
**Quantificação de Biomarcadores para Leishmaniose Tegumentar Americana:
*Leish*FERON, Citocinas, Quimiocinas e *mi*RNA em militares antes e após
exposição no oeste da Amazônia**

Zanair Soares Vasconcelos

**Orientadora: Prof^a Dra. Maria das Graças Vale Barbosa Guerra
Coorientador: Prof Dr. Jorge Augusto de Oliveira Guerra**

Manaus - 2021

1. OBJETIVOS

Geral

Avaliar a acurácia do *Leish*FERON associado à quantificação de biomarcadores para identificação de indivíduos assintomáticos com LTA

Específicos

2.1

Caracterizar a população de estudo quanto aos aspectos clínicos epidemiológicos, hematimétricos e bioquímicos antes e após a exposição ciclo silvestre da *Leishmania*

2.2

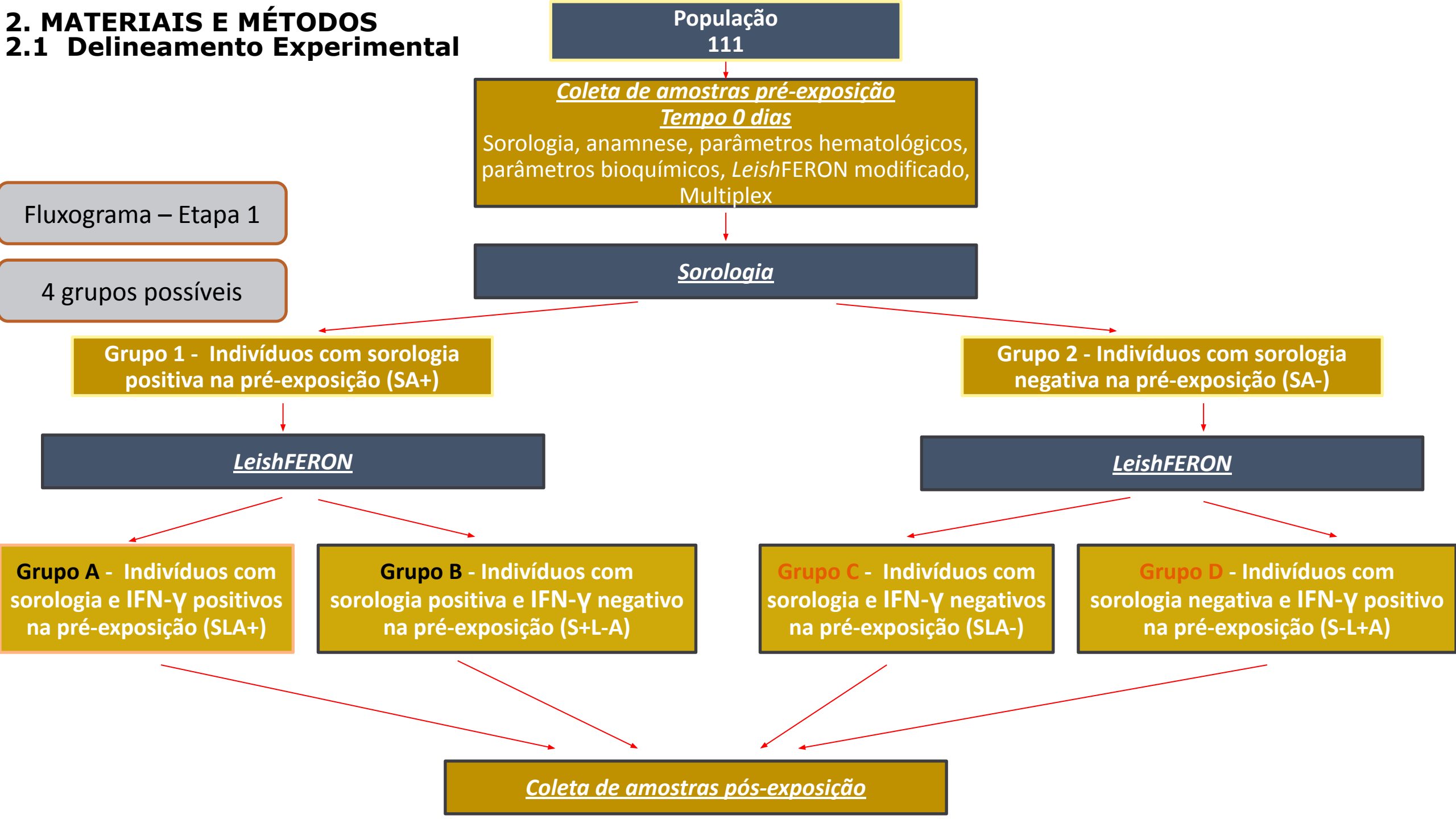
Avaliar a evolução dos níveis de IFN- γ em humanos recém-expostos ao ciclo silvestre da *Leishmania*

2.3

Quantificar biomarcadores quimiocinas e citocinas sugestivas de infecção por *Leishmania* em humanos recém-expostos ao seu ciclo silvestre

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Delineamento Experimental



Coleta de amostras pós-exposição (64 amostras)

Tempo 90 dias

Sorologia, anamnese, parâmetros hematológicos, parâmetros bioquímicos, *Leish*FERON modificado, Multiplex

Grupo A - Indivíduos com sorologia e IFN- γ positivos na pré-exposição (SLA+)

Grupo B - Indivíduos com sorologia positiva e IFN- γ negativo na pré-exposição (S+L-A)

Grupo C - Indivíduos com sorologia e IFN- γ negativos na pré-exposição (SLA-)

Grupo D - Indivíduos com sorologia negativa e IFN- γ positivo na pré-exposição (S-L+A)

Altera *Leish*FERON pré-exposição?

Sim - Sorologia (+) e IFN- γ (+)

Não - Sorologia (+) e IFN- γ (-)

Altera Sorologia pré-exposição?

Sim - **Sorologia** (+) e IFN- γ (-)

Não - Sorologia (-) e IFN- γ (-)

Altera Sorologia pré-exposição?

Não - Sorologia (-) e IFN- γ (+)

Sim - **Sorologia** (+) e IFN- γ (+)

Altera *Leish*FERON pré-exposição?

Sim - Sorologia (-) e **IFN- γ** (+)

Não - Sorologia (-) e IFN- γ (-)

Altera Sorologia e *Leish*FERON e pré-exposição?

Sim - **Sorologia** (+) e **IFN- γ** (+)

Não - Sorologia (-) e IFN- γ (-)

Fluxograma – Etapa 2

Com lesão
Microscopia miRNAs, qPCR spp

Sem lesão

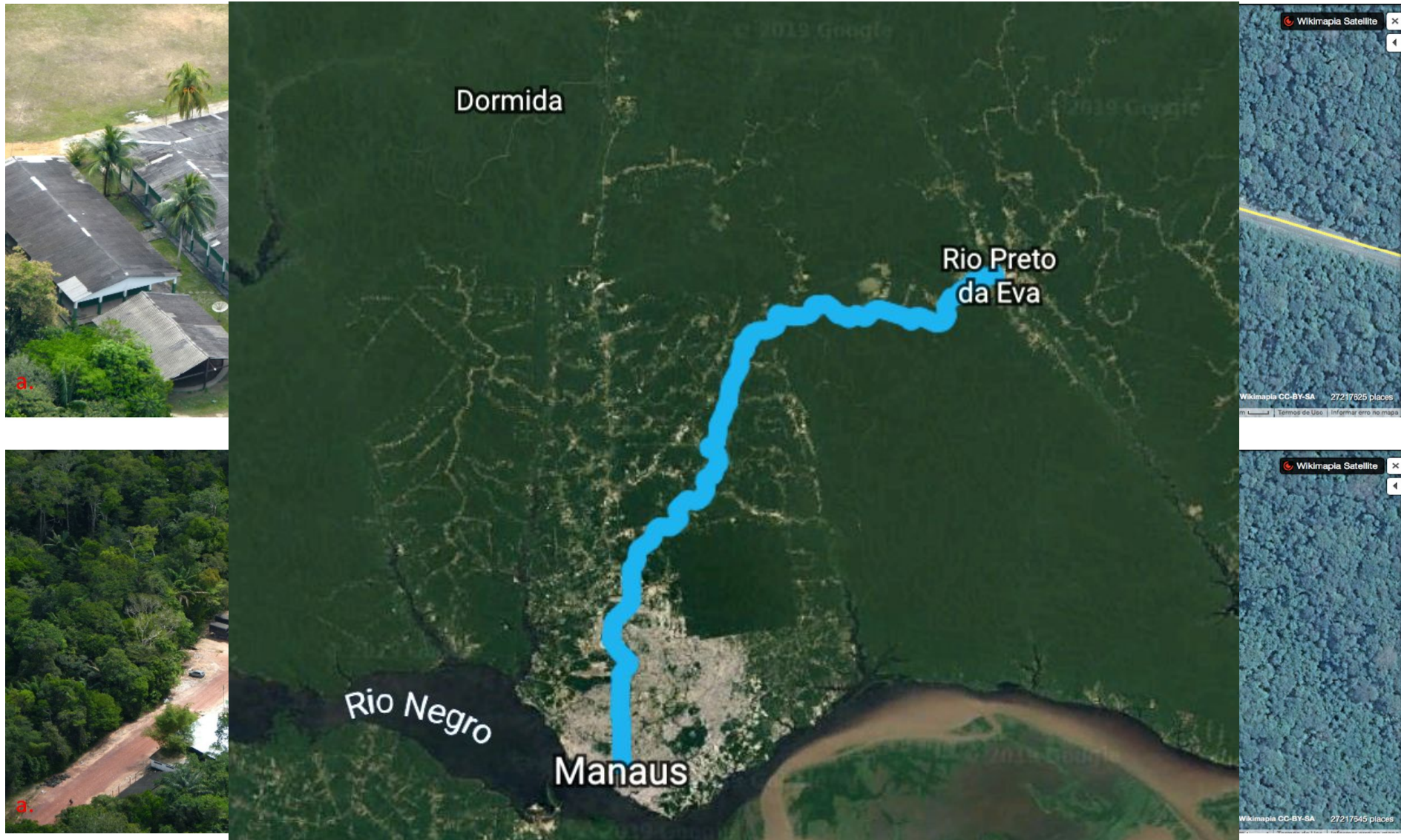
Tempo 270 dias - Acompanhamento

Com lesão
Microscopia miRNAs, qPCR spp

Sem lesão

2. MATERIAIS E MÉTODOS

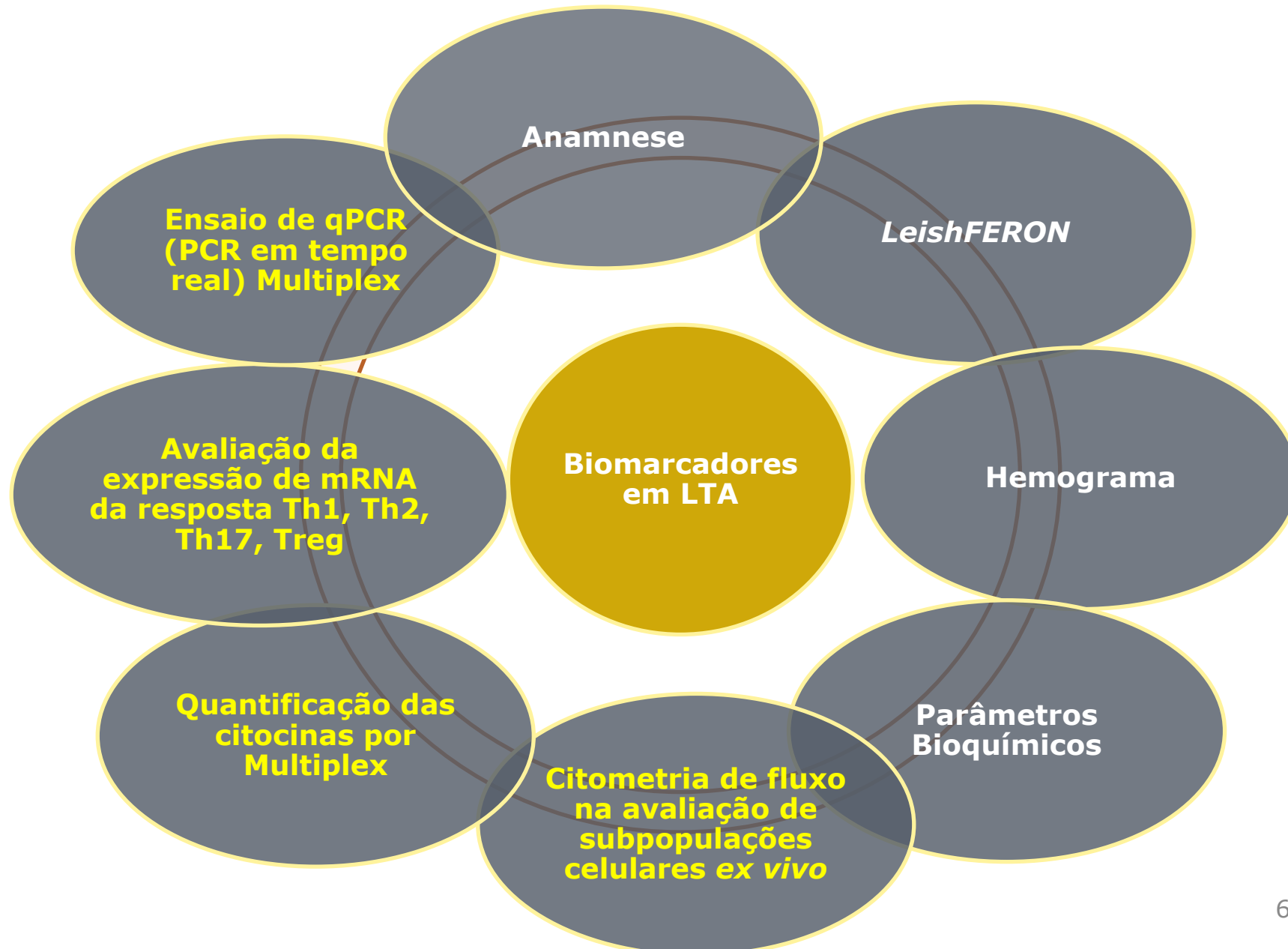
2.2 Área do Estudo



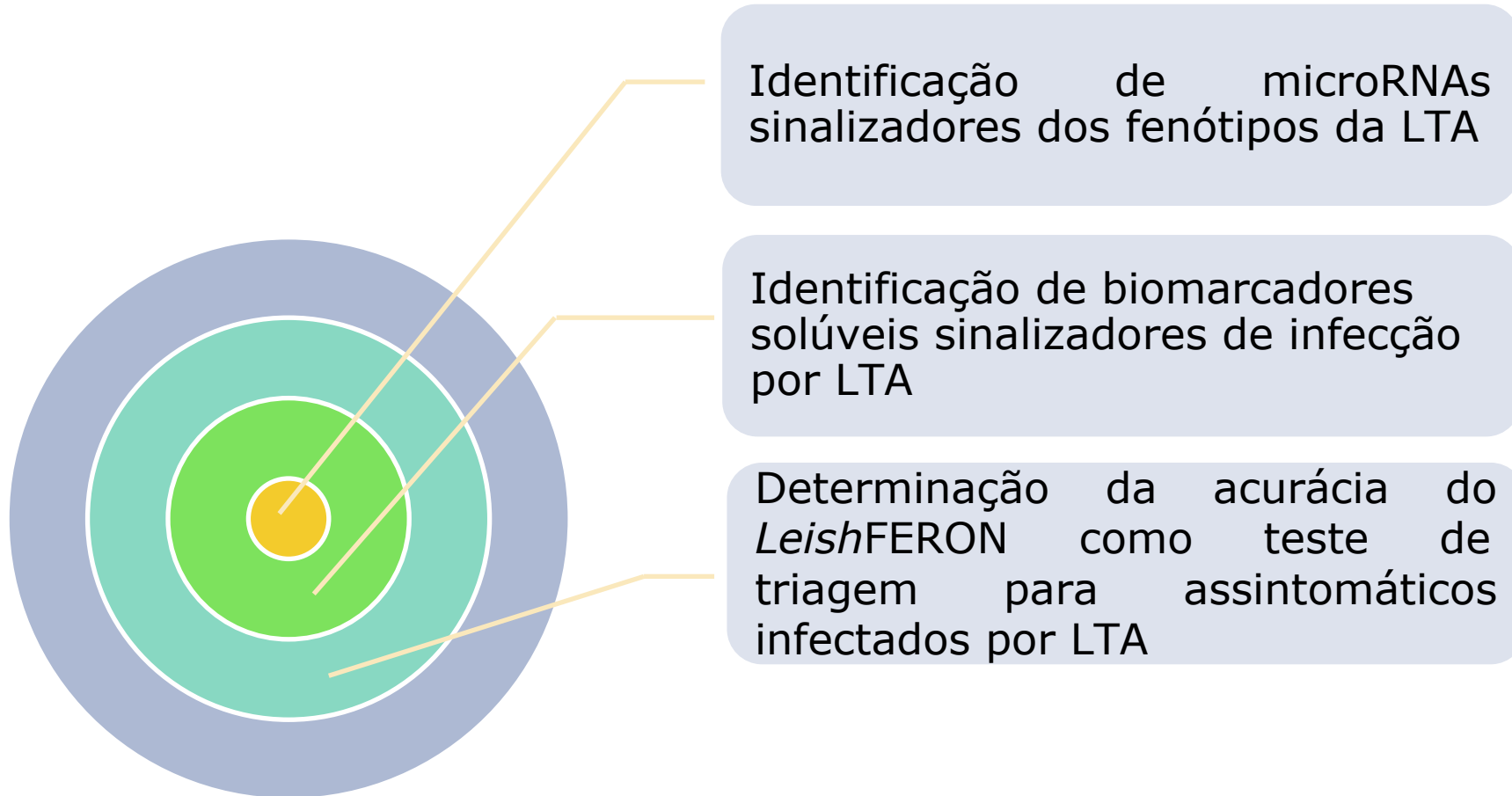
Fonte: Adaptado de Google Earth, 2018.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.3 Metodologias



3. RESULTADOS ESPERADOS



4. RESULTADOS PARCIAIS

4.1 Socio-demographic data - States and age

Variable	Participants (population)= 111	100 %
States (8)		
AM	50	45,0
PA	20	18,0
RR	11	9,9
RO	10	9,0
AC	7	6,3
AP	5	4,5
MA	4	3,6
RJ	2	1,8
Age	years	
Younger	21,3	
Older	39,5	
Mean	27	
Median	27	
Mode	5	

4. RESULTADOS PARCIAIS

4.2 Socio-demographic data - Municipalities

Variable	Participants (population)= 111	100%
Municipalities (24)		
Manaus	26	23,4
Boa Vista	12	10,8
Marabá	9	8,1
Tabatinga	8	7,2
Guajará-Mirim	8	7,2
Tefé	7	6,3
Macapá	4	3,6
Rio Branco	4	3,6
São Gabriel da Cachoeira	4	3,6
Altamira	3	2,7
Belém	3	2,7
Humaitá	3	2,7
Itaituba	3	2,7
Barcelos	2	1,8
Cruzeiro do Sul	2	1,8
Imperatriz	2	1,8
Porto Velho	2	1,8
São Luís	2	1,8
Tucuruí	2	1,8
Cáceres	1	0,9
Clevelandia do Norte	1	0,9
Epitaciolândia	1	0,9
Nova Iguaçu	1	0,9
Rio de Janeiro	1	0,9

4. RESULTADOS PARCIAIS

4.3 Recent clinical history collected by anamnesis form before exposure

Variable	Participants (population)=	
	111	100 %
Visited any forest areas in the last 6 months	55	49,5
Has any allergies	14	12,6
Has skin lesions	8	7,2
Take any medicine	4	3,6
Has a cough	3	2,7
Activity in a wild environment that you perform outside the BA*	3	2,7
Smoker	3	2,7
Has a headache	2	1,8
Has gastrointestinal disorder	2	1,8
Reports a previous case of Leishmaniasis	1	0,9
Has fever	1	0,9
Has skin rash	1	0,9
Feel pain in the body	1	0,9
Has arthritis or arthralgia	1	0,9
Stop doing any of the course activities due to physical problems	1	0,9

*BA: Brazilian Army

4. RESULTADOS PARCIAIS

4.4 Recent clinical history collected by anamnesis form before exposure

Variable	Participants (population)= 111100 %	
Related allergies		
Not specified	3	2,7
Dipyrone	2	1,8
Sulfa	2	1,8
Acetylsalicylic Acid	1	0,9
Amoxicillin	1	0,9
Cephalexin	1	0,9
Crustaceans	1	0,9
Dust	1	0,9
Iodine	1	0,9
Lactose	1	0,9
Total	14	12,6
Related take any medicine		
Omega 3	1	0,9
Nimesulide	1	0,9
Artrolive	1	0,9
Camex	1	0,9
Total	4	3,6

4. RESULTADOS PARCIAIS

4.5 Pre-exposure laboratory data - hematology and biochemistry

Hematimetry	Maximum	Minimum	Mean	Median	Mode
WBC ¹ (x10 ³ /uL ²)	12,9	4,0	6,5	6,3	6,0
RBC ³ (x10 ⁶ / uL)	6,0	3,9	4,7	4,7	4,6
HGB ⁴ (g ⁵ /dL ⁶)	16,9	10,0	14,2	14,3	14,0
HCT ⁷ (%)	48,9	29,6	40,9	41,2	43,0
PLT ⁸ (x10 ³ /uL)	350,0	158,0	227,7	224,0	224,0
PCT ⁹ (%)	272,0	139,0	180,0	180,0	157,0
VCM ¹⁰ (fL ¹¹)	95,0	60,0	88,1	89,0	89,0
HCM ¹² (pg ¹³)	39,7	19,7	30,5	30,7	31,0
CHCM ¹⁴ (g/dL)	45,0	24,5	34,8	34,5	34,4
RDW ¹⁵ (%)	18,6	12,2	13,8	13,6	13,6
VPM ¹⁶ (fL)	9,7	3,5	7,9	7,8	7,8
PDW ¹⁷ (%)	21,8	14,4	17,9	18,0	17,4
Biochemistry	Maximum	Minimum	Mean	Median	Mode
CK ¹⁸	1269,0	36,0	205,8	155,5	129,0
CK-MB ¹⁹	72,0	7,0	17,0	15,0	13,0
Urea	65,3	17,0	38,4	37,3	39,4
Creatinine	1,5	0,9	1,1	1,1	1,1

White blood cell; 2. Microliter; 3. Red blood cell; 4. Hemoglobin; 5. Gram; 6. Deciliter; 7. Hematocrite; 8. Plaquetes; 9. Plaquetocrite; 10. Volume corpuscular médio; 11. Phentoliter; 12. Concentração de hemoglobina corpuscular média; 13. 15. Red cell distribution width; 16. Volume plaquetário médio; 17. Plaquete distribution width; 18. Creatine kinase; 19. Creatine kinase MB fraction.

4. RESULTADOS PARCIAIS

4.6 Post-exposure laboratory data - hematology and biochemistry

Hematimetry	Maximum	Minimum	Mean	Median	Mode
WBC ¹ (x10 ³ /uL ²)	12,6	4,8	7,8	7,7	7,8
RBC ³ (x10 ⁶ / uL)	5,9	4,1	4,7	4,7	4,6
HGB ⁴ (g ⁵ /dL ⁶)	45,4	13,5	15,7	15,2	15,1
HCT ⁷ (%)	47,8	37,3	43,1	43,0	43,4
PLT ⁸ (x10 ³ /uL)	384,0	138,0	238,8	240,0	220,0
PCT ⁹ (%)	0,3	0,1	0,2	0,2	0,2
VCM ¹⁰ (fL ¹¹)	99,1	80,7	92,0	92,6	94,1
HCM ¹² (pg ¹³)	35,5	27,3	32,4	32,8	34,1
CHCM ¹⁴ (g/dL)	36,3	28,5	35,2	35,4	35,6
RDW ¹⁵ (%)	16,1	11,3	12,8	12,9	13,1
VPM ¹⁶ (fL)	10,8	6,7	8,9	8,9	8,6
PDW ¹⁷ (%)	16,6	13,1	16,0	16,0	15,9
Biochemistry	Maximum	Minimum	Mean	Median	Mode
CK ¹⁸	8400,0	17,0	552,7	235,5	181,0
CK-MB ¹⁹	229,0	1,0	38,5	30,0	5,0
Urea	64,7	24,1	37,2	36,3	41,9
Creatinine	1,1	0,3	0,6	0,7	0,3

White blood cell; 2. Microliter; 3. Red blood cell; 4. Hemoglobin; 5. Gram; 6. Deciliter; 7. Hematocrite; 8. Plaquetes; 9. Plaquetocrite; 10. Volume corpuscular médio; 11. Phentoliter; 12. Concentração de hemoglobina corpuscular média; 13. 15. Red cell distribution width; 16. Volume plaquetário médio; 17. Plaquete distribution width; 18. Creatine kinase; 19. Creatine kinase MB fraction.

4. RESULTADOS PARCIAIS

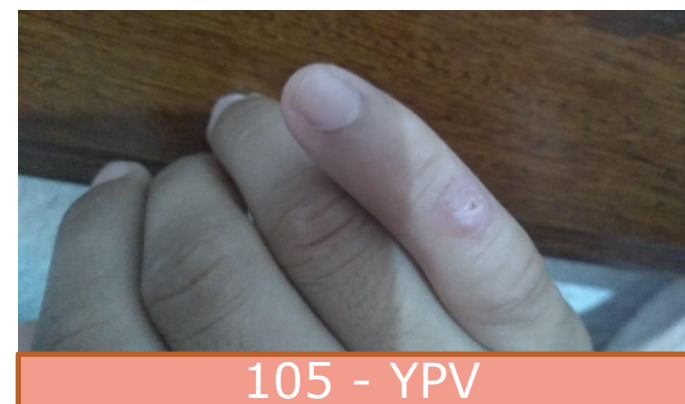
4.7 Leishmaniasis serology - number of samples with significant variation in IgG1 and IgG3 levels after exposure

Number of patients with Increase IgG1	5	
Number of patients with Increase IgG3	10	
Number of patients with Increase IgG1 and IgG3	4	
Identification of samples with Increase	IgG1	IgG3
	9	-
	42	42
	74	74
	77	77
	87	87
	-	17
	-	41
	-	47
	-	86
	-	96
	-	116
	-	-
Number of patients with decrease IgG1	2	
Number of patients with decrease IgG3	5	
Number of patients with decrease IgG1 and IgG3	-	
Identification of samples with decrease	IgG1	IgG3
	18	-
	106	-
	-	5
	-	15
	-	70
	-	72
	-	111

4. RESULTADOS PARCIAIS

4.1 Clinical manifestations leishmaniasis

6 militares (4 com imagens) foram diagnosticados com leishmaniose ao fim dos 270 dias de acompanhamento

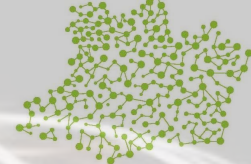


5. LISTA DE FONTES

1. <https://www.canstockphoto.com/promastigotes-of-leishmania-parasite-45300553.html>
2. <http://www.ambientalbr.com.br/noticia/dedetizadora-em-porto-alegre>
3. <http://www.who.int/leishmaniasis/burden/>
4. file:///Users/zanairvasconcelos/Documents/Mega2/Doutorado_PROCAP_2018/1_Doutorado_2018/DOCs_Projeto_Doutorado/LT-Graficos-e-Mapas%20Leishmania.pdf
5. r1.ufrjr.br/adivaldofonseca/wp-content/uploads/.../12_2-Leishmaniose-adivaldo.pdf
6. <http://www.amopintar.com/desenhar-o-corpo-humano-erros-a-evitar/>
7. <https://www.grupoescolar.com/a/b/F019E.jpg>
8. <https://steemit.com/steemstem/@fancybrothers/be-aware-of-the-black-fever>
9. <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAeqkMAI/aula-tecnicas-imunologicas-diagnostico-laboratorial>
10. <http://ideapik.com/interesting-facts-about-dna/>
11. Br Med Bull. 2006 Jul 17;75-76:115-30
12. <https://br.depositphotos.com/124929892/stock-illustration-military-wear-man-sickness.html>
13. <http://emblemsbf.com/order-3436.html>
14. <stock-vector-set-of-military-man-characters-posing-in-different-situations-cheerful-soldier-laughing-crying-476320204.jpg>
15. Adaptado de Google Earth, 2018.
16. <https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/File:Leishmania.jpg>
17. <https://www.youtube.com/watch?v=yKY0Xa3TvsM>
18. <https://www.123rf.com/photo>
19. <https://biologianet.uol.com.br/doencas/leucocitose.htm>
20. <http://www.emforma.net/10030-utilizacao-do-lactato-para-a-producao-de-energia>
21. <http://www.news.gatech.edu/2017/09/08/flesh-eating-leishmania-come-closer-vaccine-against-them-does-too>
22. <http://www.eb.mil.br/web/guest/quarteis-por-estado1>
23. https://alexianica.sunphoto.ro/poze_frumoase/84990915

6. REFERÊNCIAS

- ADAUI, V. et al. Association of the Endobiont Double-Stranded RNA Virus LRV1 With Treatment Failure for Human Leishmaniasis Caused by *Leishmania braziliensis* in Peru and Bolivia. **The Journal of infectious diseases**, v. 213, n. 1, p. 112–21, 1 jan. 2016.
- AHLUWALIA, I. B. et al. Visceral leishmaniasis: consequences of a neglected disease in a Bangladeshi community. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 69, n. 6, p. 624–8, dez. 2003.
- ALVAR, J. et al. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, p. e35671, 31 maio 2012.
- Analizador hematológico Sysmex XE-2100™**. Disponível em:
<<https://www.sysmex.com/la/pt/Products/Hematology/XESeries/Pages/XE-2100-Hematology-Analyzer.aspx>>.
- ANDRIOLO, A. et al. **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso**. [s.l.: s.n.].
- ARIAS, J. R. et al. On the Vectors of Cutaneous Leishmaniasis in the Central Amazon of Brazil. I. Preliminary Findings (). **Acta Amazonica**, v. 7, n. 2, p. 293–294, jun. 1977.
- AZULAY, R.; SALGADO, U. Surto epidêmico de Leishmaniose Tegumentar observado em paraquedistas do exército na Amazônia. **Medicina Cutânea Ibero Latino-americana**, v. 4, p. 347–352, 1966.
- BARNETT, P. G. et al. VIRGIN SOIL: THE SPREAD OF VISCERAL LEISHMANIASIS INTO UTTAR PRADESH, INDIA. [s.d.].
- BIKBOV, B.; PERICO, N.; REMUZZI, G. Mortality landscape in the Global Burden of Diseases, Injuries and Risk Factors Study. **European Journal of Internal Medicine**, v. 25, n. 1, p. 1–5, jan. 2014.
- BLUM, J.; NEUMAYR, A.; LOCKWOOD, D. Treatment of Tegumentary Forms of Leishmaniasis. In: **The Leishmaniasis: Old Neglected Tropical Diseases**. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 191–225.
- BOURREAU, E. et al. Presence of *Leishmania* RNA Virus 1 in *Leishmania guyanensis* Increases the Risk of First-Line Treatment Failure and Symptomatic Relapse. **Journal of Infectious Diseases**, v. 213, n. 1, p. 105–111, 1 jan. 2016.
- BRANDÃO-FILHO, S. P. et al. Leishmaniose tegumentar americana em centro de treinamento militar localizado na Zona da Mata de Pernambuco, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, n. 6, p. 575–578, dez. 1998.
- BRASIL. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Área Territorial Brasileira**. Disponível em:
<https://ww2.ibge.gov.br/home/geociencias/cartografia/default_territ_area.shtm>.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA DEFESA. **Portal Brasil - Ação integrada reforça segurança em áreas de fronteira**. Disponível em:
<<http://www.brasil.gov.br/defesa-e-seguranca/2013/05/acao-integrada-reforca-seguranca-em-areas-de-fronteiras>>.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA DEFESA. EXÉRCITO BRASILEIRO. **Port Nr 63, de 06-07-05 IRISM CIGS - DECEX - Aprova as Instruções Reguladoras para Inscrição, Seleção e Matrícula nos Cursos e Estágios do Centro de Instrução de Guerra na Selva**, 2005.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA DEFESA. EXÉRCITO BRASILEIRO. **Curso de Operações na Selva - Orientações aos Candidatos**, 2016. Disponível em:
<http://www.cigs.ensino.eb.br/attachments/article/337/Orientacoes_aos_Candidatos_-_mar_2016.pdf>.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA DEFESA. EXÉRCITO BRASILEIRO. DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO E CULTURA. **Portaria nº 30-DECEX, de 22 de fevereiro de 2016**, 2016. Disponível em: <http://www.decex.eb.mil.br/port_2016/Port_Nr_30_-_DECEX_EB60-IR-45.001_SepBE8-16.pdf>. Acesso em: 23 mar. 2018
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO BÁSICA. **Caderno de Atenção Básica - Vigilância em Saúde: Dengue, Esquistossomose, Hanseníase, Malária, Tracoma e Tuberculose**. 2ª ed. rev ed. Brasília: [s.n.].
- BRASILEIRO., B. M. DA D. E. **Portaria nº 129, de 11 de março de 2010**, 2010.
- BURNETT, M. W. Cutaneous leishmaniasis. **Journal of special operations medicine : a peer reviewed journal for SOF medical professionals**, v. 15, n. 1, p. 128–9, 2015.
- CABRAL, A. W. D. Estudo comparativo entre o diagnóstico por técnicas sorológicas e da PCR para a detecção de *Leishmania* spp. **Biologia**, p. 56, 2007.
- CADD, T. L.; KEENAN, M. C.; PATTERSON, J. L. Detection of *Leishmania* RNA virus 1 proteins. **Journal of virology**, v. 67, n. 9, p. 5647–50, set. 1993.



OBRIGADO!

