



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA
MESTRADO EM FARMACOLOGIA CLÍNICA**

HUMBERTO FEITOSA PEREIRA

**CORRELAÇÃO ENTRE AS MANIFESTAÇÕES HEMATOLÓGICAS NA
MEDULA ÓSSEA E NO SANGUE PERIFÉRICO DE PACIENTES COM
LEISHMANIOSE VISCERAL**

**FORTALEZA
2015**

HUMBERTO FEITOSA PEREIRA

**CORRELAÇÃO ENTRE AS MANIFESTAÇÕES HEMATOLÓGICAS NA
MEDULA ÓSSEA E NO SANGUE PERIFÉRICO DE PACIENTES COM
LEISHMANIOSE VISCERAL**

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado em Farmacologia Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Farmacologia Clínica.

**Orientador: Prof. Dr. Manuel Odorico de Moraes Filho
Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Henrique Nery Costa**

**FORTALEZA
2015**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

-
- P489c Pereira, Humberto Feitosa.
 Correlação entre as manifestações hematológicas na medula óssea e no sangue periférico de pacientes com leishmaniose visceral / Humberto Feitosa Pereira. – 2015. 55 f. : il. color.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Mestrado em Farmacologia, Fortaleza, 2015.
 Área de Concentração:Farmacologia.
 Orientação: Prof. Dr. Manuel Odorico de Moraes Filho.
 Coorientação: Prof. Dr. Carlos Henrique Nery Costa.
1. Leishmaniose. 2. Medula Óssea. 3. Leishmaniose Visceral. I. Título.

CDD 616.9364

HUMBERTO FEITOSA PEREIRA

**CORRELAÇÃO ENTRE AS MANIFESTAÇÕES HEMATOLÓGICAS NA
MEDULA ÓSSEA E NO SANGUE PERIFÉRICO DE PACIENTES COM
LEISHMANIOSE VISCERAL**

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado em Farmacologia Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Farmacologia Clínica.

Aprovada em: ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes Filho

Prof. Dra. Gisela Costa Camarão

Prof. Dra. Andrea Vieira Pontes

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, o Grande Arquiteto do Universo, que em todos os dias da minha vida me deu forças para nunca desistir.

Aos meus pais e familiares sejam *in memoriam* ou ainda presentes em nosso convívio, que estiveram direta ou indiretamente envolvidos quando da elaboração deste trabalho, pelo incentivo, tolerância e respeito aos momentos de estudo.

À minha esposa Simone, meus filhos Luiz Humberto, Andreza, Nathalya e Priscylla por entenderem dos momentos em que foram privados de minha companhia.

Ao meu co-orientador Professor Dr. Carlos Henrique Nery Costa, pelo seu apoio e amizade, além da dedicação, competência e especial atenção nas revisões e sugestões, fatores fundamentais para a conclusão deste trabalho.

À Dra. Dorcas Lamonier que pelo seu caráter construtor e educativo, como pesquisadora, pela sua capacidade técnica e ética, como pessoa humana e sensível que me fez trilhar este caminho de glória.

A todos os professores do curso de Mestrado em Farmacologia Clínica pela transmissão dos conhecimentos necessários ao meu crescimento intelectual e profissional.

A todos os colegas do mestrado em Farmacologia Clínica da Universidade Federal do Ceará, que sempre deram o incentivo necessário e fundamental para a concretização deste ideal.

Aos colegas/amigos do LabLeish – Laboratório de pesquisa em leishmaniose, especialmente ao Dr. Mauro Biá, Dr. Vladimir Costa Silva, Dr. Adeno Oliveira, Dr. Gabriel Reis, Dra. Daniela Zacarias, etc

Aos colegas de profissão e amigos Dr. Francisberg Dias Coelho pelo apoio e orientação na leitura das lâminas e ao Dr. João Batista Teles na realização dos testes estatísticos tão necessários à consolidação dos resultados.

A todas as pessoas que contribuíram de uma forma ou de outra para a realização deste trabalho.

“Bom mesmo é ir à luta com determinação.
Abraçar a vida com paixão.
Perder com classe e vencer com ousadia.
Pois o triunfo pertence a quem se atreve...
E a vida é muito para ser insignificante.”

Charles Chaplin

RESUMO

Introdução: A leishmaniose visceral (LV) ou calazar é uma zoonose com ampla distribuição, atingindo cerca de 88 países com 500.000 casos novos por ano. No Piauí, o Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela – IDTNP localizado em Teresina é o hospital de referência para esta doença. **Objetivos:** Nesse estudo, procurou-se identificar as alterações hematológicas e a ocorrência de possíveis correlações entre a medula óssea e o sangue periférico de pacientes com leishmaniose visceral, visando contribuir para a definição de novas condutas médicas e terapêuticas. **Material e Métodos:** Foi realizado estudo quantitativo transversal em 62 pacientes diagnosticados com LV, no período de outubro de 2007 a janeiro de 2008, no IDTNP. Após anamnese foram solicitados testes laboratoriais (hemograma, RIFI, esfregaços de medula óssea e/ou cultura) para comprovação da patologia. Após confirmação da doença, entrevistava-se o paciente ou seu responsável legal, sobre os objetivos da pesquisa, solicitando-se então a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Para análise dos dados foram elaboradas tabelas específicas no Microsoft excel, com posterior análises estatísticas pelo Biostat5.3 e SPSS 20. **Resultados:** Os pacientes eram provenientes de três estados: Piauí com 37 (59,7%), Maranhão com 22 (35,5%) e Pará com 3 (4,8%) ($p < 0,0001$). A idade variou de 10 meses a 70 anos, sendo 18 (29,1%) do sexo feminino e 44 (70,9%) do sexo masculino ($p = 0,0005$). A positividade foi constatada através de um dos três métodos laboratoriais (RIFI, MO e cultura), sendo que 41 (66,1%) ($p < 0,0001$) foram positivos nos três métodos utilizados. As análises hematológicas realizadas em esfregaços sanguíneos e no Celldyn, demonstraram que, na série branca, 1/62 (1,6%) paciente apresentava leucocitose, 12/62(19,4%) estavam dentro dos parâmetros considerados normais e 49/62(79,0%) apresentavam leucopenia. Quanto à contagem específica, observou-se que: 4 (6,4%) tinham neutrófilos em níveis considerados normais e 58 (93,6%) com neutropenia; linfócitos: 6 (9,7%) apresentavam linfocitose, 36 (58,1%) linfopenia e 20 (32,2%) normais. A atipia linfocitária foi observada em 17 (27,4%) ($p < 0,0001$) pacientes e alcançou diferentes níveis: acentuada: 3/17 (17,6%) pacientes, moderada: 13/17 (76,5%) e discreta: 1/17(5,9%). Na série vermelha, apenas 1 (1,6%) paciente tinha níveis

considerados normais de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito; os demais 61 (98,4%) apresentavam níveis baixos, com hipocromia, anisocitose, microcitose e macrocitose em diferentes graus. Constatou-se ainda a ocorrência de um paciente com poiquilocitose, um com pecilocitose, dois com policromatofilia e um com 8% de eritroblastos. Na série plaquetária observou-se que 38 (61,3%) pacientes tinham trombocitopenia e em 24 (38,7%) os níveis estavam normais. Aspirados de medula óssea foram realizados em todos os participantes da pesquisa para fins de diagnóstico. Em apenas 15 (24,0%) não foi encontrado o parasito (*leishmania sp.*), seja pela pesquisa direta, seja pela cultura em meios apropriados. Foi realizada leitura em 40 (65,0%) ($p = 0,0234$) lâminas de esfregaço de medula óssea, onde se observou que três apresentavam-se normocelulares e com normoplasiamegacariocítica. Quanto à celularidade global, 21 (52,5%) pacientes estavam hipocelular, 13 (32,5%) normocelular e 6 (15,0%) hiper celular, enquanto que da série megacariocítica, 28 (70,0%) apresentavam hipoplasia, 8 (20,0%) normoplasia e 4 (10,0%) hiperplasia. Na relação mielóide/eritróide, observou-se a ocorrência de inversão em 7 (17,5%) casos ($p < 0,0001$). Valores menores que 2/1 foram registrados em 10 (25,0%) pacientes, enquanto que 18 (45,0%) estavam dentro da faixa de referência (2/1 a 4/1) e 5 (12,5%), estavam acima desse valor (4/1). **Conclusão:** A pesquisa demonstrou que as alterações hematológicas são comuns em pacientes com leishmaniose visceral e envolvem uma pancitopenia complexa e multifatorial. A anemia é do tipo hipocrômica e microcítica e embora haja correlações positivas entre as alterações ocorridas na medula óssea e no sangue periférico, neste estudo não se observou significância estatística entre estas correlações.

Palavras-chave: Leishmaniose. Alterações hematológicas. Correlação. Medula óssea. Sangue periférico. Calazar.

ABSTRACT

Correlation between the events hematologic manifestation in bone marrow and peripheral blood of patients with visceral leishmaniasis

Introduction: visceral leishmaniasis (VL) or Kala Azar is a zoonosis with wide distribution, reaching about 88 countries with 500,000 new cases per year. In Piauí, the Institute of Tropical Diseases NatanPortela-IDTNP located in Teresina is the referral hospital for the disease. Objectives: This study sought to identify the hematologic changes and the occurrence of possible correlations between the bone marrow and the peripheral blood of patients with visceral leishmaniasis, in order to contribute to the definition of new medical and therapeutic pipelines. Material and methods: quantitative study was carried out in 62 patients diagnosed with transverse LV, in the period October 2007 to January 2008, in IDTNP. After anamnesis were requested laboratory tests (CBC, RIFI, bone marrow smears eos) for attestation of pathology. After confirmation of the disease, interviewed the patient or his legal guardian, on the objectives of the survey, requesting the signature of informed consent. For data analysis were elaborated specific tables in Microsoft excel, with subsequent statistical analysis by Biostat 5.3 and 20 SPSS. Results: patients came from three States: Piauí with 37 (59.7), with 22 (35.5) and Stop with 3 (4.8) (p 0.0001). The age ranged from 10 months to 70 years, being 18 (29.1) female and 44 (70.9) male (p 0.0005). The positivity was established through one of three laboratory methods (RIFI, MO and culture), and 41 (66.1) (p 0.0001) were positive in the three methods used. Hematologic analyses performed on blood smears and Cell dyn, demonstrated that, on white series, 162 (1.6) patient presented Leukocytosis, 1262 (19.4) were within the parameters considered normal and 4962 (79.0) had leukopenia. As the count specifies, it was observed that: 4 (6.4) had levels considered normal neutrophil and 58 (93.6) with neutropenia; lymphocytes: 6 (9.7) presented Lymphocytosis, 36 (58.1) lymphopenia and 20 (32.2) normal. The lymphocyte atypia was observed in 17 (27.4) (p 0.0001) patients and reached different levels: sharp: 317 (17.6) patients moderate: 1317 (76.5) and discreet: 117 (5.9). In the Red series, only 1 (1.6) patient had normal levels of red blood cells, hemoglobin and hematocrit; the remaining 61 (98.4) presented low levels, with hipocromia, anisocytosis,

microcytosis and macrocytosis in varying degrees. It was noted even the occurrence of a patient with poikilocytosis, with refers, two policromatofilia and one with 8 of eritroblastos. In platelet series noted that 38 (61.3) patients had thrombocytopenia and 24 (38.7) levels were normal. Bone marrow aspirates were performed on all survey respondents for diagnostic purposes. In just 15 (24.0) not found the parasite (*leishmania* sp.), either by direct search, is the culture in appropriate media. Reading was held in 40 (65.0) (p 0.0234) blades of bone marrow smear, where he noted that three were normocelulares and normoplasiamegacariocítica. As for global cellularity 21 (52.5) patients were hypocellular, 13 (32.5) normocelular and 6 (15.0) hypercellular, while megacariocítica series, 28 (70.0) showed hypoplasia, 8 (20.0) normoplasia and 4 (10.0) enlarged. In the mielóideeritróide relationship, the occurrence of inversion in 7 (17.5) cases (p 0.0001). Values less than 21 were recorded on 10 (25.0) patients, while 18 (45.0) were within the reference range (21 to 41) and 5 (12.5), were above this value (41). Conclusion: the research demonstrated that the hematological changes are common in patients with visceral leishmaniasis and involve a complex and multifactorial pancytopenia. Anemia hypochromic microcytic and type is and although there are positive correlations between the changes in the bone marrow and peripheral blood, in this study, statistical significance was not observed among these correlations.

Keywords: Leishmaniasis. Hematologicas changes. Correlation. Bone marrow. Peripheral blood. Calazar.

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Número de pacientes com LV atendidos no IDTNP, por estado de procedência no período de out/07 a jan/08 32
- Gráfico 2 – Positividade por método de pesquisa de LV em pacientes atendidos no período de out/07 a jan08 33
- Gráfico 3 – Distribuição por faixa etária e sexo dos portadores de LV no IDTNP – out/07 a jan/08 34
- Gráfico 4 – Frequência da celularidade global e setorial do aspirado de MO em pacientes atendidos com LV no IDTNP – out/07 a jan/08 42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de referência para os leucócitos em sangue periférico	26
Tabela 2 – Valores de referência para a série vermelha no sangue periférico	26
Tabela 3 – Valores de referência para os precursores das séries branca, vermelha e de plaquetas existentes na medula óssea	27
Tabela 4 – Distribuição por faixa etária e sexo dos portadores de LV no IDTNP – out/07 a jan/08	34
Tabela 5 – Valores absolutos de máximos e mínimos, médias e desvios padrões de células e plaquetas de pacientes com LV no IDTNP – out/07 a jan/08	36
Tabela 6 – Número e percentual de pacientes com LV, com valores alterados e normais de leucócitos e plaquetas no IDTNP – out/07 a jan/08	37
Tabela 7 – Valores de máximo e de mínimo de células vermelhas, hemoglobina e hematócrito em pacientes com LV no IDTNP – out/07 a jan/08	38
Tabela 8 – Número e percentual de pacientes com LV, com valores alterados e normais de células vermelhas, hemoglobina e hematócrito no IDTNP – out/07 a jan/08	38
Tabela 9 – Alterações quantitativas e qualitativas das hemácias de portadores de LV no IDTNP – out/07 a jan/08	39
Tabela 10 – Caracterização hematológica dos pacientes com LV no IDTNP – out/07 a jan/08	39
Tabela 11 – Frequência da celularidade global e setorial do aspirado de MO em pacientes com LV no IDTNP – out/07 a jan/08	41
Tabela 12 – Valores encontrados na avaliação do aspirado de MO em pacientes com LV no IDTNP – out/07 a jan/08	43
Tabela 13 – Correlações não paramétricas entre hemácias, plaquetas, segmentados, proeritroblastos, megacariócitos e mieloblastos de pacientes com LV no IDTNP – out/07 a jan/08	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ciclo de transmissão da LV

15

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 Leishmaniose Visceral	14
1.2 Ciclo de vida da Leishmania	14
1.3 Sinais e Sintomas	16
1.4 Diagnóstico da Leishmaniose Visceral	18
1.4.1 Reação de Imunofluorescência Indireta – RIFI	18
1.4.2 Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay – ELISA	19
1.4.3 Aglutinação direta – DAT	19
1.4.4 Imunocromatográfico	20
1.4.5 Reação em Cadeia de Polimerase – PCR	20
1.5 Epidemiologia da Leishmaniose Visceral	20
1.6 Estudos sobre a Leishmaniose Visceral	22
2. OBJETIVOS	23
2.1 Objetivo Geral	23
2.2 Objetivos Específicos	23
3 . MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 Tipo de pesquisa	24
3.2 Critérios de elegibilidade	24
3.3 Coleta das Amostras e Procedimentos laboratoriais	24
3.4 Tabulação e Análise estatística	28
3.5 Aspectos bioéticos	29
3.6 Delineamento experimental	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5. CONCLUSÕES	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ANEXOS	

LISTA DE ABREVIATURAS

CHCM	Concentração hemoglobínica corpuscular média
DAT	Teste de aglutinação direta
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	EnzymeLinkedImmunoSorbentAssay
FNT- α	Fator de necrose tumoral alfa
HCM	Concentração média de hemoglobina
IDTNP	Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela
LC	Leishmaniose cutânea
LM	Leishmaniose mucosa
LMC	Leishmaniose cutâneo-mucosa
LV	Leishmaniose visceral
M/E	Mielóide/Eritróide
MO	Medula óssea
MS	Ministério da Saúde
NNN	Novy-MacNeal-Nicolle (meio de cultura)
NRBC	Nucleated Red Blood Cell
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação em cadeia de polimerase
RDW	Varição do volume das hemácias
RIFI	Reação de imunofluorescência indireta
RNA	Ácido ribonucleico
RT-PCR	Reação em cadeia de polimerase em tempo real
SMF	Sistema Monocítico Fagocitário
SESAPI	Secretaria de Estado da Saúde Piauí
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
VCM	Volume corpuscular médio
WBC	Células brancas do sangue

1. INTRODUÇÃO

1.1 A leishmaniose visceral

A leishmaniose visceral (LV) ou calazar é, primariamente, uma zoonose que afeta outros animais além do homem. Sua transmissão, inicialmente silvestre ou concentrada em pequenas localidades rurais, já está ocorrendo em centros urbanos de médio e grande porte, em área domiciliar ou peri-domiciliar. É um crescente problema de saúde pública no país e em outras áreas do continente americano, sendo uma endemia em franca expansão geográfica (BRASIL, 2006).

É uma doença crônica, sistêmica, caracterizada por febre de longa duração, perda de peso, astenia, adinamia, anemia, dentre outras manifestações. Quando não tratada, pode evoluir para óbito, em 1 ou 2 anos, após o aparecimento da sintomatologia (BRASIL, 2006).

As leishmanioses constituem um conjunto de doenças caracterizadas por uma grande diversidade e complexidade. A diversidade ocorre porque pode ser causada por 21 a 30 espécies de protozoários do gênero *Leishmania* (SHAW, 1994) e transmitida por cerca de 30 espécies de vetores (DESJEUX, 1996).

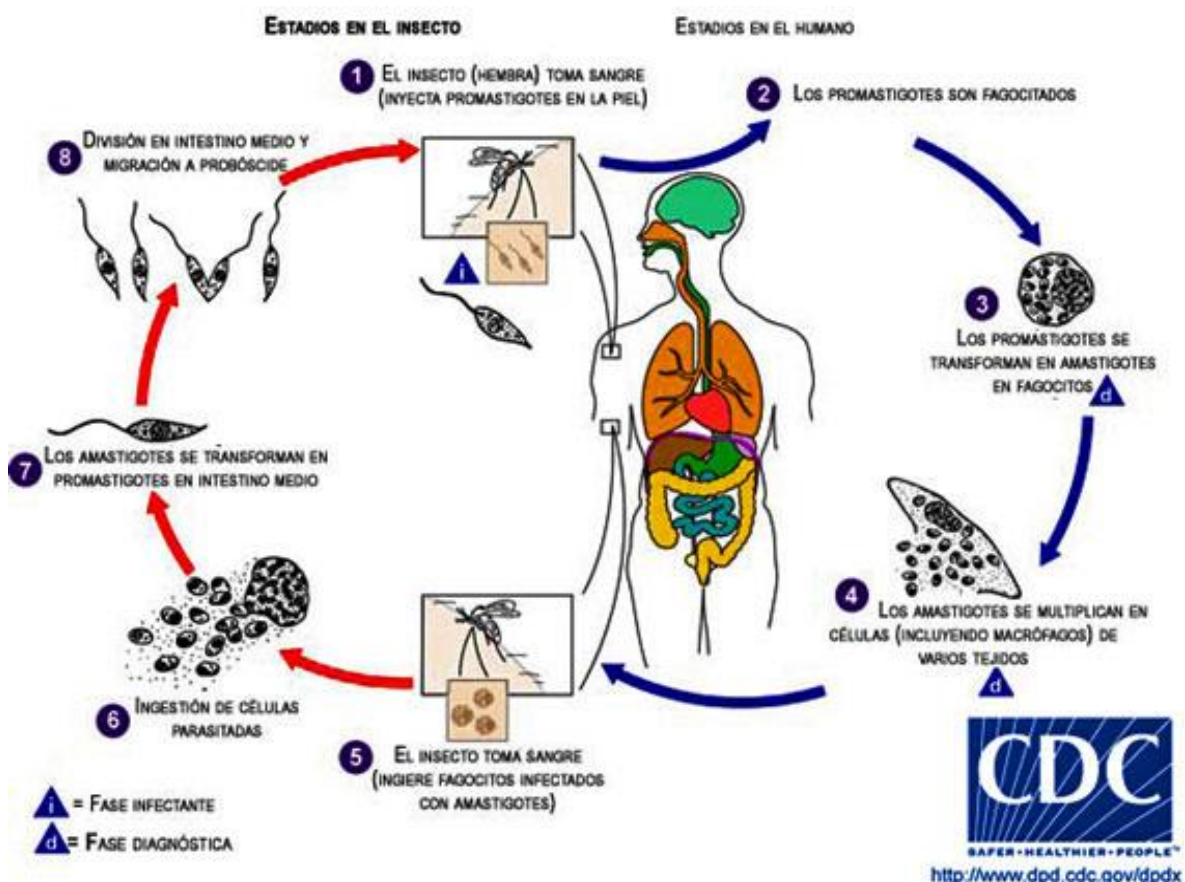
A complexidade está no fato de que é produto da inter-relação desta enorme variedade de espécies e de vetores, associada a diferentes hospedeiros com diversas respostas do sistema imunitário sob a influência de diferentes condições ambientais, o que determina diferentes apresentações clínicas, que se manifestam principalmente de quatro formas: cutânea (LC), mucosa (LM), cutâneo-mucosa (LMC) e visceral (LV). Estes tipos de apresentações clínicas dependem da espécie da *Leishmania*, do vetor e do reservatório envolvidos, da distribuição geográfica, como também da resposta imune do hospedeiro frente ao parasita, caracterizando a especificidade desta nosologia (ASHFORD, 1997).

1.2 Ciclo de vida da leishmaniose visceral

A leishmaniose visceral é causada por um protozoário pertencente à ordem *Kinetoplastida*, família Trypanossomatidae, do gênero *Leishmania*, sendo que a espécie endêmica no Brasil é a *Leishmania chagasi*, que faz parte do complexo *donovani*. Este gênero apresenta-se sob duas formas evolutivas: a

forma aflagelada (amastigota), parasito intracelular obrigatório que se reproduz no citoplasma dos macrófagos/monócitos do hospedeiro, e a forma flagelada (promastigota) que se reproduz no intestino do inseto vetor, ou seja, das fêmeas do flebotomíneo do gênero *Lutzomyia* (SHERLOCK, 1996).

Figura 1 – Ciclo de transmissão da LV



Sua transmissão se dá através da picada da fêmea da *Lutzomyia longipalpis*, que ao se alimentar no hospedeiro vertebrado, ingere juntamente com o sangue, células do sistema monocítico fagocitário (SMF), parasitado com formas amastigotas. Tal agente etiológico tem um ciclo de vida heteroxênico, transformando-se na forma promastigota, que é inoculada em outro hospedeiro não infectado, ao fazer novo repasto sanguíneo. As formas promastigotas são então fagocitadas pelos macrófagos e se transformam rapidamente em amastigotas, adaptando-se às novas condições fisiológicas intracelulares. Ocorrem sucessivas divisões binárias, até que os macrófagos estejam

densamente parasitados, quando então há a ruptura, liberando amastigotas, que serão fagocitadas por outros macrófagos, iniciando assim um novo ciclo de divisões binárias. (ODAIR, 2000).

Em termos vetoriais o *Lutzomyia longipalpis* é o principal vetor no Brasil, sendo antropofílica e com características de transmissão domiciliar e peridomiciliar (Barata *et al.*, 2004). No meio urbano os cães domésticos são tidos como principais transmissores, embora existam afirmações de diversos autores que o homem também tem essa capacidade de infectar os flebotomíneos. Já no ambiente silvestre, as principais fontes de infecção são as raposas (*Dusicyon vetulus* e *Cerdocyon thous*) (SILVA *et al.*, 2001) e os marsupiais (*Didelphis albiventris*) (SHERLOCK,1996). A transmissão ocorre após a inoculação da forma promastigota existente na saliva do vetor durante o repasto sanguíneo.

1.3 Sinais e sintomas

No ser humano a doença tem um período de incubação extremamente variável e de difícil determinação, sendo fatores preponderantes para sua exacerbação a virulência da cepa, dose do inóculo, características genéticas do hospedeiro e seu estado imunológico e nutricional, entre outros. Na maioria dos casos, este período varia entre dois e sete meses (NEVES *et al.*,2005).

Quando do aparecimento dos sintomas, estes se externam com febre baixa e recorrente e à medida que os órgãos são acometidos (baço, fígado, tecido hemocitopoiético, rins, pulmões, linfonodos, tubo digestivo e pele), ocorrem alterações de ordem fisiológicas e histopatológicas que se agravam com a evolução da doença, sendo que a esplenomegalia é o achado mais importante (NEVES *et al.*,2005).

Quanto às formas clínicas, estas podem ser assintomáticas, subclínicas ou oligosintomáticas, forma aguda e a forma crônica, geralmente denominada calazar clássico. Em pacientes não tratados a doença progride, com progressivo emagrecimento e enfraquecimento geral, com aumento da suscetibilidade às infecções secundárias, podendo atingir altos níveis de mortalidade: cerca de 90% (NEVES *et al.*, 2005).

As manifestações clínicas da LV sintomática são caracterizadas por sinais e sintomas que variam no grau de intensidade e gravidade de acordo com o

período da evolução clínica da doença e do órgão acometido. Estão presentes: febre intermitente prolongada (pela produção de FNT- α), palidez cutânea (devido ao acometimento da medula óssea, hiperesplenismo, mecanismos autoimunes, infiltração medular, hemólise, hemorragias e deficiência de ferro associada) (ORTEGA, 2003).

Estão também presentes a inapetência e perda de peso (síndrome consumptiva pelo efeito catabólico e anorético da produção exarcebada de FNT- α) (ORTEGA, 2003; PEARSON, 1992), distensão abdominal e diarreia (pelo acometimento dos linfonodos mesentéricos e por causar uma enteropatia perdedora de proteínas) (MUGAI *et al.*, 1993), tosse (pela pneumonite intersticial) (DUARTE, 1989), petéquias, equimoses e sangramentos pela diminuição do número e presença de anticorpos anti-plaquetas (POLLACK e cols, 1988) e pela alteração da função hepática (RODRIGUES e cols, 1958) e hepatomegalia e/ou esplenomegalia (pela hiperplasia do sistema fagocítico-mononuclear). A icterícia também pode ocorrer em casos avançados (ORTEGA, 2003).

Dentre as várias síndromes clínicas existentes, a leishmaniose visceral é a forma de maior gravidade, pois se não tratada, pode ter evolução fatal, ou seja, relaciona-se com letalidade e mortalidade, enquanto as outras formas se relacionam principalmente com morbidade (DESJEUX, 2004).

Alterações laboratoriais incluem anemia, trombocitopenia, leucopenia, neutropenia, eosinopenia, linfomonocitose, hipergamaglobulinemia com hipoalbuminemia que resultam na inversão da relação albumina/globulina e aparecimento de formação em rouleaux das hemácias com padrões tão acentuados quanto no mieloma múltiplo. Aumento das aminotransferases hepáticas é achado comum, hiperbilirrubinemia é menos frequente e fenômenos hemorrágicos tem sido relacionados com prognóstico desfavorável (BAIN, 1997; BARRANWAL; MANDAL; SING, 2007).

Quanto às alterações da medula óssea, verifica-se que alguns estudos têm demonstrado que patógenos podem agir diretamente na função das células hematopoiéticas precursoras, *stem cells*, e no estroma medular (COTTERELL; ENGWERDA; KAYE, 2000). Alterações na hematopoese são comumente associadas à infecção por vírus, bactérias e protozoários. A LV pode simular ou causar muitas alterações hematológicas como: pancitopenia, mielofibrose,

mielodispalsia, hemofagocitose, (BAIN; WICKRAMASINGE, 1986; DHINGRA *et al.*, 2010).

As alterações citomorfológicas e histomorfológicas encontradas na MO dos pacientes com LV, podem ser de dois tipos: (1) alterações no estroma medular-edema, hemorragia, necrose, granulomas, nódulos linfóides, mielofibrose, e a transformação gelatinosa ou atrofia; (2) alterações das linhagens hematopoéticas – hiperplasia, hipoplasia ou aplasia e dispoese de uma ou de todas as linhagens celulares (DIEBOLD *et al.*, 2000; DANESHBOD; DEGHANI, DANESHBOD, 2010).

As alterações displásicas presentes na LV, em uma, duas ou nas três linhagens hematopoéticas são semelhantes às encontradas na mielodisplasia trilingagem clonal, descritas segundo as diretrizes para o diagnóstico morfológico em síndromes mielodisplásicas (NIERO-MELO *et al.*, 2006).

A MO na LV pode ainda apresentar outras características anormais incluindo plasmocitose, aumento de histiócitos e hemofagocitose (BAIN, 2010).

1.4 Diagnóstico da leishmaniose visceral

Diversos são os métodos pelos quais as leishmanioses podem ser diagnosticadas, como por exemplo a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), o ELISA (do inglês *EnzymeLinkedImmunoSorbentAssay*), a pesquisa direta de leishmanias em esfregaços de medula óssea (MO), a aglutinação direta (DAT) e o teste imunocromatográfico.

O diagnóstico parasitológico é a demonstração do parasita em culturas ou em aspirados de medula óssea, baço e linfonodo (GONTIJO; MELO, 2004).

Já o diagnóstico imunológico visa a detecção de anticorpos anti-leishmania. Os testes mais utilizados são:

1.4.1 Reação de Imunofluorescência Indireta – RIFI

A imunofluorescência consiste na conjugação de anticorpos, ou de antígenos, com substância fluorescente e na sua identificação, ao entrarem em combinação específica, ao microscópio com luz fluorescente (LIMA e cols, 1992).

Neste caso foi utilizado o teste de imunofluorescência indireta o qual consiste na detecção de anticorpos contra *Leishmania* em soros humanos, com os parasitas (*Leishmania*) fixados em lâminas de microscopia. Numa etapa seguinte, utiliza-se um conjugado fluorescente para evidenciação da reação. A leitura é realizada com o auxílio de microscópio que utiliza incidência de luz azul e ultra-violeta, sendo considerado reagente os soros que apresentarem fluorescência e não reagentes os soros que apresentarem ausência de fluorescência, tomando-se como referência os soros controle positivo e negativo que devem ser incluídos em cada lâmina (Bio-Manguinhos, 2003).

Amostra reagente: as amostras que, a partir da diluição 1:40, apresentarem fluorescência na membrana de todos os parasitos. Amostra não reagente: as amostras que não apresentarem fluorescência (Bio-Manguinhos, IFI-Leishmaniose Humana, 2003).

1.4.2 Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay – ELISA

O ELISA consiste na reação de anticorpos presentes nos soros com antígenos solúveis e purificados de *Leishmania* obtidos a partir de cultura *in vitro*. Esse antígeno é adsorvido em microplacas e os soros diluídos (controle do teste e das amostras) são adicionados posteriormente. A presença de anticorpos específicos no soro vão se fixar aos antígenos. A visualização da reação ocorre quando adicionada uma anti-imunoglobulina marcada com a enzima peroxidase, que se ligará aos anticorpos específicos caso estejam presentes, gerando um produto colorido que poderá ser medido por espectrofotometria (BRASIL, 2013).

1.4.3 Aglutinação direta – DAT

A OMS considera dois “testes rápidos” apropriados para o diagnóstico da LV em programas de controle: o Teste de Aglutinação Direta (DAT) com base em formas promastigotas de *L. donovani* inteiras ou *L. infantum* e o teste imunocromatográfico (IC) rK39 (ROMERO; BOELAERT, 2010).

O DAT para a LV foi descrito por Allain e Kagan em 1975, sendo um dos testes mais simples já desenvolvidos para o diagnóstico dessa doença. Esse teste é de fácil realização e interpretação, sendo indicado para trabalhos no

campo, onde as condições são mais restritas. O teste é semi-quantitativo, e neste, soro, sangue ou urina são diluídos e misturados às partículas antigênicas de promastigotas mortas em sua forma íntegra. Após um período de incubação, a aglutinação se completa. Caso os anticorpos contra o protozoário estejam presentes, uma reação de aglutinação é visível a olho nu (DE ASSIS, 2012).

1.4.4 Imunocromatográfico

Devido à baixa especificidade dos testes imunológicos que utilizam antígenos não purificados, foram identificados alguns antígenos purificados, sintéticos ou recombinantes, tais como a proteína recombinante K39 (rK39) a qual é uma sequência de aminoácidos da região quinase da *L. Chagasi*, complexo donovani-específico (CANELA; ALVES; RODRIGUES, 2004).

1.4.5 Reação em Cadeia de Polimerase – PCR

O diagnóstico molecular é realizado por métodos de hibridização com sondas específicas e técnicas de amplificação de ácidos nucleicos, incluindo a reação em cadeia da polimerase (PCR) – para detecção de DNA – e da reação em cadeia da transcriptase reversa após transcrição reversa (RT-PCR) – para detecção de RNA (GONTIJO; MELO, 2004; SCHALLING; OSKAM, 2002).

1.5 Epidemiologia da leishmaniose visceral

É uma doença endêmica em cinco continentes, com casos humanos relatados em cerca de 54 países localizados em regiões tropicais e subtropicais. Mais de 90% dos casos mundiais ocorrem em Bangladesh, Índia, Sudão, Sudão do Sul, Etiópia e Brasil. A incidência anual estimada da doença é de cerca de 200.000 a 400.000 novos casos. Infelizmente, esses dados são subestimados, uma vez que a afecção não é de notificação compulsória em todos os países em que ocorre, e muitos países não realizam vigilância ou outras investigações e não possuem um sistema de armazenamento de dados (ALVAR *et al.*, 2012; WHO, 2012).

É considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), como doença emergente e uma das seis endemias prioritárias do mundo, sendo que no Brasil, segundo o Ministério da Saúde, atualmente há registro de casos em 27 estados sendo que 21 deles já notificaram casos autóctones da enfermidade em humanos, principalmente nas regiões norte, sudeste e nordeste, com mais de 1.300 municípios apresentando casos da doença (BRASIL, 2013).

No Piauí casos de LV são notificados desde 1934. Entre 1971 e 1979, a LV apareceu como uma doença endêmica e a maioria dos casos relatados se originaram em Teresina. No interior do Piauí, a maioria dos casos se originou na região semiárida (SOARES *et al.*, 2008; DRUMOND; COSTA, 2011).

Conforme dados epidemiológicos existentes, observa-se que a partir de meados dos anos '80, foi iniciado o processo de periurbanização e urbanização da doença, atingindo desta forma, diversas capitais das regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste (BRASIL, 2006). No Piauí, de acordo com os dados armazenados na SESAPI, entre os anos de 2007 a jun/2015 foram notificados 2.566 casos, sendo que Teresina a capital do Estado, notificou 622 (24,2%) deles (PIAÚÍ/2015).

O Piauí está entre os 10 estados com maior registro de casos. A letalidade média neste período foi de 6,1%. No ano de 2008, foram confirmados 178 casos novos, distribuídos em 26% dos municípios. Do total de casos, 36% ocorreram em Teresina, seguido por Parnaíba com 6% (BRASIL, 2009). Em 2009 foram registrados 157 casos de LV no estado do Piauí, sendo que a capital possuía 39,5% do total destes. O coeficiente de incidência foi de 5,0 casos por 100.000 habitantes, e destes, 80,3% foram confirmados laboratorialmente. A letalidade registrada foi de 9,6% e o percentual de cura clínica foi de 52,9% (BRASIL, 2011).

Ressalte-se que Teresina no início do processo de urbanização da leishmaniose visceral humana, era um dos principais focos de transmissão, chegando a aproximadamente 70% dos casos. Atualmente o número de casos foi reduzido à metade porém os números ainda são preocupantes.

Mais recentemente tem sido observada sua associação como infecção oportunista, em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (PINTADO, 2001) e o surgimento de casos importados após viagem a áreas

endêmicas (KAFETIZ *et al.*, 2002) o que tem contribuído para o aumento do número de casos.

1.6 Estudos sobre a leishmaniose visceral

Mourão (1960) em sua tese de doutorado, cita que Cardarelli (1808) à frente de médicos italianos, referiu-se a quadros clínicos de anemia acentuada, concomitante a esplenomegalia e febre. Ao se referenciar a Leishman (1903), descobridor do agente etiológico da leishmaniose diz que a partir daí seus estudos voltaram-se principalmente para o diagnóstico da doença, sendo a medula óssea investigada como fonte de pesquisa do parasita (MOURÃO, 1960).

Marwaha *et al.*, em estudo realizado no nordeste da Índia sobre as características clínico-hematológicas de 23 pacientes com calazar, mostrou que a medula óssea tinha uma moderada a severa megaloblastose (11 casos), um aumento do número de células plasmáticas (20 casos) e hiperplasia megacariocítica com morfologia anormal em 19 pacientes. O número de megacariócitos nos esfregaços estava significativamente aumentado ($p = 0,01$) em pacientes com trombocitopenia, quando comparados a pacientes com plaquetas normais (MARWAHA *etal.*; 1991).

Embora vários trabalhos já tenham sido realizados visando a demonstração de alterações hematológicas tanto no nível periférico como no nível central, até o momento não se tem notícia de trabalhos relativos a correlações existentes entre esses dois níveis hematopoiéticos.

Desta forma, neste estudo, procurou-se identificar as mudanças que ocorrem nesses dois níveis que compõem o sistema hematopoiético humano, bem como possíveis correlações entre eles e assim contribuir para o melhor conhecimento das alterações hematológicas provocadas pela doença e de uma possível definição de novas condutas diagnósticas, médicas e terapêuticas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

– Identificar possíveis correlações entre as alterações hematológicas existentes no nível medular e no sangue de pacientes com LV.

2.2 Objetivos específicos:

– Verificar em esfregaços sanguíneos através dos hemogramas emitidos pelo contador eletrônico, as alterações qualitativas e quantitativas, relativos à linhagem branca, linhagem vermelha e plaquetária de pacientes com LV.

– Conhecer, através de mielograma, as alterações qualitativas e quantitativas ocorridas nas células produzidas pela medula óssea, de portadores de LV.

– Descrever possíveis correlações existentes entre esses dois níveis hematológicos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Tipo de pesquisa

Foi realizada pesquisa quantitativa do tipo transversal, onde a população de estudo foi composta por 62 pacientes acometidos por leishmaniose visceral, diagnosticados no período de outubro de 2007 a janeiro de 2008, no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela – IDTNP, localizado em Teresina – Piauí, à Rua Governador Arthur de Vasconcelos, 514, Centro, hospital de referência para este tipo de patologia.

3.2 Critérios de Inclusão

Foram considerados aptos a participar da pesquisa, pacientes de ambos os sexos e de todas as idades, com diagnóstico clínico e laboratorial comprovado pela presença de anticorpos e/ou das formas amastigotas e promastigotas do parasita e que concordaram em participar do estudo, através da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

3.3 Coleta da Amostra e Procedimentos Laboratoriais

No estado do Piauí o IDTNP é o hospital de referência para diversas patologias infecto contagiosas, dentre elas as leishmanioses. Desta forma e em caso de suspeita de paciente portador de leishmaniose visceral, o corpo médico do IDTNP segue um protocolo que implica na coleta de sangue total e posteriormente do aspirado de medula óssea, para os testes laboratoriais necessários quais sejam: o hemograma, a imunofluorescência indireta (RIFI), a pesquisa direta em esfregaço de medula óssea e a cultura em meio NNN e Schneider, respectivamente. As lâminas de esfregaço de sangue periférico são feitas em duplicatas enquanto que as de medula óssea são rotineiramente feitas em quadruplicatas a fim possibilitar posteriores pesquisas e revisões.

Após a confirmação da positividade quanto à presença de anticorpos anti –leishmania pelo método de RIFI ou da leishmania pelo método de pesquisa direta em esfregaços de medula óssea ou ainda na cultura em meio NNN e

Schneider, procedia-se uma revisão da leitura das lâminas de esfregaços de sangue periférico e de medula óssea, para a realização de contagem das células ali existentes, bem como a verificação de possíveis alterações hematológicas, qualitativas e quantitativas, sendo estes dados anotados em tabelas previamente elaboradas para este fim.

As alterações quantitativas foram verificadas através dos parâmetros de acordo com a literatura existente (Tabela 1 e 2).

As contagens de células do sangue periférico foram obtidas de duas maneiras:

a) através do contador eletrônico de células Celldyn 3.700, que avalia 21 parâmetros hematopoiéticos, fornecendo informações sobre o número total de leucócitos (WBC), bem como sua contagem diferencial em números absolutos e percentuais; total de hemácias (RBC), hematócrito (HCT), hemoglobina (HGB), volume corpuscular médio (VCM), concentração hemoglobínica corpuscular média (CHCM), quantitativo de plaquetas (PLT), RDW (RedbloodcellDistributionWidth = amplitude de distribuição dos eritrócitos) e histogramas desses parâmetros. Há ainda os *flags* que são definidos como alterações nas séries analisadas.

b) leitura direta das lâminas de esfregaço sanguíneo em microscópio óptico Olympus, registrando-se os valores encontrados no contador eletrônico de células, Leucotron. As lâminas foram confeccionadas pelos técnicos de patologia do laboratório do IDTNP e coradas pelo método panótico rápido.

Considerou-se os seguintes parâmetros de normalidade para o número de células das séries branca, vermelha e de plaquetas, existentes no sangue periférico de um ser humano em seu estado normal de saúde (Tabela1 e 2).

Tabela 1: Valores de referência para os leucócitos em sangue periférico.

CÉLULAS	VALOR	
	Relativo (%)	Absoluto (células/mm ³)
Neutrófilos	40 a 75	2.800 – 5.250
Bastonetes	0–5	0 a 350
Linfócitos	20 – 40	1.400 – 2.800
Monócitos	2 – 8	140 – 560
Eosinófilos	1 a 4	70 – 280
Basófilos	0 a 1	0 – 70

Fonte: Oliveira, 2003.

Leucócitos: 4.000 a 10.000/mm³

Plaquetas: 150.000 a 450.000 / mm³.

Tabela 2: Valores de referência para a série vermelha em sangue periférico

DISCRIMINAÇÃO	VALOR	
	Homem	Mulher
Hemácias em milhões/mm ³	5,4 +/- 0,8 mi/mm ³	4,8+/-0,6mi/mm ³
Hemoglobina em g/dL	16,0+/- 2,0g/dl	14,0+/- 2,0g/dl
Hematócrito em %	47,0 +/- 7,0g/dl	42,0 +/- 5,0g/dl
VCM	87 +/- 5fl	87 +/- 5fl
HCM	29 +/- 2pg	29 +/- 2pg
CHCM	34 +/- 2g/dl	34 +/- 2g/dl
RDW	11 a 14%	11 a 14%

Fonte: Oliveira, 2003.

Quanto ao mielograma, foram considerados os seguintes valores:

- a) Relação mielóide/eritróide (M/E): de 2:1 a 4:1;
- b) Stemcell: 0 – 1%;
- c) Outras células.

Tabela 3 – Valores de referência para os precursores das séries branca, vermelha e de plaquetas existentes na medula óssea.

Série branca (49 – 65%)				Série vermelha		Série trombocítica	
Células	V. R.(%)	Células	V. R.(%)	Células	V. R.(%)	Células	V. R.(%)
Mieloblastos	1 – 5	Basófilos	0 – 1	Proeritroblasto	1 – 5	Megacarioblasto	0 – 1
Promielócitos	2 – 8	Linfócitos	3 – 17	E. Basófilo	1 – 5	Megacariócito	0 – 3
Mielócitos	8 – 21	Plasmócitos	0 – 3	E. Policromático	5 – 18		
Metamielócito	10 – 30	Monócitos	0 – 2	E. Ortocromático	2 – 8		
Bastonetes	8 – 15	Macrófagos	0 – 2				
Segmentados	6 – 12						
Eosinófilos	1 – 5						

Fonte: Oliveira, 2003.

A medula óssea foi coletada por profissional médico especializado, sendo os esfregaços confeccionados por técnicos com treinamento específico e posteriormente corados pelo método panótico rápido. A pesquisa de leishmanias foi realizada pelos bioquímicos do laboratório do hospital e revisada no laboratório de pesquisa em leishmanioses, ali existente.

Quanto à contagem e diferenciação, foram contadas entre 300 e 500 células nucleadas consecutivas no contador de células Leucotron e posteriormente calculados os percentuais de cada uma delas. Para a celularidade, esta foi avaliada através de observação direta, utilizando-se a objetiva de 10X, sendo que todos esses trabalhos foram realizados com a utilização do microscópio Olympus.

Assim foram analisados os seguintes itens:

a) medula óssea: células nucleadas e precursores das linhagens eritrocítica, leucocitária e mielocítica, em termos qualitativos e quantitativos.

b) sangue periférico: células das linhagens branca, vermelha e de plaquetas, em termos qualitativos e quantitativos.

Para obtenção das informações sobre alterações celulares, tais como coloração do citoplasma, situação da cromatina, presença de nucléolos, hipersegmentação de núcleos, presença de granulações tóxicas, etc, foi levada em consideração os parâmetros e conceitos existentes nos livros e manuais de

hematologia(LOURENZI, THEREZINHA F., 2006, BAIN, BARBARA, 2007, LOFFLER H., RASTETTER J. 2002, CANÇADO J. R. *et al.*,1992).

Quanto ao mielograma, este consiste na análise das células existentes na medula óssea. Este processo constitui elemento de grande importância diagnóstica em várias afecções do sangue ou dos órgãos hematopoiéticos, nos quais o hemograma não tenha contribuído (OLIVEIRA, 2003).

Para a interpretação geral do mielograma (relação mielóide/eritróide – M/E), levou-se em consideração a percentagem de neutrófilos e seus precursores com a percentagem de seus precursores eritróides nucleados.

Nos adultos varia de 2:1 à 4:1, estando ligeiramente aumentada nos recém nascidos (OLIVEIRA, 2003).

Uma razão M/E aumentada pode ser encontrada em infecções, leucemias mielóides e hipoplasiaeritróide, enquanto que uma razão M/E diminuída pode significar depressão da leucopoeise ou hiperplasia da série eritróide (OLIVEIRA, 2003).

No sangue periférico, esta razão é inversa com o predomínio dos eritrócitos sobre os leucócitos, fato que se deve à maior sobrevivência dos eritrócitos no sangue circulante, e a um processo mais acelerado de reprodução e maturação da eritropoeise (OLIVEIRA, 2003).

3.4 Tabulação e Análise Estatística

Os resultados referentes às alterações celulares encontradas foram registrados em planilhas do Microsoft Excel previamente desenhadas e processadas para o cálculo de médias, desvios padrões e valores de máximo e de mínimo.

Assim foram obtidos dados sobre:

a) Alterações hematológicas ocorridas na série branca, série vermelha e série plaquetária, em termos quantitativos e qualitativos.

b) Celularidade da medula óssea e possíveis alterações celulares nas linhagens hematopoéticas.

Para análise das informações obtidas levou-se em consideração a literatura existente em termos da identificação, da quantificação e da morfologia das células encontradas na medula óssea e no sangue periférico. Foram

investigados também, as correlações aí existentes utilizando-se os programas Biostat 5.3 e SPSS 20.

3.5 Aspectos Bioéticos

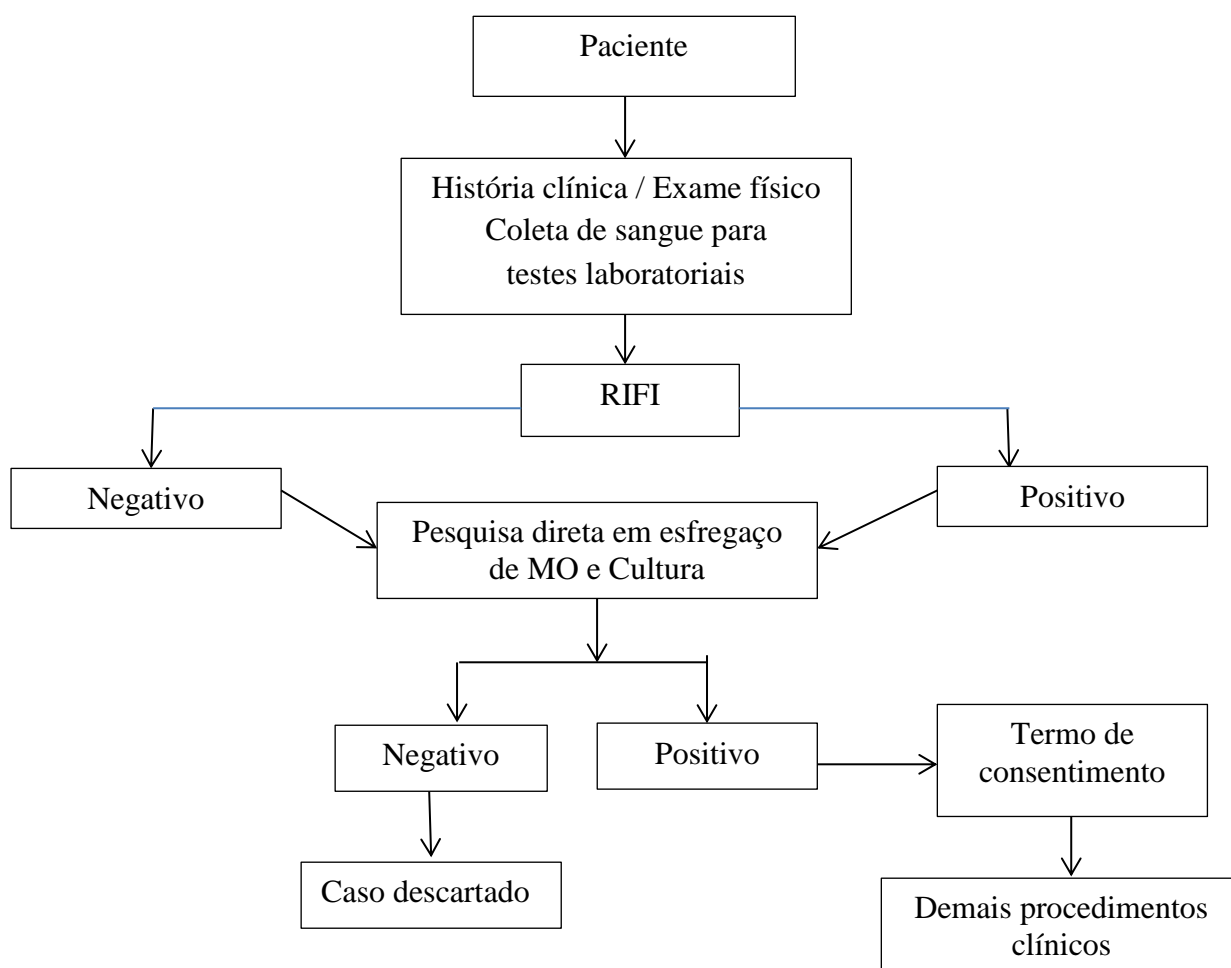
Como há participação de seres humanos na pesquisa, este trabalho atendeu a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, sendo que o trabalho original do qual este deriva, é intitulado de “Influência do genótipo de *Leishmania chagasi*, o qual foi submetido ao Conselho de Ética em Pesquisa (CEP) da UFPI e aprovado em 14 de dezembro de 2005, sob o número 0116/05 (ANEXO X). Ao pretendo participante, foi solicitada a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, depois de fornecidas as informações necessárias e dirimidas todas as suas dúvidas.

3.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O fluxograma de procedimentos para pacientes com suspeita de LV no IDTNP.

Ao realizar a consulta, o médico solicitava a realização de coleta de sangue para testes laboratoriais (hemograma e RIFI). Em caso de positividade em RIFI, o paciente era internado, sendo procedido a coleta de aspirado de MO, para pesquisa parasitológica direta e cultura em meios apropriados. Seguia-se a entrevista ao paciente, com a assinatura do TCL em caso de concordância em participar da pesquisa e demais procedimentos clínicos, visando a cura do paciente.

Caso a RIFI fosse negativa e houvesse uma suspeita de que aquele paciente era portador da doença, por critérios clínicos epidemiológicos, procedia-se a sua internação para coleta de aspirado de MO, o qual em caso de negatividade, o caso era descartado e em caso de positividade o procedimento seguia a rotina acima descrita.



4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A leishmaniose faz parte das chamadas “doenças negligenciadas” ou doenças da pobreza e pela própria denominação, caracterizam-se por um conjunto de doenças infecciosas e parasitárias consideradas endêmicas e de prevalência em população de baixa renda (pessoa que ganha até um dólar por dia, segundo a ONU). Sua denominação teve origem na década de 70, através da Fundação Rockefeller, sendo seguida por outros organismos, inclusive a OMS em 2001 (BRASIL, 2014).

É uma doença endêmica em extensas áreas do Brasil e principalmente no nordeste, onde atinge níveis mais altos a cada ano. É caracterizada por febre, hepatoesplenomegalia e alterações hematopoiéticas graves. Embora atividades de controle venham sendo desenvolvidas, tais como, inquérito canino (busca ativa de cães para identificação dos reativos à sorologia, com posterior eutanásia), controle do vetor (pesquisa entomológica e aplicação de inseticidas) e principalmente diagnóstico precoce e tratamento dos portadores, observa-se que a endemia alcança cada vez mais um número maior de áreas e de pessoas, pois o que se tem notado é uma mudança no padrão de transmissão da doença, qual seja a ocorrência de casos em áreas urbanizadas de cidades de médio e grande porte.

O Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela – IDTNP localizado em Teresina, é o hospital de referência para esses pacientes, tendo sido ali atendidos cerca de 75% dos casos registrados em todo o estado do Piauí, bem como do interior e de estados vizinhos como o Maranhão, Ceará, Pará, Tocantins, etc. Tendo em vista tal incidência e a dificuldade de controle da endemia, vários são os estudos dedicados ao assunto, nas suas diversas áreas de abrangência.

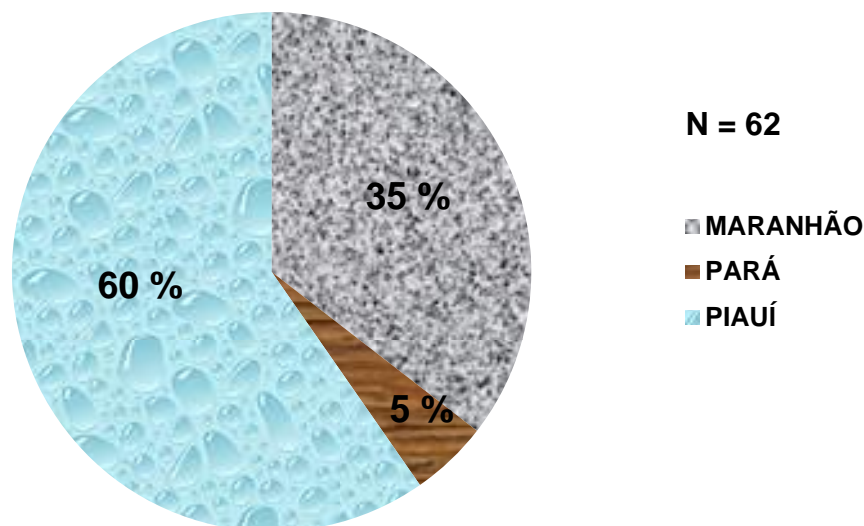
Desde a ocorrência dos primeiros casos da doença, que os estudiosos veem fazendo relatos sobre alterações hematológicas provocadas pelo calazar, tanto em termos de medula óssea (alterações do nível central), como em termos de sangue (alterações do nível periférico), na tentativa de melhor definir suas manifestações, bem como à procura de métodos diagnósticos mais sensíveis e específicos, que auxiliem na detecção precoce e tratamento dos casos humanos e de controle da endemia.

Infere-se daí que, na ocorrência de invasão do ser humano por patógenos do gênero *Leishmania*, há alterações quantitativas e qualitativas no que diz respeito tanto à produção, como às características morfológicas das células hematopoiéticas produzidas pela medula óssea, bem como na sua presença no sangue periférico.

O desenvolvimento de estudos, a adoção de novas técnicas e a disponibilização de instrumentos modernos, possibilitou a descoberta das diversas alterações celulares que ocorrem tanto na medula óssea como no sangue periférico de portadores de calazar.

Assim no período de outubro de 2007 a janeiro de 2008, em Teresina – Piauí, no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela, foi realizado estudo em 62 pacientes com LV, provenientes dos estados do Piauí (37 – 59,7%), do Maranhão (22 – 35,5%) e do Pará (3 – 4,8%) ($p < 0,0001$, $X^2 = 28,097$ com $n = 2$), visto ser este o hospital de referência para o atendimento de portadores de doenças infectocontagiosas, numa região que compreende vários estados do nordeste e até do norte do Brasil.

Gráfico 1: Número de pacientes com LV atendidos no IDTNP, por estado de procedência no período de outubro de 2007 a janeiro de 2008.

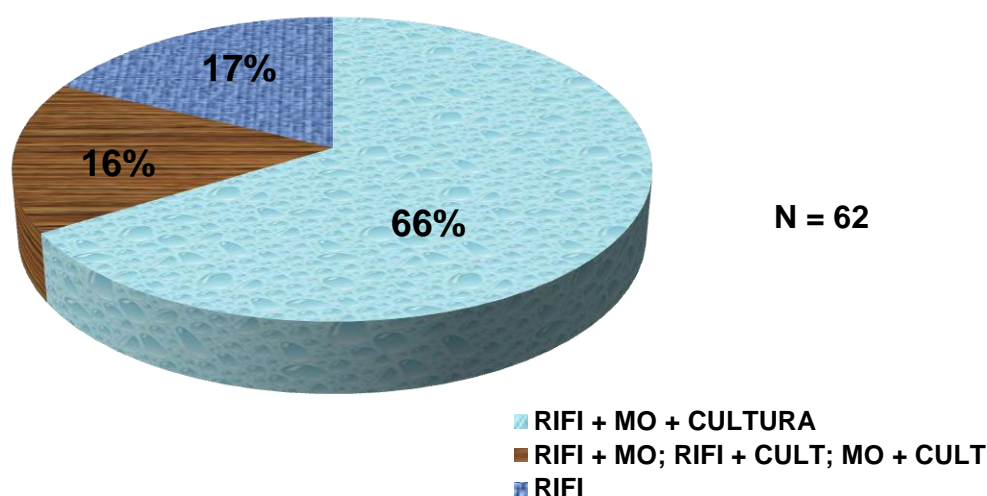


A positividade para LV foi constatada pelos métodos de RIFI (reação de Imunofluorescência Indireta com titulação $\geq 1:80$; pesquisa direta em

esfregaços de MO (presença de leishmania nas lâminas) e cultura nos meios NNN e Schneider (crescimento de leishmania).

Dos 62 pacientes estudados, 41 (66,1%) foram positivos nos três métodos laboratoriais acima citados, 10 (16,2%) em dois métodos – RIFI + CULTURA, RIFI + MO ou MO + CULTURA – e 11 (17,7%) foram positivos apenas em RIFI ($p < 0,001$, $X^2 = 30,032$ com $n = 2$) (Gráfico 2).

Gráfico 2 – Positividade por método de pesquisa de LV em pacientes atendidos no IDTNP, no período de outubro/07 a janeiro/08.



A idade dos indivíduos variou de um mínimo de 10 meses a um máximo de 70 anos com média de $21,94 \pm 11,31$. O sexo feminino participou com 18 casos (29,1%) e o sexo masculino com 44 casos (70,9%) ($p = 0,0005$ no teste binomial de proporção para uma amostra), o qual é o mais afetado em quase todas as faixas etárias estudadas, exceto no intervalo de 0 a 2 anos ($p < 0,0001$ no teste qui-quadrado para uma amostra, com $\chi^2 = 37,556$ e $n = 1$) (Tabela 4 e gráfico 3).

Isto ocorre muito provavelmente devido à maior exposição a que são submetidos, pois nestas condições climáticas os homens usam apenas bermudas ou calções, enquanto as mulheres estão mais vestidas. Apenas na idade de zero a dois anos é que há predominância do sexo feminino, visto praticamente não haver aí, diferenças no vestuário de meninos e meninas. Costa *et.al.*, em 1990 constatou que o sexo masculino é o mais afetado possivelmente pela maior área

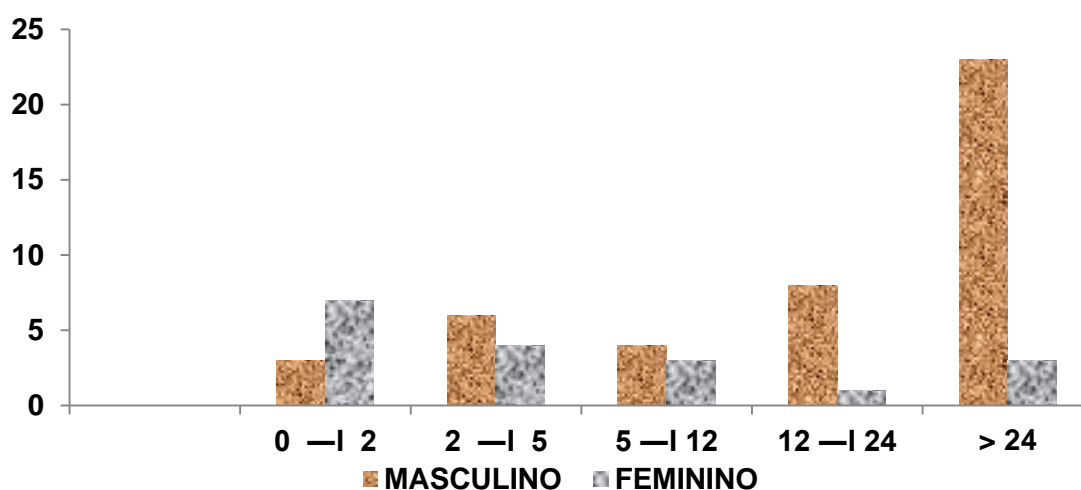
corporal exposta e talvez exista uma predisposição genética determinada e ligada ao sexo (COSTA *et al.*, 1990)

Tabela 4 – Distribuição por faixa etária e sexo dos portadores de leishmaniose visceral no IDTNP, no período de outubro/07 a janeiro/08.

FAIXA ETÁRIA	GÊNERO				TOTAL	%
	MASCULINO	%	FEMININO	%		
0 — 2	3	30,0	7	70,0	10	16,1
2 — 5	6	60,0	4	40,0	10	16,1
5 — 12	4	57,1	3	42,9	7	11,3
12 — 24	8	88,9	1	11,1	9	14,6
> 24	23	88,4	3	11,5	26	41,9
TOTAL	44	70,9	18	29,1	62	100,0

Ainda em relação à faixa etária, observa-se que 20 (32,2%) dos pacientes admitidos, tinham idade até cinco anos ($p < 0,0001$) e 4 (6,4%) tinham idade superior a 60 anos. Não foi detectada diferença estatisticamente significativa entre as médias de acometimento por sexo, pois enquanto a média de idade no sexo masculino foi de $13,47 \pm 20,78$ (IC 95% 7,33 – 19,61), no sexo feminino a média de idade foi de $25,64 \pm 17,82$ (IC 95% 17,41 – 33,87) ($p = 0,0744$).

Gráfico 3 - Distribuição por Faixa Etária e Sexo dos Portadores de LV no IDTNP, no período de outubro/07 a janeiro/08.



Em termos células do sangue, tem-se que os leucócitos são responsáveis pela defesa do organismo, na resposta às infecções ou a substâncias estranhas. "Podem ser divididos em dois grupos: 1 – leucócitos que contém granulações abundantes no citoplasma – granulócitos, e 2 – leucócitos que são desprovidos de granulações citoplasmáticas – linfócitos". (LORENZI, 2006).

Conforme o número obtido quando da contagem de células no hemograma, poderemos ter leucopenia quando seu número é menor do que 4.000/ μ l, ou leucocitose quando este chega a valores acima de 10.000/ μ l(LORENZI, 2006). Assim, pela análise dos dados obtidos nessa pesquisa, constata-se que apenas 1 (1,6%) paciente, teve leucocitose (12.000) e isto pode ocorrer em casos de resposta à infecção ou a substâncias estranhas, ou ainda ser resultado de câncer, traumatismo, etc. Foi constatado também que 49 (79,0%) pacientes, tinham valores abaixo do normal (< 4.000), sendo que os casos de leucopenia ocorrem por estresse severo, tratamento com corticóides (prednisona), quimioterapia antineoplásica e radioterapia, dentre outros (tabela 6).

As análises hematológicas realizadas nos esfregaços sanguíneos e no contador eletrônico de células demonstraram que, na série branca os dados revelaram um mínimo de 320 e um máximo de 12.000 leucócitos, com média de $3.142,50 \pm 1.983,10$, (IC 95% 2.650,01 – 3.634,99) sendo verificado que apenas 1/62 (1,6%) dos pacientes apresentava leucocitose (12.000), 12/62 (19,4%) estavam dentro dos parâmetros considerados normais (4.000 a 10.000) e a maioria 49/62 (79,0%) apresentava leucopenia em graus variados (tabela 5, 6 e 9).

A leucopenia é considerada uma alteração importante na LV humana. Vários estudos demonstram que 75% dos pacientes tem diminuição no número de leucócitos no sangue periférico, mas a maioria deles não deixa claro os mecanismos envolvidos na gênese dessa citopenia (MARWAHA *et al.*, 1991). Em geral a principal causa da leucopenia tem sido atribuída ao hiperesplenismo (CARTWRIGHT *et al.*; 1948).

No que se refere à contagem de neutrófilos (segmentados + bastões), estes variaram de um mínimo de 101 a um máximo de 3.840 com média de $1.324,47 \pm 835,04$ (IC 95% 1.117,30 – 1.331,64). Não houve casos de neutrofilia, sendo que 4/62 (6,4%) estavam com níveis considerados normais e 58/62 (93,6%) com neutropenia (Tabela 5,6 e 9).

Quanto aos linfócitos, a variação foi de 150 a 7.440 com média de $1.644,87 \pm 1.374,57$ (IC 95% 1.303,85 – 1.985,89). Ressalte-se a ocorrência de linfocitose em apenas 6/62 (9,7%) casos, linfopenia em 36/62 (58,1%), sendo outros 20/62 (32,2%) com quantidades consideradas normais de linfócitos (Tabelas 5 e 6).

No que diz respeito à eosinófilos verificou-se que 10/62 (16,1%) estavam nos níveis normais, e 52/62 (83,9%) estavam com eosinopenia. Já com os monócitos, tivemos 2/62 (3,2%) com nível alto, 23/62 (37,1%) com níveis normais e 37/62 (59,7%) com níveis baixos (Tabelas 5 e 6).

Ressalte-se que a atipia linfocitária nos esfregações de sangue periférico, foi constatada em 17/62 (27,4%) ($p < 0,0001$ no teste qui-quadrado para uma amostra) e alcançou diferentes níveis desde acentuada em 3/17 (17,6%) pacientes, passando por níveis moderados em 13/17 (76,5%) até discreta em 1/17 (5,9%).

Tabela 5 – Parâmetros normais e valores absolutos de máximos, mínimos, médias e desvios padrões de células e plaquetas de pacientes com LV no IDTNP, no período de outubro/07 a janeiro/08.

DISCRIMINAÇÃO	VALORES ABSOLUTOS			DESVIO PADRÃO (\pm)	PARÂMETROS NORMAIS
	MÁXIMO	MÍNIMO	MÉDIA		
Leucócitos / mm ³	12.000	320	3.142,50	1.983,10	4.000 - 10.000
Neutrófilos	3.840	101	1.324,47	835,04	2.800 - 5.250
Linfócitos	7.440	150	1.644,87	1.374,57	1.400 - 2.800
Monócitos	720	0	144,55	152,83	140 - 500
Eosinófilos	200	0	30,47	45,35	70 - 280
Plaquetas / mm ³	420.000	6.500	131.970,97	86.400,28	150.000 - 450.000

Tabela 6 – Número e percentual de pacientes com LV, com valores alterados e normais de leucócitos e plaquetas, no IDTNP, no período de outubro/07 a janeiro/08.

DISCRIMINAÇÃO	VALORES ABSOLUTOS E PERCENTUAIS		
	AUMENTADOS	NORMAIS	BAIXOS
Leucócitos / mm ³	1 (1,6)	12 (19,3)	49 (79,1)
Neutrófilos	0	7 (1,3)	55 (88,7)
Linfócitos	6 (9,7)	20 (32,2)	36 (58,1)
Monócitos	2 (3,2)	23 (37,1)	37 (59,7)
Eosinófilos	0	10 (16,1)	52 (83,9)
Plaquetas / mm ³	0	24 (38,7)	38 (61,3)

Quanto à série plaquetária, esta variou de um máximo de 420.000/mm³ a um mínimo de 6.500/mm³, com média de 131.970,97 ± 86.400,28 (IC 95% 110.534,95 – 153.406,99). Não foi observada a ocorrência de trombocitose, sendo que 38 (61,3%) dos pacientes apresentavam trombocitopenia em diversos graus, desde acentuada até discreta e os 24 (38,7%) restantes, tinham níveis considerados normais de plaquetas (Tabela 5, 6).

Al Sohaibani em seus estudos cita que a trombocitopenia foi um “achado notável”, com média de 115 ± 72,47 X 10⁹/L, sendo que oito pacientes apresentaram trombocitopenia abaixo de 120 X 10⁹/L (AL-SOHAIBANI, 1996).

Em humanos com LV ativa, o sequestro esplênico é considerada a principal causa da diminuição de plaquetas no sangue periférico (VARMA e NASEEM, 2010), sendo que o hiperesplenismo e a deficiência na formação de plaquetas também podem levar a esse quadro hematológico (DAMESHEK e MILLER, 1946).

Tais resultados nos levam a concluir que outros fatores influenciam nos níveis hematimétricos de pacientes com LV. Segundo Bain, 2007, a trombocitopenia pode ser causada por falta de produção, aumento do consumo ou destruição de plaquetas (BAIN B. J., 2007).

Já na série vermelha, constatou-se que apenas 1 (1,6%) paciente tinha níveis considerados normais de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito. Nos demais 61 (98,4%) esses níveis apresentavam-se baixos, com hipocromia,

anisocitose, microcitose e/ou macrocitose em diferentes graus. Ressalte-se a ocorrência de um paciente com poiquilocitose, um com pecilocitose, dois com policromatofilia e um paciente com 8% de eritroblastos, de um total de $2,41 \times 10^6$ hemácias (Tabela 7 e 8).

Tabela 7 – Parâmetros normais, valores máximo, mínimo e desvio padrão de hemácias (RBC), hemoglobina (HGB) e hematócrito (HCT) em pacientes com LV no IDTNP, no período de outubro/07 a janeiro/08.

DISCRIMINAÇÃO	MÁXIMO	MÍNIMO	MÉDIA	DP (\pm)	PARÂMETROS NORMAIS	
					HOMEM	MULHER
RBC (mi/mm ³)	4,6	1,0	2,9	0,7	5,4 \pm 0,8	4,8 \pm 0,6
HGB (g/dL)	14,0	3,9	8,3	2,3	16,0 \pm 2,0	14,0 \pm 2,0
HCT (%)	42,0	11,0	25,3	6,7	47,0 \pm 7,0	42,0 \pm 5,0

No presente estudo uma diversidade de anormalidades hematológicas foi constatada. A tabela 8 apresenta os resultados observados de hemácias, hemoglobina e hematócrito onde os níveis encontram-se baixos na maioria dos portadores de LV. Verifica-se também que o desvio padrão da média de hemácias é pequeno, o que nos leva a crer numa distribuição desses valores, muito próximos do valor médio (tabela 7).

Tabela 8 – Número e percentual de pacientes com LV, com valores alterados e normais de hemácias, hemoglobina e hematócrito atendidos IDTNP no período de outubro/07 a janeiro/08.

DISCRIMINAÇÃO	VALORES ABSOLUTOS E PERCENTUAIS		
	AUMENTADOS	NORMAIS	BAIXOS
Hemácias	0	1 (1,6)	61 (98,4)
Hemácias	0	1 (1,6)	61 (98,4)
Hemoglobina	0	1 (1,6)	61 (98,4)

Pelos dados pesquisados, foram constatados casos isolados de leucocitose com linfocitose e leucopenia com neutropenia (tabela 6). Conforme cita Al-Jurayan *et al.*, (1995), anemia e neutropenia estão sempre presentes e geralmente a anemia é do tipo hipocrômica e microcítica, mas anemia normocrômica e macrocítica foram também relatados (tabela 9).

Tabela 9 – Alterações quantitativas e qualitativas das hemácias de portadores de LV no IDTNP, no período de outubro/07 a janeiro/08.

Intensidade	Alterações							
	Coloração		Tamanho					
	Hipocromia		Anisocitose		Microcitose		Macrocitose	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Normal	24	38,8	36	58,1	29	46,8	61	98,4
Discreta	15	24,2	14	22,6	19	30,6	0	0,0
Moderada	12	19,3	8	12,9	9	14,5	1	1,6
Acentuada	11	17,7	4	6,4	5	8,1	0	0,0
Total	62	100,0	62	100,0	62	100,0	62	100,0

Tabela 10 – Caracterização hematológica dos pacientes com leishmaniose visceral, atendidos no IDTNP – outubro/07 a janeiro/08.

DADOS	MÉDIA	± DP	VALOR MÍNIMO	VALOR MÁXIMO	IC 95%	
					LI	LS
Hemoglobina (g/dL)	8,3	2,3	3,9	14,0	7,9	8,7
VCM (ft)	87,6	7,9	69,6	115,4	85,1	90,0
Leucócitos totais(/mm ³)	3142,5	1983,1	320	12000	2650,0	3779,4
Plaquetas (10 ³ /mm ³)	131,9	86,4	6,5	420,0	110,5	153,4

Obs.:DP– desvio padrão; IC– intervalo de confiança; LI– limite inferior; LS– limite superior.

Em termos gerais constata-se que nos 62 casos analisados, a maioria dos valores estudados (hematimétricos, leucocitários e plaquetários), está sempre abaixo do quantitativo considerado como normal para estes parâmetros, variando entre 98,39 a 64,52 pontos percentuais e atingindo uma média de 80,65%. Pode-se deduzir destes valores que na maioria dos casos de calazar deste estudo, ocorre uma pancitopenia, ou seja, a diminuição global dos elementos do sangue,

a qual traduz uma situação em que o indivíduo apresenta uma hemoglobina menor que 10, o número de leucócitos menores que 3.500 ou de neutrófilos abaixo de 1500, e contagem de plaquetas menor que 100.000 (necessariamente os três elementos juntos).

Bain (2007) cita que a pancitopenia é uma combinação de anemia (com baixa concentração de eritrócitos), leucopenia e trombocitopenia. A leucopenia costuma dever-se à diminuição dos neutrófilos, embora o número dos demais leucócitos frequentemente também esteja diminuído (BAIN, 2007).

Pastorino (2002) comparando “dados clínicos e laboratoriais no pré e pós-tratamento de pacientes portadores de leishmaniose visceral admitidos em hospital pediátrico localizado em área não endêmica” verificou que a contagem do número de leucócitos totais em 78 pacientes, no período pré-tratamento, foi menor do que 5.000/mm³ em 67 casos (85,9%). A contagem de neutrófilos totais no pré-tratamento mostrou valores inferiores a 500/mm³ em 14/78 casos (18%) e em 4/67 pacientes (6%) no período pós-tratamento ($p < 0,001$). No que diz respeito à contagem do número de plaquetas no período pré-tratamento, constatou ser menor ou igual a 100.000/mm³ em 47/71 casos (66,2%), e, no pós-tratamento, em 4/65 (6,1%), com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$).

Cartwright *et al* em 1948 e Al Jurayan *et al* em 1995 constaram que a gênese das alterações hematológicas ainda não é muito compreendida, apesar de terem descrições clássicas na literatura (CARTWRIGHT *et al.*; 1948; AL-JURAYAN *et al.*, 1995).

Aspirados de medula óssea foram realizados em todos os participantes da pesquisa para fins de diagnóstico. Em apenas 15 (24,0%) não foi encontrado o parasito (leishmania).

Devido a problemas na confecção do esfregaço de medula óssea (insuficiente quantidade de material medular em algumas lâminas, falhas na confecção do esfregaço, etc) foi possível avaliar apenas 40 (65,0%) das 62 lâminas coletadas, ($p = 0,0294$ no teste qui-quadrado para uma amostra) onde foi observado que apenas 3 (7,5%) apresentavam-se normocelulares e com normoplasiamegacariocítica.

Quanto à celularidade, global verificou-se que 21 (52,5%) ($p = 0,0150$) ($\chi^2 = 5,918$ GL = 1) pacientes estavam hipocelular, 13 (32,5%) normocelular e 6

(15,0%) hipercelular, enquanto na série megacariocítica, 28 (70,0%) ($p= 0,256$, $X^2 = 2,118$ $GL = 1$) apresentavam hipoplasia, 8 (20,0%) normoplasia e 4 (10,0%) hiperplasia (Tabela 11 e Gráfico 4). Outros achados foram observados em algumas lâminas e dizem respeito à presença de figuras de mitose e vacúolos em células da série mielóide e em monócitos.

Al-Sohaibani (1996) num período de dois anos pesquisou esfregaços de medula óssea de 16 pacientes com leishmaniose visceral, para descrever a relação entre a contagem de células do sangue periférico e o “status” da medula óssea. Observou que em apenas 25% dos pacientes, havia uma contagem normal de células do sangue periférico. Quanto aos demais, 25% apresentavam apenas anemia, 25% tinham anemia com trombocitopenia e 25% tinham pancitopenia.

No aspirado de MO foram encontradas anormalidades em graus variados na maioria dos pacientes, observando-se que apenas três apresentavam-se normocelulares e com normoplasiamegacariocítica. Houve um considerável número de hipocelularidade e predomínio de hipoplasiamegacariocítica, comparável ao que tem sido relatada em adultos e na série pediátrica com leishmaniose visceral (AL- JURAYYAN ,1995),.

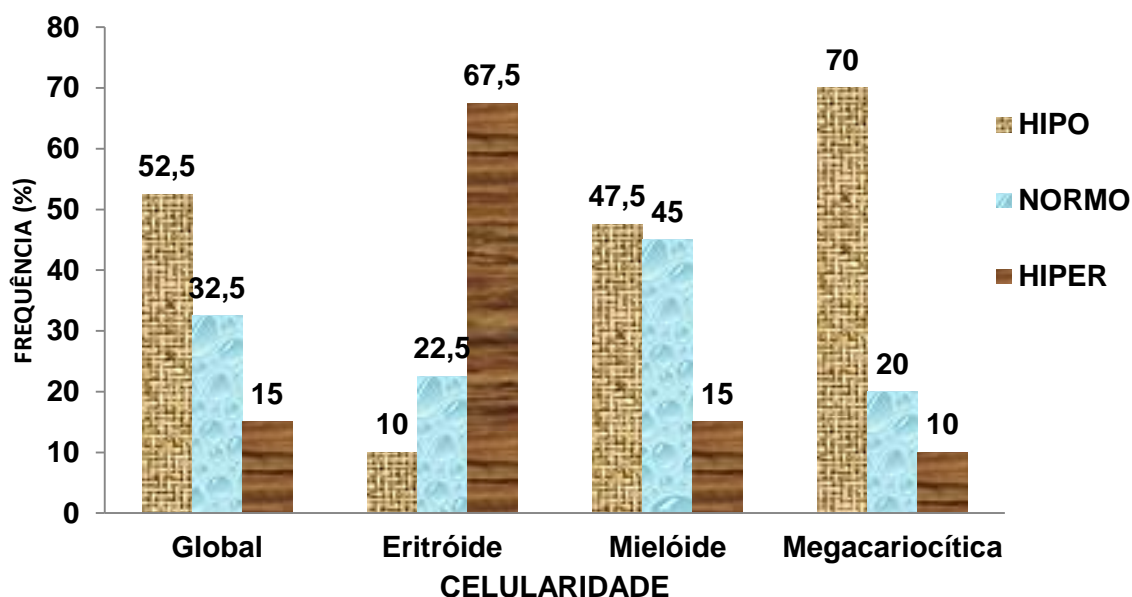
Nesse estudo observou-se hipoplasia da celularidade global, devido principalmente à série mielóide e à série megacariocítica, sendo que a hipercelularidade da série eritrócítica predominou em 67,6% dos casos.

Tabela 11 – Frequência da celularidade global e setorial do aspirado de MO em pacientes com leishmaniose visceral do IDTNP – outubro/07 a janeiro/08.

CELULARIDADE	HIPO		NORMO		HIPER		p^*
	N	%	N	%	N	%	
Global	21	52,5	13	32,5	06	15,0	0,0146
Eritróide	04	10,0	09	22,5	27	67,5	< 0,0001
Mielóide	19	47,5	18	45,0	03	7,5	0,0024
Megacariocítica	28	70,0	08	20,0	04	10,0	< 0,0001

p^* teste qui-quadrado para uma amostra com proporções esperadas iguais

Gráfico 4 – Frequência da celularidade global e setorial do aspirado de MO em pacientes com leishmaniose visceral do IDTNP – outubro/07 a janeiro/08.



Na relação mielóide/eritróide, constatou-se que houve inversão em apenas 7 (17,5%) dos casos ($p < 0,0001$ no teste $\chi^2 = 18,667$ para proporções esperadas iguais, com 1 grau de liberdade). Valores menores que 2/1 foram registrados em 10 (25,0%) pacientes, enquanto que 18 (45,0%) estavam dentro da faixa de referência (2/1 a 4/1) e 5 (12,5%) estavam acima desse valor (4/1).

Tabela 12 – Valores encontrados na avaliação do aspirado de MO em pacientes com leishmaniose visceral – IDTNP – outubro/07 a janeiro/08.

DISCRIMINAÇÃO	MÁXIMO	MÍNIMO	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	VALOR DE REFERÊNCIA
RELAÇÃO MIELÓIDE/ERITRÓIDE	6,76	0,37	2,52	± 1,91	2 / 1 – 4 / 1
LINFÓCITOS	35,0	0,00	17,07	± 9,49	3 – 17 %
PLAMÓCITOS	3,00	0,00	0,61	± 0,80	0 – 3 %
MONOCITOS	8,00	0,00	1,97	± 1,89	0 – 2 %
BLASTOS	2,00	0,00	0,56	± 0,69	0 – 1 %

Foi observado que a relação mielóide/eritróide, confirma a celularidade deficiente em 14 casos com valores menores que 2/1, 1 casos acima de 4/1, fora portanto, da faixa de referência que esta entre 2/1 a 4/1.

Nos adultos a relação M/E varia de 2/1 à 4/1, estando ligeiramente aumentada nos recém nascidos. Uma razão M/E aumentada pode ser encontrada em infecções, leucemias mielóides e hipoplasia eritróide. Uma razão M/E diminuída pode significar depressão de leucopoesse ou hiperplasia da série eritróide (OLIVEIRA, 2003).

O aumento da população de histiócitos era notório em todos os casos. Quanto aos histiócitos, a maioria (10 casos) foi encontrada repleta de leishmanias (*L. donovani*), enquanto em seis, o nível de parasitos era bem menor. Havia um grande número de megariócitos, sendo que em muitos casos eles formavam agregados. Outros “achados notáveis” foram: eritrofagócitos em nove casos e moderada plasmocitose em 13 casos (AL-SOHAIBANI, 1996).

Analisando a diseritropoiese em 105 pacientes com leishmaniose visceral, Sheika (2004) verificou que em 17 deles havia uma proeminente diseritropoiese nuclear, sendo que em 14 casos havia um tipo visto apenas em pacientes com anemia congênita diseritropoiética tipo II. A maioria desses casos apresentava um grau extremamente baixo de parasitemia na medula e que tal ocorrência não era encontrada em pacientes onde os parasitos eram facilmente detectados. O autor conclui ainda, que haja uma correlação direta e negativa entre a diseritropoiese nuclear típica e a parasitemia na medula óssea.

Havia uma hiper celularidade difusa da medula óssea em 13 casos e focal em três. Os aumentos da celularidade foram atribuídos à hiperplasia das três linhagens, com predominância de atividade eritrocítica na maioria dos casos (AL-SOHAIBANI, 1996).

As alterações medulares na hematopoesse são comumente associadas a infecção por vírus e protozoários. Alguns estudos demonstraram que patógenos podem agir diretamente nas funções das células hematopoiéticas precursoras e no estroma medular (COTTERRELL; ENGWERDA; KAYE, 2000). A medula óssea pode responder a infecções de diferentes maneiras, mas as mudanças podem não ser específicas de uma infecção em particular. A LV pode simular ou causar diversas alterações hematológicas como pancitopenia, mielofibrose,

mielodisplasia e hemofagocitose (DHINGRA *et al.*, 2010; BHATIA *et al.*, 2011; CHANDRA *et al.*, 2011, 2013).

Quanto às análises estatísticas, testou-se inicialmente os dados quanto à sua normalidade, utilizando-se então o teste estatístico de Shapiro-Wilk, mais poderoso para pequenas amostras do que o de Kolmogorov-Smirnov. Foram testados os dados hematimétricos que podem ser correlacionados (Hemácias X Proeritroblastos, Segmentados X Promielócitos e Plaquetas X Megacariócitos).

Após os testes concluiu-se que a única variável aceita, ou seja, a que apresentava uma distribuição normal dos dados, era a de hemácias. Optou-se então pelo coeficiente de correlação não paramétrico de Spearman para verificação das correlações.

Na tabela 13 estão expressos os valores dos coeficientes de correlação de Spearman, dos testes de significância e do tamanho da amostra (N) das variáveis analisadas. Embora tenham sido detectadas correlações positivas (Hemácias com proeritroblastos: coeficiente de correlação = + 0,009 e $p = 0,953$; plaquetas com megacariócitos: coeficiente de correlação = + 0,079 e $p = 0,622$; segmentados com mieloblastos: coeficiente de correlação = + 0,054 e $p = 0,054$, nesse estudo não foi detectada significância estatística entre as variáveis testadas.

Tabela 13 – Correlações não paramétricas entre hemácias, plaquetas, segmentados, proeritroblastos, megacariócitos e mieloblastos de pacientes com LV, no IDTNP, no período de outubro/2007 a janeiro/2008.

		Hemácias	Plaquetas	Proeritroblasto	Megacarioblasto	Segmentados	Mieloblasto	
Coef.deS pearman	Hemácias	Coef. de Correlação	1,000	,347*	,009	,088	,049	,101
		Sig. (2 extremidades)	.	,026	,953	,585	,760	,531
		N	40	40	40	40	40	40
Plaquetas		Coef. de Correlação	,347*	1,000	,130	,079	,346*	-,019
		Sig. (2 extremidades)	,026	.	,419	,622	,027	,908
		N	40	40	40	40	40	40
Proeritroblas to		Coef. de Correlação	,009	,130	1,000	,708**	-,159	-,013
		Sig. (2 extremidades)	,953	,419	.	,000	,321	,933
		N	40	40	40	40	40	40
Megacariobl asto		Coef. de Correlação	,088	,079	,708**	1,000	-,098	,127
		Sig. (2 extremidades)	,585	,622	,000	.	,542	,428
		N	40	40	40	40	40	40
Segmentados		Coef. de Correlação	,049	,346*	-,159	-,098	1,000	,054
		Sig. (2 extremidades)	,760	,027	,321	,542	.	,736
		N	40	40	40	40	40	40
Mielo blasto		Coef. de Correlação	,101	-,019	-,013	,127	,054	1,000
		Sig. (2 extremidades)	,531	,908	,933	,428	,736	.
		N	40	40	40	40	40	40

*. A correlação é significativa no nível 0,05 (2 extremidades).

** . A correlação é significativa no nível 0,01 (2 extremidades).

6. CONCLUSÃO

Nesse estudo os achados principais foram:

1 – as anormalidades hematológicas em crianças e adultos portadores de LV têm diversas causas e fatores associados, pois a presença de patógenos tanto na medula óssea como no sangue periférico, provoca diversas alterações qualitativas e quantitativas nas células produzidas, tais como: variações no tempo de vida, alterações na função a ser desempenhada, destruição das células por parte dos órgãos encarregados de retirar do sangue periférico estas estruturas celulares defeituosas, etc.

2 – a pancitopenia é um achado comum, sendo também complexa e multifatorial, com ocorrência de leucopenia, neutropenia, linfopenia e plaquetopenia.

2 – a atipia linfocitária foi detectada em 17 (27,4 %) ($p < 0,0001$) dos pacientes variando desde discreta até acentuada e a anemia é do tipo hipocrômica e microcítica.

3 – foram detectadas correlações positivas entre (tabela 13):

3.1 – plaquetas e hemácias ($r = 0,347$ com $\alpha = 0,05$);

3.2 – proeritroblastos e megacarioblastos ($r = 0,708$ com $\alpha = 0,01$);

3.3 – segmentados e plaquetas ($r = 0,346$ com $\alpha = 0,05$).

4 – de um modo geral as correlações entre as células da medula óssea (mielóide, eritróide e megacariocítica) e do sangue periférico (segmentados, hemácias e plaquetas), na amostra estudada, elas existem, são positivas, porém são fracamente significativas ou até mesmo sem significância estatística, conforme se pode constatar nos dados e pelos testes acima apresentados, o que nos leva a crer na existência de outros fatores interferentes para a ocorrência dessas variações observadas (tabela 13).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL- JURAYYAN A. M.; AL-NASSER M.N. ;AL-FAWAZ, I. M. ;AL-AYED I. H. ; AL-HERBISH, A. S.; AL-MAZROU,A. M., AL-SOHAIBANI, M. O.In *The haematological manifestation of visceral leishmaniasis in infancy and childhood*. Department of Paediatrics and * Pathology, College of Medicine, King Saud University, P.O. Box 2925, Riyadh 11461, *Journal of Tropical Pediatrics*, Arabia Saudita, 1995.

ALVAR, J. *et al.* Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS One**, v. 7, n. 5, p. e35671, 2012. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22693548> >.

AL-SOHAIBANI, M. O. *Bone marrow histopathological changes in visceral leishmaniasis*. *Ann. Saudi Méd.* 1996 May; 16(3): 304-7.

ASFORD RW. The leishmaniasis as model zoonoses. *Am Trop Med Parasitol* 1997; 91: 639-41.

BARATA RA, França-Silva JC Costa RT, Fortes-Dias CL, Silva JC, Paulo EV, et al. Phlebotomine sand flies in Porteirinha, an area of American visceral leishmaniasis transmission in the state of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2004; 99: 481-7;

BAIN, B.J. Dyserythropoiesis in visceral leishmaniasis. *A. J. Hematol.*, v. 85, p 781, 2010.

BAIN, B. J.; WICKRAMASINGHE, S. N. Pathology of the bone marrow: general considerations. In WICKRAMASINGHE, S. N. (Ed.). *Blood and bone marrow*. New York: Churchill Livingstone, 1986. p. 73-105.

BAIN, B. J. Morfologia das células sanguíneas. In: *Células sanguíneas: um guia prático*. 2ª ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997. p. 52 – 139.

BAIN, B. J. *Células sanguíneas: um guia prático*./ Barbara J. Bain / tradução Renato Failace - 4ª ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 2007. p. 255 e 379..

BARRANWAL, A. K.; MANDAL, R. N.; SING, R. Fulminant hepatic failure complicate visceral leishmaniasis in an apparently immunocompetent child, *Indian J. Pediatr*, v. 74, n. 5, p. 489-491, 2007.

BEGEMANN H.; HEILMEYER L.; *Atlas Colorido de Hematologia*. 5ª ed. Livraria e Editora Revinter LTDA, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento*

de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2006. 120 p.: il, color – (Série A, Normas e Manuais Técnicos).

_____, Ministério da Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2013. 120 p.

_____. **Sistema nacional de vigilância em saúde**: relatório de situação: Piauí / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – 5. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2011c. 35 p.

_____. **Sistema Nacional de Vigilância em Saúde**. Relatório de Situação: Piauí. 2009.

_____. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). *Controle, diagnóstico e tratamento da leishmaniose visceral (calazar): Normas Técnicas*. Brasília; Ministério Nacional da Saúde; 1999. 85p.

CANELA, J.R.; AVES, C.J. M.A.; RODRIGUES, G. C. perfil diagnóstico de leishmaniose visceral em pacientes adultos admitidos no Hospital Universitário Clemente Farias. Unimontes Científica, v. 6, n. 2, p. 107-111, 2004.

CANÇADO, J. ROMEU.; OLIVEIRA LIMA, A.; SOARES, BENJAMIN J.; GRECO J. B.; GALIZZI JOÃO. Métodos de Laboratório Aplicados À Clínica. Técnica e Interpretação. 7ª ed.. Ed. Guanabara Koogan S.A., 1992.

CARTWRIGHT GE, CHUNG HL, CHANG A. Studies on the pancytopenia of kala-azar. Blood. 1948; p. 249-75.

COSTA, C.N.H.; PEREIRA, H.F.; ARAÚJO, M.V.; Epidemia de leishmaniose visceral no Estado do Piauí, Brasil. 1980-1986. Ver. Saúde Pública, v. 24, n. 5, p. 361-372, 1990.

COTTERELL, S. E. J.; ENGWERDA, C. R.; KAYE, P. M. Leishmania donovani infection of bone marrow stromal macrophages selectively enhances myelopoiesis, by a mechanism involving GM-CSF and TNF- α . Blood, v. 95, n. 5, p. 1642-1651, 2000.

COTTERELL SE, ENGWERDA CR, KAYE PM. Leishmania donovani infection of bone marrow stromal macrophages selectively enhances myelopoiesis, by a mechanism involving GM-CSF and TNF- α . Blood. 2000; p. 1642-1651.

DANESHBOD, Y.; DEHGHANI, S. J.; DANESHBOD, K. bone marrow aspiration findings in kala-azar. Acta Cytol., v. 54, n. 1, p. 12-24, 2010.

DUARTE MI. Interstitial pneumonitis in human visceral leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1989; 83:

DHINGRA, K. K.; GUPTA, P.; SAROHA, V.; SETIA, N.; KHURANA, N.; SINGH, T. Morfolofical findings in boné marrow and aspirate smears of visceral kala-azar: A review. *Indian J. Pathol.Microbiol.*, v. 53, p. 96-100, 2010.

DIEBOLD, J.; MOLINA, T.; CAMILLERI-BROET, S.; LE TOURNEAU, A.; AUDOUIN, J. Bone marrow manifestations of infections and systemic disease. *Histopatholy*, v. 37, n. 3, p. 305-318, 2000

DE ASSIS T.S.M., Braga A.S., Pedras M.J., Barral A., Siqueira I.C., Costa C.H., Costa D.L., Holanda T.A., Soares V.Y., Bia M., Caldas Ade J., Romero G.A. & Rabello A. (2008). Validação do teste imunocromatográfico rápido IT-LEISH® para o diagnóstico da leishmaniose visceral humana. *Epidemiologia e Serviços de Saúde* 17(2): 9.

DE ASSIS T.S., Braga, A.S., Pedras, M.J., Oliveira, E., Siqueira, I.C., Costa, C.H., Costa, D.L., Holanda, T.A., Soares, V.Y., Bia, M., Caldas, A.J., Romero G. A & Rabello A..(2008). Validação do teste imunocromatográfico rápido IT-LEISH para diagnóstico da leishmaniose visceral humana. *Epidemiologia e Serviços. de Saúde* 17(2): 107-116.

DE ASSIS T.S.M., Rabello A. & Werneck G.L. (2012). Predictive models for the diagnostic of human visceral leishmaniasis in Brazil. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6(2): e1542.

DEUSJEUX P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *ComplImmunoMicrobio. InfectDis*2004; 27: 305-18.

DESJEUX P. Leishmaniasis:public health aspects and control. *ClinDermatol* 1996; 14:417-23.

DRUMOND, K.O.; COSTA, F.A.L. Forty years of visceral leishmaniasis in the State of Piauí: a review. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, São Paulo, v. 53, n. 1, Feb. 2011.

EL-SHOURA, S. M.; SHEIKHA, A. ; AL-JANADI, M. ; MORAD, N. ; KHAN, A.R. ; WESTMUCKETT, A. *Histiocyte ultrastructure in bone marrow associated with low level of parasitaemia and mimicking malignant histiocytes*. *Visceral leishmaniasis: II. Appl. Parasitol.* 1993 Nov; 34(4): 259-64.

EL-SHOURA, S. M.*Effects of parasitaemia level on the bone marrow ultrastructure..Visceral leishmaniasis: III. Appl. Parasitol.* 1994. Feb; 35(1): 61-9.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Ver. Bras. Epidemiol.*, v. 7, n. 3, p. 338-347, 2004.

KAFETZI DA, Maltezou HC. Visceral leishmaniasis in paediatrics. *Current Opin Infect Dis* 2002; 15: 289-294.

LORENZI, T. F. Manual de Hematologia: Propedêutica e Clínica – 4ª edição. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2006; cap. 2: 43 a 195

LIMA, O.A., SOARES, J.B., GRECO, J.B., GALIZZI, CANÇADO, J.R. Métodos de Laboratório Aplicados À Clínica. Técnica e Interpretação – 7ª ed. Cap17:1992

MARWAHA, N. ; SARODE, R. ; GUPTA, R. K. ; GAREWAL, G. ; DASH, S. *Clinic-hematological characteristics in patients with kalaazar. A study from north-west India.* Trop. Geogr. Méd. 1991 Oct, 43(4) 357-62.

MOURÃO, O. G. *A Medula Óssea no Calazar, Importância Diagnóstica e Interpretação da Síndrome Pancitopênica.* Tese de Doutorado. Apresentada a Cadeira de Terapêutica Clínica da Faculdade de Medicina da U.M.G. Belo Horizonte, Minas Gerais. 1960.

MUGAI R. Shaunak S, Wozniak A, Bruceon ADM. Jejunal function and pathology in visceral leishmaniasis. Lancet 1993; 2: 467-69.

NEVES, D.P.; MELO, A.L.; LINARD, P.M. Parasitologia Humana. São Paulo; Atheneu; 2005; cap 10 p 59.

NIERO-MELO, L.; RESENDE, L. S. R.; GAIOLLA, R.D.; OLIVEIRA. C.T.; DOMINGUES, M. A. C.; MORAES NETO, F.A. Diretrizes para o diagnóstico morfológico em síndromes mielodisplásicas. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., v.28, n.3, p 167-174, 2006.

ODAIR G. Leishmaniose Visceral Americana. In Neves, D.P. Parasitologia Humana, 11 Ed. São Paulo. Editora Atheneu; 2000. 31- 35.

OLIVEIRA. Maria Regina de A. Azevedo. Hematologia Básica: fisiopatologia e estudo laboratorial. 3ª ed. – São Paulo. Livraria Luana Editora.

ORTEGA, BE. Visceral Leishmaniasis. Long: principles and Practice of pediatric Infectious Diseases. 2 edição, 2003. 1284 p.

PASTORINO, C. A.; JACOB, C. M. A.; OSELKA, W. G.; CARNEIRO-SAMPAIO M. M. S.; *Leishmaniose Visceral: aspectos clínicos e laboratoriais.* Jornal de Pediatria (Rio J) 2002; 78 (2): 120-7:

PEARSON RD, Cox G, Jeronimo SM, Drew JS, Evans T, deAlencar JE. Visceral leishmaniasis: a model for infection-induced cachexia. Am J Trop Med Hyg 1992; 47: 8 - 15.

PINTADO V. Martin-Rabadan P. Rivieira ML, et all. Visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non-HIV-infected patients. A comparative study. Medicine 2001; 80: 54-3.

PIAUI. Secretaria de Estado da Saúde do Piauí (site eletrônico do SINAN). Acesso em 04/04/2015.

POLLACK S, Nagler A, Liberman D, Oren I, Altroy G, Katz R, Schechter YH. Immunological studies of pancytopenia in visceral leishmaniasis. Isr J Med Sci 1988; 24: 70-4.

RODRIGUES SJ. Paola D. O problema das fibroses hepáticas na leishmaniose visceral. *Rev Ass Med Bras* 1958; 4: 8-21;

ROMERO, G. A. S.; BOELAERT, M. Control of Visceral Leishmaniasis in Latin America - A Systematic Review. **PLoS Negl Trop Dis** 4(1): e584. 2010.

SOARES, V. Y. R. *et al.*, Clinical and epidemiological analysis of patients with HIV/AIDS admitted to a reference hospital in the northeast region of Brazil. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, São Paulo, v. 50, n. 6, Dec. 2008.

SCHALLING, H.D.F.H.; OSKAM, L. Molecular biological applications in the diagnosis and control of leishmaniasis and parasite identification. *Trop. Med. Int. Health*, v. 7, p. 641-645, 2002.

SHAW JJ. Taxonomy of the genus *Leishmania*: present and future trends and their implications. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1994; 89: 471 a 78.

SHEIKA, A. *Dyserythropoiesis in 105 patients with visceral leishmaniasis*. *Lab. Hematol.* 2004; 10(4): 206-11.

SHERLOCK IA. Ecological interactions of visceral leishmaniasis in the state of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1996; 91: 671-83.

SILVA ES, Gontijo CMF, Pacheco RS, Fiuza VOP, Brasil RP. Visceral leishmaniasis in the metropolitan region of Belo Horizonte, state of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96: 285-91.

SIMPLÍCIO, A. C. R. ; FURTADO, J. B. V. ; MONTEIRO, O. S. ; GARRET, D. *Leishmaniose visceral no Brasil: análise epidemiológica nos últimos 16 anos*. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2002; 35; 298.

WICKRAMASINGHE, S. N. ; AKINYANJU, O. O. ; GRANE, A. *Ultrastructure and cell cycle distribution of bone marrow cells in protein-energy malnutrition*. *Clin. Lab. Haematol*, 1988; 10(2): 135-47.

WHO, World Health Organization. *Leishmaniasis: current situation and new perspectives*. *Comparative Immunology, Microbiology & Infections Diseases*. Department of Control, Prevention and Elimination (CDS/CPE), Cluster of Communicable., Geneva 27, Switzerland. 2004. p 305 – 318. Disponível em: <<http://www.elsevier.com/locate/cimid>> Acesso em: 27/11/2007.

WHO. *Leishmaniasis and HIV coinfection*. 2010. Disponível em: <http://www.who.int/leishmaniasis/burden/hiv_coinfection/burden_hiv_coinfection/en/index.html>. Acesso em: novembro de 2011.

ANEXOS

8.1 Apêndice 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA
Mestrado em Farmacologia Clínica

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O respeito devido à **dignidade humana** exige que toda pesquisa se processe após **consentimento livre e esclarecido dos sujeitos**, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestem a sua anuência à participação na pesquisa (IV, da Res. 196/96, do CNS).

Você, na qualidade de sujeito de pesquisa, está sendo consultado para participar de uma pesquisa. Você precisa decidir se quer autorizar ou não sua inclusão como sujeito de pesquisa.

Para melhor esclarecer, sujeito de pesquisa, de acordo com a Resolução 196/96, do CNS, é o(a) participante pesquisado(a), individual ou coletivamente, **de caráter voluntário, vedada qualquer forma de remuneração.**

Por favor, não se apresse em tomar a decisão.

Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte ao responsável pela pesquisa sobre qualquer dúvida que tiver.

Após ser **esclarecido (a)** sobre as informações a seguir, no caso de autorizar sua participação como sujeito de pesquisa, assine este documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável.

Você poderá recusar sua participação de imediato e a qualquer tempo sem que com isto haja qualquer penalidade.

ESCLARECIMENTO SOBRE A PESQUISA:

Projeto de Pesquisa intitulado: Correlação entre as manifestações hematológicas centrais e as periféricas de pacientes com leishmaniose visceral.

Pesquisador Responsável: _Humberto Feitosa Pereira

Telefone(s) para contato: (086) _3221-3413 Ramal 226, (086) 9982-1334

E-mail: hpfeitosa@ig.com.br

1. A presente pesquisa tem como objeto:

O estudo das alterações hematológicas ocorridas na medula óssea e no sangue periférico, de pacientes com leishmaniose visceral.

2. Os procedimentos adotados nesta pesquisa são:

Coleta e análise dos dados obtidos das leituras realizadas nas lâminas de esfregaço de medula óssea e sangue periférico de pacientes portadores de leishmaniose visceral .

3. Há desconfortos e riscos () Não há desconfortos e riscos (X). Se houver desconfortos e riscos justificar: _____.

4. Há benefícios para o sujeito de pesquisa (X) Não há benefícios para o sujeito de pesquisa (). Se houver benefícios, justificar: A identificação e correlação das alterações verificadas tanto na medula óssea, como no sangue periférico de pacientes portadores de calazar, podem contribuir para um maior entendimento da doença e assim melhor direcionar a conduta médica, quanto ao tratamento desses pacientes _____.

5. Objetiva-se nesta pesquisa: Identificar e correlacionar as alterações hematológicas existentes no nível central e no nível periférico de pacientes com leishmaniose visceral, visando a identificação de padrões de ocorrência dessas células _____.

6. Compromisso de Garantia de acesso: em qualquer etapa da pesquisa, você terá acesso aos pesquisadores responsáveis e participantes pela presente pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas.

7. O principal pesquisador é (preencher com nome completo, endereço profissional e/ou residencial, telefones e e-mail): Carlos Henrique Nery Costa, Rua Arthur de Vasconcelos, 151, Sul. (086) 3221-3413, (086) 3221-2424; crlshncst@aol.com _____.

8. O período de sua participação será de _01_/_07_/ 2007_ a _31_/_03___/2008__, lembrando-lhe que você terá o direito de recusar-se a continuar como sujeito de pesquisa a qualquer tempo.

Nome e Assinatura do pesquisador responsável:

Humberto Feitosa Pereira

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, (qualificação completa com nome, número de identidade, CPF, endereço, telefone(s) e, se houver, e-mail), abaixo assinado, concordo em autorizar minha participação como sujeito de pesquisa no projeto de pesquisa intitulado _____, que tem como pesquisador principal _____ e pesquisadores participantes _____. Declaro que tive pleno conhecimento das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o projeto de pesquisa _____, tudo em conformidade com o estabelecido na Resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde. Declaro, ainda, que discuti com o pesquisador responsável sobre a minha decisão em participar nesse estudo como sujeito de pesquisa e sobre a possibilidade de a qualquer momento (antes ou durante a mesma) recusar-me a continuar participando da pesquisa em referência, sem penalidades e/ou prejuízos, retirando o meu consentimento. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do projeto de pesquisa, os procedimentos a serem realizados, a ausência (e ou presença) de riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso à pesquisa em qualquer tempo. Concordo, **voluntariamente**, em participar deste projeto de pesquisa.

Teresina, ____/____/____

Nome e Assinatura do sujeito ou responsável

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____

Assinatura: _____

Nome: _____

Assinatura: _____

Nome: _____

Assinatura: _____

Nome: _____

Assinatura: _____

Observações Complementares:

Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da UFPI e do IDTNP. ou pelo e-mail hpfeitosa@ig.com.br.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil; CEP 64049-550

Telefones: (86) 3215-5734 Fax (86) 3215-5560

Teresina, 14 de Dezembro de 2005

À
Profª. Ms. DORCAS LAMOUNIER COSTA
Depto. de Medicina Comunitária - CCS

Senhora Pesquisadora,

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), da Universidade Federal do Piauí analisou, de acordo com os requisitos da Resolução CNS 196/96, que trata das "diretrizes e normas envolvendo seres humanos", o protocolo de pesquisa encaminhado por V.sa., intitulado "INFLUÊNCIA DO GENÓTIPO DE LEISHMANIA CHAGASI SOBRE A PATOGENIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL" o qual teve parecer "aprovado" sob o número 0116/2005. Ressaltamos que o parecer consubstanciado emitido na reunião encontra-se arquivado para eventuais consultas.

Atenciosamente,

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Regina Ferraz Mendes'.

Profª. Dra. REGINA FERRAZ MENDES
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa