Otero et al. (2000)

Fonte: MICHEL et al., 2011 (adaptada pela autora).

2.7 Conclusão

Pelos resultados do presente estudo foi possível identificar anticorpos para *Leishmania* spp. em 48,33% dos doadores de sangue do Hemonúcleo de Cajazeiras-PB. Esses dados não confirmaram a ocorrência de transmissão transfusional de LV, uma vez que a simples sorologia positiva não implica a presença da leishmanias viáveis no sangue periférico. Porém, também não é possível afastar este risco potencial.

2.8 Referências

1. Cotton JA. **The expanding world of human leishmaniasis.** Trends in Parasitology 2017;33(5):341-344.
2. World Health Organization –WHO. **General Information: Leishmaniasis:** WHO; 2019 Disponível em: <https://www.who.int/leishmaniasis/disease/en/> acesso em: 07 de outubro de 2020.
3. PAHO (Organização Pan-Americana da Saúde). **Leishmanioses: Informe Epidemiológico nas Américas.** Washington, D.C.: OPAS; 2019. Disponível em: <http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/50505>. Acesso em: 08 mar 2020.
4. Akhoundi M, Kuhls K, Cannet A, Votýpka J, Marty P, Delaunay P, Sereno D. **A historical overview of the classification, evolution, and dispersion of Leishmania parasites and sandflies.** PLoS Neglected Tropical Diseases 2016;10:1-40.
5. Brasil, Ministério da Saúde (2020). Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde(DATASUS)-Informações de Saúde(TABNET). **Epidemiologia e Enfermidades. Leishmaniose Visceral(online).** Disponível em: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0203&id=29892192&VObj=http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinannet/cnv/leishv> Acesso em: 01 de outubro de 2020.
6. Governo da Paraíba. Secretaria de Estado da Saúde. Gerência Executiva de Vigilância em Saúde. **Plano Estadual de Ação para Intensificação da Vigilância e Controle de Leishmaniose Visceral/Secretaria de Estado da Saúde.** Gerência Executiva de Vigilância em Saúde, Gerência Operacional de Vigilância Epidemiológica, Gerência Operacional de Vigilância Ambiental. João Pessoa, 2019. Disponível em: <<https://paraiba.pb.gov.br/diretas/saude/arquivos-1/cib-2019/4-reuniao-ordinaria/anexo-resolucao-ndeg-61-plano-estadual-de-lv.pdf> . Acesso em: 25 de outubro de 2019.

7. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.120p.
8. Michel G, Pomares C, Ferrua B, Marty P. **Importance of worldwide asymptomatic carries of *Leishmania infantum* (*L. chagasi*) in human**. Acta Tropical 2011;119:69-75.
9. Pereira IB, Nazareth C, Malcata L, Alves H, Fernández JR, Cunha CSS. **Infecções parasitárias transmitidas por transfusão de sangue**, Acta Médica Portuguesa 2011;24(S4):897-906.
10. Bouchekoua M, Trabelsi S, Ben-Abdallah T, Khaled S. **Visceral leishmaniasis after kidney transplantation: report of a new case and a review of the literature**. Transplantation Reviews 2014;28(1):32-35.
11. Griensven JV, Diro E. **Visceral leishmaniasis. Infectious Diseases Clinics of North America** 2012;26:309-322.
12. Mansueto P, Seidita A, Vitale G, Cascio A. **Transfusion transmitted leishmaniasis. What to do with blood donors from endemic areas?** Travel Medicine and Infectious Disease, 2014;12:617-627.
13. Fukutani KF, Figueiredo V, Celes FS, Cristal JR, Barral A, Barral-Netto M, de Oliveira CI. **Serological survey of *Leishmania* infection in blood donors in Salvador, Northeastern Brazil**. BMC Infectious Diseases. 2014;30(14):422.
14. Prates DB, Araújo-Santos T, Brodskyn C, Barral-Netto M, Barral A, Borges VM. **New Insights on the Inflammatory Role of *Lutzomyia longipalpis* Saliva in Leishmaniasis**. Journal of Parasitology Research, 2012;2012:1-11.
15. Scarlata F, Vitale F, Saporito L, Reale S, Vecchi VL, Giordano S, Infurnari L, Occhipinti F, Titone L. **Asymptomatic *Leishmania infantum/chagasi* infection in blood donors of western Sicily**. Transactions of the Royal Society of Tropical

Medicine and Hygiene 2008 Apr;102(4):394-6. doi: 10.1016/j.trstmh.2008.01.011. Epub 2008 Mar 5. PMID: 18321542.

16. Huda MM, Rudra S, Ghosh D, Bhaskar KR, Chowdhury R, Dash AP, Bhattacharya SK, Haque R, Mondal D. **Low prevalence of Leishmania donovani infection among the blood donors in kalaazar endemic areas of Bangladesh.** BMC Infectious Diseases. 2013 Feb 2;13:62. doi: 10.1186/1471-2334-13-62. PMID: 23375008; PMCID: PMC3565955.

17. Le Fichoux Y et al. **Ocorrência de parasitemia por Leishmania infantum em doadores de sangue assintomáticos que vivem em uma área de endemicidade no sul da França.** *Journal of clinic microbiology* 1999;37(6):1953-1957.

18. Urias EVR, Carvalho SFG, Oliveira CL, Carvalho MLM, Teles LF, Rodrigues MC, Maia CN. **Prevalência de adultos infectados por Leishmania leishmania chagasi entre doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil.** *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* 2009;31(5):348-354.

19. França AO, Castro VL, Lima MS Jr, Pontes ER, Dorval ME. **Anti-Leishmania antibodies in blood donors from the Midwest region of Brazil.** *Transfusion and Apheresis Science* 2013;49(3):627-30.

20. Ferreira--Silva MM, Teixeira LAS, Tibúrcio MS, Pereira GA, Rodrigues V, Palis M, Afonso P, Alves M, Feitosa JM, Urias E, Santos EM, Carvalho SFG, Moraes-Souza H. **Socio-epidemiological characterisation of blood donors with asymptomatic Leishmania infantum infection from three Brazilian endemic regions and analysis of the transfusional transmission risk of visceral leishmaniasis.** *Transfusion Medicine* 2018;28(6):433-439.

21. Otero AC, Silva VO, Luz KG, Palatnik M, Pirmez C, Fernandes O, et al. **Short report: occurrence of leishmania donovani DNA in donated blood from seroreactive Brazilian blood donors.** *Am J Trop Med Hyg.* 2000;62(1):128-31.

22. Srividya G, Kulshrestha A, Singh R, Salotra P. **Diagnosis of visceral leishmaniasis: developments over the last decade.** Parasitology Research 2012;110(3):1065-1078.
23. Ruiter CM, Van Der Veer C, Leeflang MMG, Deborggraeve S, Lucas C, Adams ER. **Molecular Tools for Diagnosis of Visceral Leishmaniasis: Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Test Accuracy.** Journal of Clinical Microbiology 2014;53(9):3147–3155.
24. Moreno E, Melo MN, Antunes CMF, Lambertucci JR, Serufo JC, Andrade-Ribeiro AS et al. **Epidemiologia da Leishmaniose Visceral Humana assintomática em área urbana, Sabará, Minas Gerais, 1998-1999.** *Informe Epidemiológico do SUS* 2002;11:37-9.
25. **IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2010. Disponível em: <<https://www.cidades.ibge.gov.br/brasil/pb/cajazeiras/panorama>. Acesso em: 18 de dezembro de 2019.
26. Bihl F, Castelli D, Marincola F, Dodd RY, Brander C. **Transfusion-transmitted infections.** Journal of Translational Medicine 2007; 5:25-27.
27. Das VNR, Siddiqui NA, Verma RB, Topno RK, Singh D, Das S, et al. **Asymptomatic infection of visceral leishmaniasis in hyperendemic areas of Vaishali district, Bihar, India: a challenge to kalaazar elimination programmes.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 2011;105:661–666.
28. Hirata KY, Oliveira EB, Rigon L, Utsunomiya YT, Tomokane TY, Laurenti MD, Marcondes M. (2020). **Exposição a Leishmania spp. infecção e Lutzomyia spp. em indivíduos residentes em área endêmica para leishmaniose visceral no Brasil.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* , 53 , e20190320. Epub 20 de dezembro de 2019. <https://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0320-2019>

29. Harmening DM. **Técnicas Modernas em Banco de Sangue e Transfusão.** São Paulo: Revinter, 2015.162p.

30. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Manual técnico para investigação da transmissão de doenças pelo sangue /** Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

APÊNDICES

APÊNDICE A – COMITÊ DE ÉTICA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: “Detecção e avaliação dos níveis séricos de anticorpos contra a *Leishmania infantum chagasi* em doadores de sangue assintomáticos da cidade de Cajazeiras-PB, Brasil”.

Nome do(a) Pesquisador(a): Lucienne Formiga Feitosa Berbigier.

Nome do(a) Orientador(a): Professor Wagner Luis Ferreira.

1.Natureza da Pesquisa: O(a) sr.(a) está sendo convidado (a) a participar desta pesquisa que tem como finalidade pesquisar a detecção e avaliação dos níveis séricos de anticorpos contra a *Leishmania infantum chagasi*, por meio da técnica de ELISA em doadores de sangue cadastrados no Hemonúcleo de Cajazeiras-Paraíba, Brasil.

2.Participantes da Pesquisa: O número de participantes será de 300 doadores de sangue, cadastrados no referido Hemonúcleo, que já são doadores regulares de sangue.

3.Envolvimento na Pesquisa: Ao participar deste estudo o(a) sr.(a) permitirá que o(a) pesquisador(a) Lucienne Formiga Feitosa Berbigier após obter as amostras, sejam utilizadas para os fins desta pesquisa, ou pesquisas futuras. O (a) Sr.(a) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para o(a) sr.(a). Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone do(a) pesquisador(a) do projeto e, se necessário através do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa.

4.Sobre as entrevistas: Não será realizado questionário, e sim esclarecimento de forma verbal sobre a pesquisa e se há interesse em participar, e em caso positivo, assinatura do Termo de consentimento.

5.Riscos e desconfortos: A participação nesta pesquisa não infringe as normas legais e éticas. Apresenta riscos mínimos realizada por meio de punção venosa, por sistema a vácuo sendo este o método recomendado e mais seguro, cujo procedimento é rotina realizada no serviço, pelos profissionais do próprio serviço: Bioquímico, Enfermeira e Técnicos de enfermagem. Como desconforto poderá apresentar dor local, passível de hematoma. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua dignidade.

6.Confidencialidade: Todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente o(a) pesquisado(a) e seu (sua) orientador(a) (e/ou equipe de pesquisa)terão conhecimento de sua identidade e nos comprometemos a mantê-la em sigilo ao publicar os resultados dessa pesquisa.

7.Benefícios: Ao participar desta pesquisa o(a) Sr.(a) não terá nenhum benefício direto. Entretanto,esperamos que este estudo resulte em informações importantes para que possamos contribuir para o desenvolvimento e implementação de ações efetivas nas políticas públicas de saúde, cujo conhecimento construído a partir desta pesquisa possa nos nortear à prevenção problemas que afetem os indivíduos.

8.Pagamento: O(a) sr.(a) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa,bem como nada será pago por sua participação.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem: Confiro que recebi via deste termo de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Obs. Não assine esse termo se ainda tiver dúvida a respeito.

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa.

Nome do participante da Pesquisa

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura do(a) Pesquisador (a)

Assinatura do(a) Orientador(a)

Pesquisador(a): Lucienne Formiga Feitosa Berbigier – (83) 99149-8295

Orientador(a): Wagner Luis Ferreira – (18) 3636-1416

Coordenador(a) do Comitê de Ética em Pesquisa: Prof. Dr. Aldiéres Alves Pesqueira

Vice-Coordenador(a): Profa. Dra. Cristiane Duque

Telefone do Comitê: (18) 3636-3234

E-mail cep@foa.unesp.br

APÊNDICE B - REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2006.
2. Roma C et al. **Vulnerability to the transmission of human visceral leishmaniosis in a Brazilian urban área**. Revista de saúde pública, 2017;1-11.
3. Batista FMA et al. **Leishmaniose: perfil epidemiológico dos casos notificados no estado do Piauí entre 2007 e 2011**. Revista Univap, 2014;20(35).
4. Pires BS, Silva PR. **Fatores epidemiológicos da leishmaniose visceral humana no Brasil, 2008-2015**. Simpósio de TCC e Seminário de IC, 2016:2008-2015.
5. Pereira IB, Nazareth C, Malcata L, Alves H, Fernández JR, Cunha CSS. **Infecções parasitárias transmitidas por transfusão de sangue**, Acta Médica Portuguesa 2011;24(S4):897-906.
6. Alencar JE, Neves J, Dietze R. Leishmaniose visceral (Calazar). In: Veronesi R. **Doenças infecciosas e parasitárias**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.
7. Conceição SF, Alves, C.R. **Leishmanioses do Continente Americano**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2014, 511p.
8. Lainson R, Shaw JJ. **Evolution, classification and geographical distribution**. In: Peteers W, Killick-Kendrick R. The Leishmaniasis in Biology and Medicine. London: Press Inc, p. 12-120., 1987.
9. Cunha AM, Chagas E. **Nova espécie de protozoário do gênero Leishmania patogênico para o homem. Leishmania chagasi n.sp.** Nota prévia. Hospital 1937;11:3-9.
10. Akhoundi M, Kuhls K, Cannet A, Votýpka J, Marty P, Delaunay P, Sereno D. **A historical overview of the classification, evolution, and dispersion of Leishmania parasites and sandflies**. PLoS Neglected Tropical Diseases 2016;10:1-40..

11. Marcondes M, Day M J. **Current status and management of canine leishmaniasis in Latin America**. Research in Veterinary Science, 2019;123:261-272. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/190078>>.
12. Cotton JA. **The expanding world of human leishmaniasis**. Trends in Parasitology 2017;33(5):341-344.
13. World Health Organization –WHO. **General Information: Leishmaniasis**: WHO; 2019 Disponível em: <https://www.who.int/leishmaniasis/disease/en/> acesso em: 07 de outubro de 2020.
14. Alvar J. et al., **Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence**. Plos One, 2012;7(5):35.3671.
15. Paho (Organização Pan-Americana da Saúde). **Leishmanioses: Informe Epidemiológico nas Américas**. Washington DC.: OPAS; 2019. Disponível em: <http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/50505>. Acesso em: 08 mar 2020.
16. Rodrigues O A, Pinheiro GRG, Tinoco HP, Loyola ME, Coelho CM, Dias ES, Monteiro ÉM, de Oliveira Lara E Silva F, Pessanha AT, Souza AGM, Pereira NCL, Gontijo NF, Fujiwara RT, Alves PT, Santos RL. **Competence of non-human primates to transmit Leishmania infantum to the invertebrate vector Lutzomyia longipalpis**. PLoS Negl Trop Dis 2019;13(4):e0007313.
17. Brasil, Ministério da Saúde (2020). **Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS) - Informações de Saúde (TABNET)**. Epidemiologia e Enfermidades. Leishmaniose Visceral (online). Disponível em: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0203&id=29892192&VObj=http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?sinanet/cnv/leishv> Acesso em: 01 de outubro de 2020.
18. Governo da Paraíba. Secretaria de Estado da Saúde. Gerência Executiva de Vigilância em Saúde. **Plano Estadual de Ação para Intensificação da Vigilância e Controle de Leishmaniose Visceral/Secretaria de Estado da Saúde**. Gerência Executiva de Vigilância em Saúde, Gerência Operacional de Vigilância Epidemiológica, Gerência Operacional de Vigilância Ambiental. João Pessoa, 2019. Disponível em:<<https://paraiba.pb.gov.br/diretas/saude/arquivos-1/cib-2019/4-reuniao->

- ordinaria/anexo-resolucao-ndeg-61-plano-estadual-de-lv.pdf . Acesso em: 25 de outubro de 2019.
19. Harhay MO, Olliaro PL, Costa DL, Costa CH. **Urban parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil**. Trends in Parasitology 2011(27):403-409.
 20. Araújo VEM, Pinheiro LC, Almeida MCM, Menezes FC, Moraes MHF, Reis, IA, Assunção RM, Carneiro M. **Relative Risk of Visceral Leishmaniasis in Brazil: A Spatial Analysis in Urban Area**. PLoS Neglected Tropical Diseases, 2013;7(11):2540.
 21. Lara-Silva FO et al. **Epidemiological aspects of vector, parasite, and domestic reservoir in areas of recent transmission and no reported human cases of visceral leishmaniasis in Brazil**. Acta Tropical, 2015;148:128–136.
 22. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.120p.
 23. Fraser D. Understanding animal welfare. **Acta Vet Scand**, 2008;50(1).
 24. Michel G, Pomares C, Ferrua B, Marty P. **Importance of worldwide asymptomatic carries of *Leishmania infantum* (*L. chagasi*) in human**. Acta Tropical 2011;119:69-75.
 25. Boucekoua M, Trabelsi S, Ben-Abdallah T, Khaled S. **Visceral leishmaniasis after kidney transplantation: report of a new case and a review of the literature**. Transplantation Reviews 2014;28(1):32-35.
 26. Griensven JV, Diro E. **Visceral leishmaniasis. Infectious Diseases Clinics of North America** 2012;26:309-322.
 27. Mansueto P, Seidita A, Vitale G, Cascio A. **Transfusion transmitted leishmaniasis. What to do with blood donors from endemic areas?** Travel Medicine and Infectious Disease, 2014;12:617-627.
 28. Fukutani KF, Figueiredo V, Celes FS, Cristal JR, Barral A, Barral-Netto M, de Oliveira CI. **Serological survey of *Leishmania* infection in blood donors in Salvador, Northeastern Brazil**. BMC Infectious Diseases. 2014;30(14):422.

29. Bihl F, Castelli D, Marincola F, Dodd RY, Brander C. **Transfusion-transmitted infections.** Journal of Translational Medicine 2007; 5:25-27.
30. Harmening DM. **Técnicas Modernas em Banco de Sangue e Transusão.** São Paulo: Revinter, 2015.162p.
31. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Manual técnico para investigação da transmissão de doenças pelo sangue** / Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Ministério da Saúde, 2004.
32. Urias EVR, Carvalho SFG, Oliveira CL, Carvalho MLM, Teles LF, Rodrigues MC, Maia CN. **Prevalência de adultos infectados por *Leishmania leishmania chagasi* entre doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil.** *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* 2009;31(5):348-354..
33. Otero AC, Silva VO, Luz KG, Palatnik M, Pirmez C, Fernandes O, *et al.* **Short report: occurrence of leishmania donovani DNA in donated blood from seroreactive Brazilian blood donors.** *Am J Trop Med Hyg.* 2000;62(1):128-31.
34. Monteiro DCS. **Prevalência de Leishmaniose visceral assintomática em doadores de sangue, em área endêmica do Ceará.** 150fl. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2013.
35. Prates DB, Araújo-Santos T, Brodskyn C, Barral-Netto M, Barral A, Borges VM. **New Insights on the Inflammatory Role of *Lutzomyia longipalpis* Saliva in Leishmaniasis.** *Journal of Parasitology Research*, 2012;2012:1-11.
36. Scarlata F, Vitale F, Saporito L, Reale S, Vecchi VL, Giordano S, Infurnari L, Occhipinti F, Titone L. **Asymptomatic *Leishmania infantum/chagasi* infection in blood donors of western Sicily.** *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2008 Apr;102(4):394-6. doi: 10.1016/j.trstmh.2008.01.011. Epub 2008 Mar 5. PMID: 18321542.
37. Huda MM, Rudra S, Ghosh D, Bhaskar KR, Chowdhury R, Dash AP, Bhattacharya SK, Haque R, Mondal D. **Low prevalence of *Leishmania donovani* infection among the blood donors in kalaazar endemic areas of Bangladesh.** *BMC Infectious Diseases.* 2013 Feb 2;13:62. doi: 10.1186/1471-2334-13-62. PMID: 23375008; PMCID: PMC3565955.

38. Riera C et al. **Asymptomatic infection by *Leishmania infantum* cryptic in blood donors from the Balearic Islands (Spain)**. *Transfusion*, 2008;48(7):1383-1389.
39. Le Fichoux Y et al. **Ocorrência de parasitemia por *Leishmania infantum* em doadores de sangue assintomáticos que vivem em uma área de endemidade no sul da França**. *Journal of clinical microbiology* 1999;37(6):1953-1957.
40. França AO, Castro VL, Lima MS Jr, Pontes ER, Dorval ME. **Anti-*Leishmania* antibodies in blood donors from the Midwest region of Brazil**. *Transfusion and Apheresis Science* 2013;49(3):627-30.
41. Oliveira Filho JN. **Anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* como preditivos de infecção de *Leishmania infantum***. [Mestrado] Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociência. Departamento de Bioquímica. Natal, 2013.
42. Moreno E, Melo MN, Antunes CMF, Lambertucci JR, Serufo JC, Andrade-Ribeiro AS et al. **Epidemiologia da Leishmaniose Visceral Humana assintomática em área urbana, Sabará, Minas Gerais, 1998-1999**. *Informe Epidemiológico do SUS* 2002;11:37-9.
43. Brasil. Ministério da Saúde. ***Leishmaniose Visceral: recomendações clínicas para redução da mortalidade***. Brasília: SVS, Departamento de Vigilância Epidemiológica, Série A: Normas e Manuais Técnicos. 2011.106p.
44. Jimenez-Marco T et al. **Transfusion-transmitted leishmaniasis: a practical review**. *Transfusion*, 2016;56:45-51.
45. Srividya G, Kulshrestha A, Singh R, Salotra P. **Diagnosis of visceral leishmaniasis: developments over the last decade**. *Parasitology Research* 2012;110(3):1065-1078.
46. Ruiter CM, Van Der Veer C, Leeflang MMG, Deborggraeve S, Lucas C, Adams ER. **Molecular Tools for Diagnosis of Visceral Leishmaniasis: Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Test Accuracy**. *Journal of Clinical Microbiology* 2014;53(9):3147–3155.
47. Pereira MR et al. Comparison between conventional and real-time PCR assays for diagnosis of visceral leishmaniasis. *BioMed Research International*, 2014(1):1-5.

48. Gontijo CMF, Melo MN. **Leishmaniose visceral no Brasil**. Revista Brasileira de Epidemiologia, 2004;7(3):339-349.
49. Hirata KY, Oliveira EB, Rigon L, Utsunomiya YT, Tomokane TY, Laurenti MD, Marcondes M. (2020). **Exposição a Leishmania spp. infecção e Lutzomyia spp. em indivíduos residentes em área endêmica para leishmaniose visceral no Brasil**. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 53, e20190320. Epub 20 de dezembro de 2019. <https://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0320-2019>

APÊNDICE C- OFÍCIO AO HEMONÚCLEO DE CAJAZEIRAS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Araçatuba



Araçatuba, 4 de fevereiro de 2019.

Prezada Senhora,

Vimos, por meio deste, solicitar de Vossa Senhoria, autorização para realização do projeto de pesquisa intitulado “ **Detecção e avaliação dos níveis séricos de anticorpos contra a *Leishmania infantum chagasi* em doadores de sangue assintomáticos da cidade de Cajazeiras-PB, Brasil.**” Em vista do crescente número de casos de Leishmaniose Visceral Americana e Tegumentar no município de Cajazeiras e região, e da possibilidade de a doença estar sendo subdiagnosticada em seres humanos, o referido estudo tem como objetivo pesquisar a presença de anticorpos anti-*L. infantum chagasi* do parasita no sangue, por meio de ELISA, de doadores cadastrados no referido serviço. Para tanto serão coletadas amostras de sangue de pacientes atendidos entre o período de junho a setembro de 2019, que concordarem em participar do estudo ou até que se atinja um número de 300 pacientes avaliados. Tal projeto será desenvolvido junto à Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP, Campus de Araçatuba, pela Enfermeira Lucienne Formiga Feitosa Berbigier, pós-graduanda do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, sob nossa orientação.

Sendo o que se apresenta no momento, e certos de contar com sua valiosa colaboração, colocamo-nos à disposição para quaisquer esclarecimentos necessários.

Respeitosamente,

Prof. Dr. Wagner Luís Ferreira
Orientador

Ilm^a. Dra. Nuarah Cardoso
Provedora da Administração Geral
Hemonúcleo de Cajazeiras- PB

APÊNDICE D- TERMO DE COMPROMISSO DO PESQUISADOR

TERMO DE COMPROMISSO DO PESQUISADOR

Título do Projeto : **"Detecção e Avaliação dos níveis séricos de anticorpos contra a *Leishmania infantum chagasi* em doadores de sangue assintomáticos da cidade de Cajazeiras-PB, Brasil"**

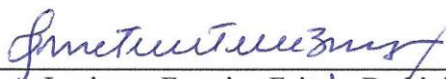
Pesquisadora : Lucienne Formiga Feitosa Berbigier

Local :Cajazeiras-PB

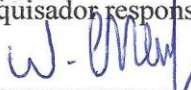
Por meio deste termo de responsabilidade, nós, respectivamente pesquisador e orientador da pesquisa, assumimos cumprir fielmente as diretrizes que norteiam a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde / MS, visando assegurar os direitos e deveres que dizem respeito à comunidade científica, ao(s) participante(s) da pesquisa e ao Estado.

Reafirmamos nossa responsabilidade indelegável e intransferível, mantendo em arquivo todas as informações inerentes a presente pesquisa, respeitando a confiabilidade e sigilo dos dados correspondentes a cada participante por um período de cinco anos após o término desta. Apresentaremos sempre que solicitado pelo CEP-Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos, quaisquer informações sobre a referida pesquisa.

Araçatuba, 07 de fevereiro de 2019.



Lucienne Formiga Feitosa Berbigier
Pesquisador responsável



Orientador
Prof. Dr. Wagner Luis Ferreira

APÊNDICE E – TERMO DE ANUÊNCIA DA DIRETORA DO HEMONÚCLEO



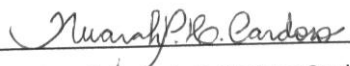
ESTADO DA PARAÍBA
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
HEMONÚCLEO
CAJAZEIRAS-PARAÍB

TERMO DE ANUÊNCIA

Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado” **Detecção e avaliação dos níveis séricos de anticorpos contra a *Leishmania infantum chagasi* em doadores de sangue assintomáticos da cidade de Cajazeiras-PB, Brasil.**”, a ser desenvolvido pela pesquisadora Lucienne Formiga Feitosa Berbigier, sob a coordenação e orientação do Professor Dr. Wagner Luis Ferreira, do Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária-UNESP, Campus Araçatuba-SP, está autorizado para ser realizado neste serviço.

Outrossim, informamos que a referida pesquisa fica condicionada a apresentação da Certidão de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa-CEP, devidamente credenciado junto à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, ao serviço onde será realizada a referida pesquisa.

Cajazeiras, 07 de fevereiro de 2019.


Nuarah Yaponirah Mariano Cardoso
Diretora do Hemonúcleo de Cajazeiras
Mat. 164.609-5

Hemonúcleo de Cajazeiras-PB
Rua José Rodovalho de Alencar, S/N, Centro
CEP- 58.900-000
Fone/Fax (83)3531-5862
E-mail: hemcaj.pb@hotmail.com

ANEXOS

ANEXO A- PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Detecção e Avaliação dos níveis séricos de anticorpos contra a Leishmania infantum chagasi em doadores de sangue assintomáticos da cidade de Cajazeiras-PB, Brasil.

Pesquisador: LUCIENNE FORMIGA FEITOSA BERBIGIER

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 07764919.0.0000.5420

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.209.846

Apresentação do Projeto:

Em vista do crescente número de casos de leishmaniose visceral americana na cidade de Cajazeiras, Paraíba – Brasil, e da possibilidade de a doença estar sendo subdiagnosticada em seres humanos, a presente pesquisa tem como objetivo pesquisar a presença de anticorpos anti-L. infantum chagasi do parasita no sangue, por meio do método de ELISA, de doadores assintomáticos, cadastrados e encaminhados ao hemocentro da cidade de Cajazeiras-PB, considerada como área endêmica para a doença. Para tanto, serão coletadas amostras de sangue de todos os doadores atendidos entre o período de junho a dezembro de 2019 que concordarem em participar do estudo, ou até que se atinja número de 300 pacientes avaliados.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Em vista do crescente número de casos de leishmaniose visceral americana na cidade de Cajazeiras e região, e da possibilidade de a doença estar sendo subdiagnosticada em seres humanos, a presente pesquisa tem como objetivo pesquisar a presença de anticorpos anti-L. Infantum chagasi do parasita no sangue de doadores de sangue encaminhados ao hemocentro de Cajazeiras , área endêmica para a doença

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193

Bairro: VILA MENDONÇA

CEP: 16.015-050

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-3200

Fax: (18)3636-3332

E-mail: andrebertoz@foa.unesp.br

**UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE**



Continuação do Parecer: 3.209.846

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

O referido estudo apresenta riscos mínimos, por ser rotina do serviço, tratar-se de punção venosa, e como desconforto local e hematoma. O procedimento será realizado por profissionais que atuam no serviço: Enfermeira, Bioquímico ou Técnico de

Enfermagem, por sistema a vácuo considerado mais seguro e recomendado, diminuindo o risco de contaminação, com correto manuseio dos materiais e equipamento de proteção individual e coletivo, que são normas e rotinas do serviço.

Benefícios:

Os resultados da Pesquisa nortearão o serviço para implementação de medidas de ações e controle efetivas, de que o conhecimento que será construído possa prevenir problemas que afetem a população, bem como melhor estruturação do serviço, capacitação de Recursos Humanos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A metodologia proposta é capaz de atender os objetivos do estudo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos obrigatórios foram apresentados.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não havendo pendências, propõe a aprovação do projeto de pesquisa pelo CEP.

Considerações Finais a critério do CEP:

Não havendo pendências, o CEP propõe a aprovação do projeto de pesquisa salientando que, de acordo com a Resolução 466 CNS de 12/12/2012 (título X, seção X.1., art. 3, item b, e, título XI, seção XI.2., item d), há necessidade de apresentação de relatórios semestrais, devendo o primeiro relatório ser enviado até 01/09/2019. O CEP reitera a necessidade de entrega de uma via (não cópia) do TCLE ao sujeito participante da pesquisa e solicita ao pesquisador responsável leitura da carta circular 003/2011 CONEP/CNS antes do início do projeto.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P	12/03/2019		Aceito

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193

Bairro: VILA MENDONÇA

CEP: 16.015-050

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-3200

Fax: (18)3636-3332

E-mail: andrebertoz@foa.unesp.br

**UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE**



Continuação do Parecer: 3.209.846

Básicas do Projeto	ETO_1294878.pdf	09:43:40		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMODEASSENTIMENTODOMENOR.doc	12/03/2019 09:42:58	LUCIENNE FORMIGA FEITOSA BERBIGIER	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMAATIVIDADESATUALIZADOMARCO.doc	01/03/2019 11:28:26	LUCIENNE FORMIGA FEITOSA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLECOMTOPICOSFEV.docx	01/03/2019 11:25:13	LUCIENNE FORMIGA FEITOSA BERBIGIER	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.docx	12/02/2019 17:31:49	LUCIENNE FORMIGA FEITOSA BERBIGIER	Aceito
Outros	TERMOANUENCIADIRETORA.docx	12/02/2019 17:27:32	LUCIENNE FORMIGA FEITOSA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TCOMPROMISSO.pdf	12/02/2019 17:24:34	LUCIENNE FORMIGA FEITOSA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	TERMODERESPONSABILIDADEHEMONUCLEO.doc	12/02/2019 17:23:56	LUCIENNE FORMIGA FEITOSA BERBIGIER	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.doc	12/02/2019 17:21:18	LUCIENNE FORMIGA FEITOSA	Aceito
Folha de Rosto	FOLHADEROSTO.pdf	12/02/2019 15:12:37	LUCIENNE FORMIGA FEITOSA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ARACATUBA, 20 de Março de 2019

Assinado por:
Aldiéris Alves Pesqueira
(Coordenador(a))

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193

Bairro: VILA MENDONÇA

CEP: 16.015-050

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-3200

Fax: (18)3636-3332

E-mail: andrebertoz@foa.unesp.br

ANEXO B – NORMAS DA REVISTA



Instituto de Medicina Tropical Universidade de São Paulo

Escopo e política

A Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (Instituto Paulista de Medicina Tropical) é uma revista que se dedica à pesquisa sobre diferentes aspectos das doenças infecciosas tropicais. **A revista acolhe trabalhos originais sobre todas as doenças infecciosas, desde que os dados e resultados estejam diretamente ligados à saúde humana.**

A Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo segue as diretrizes do Comitê de Ética em Publicações (COPE), e todas as submissões são analisadas na chegada pelo software anti-plágio iThenticate.

A revista publica, além de artigos originais, artigos de revisão, relatos de casos, comunicações breves e cartas ao editor. **A revista publica manuscritos apenas em inglês.**

A partir de 2016, a **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo** é publicada apenas online, mantendo o acesso gratuito.

Os manuscritos devem ser submetidos apenas em inglês, **por isso recomendamos fortemente que autores com inglês como língua estrangeira tenham seus manuscritos verificados por um cientista que tenha o inglês como primeira língua ou de preferência por uma das empresas especializadas sugeridas:**

American Journal Experts:

<http://www.journalexperts.com/>

Serviço de edição do Nature Publishing Group:

<https://languageediting.nature.com/>

autoreserv:

<http://www.authorserv.com/>

Edição e revisão de linguagem abrangente:

www.comprehensiveproof.com/index.htm

O recebimento de um manuscrito com o uso do inglês considerado impróprio pode levar à devolução do artigo aos autores antes mesmo do início do processo de revisão.

Em 2016, a **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo** estabeleceu uma taxa por artigo publicado. A partir de janeiro de 2016, todos os artigos submetidos serão cobrados caso sejam aceitos para publicação.

Essas taxas de publicação complementarão o financiamento público da Universidade de São Paulo e outras doações de agências de fomento federais. Esse suporte adicional é essencial para garantir a qualidade, o incremento do fator de impacto da revista e do número de citações, a manutenção do sistema eletrônico de submissão e revisão de manuscritos, a revisão do estilo inglês e de questões gramaticais.

As taxas serão de US \$ 400 para artigos originais e revisões; e de US \$ 250 para relatos de casos, relatórios técnicos, comunicações breves e cartas ao editor, desde que o número de páginas esteja de acordo com o tipo de artigo. Somente para brasileiros as taxas serão de R \$ 1.500,00 para artigos originais e resenhas; e de R \$ 1.000,00 para relatos de casos, comunicações breves e cartas ao editor. Uma vez aprovado o manuscrito, o autor para correspondência receberá as instruções para o pagamento da taxa de publicação. A partir daí, o autor para correspondência receberá o comprovante de pagamento para poder solicitar o reembolso das agências de fomento.

Todos os tipos de manuscritos devem ser enviados à **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo** e serão **avaliados por pares, por dois a quatro revisores do Conselho Editorial e / ou pareceristas ad hoc**.

A decisão de aceitação para publicação é dos Editores e baseia-se principalmente nas recomendações desses revisores.

Uma carta de apresentação informando os seguintes itens deve ser enviada ao Escritório Editorial: 1) O manuscrito e todas as partes dele não foram submetidos a outro lugar; 2) Não há relações financeiras ou outras de qualquer dos autores do manuscrito que possam levar a qualquer conflito de interesses; 3) O manuscrito submetido foi lido cuidadosamente por todos os autores. Todos os autores concordam que o manuscrito representa seu trabalho. 4) Descreva as fontes de financiamento que apoiaram o trabalho. Descreva também o papel do (s) patrocinador (es) do estudo, se houver, no desenho do estudo; coleta, análise e interpretação dos dados; redação do artigo; e decisão de submetê-lo para publicação; 5) O autor para correspondência será responsável pela comunicação com os demais autores sobre as revisões e aprovação final do artigo. Os manuscritos serão recebidos apenas por meio de submissão online em: <http://mc04.manuscriptcentral.com/rimtsp-scielo>.

No mesmo site os autores podem verificar o status da submissão a qualquer momento. O arquivo eletrônico será utilizado para avaliação editorial e

arbitragem online, e as decisões editoriais sobre o manuscrito serão comunicadas ao autor para correspondência. **Apenas o autor para correspondência será contactado e sempre por e-mail, por isso certifique-se de designar um autor que verifique com frequência a conta de e-mail.**

Os autores podem sugerir revisores em potencial para seu trabalho, desde que forneçam o endereço de e-mail e a filiação de cada cientista proposto. Por favor, não sugira cientistas da mesma afiliação dos autores.

Forma e preparação de manuscritos

Tipos de artigos:

Artigos Originais: O texto deve conter no máximo 6.000 palavras, incluindo resumo e referências. O corpo do manuscrito deve ser precedido por um resumo não estruturado (sem subtítulos), com no máximo 500 palavras. Em seguida, os autores devem prosseguir para as seções de Introdução, Material e Métodos (contendo a aprovação ética da pesquisa) Resultados, Discussão, Agradecimentos e Referências (limitado a 40). As páginas devem ser numeradas consecutivamente em algarismos arábicos. As tabelas e figuras devem ser referenciadas no texto. As tabelas e figuras devem ser numeradas e conter um breve título específico. Figuras como desenhos, mapas, fotografias, fotomicrografias ou micrografias eletrônicas devem ser planejadas para se adequar ao tamanho de uma coluna de uma ou duas páginas. Figuras em preto e branco ou coloridas devem ser enviadas em formato TIF, em alta resolução (1.200 DPI).

Artigos de Revisão: Devem ser apresentados no mesmo formato dos artigos originais. **Os artigos de revisão** destinam-se a pesquisadores especialistas em um determinado campo e que fizeram contribuições substanciais para essa área específica do conhecimento. Este tipo de manuscrito deve focar na descrição do estado da arte, destacando os principais avanços a respeito do assunto. O número de referências é limitado a 60.

Comunicações breves, relatos de casos e cartas ao editor: devem relatar novas observações de importância médica crítica. **As comunicações breves** devem seguir o mesmo formato dos artigos originais, não ultrapassando 2.500 palavras. **Os Relatos de Caso** devem enfatizar os achados clínicos e laboratoriais, resumindo a introdução, limitando a discussão ao essencial, chamando a atenção para novidades quanto ao diagnóstico, tratamento, evolução dos pacientes, não ultrapassando 2.000 palavras. **As cartas ao Editor** devem informar, desde o início, porque o assunto merece este tipo de publicação, destacando os aspectos inovadores alcançados pela pesquisa, não ultrapassando 1.500 palavras. Nessas categorias de manuscritos (**Comunicações Breves, Relatos de Casos e Cartas ao Editor**), o número de referências é limitado a 20, e os anexos, que podem ser figuras (fotografias, mapas, gráficos, etc.) ou tabelas, não devem exceder 3 (soma de figuras e tabelas).

Agradecimentos: devem ser breves e não devem incluir agradecimentos a revisores e editores anônimos ou comentários efusivos. As organizações privadas ou governamentais que forneceram apoio financeiro para a pesquisa devem ser mencionadas, juntamente com os números das bolsas ou contribuições e o prazo de validade.

Contribuições dos autores: A **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo** incentiva os autores a incluírem uma declaração especificando as contribuições individuais de cada coautor.

Como os revisores da **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo** trabalham às cegas, os **Agradecimentos** e as **Contribuições dos Autores** não devem ser incluídos no texto principal do manuscrito, mas sim na página de rosto. Esta afirmação será incluída no corpo do texto na versão final do artigo.

Referências:

A lista de referências, incluindo apenas aquelas efetivamente mencionadas no texto ou tabelas, **deve estar no formato Vancouver, listada na ordem da citação no texto** e numerada consecutivamente em algarismos arábicos seguidos de um ponto. **As citações no texto devem ser em formato sobrescrito, apenas os números sem parênteses.**

Ex. tem sido amplamente aplicado na prática clínica 12

Ex: de acordo com o protocolo utilizado por Silva et al.21

As referências devem ser formatadas da seguinte forma:

a) **Artigos de periódicos:** Sobrenomes e iniciais (apenas as duas primeiras iniciais) de todos os autores (a menos que sejam mais de seis, quando apenas os seis primeiros devem ser indicados seguidos de et al.), título completo do artigo, título do periódico (as abreviações dos títulos da NLM podem ser encontradas em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>), o ano de publicação, o número do volume, os números da primeira e da última página.

Ex .: Velho PE, Faria AV, Cintra ML, Souza EM, Moraes AM. Larva migrans: relato de caso e revisão. Rev Inst Med Trop São Paulo. 2003; 45: 167-71.

Ex .: Costa E, Lopes AA, Sacramento E, Costa YA, Matos ED, Lopes MB, et al. Penicilina na fase tardia da leptospirose: um ensaio clínico randomizado. Rev Inst Med Trop São Paulo. 2003; 45: 141-5.

b) **Livros:** Sobrenomes e iniciais de todos os autores, título completo do livro, edição, local de publicação, editora e ano.

Ex .: Lewin JK. Genes e vírus. 2ª ed. Boston: Jones e Bartlett; 2008

c) **Capítulo do livro:** Sobrenomes e iniciais de todos os autores do capítulo, título completo do capítulo, sobrenomes e iniciais de todos os autores do livro, título completo do livro, edição, local de publicação, editora, ano, as páginas do capítulo.

Ex.: Ferreira HO. Doença de Chagas. In: Farhat CF, Carvalho ES, Carvalho LH, Succi RC, editores. Infectologia pediátrica. São Paulo: Atheneu; 1998. p. 531-7.

d) **Sites:** Nome da organização, título completo do documento citado, local de publicação (se disponível), Editora (se disponível), ano (se disponível), data de citação, URL do documento preciso citado (não o URL da organização)

Ex.: Organização Mundial da Saúde. Eliminação da hanseníase. Genebra: OMS; 2014 [citado em 15 de dezembro de 2014]. Disponível em: http://www.who.int/lep/situation/new_cases/en/

Ex.: Brasil. Ministério da Saúde. Malária. Brasília: Ministério da Saúde; 2015. [citado em 05 de novembro de 2015]. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/malaria>

e) **Tese:** A Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo não aceitará a citação de tese de mestrado, tese de doutorado ou trabalho semelhante.

f) **Softwares:** Os softwares utilizados não devem originar referências, mas ser citados no texto como equipamentos:

Ex: O software estatístico SPSS (versão 16.0, SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) foi utilizado para todos os cálculos.

Diretrizes Éticas:

Os artigos devem declarar na seção Material e Métodos que: 1) o consentimento informado foi obtido de todos os participantes humanos adultos e dos pais ou responsáveis legais de menores, juntamente com o consentimento aprovado da Comissão de Ética 2) um termo de consentimento foi aplicado aos participantes do estudo em no caso de crianças maiores de sete anos e adolescentes além do consentimento obtido dos pais ou responsáveis legais de menores juntamente com o consentimento aprovado da Comissão de Ética 3) a manutenção de animais de experimentação obedece às diretrizes de uso de animais de laboratório vigentes em o país.

Números:

Os números que começam uma frase ou aqueles que são menores do que 10 devem ser escritos com letras. Séculos e décadas devem ser explicados, por ex. os anos oitenta ou século XIX. Parâmetros laboratoriais, tempo, temperatura, comprimento, área, massa e volume devem ser expressos em dígitos.

Unidades:

Deve ser usado o International Unit System, com exceção dos valores de pressão arterial que devem ser relatados em mmHg. Use o sistema métrico para a expressão de comprimento, área, massa e volume. As temperaturas devem ser fornecidas em graus Celsius.

Dispositivos e equipamentos:

A seção Materiais e Métodos deve incluir informações técnicas suficientes para permitir a repetição dos experimentos. As fontes de todas as mídias (ou seja, nome e localização do fabricante) ou componentes de uma nova formulação devem ser fornecidas.

Quando as condições de centrifugação forem mencionadas, forneça informações suficientes para permitir que outro investigador repita o procedimento: marca da centrífuga (fabricante), modelo do equipamento e modelo do rotor, temperatura, tempo na velocidade máxima e força centrífuga (X g ao invés do que revoluções por minuto).

Para dispositivos e outros produtos, a marca ou nome comercial específico, o fabricante e sua localização (cidade, estado, país) devem ser fornecidos na primeira vez que o dispositivo ou produto for mencionado no texto. Depois disso, o termo genérico (se apropriado) deve ser usado.

Ex: QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN Inc., Hilden, FL, EUA).

Nomes e identificação de medicamentos e outros produtos:

Os autores são solicitados a usar o Nome Não-Proprietário Internacional Recomendado (rINN) para substâncias medicinais, a menos que o nome comercial específico de um medicamento seja realmente relevante para a discussão. Os nomes dos medicamentos genéricos devem aparecer em letras minúsculas no texto. Se um medicamento patenteado específico precisar ser identificado, o nome da marca pode aparecer apenas uma vez no manuscrito entre parênteses após o nome genérico na primeira vez que o medicamento é mencionado no texto.

A descrição dos novos métodos deve ser completa e fornecer fontes de produtos químicos, reagentes, equipamentos ou cepas microbianas incomuns. Quando um grande número de cepas microbianas ou mutantes são usados em um estudo, os autores são solicitados a incluir tabelas que identificam as fontes imediatas (ou seja, fontes de quem as cepas foram obtidas) e propriedades das cepas, mutantes, bacteriófagos e plasmídeos, etc.

Identificação do paciente:

O consentimento informado não é necessário se o paciente não puder ser identificado em nenhum material do manuscrito. Na ausência do consentimento informado, detalhes de identificação, como iniciais do paciente, datas

específicas, exposições geográficas específicas ou outras características de identificação (incluindo características corporais nas figuras), devem ser omitidos, mas isso não deve alterar o significado científico.

Informações importantes que são relevantes para o significado científico devem ser declaradas de forma que o paciente não possa ser identificado, por exemplo, informando uma estação do ano em vez de uma data, ou uma região em vez de uma cidade.

Se um paciente puder ser identificado a partir do material de um manuscrito, o consentimento informado é necessário. Pode ser obtido junto do (s) paciente (s) ou de seus pais / responsáveis legais no caso de menores.

Para crianças de sete anos ou mais, além do consentimento informado dos pais / responsáveis legais, um consentimento informado da criança deve ser fornecido.

O consentimento informado requer que o paciente tenha tido a oportunidade de ver e aprovar o manuscrito antes da submissão. O consentimento informado por escrito deve declarar que o paciente viu e aprovou o manuscrito completo ou que o paciente se recusa a fazê-lo.

O consentimento do paciente deve ser anexado como um arquivo adicional no momento da submissão do manuscrito. Uma declaração atestando o recebimento e arquivamento do consentimento por escrito do paciente deve ser incluída no artigo publicado.

Ensaaios clínicos controlados randomizados e ensaios clínicos:

A **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo** apóia a política de registro de Ensaaios Clínicos emitida pela OMS e pelo Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (ICMJE) reconhecendo a importância, em acesso aberto, dessas iniciativas para o registro e conhecimento internacional das informações sobre estudos clínicos. Dessa forma, a partir de 2007, serão aceitos apenas trabalhos de pesquisa clínica que tratem dessas questões com número de identificação fornecido por um dos ensaios clínicos validados por critérios estabelecidos pela OMS e ICMJE. Os endereços podem ser encontrados no site do ICMJE (<http://www.icmje.org>). **O número de registro do ensaio deve ser escrito no final do resumo.**

Envio de manuscritos:

Os manuscritos serão recebidos apenas por meio de submissão on-line em: <http://mc04.manuscriptcentral.com/rimtsp-scielo>, onde os autores poderão verificar o status da submissão a qualquer momento. O arquivo eletrônico será usado para avaliação editorial e arbitragem online, e as decisões editoriais sobre o manuscrito serão comunicadas aos correspondentes.

ANEXO C- QUESTIONÁRIO DA TRIAGEM CLÍNICA

 HEMONÚCLEO DE CAJAZEIRAS Rua: José Rodolfo de Alencar - s/nº - Centro CEP: 58.900-000 - CAJAZEIRAS - PB Fone/Fax: (0XX-53)3631-6862 e-mail: hemocaj.pb@hotmail.com	QUESTIONÁRIO DA TRIAGEM CLÍNICA	PO CZ 01.03.02 NA
--	--	--

QUESTIONÁRIO DA TRIAGEM CLÍNICA – HemoVIDA	
01	Você está bem de saúde hoje? Sim () Não ()
02	Ingeriu bebida alcoólica há 12 horas? Sim () Não ()
03	Fumou há 2 horas? Sim () Não ()
04	Alimentou-se hoje? Sim () Não () Há quanto tempo? _____
05	Repousou bem à noite? Sim () Não ()
06	Já doou sangue? Sim () Não () Quando? _____ Quantas vezes? _____ Onde? _____
07	Teve algum problema nas doações anteriores? Sim () Não () O que? _____
08	Foi recusado como doador? Sim () Não () Motivo: _____ Quando? _____
09	Recebeu sangue ou derivados nos últimos 12 meses? Sim () Não () Há quanto tempo? _____
10	Estás com IVAS? Sim () Não ()
11	Está alérgico? Sim () Não ()
12	Fez qualquer tipo de tratamento dentário ? Sim () Não () Há quanto tempo? _____
13	Recebeu alguma vacina recentemente? Sim () Não () Qual? _____ Quando? _____
14	Sofreu algum tipo de cirurgia? Sim () Não () Qual? _____ Há quanto tempo? _____
15	Esteve hospitalizado nos últimos 12 meses? Sim () Não () Motivo? _____
16	Fez exame de endoscopia/colonoscopia ou outro procedimento invasivo nos últimos 6 meses? ? Sim () Não () Qual? _____
17	Toma medicamento regularmente? Sim () Não () Qual? _____
18	Tomou antibiótico há 30 dias? Sim () Não () Qual? _____
19	Usou AINE há 3 dias? Sim () Não ()
20	Fez Acupuntura, tatuagem, eletrólise, maquiagem definitiva e/ou piercing? Sim () Não () Qual? _____ Quanto Tempo? _____
21	Teve perda de peso; diarreia; febre persistente; suores noturnos; gânglios; lesões no corpo e/ ou boca há 01 ano? Sim () Não () Qual? _____
22	Teve hepatite após 11 anos de idade ou contato com sangue, secreção ou relação sexual com portadores de hepatite? Sim () Não ()
23	Troca frequentemente de parceiros (as) sexuais? Sim () Não ()
24	Qual o nº de parceiros(as) sexuais no último ano? _____ Com preservativo? Sim () Não ()
25	Teve contato sexual com um ou mais parceiro (a) não habitual ou desconhecido ou seus respectivos sexuais há 12 meses? Sim () Não ()
26	Teve contatos sexuais com garotos (as) de programa? E seu parceiro sexual ? Sim () Não ()

27	Teve contato sexual com alguém portador de hepatite, HIV ou outra infecção de transmissão sexual e sanguínea? Sim () Não () Quando? _____
28	Teve contato sexual com alguém, ou seu parceiro (a) com comportamento de risco para doenças sexualmente transmissíveis? Sim () Não () Quando? _____ Tipo de Doença: _____
29	Teve relações homossexuais e /ou seus parceiros sexuais? Sim () Não ()
30	Deu ou recebeu dinheiro ou drogas para manter relações sexuais? Sim () Não ()
31	Teve contato sexual com parceiro que recebeu transfusão? Sim () Não () Quando: _____
32	Teve contato sexual com parceiro que faz hemodiálise? Sim () Não () Quando: _____
33	Morou na Europa por 5 anos ou mais, após 1980 até os dias atuais? Sim () Não ()
34	Morou ou permaneceu no Reino Unido ou/República da Irlanda por mais de 3 meses após ano de 1980 até 31/12/96? Sim () Não ()
35	Recebeu transfusão de sangue ou seus componente no reino Unido após 1980? Sim () Não ()
36	Veio doar sangue para fazer o teste de Aids? Sim () Não ()
37	Viajou por região de malária nos últimos 6 meses? Sim () Não ()
38	Recebeu transplante de córnea ou implante de material biológico à base de duramáter? Sim () Não ()
39	Fez uso de hormônio do crescimento? Sim () Não ()
40	Já usou algum tipo de droga? Já compartilhou seringa? Sim () Não () Qual: _____
41	Esteve internado em confinamento obrigatório? Sim () Não () Por quanto tempo? _____
42	Está gestante? Sim () Não ()
43	Teve parto há 3 meses? Sim () Não ()
44	Teve aborto há 3 meses? Sim () Não ()
45	Tem história familiar de encefalopatia espongiforme humana, ou teve diagnóstico da doença? Sim () Não ()
46	Foi vítima de violência sexual ou seu respectivo parceiro sexual nos últimos 12 meses? Sim () Não ()
47	Sofreu acidente com material biológico e em consequência apresentou contato de mucosa e/ou pele não íntegra com o referido material biológico? Sim () Não ()
48	Tem ou teve alguma das doenças abaixo? AIDS () Herpes labial () Sífilis () HPV () Trichomonas Vaginalis () Gonorréia () Problema hepático () Blenorragia () Hipertensão () Problema pulmonar () Câncer () Hipotensão () Problema renal () Convulsão () Malária () Hipertireoidismo () Reumatismo () Diabetes () Hipotireoidismo () Sangramento () Chagas () Lepra () Febre amarela () Micoses () Herpes genital () Problema cardíaco () Hepatite () TBC () Dengue () Zika () Chikungunya () Outras: _____
49	Você tem ou teve algum outro problema de saúde que não tenha sido perguntado? Sim () Não () Qual: _____