

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Centro de Pesquisas René Rachou
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

**“ASPECTOS CLÍNICOS E EVOLUTIVOS DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA NA
CASUÍSTICA DO CENTRO DE REFERÊNCIA EM LEISHMANIOSES DO CENTRO
DE PESQUISAS RENÉ RACHOU - FIOCRUZ, BELO HORIZONTE, 2001- 2005”**

por

Alexandre Rotondo da Silva

Belo Horizonte

Setembro/2007

DISSERTAÇÃO

MCS – CPqRR

A. R. SILVA

2007

Alexandre Rotondo da Silva

**“ASPECTOS CLÍNICOS E EVOLUTIVOS DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA NA
CASUÍSTICA DO CENTRO DE REFERÊNCIA EM LEISHMANIOSES DO CENTRO
DE PESQUISAS RENÉ RACHOU - FIOCRUZ, BELO HORIZONTE, 2001- 2005”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde do Centro de Pesquisa René Rachou, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências na área de concentração de Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientação: Dra. Ana Lúcia Teles Rabello

Coorientação: Dra. Mariângela Carneiro

Belo Horizonte

Setembro/2007

Catálogo-na-fonte
Rede de Bibliotecas da FIOCRUZ
Biblioteca do IRR
CRB/6 1975

R848a Silva, Alexandre Rotondo.
2007

Aspectos Clínicos e Evolutivos da Leishmaniose Cutânea na Casuística do Centro de Referência em Leishmanioses do Centro de Pesquisas René Rachou-Fiocruz, Belo Horizonte, 2001-2005 / Alexandre Rotondo da Silva. – Belo Horizonte, 2007.

XX, 92 f.: il.; 210 x 297 mm.

Bibliografia: f. 71 - 85

Dissertação (mestrado) – Dissertação para obtenção do título de Mestre Ciências pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Instituto René Rachou. Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

1. Leishmaniose cutânea 2. *Leishmania braziliensis* I. Título. II. Rabello, Ana Lúcia Teles (Orientação). III. Carneiro, Mariângela (Coorientação)

CDD – 22. ed. – 616.936

Alexandre Rotondo da Silva

“ASPECTOS CLÍNICOS E EVOLUTIVOS DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA NA CASUÍSTICA DO CENTRO DE REFERÊNCIA EM LEISHMANIOSES DO CENTRO DE PESQUISAS RENÉ RACHOU - FIOCRUZ, BELO HORIZONTE, 2001- 2005”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde do Centro de Pesquisa René Rachou, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências na área de concentração de Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ana Lúcia Teles Rabello (CPqRR, Fiocruz) Presidente

Prof. Dr. Jackson Machado Pinto (Hospital Santa Casa de Belo Horizonte) Titular

Prof. Dr. Márcia Hueb (Universidade Federal do Mato Grosso) Titular

Prof. Dr. Sergio William Viana Peixoto (CPqRR, Fiocruz) Suplente

Dissertação defendida e aprovada em Belo Horizonte, 24/09/2007

AGRADECIMENTOS

Agradeço, antes de tudo, aos pacientes, pessoas que depositaram confiança na minha capacidade de ajudá-los, objetivo da minha profissão e estudo. A eles devo o principal do meu aprendizado.

Acredito que, se na minha trajetória acadêmica, eu não tivesse encontrado o Dr. Odair Genaro, certamente eu não teria percebido o quão fascinante é o estudo da parasitologia. Cientista, professor e amigo, o Dr. Genaro foi para mim o mais importante mestre. Seus ensinamentos estarão presentes para sempre, na minha memória e no meu coração.

À Dra. Ana Rabello, orientadora deste trabalho, que me recebeu em seu laboratório e confiou na minha capacidade para atender aos pacientes e realizar este estudo. Nos quase cinco anos de convívio aprendi muito mais do que medicina e ciência. Muito obrigado.

À Dra. Mariângela Carneiro, também orientadora, cujas recomendações foram fundamentais para a execução deste trabalho.

À Dra. Rachel Caligiorni, pela supervisão científica das abordagens relacionadas ao diagnóstico molecular e caracterização das espécies pela técnica de PCR-RFLP. E ao estudante de iniciação científica João Paulo P. P. Barbosa, cujo trabalho e dedicação foram fundamentais para os resultados obtidos.

Ao Dr. Jackson Machado Pinto e ao Dr. Sérgio W. V. Peixoto, pelas importantes contribuições sugeridas durante meu exame de qualificação.

À Dra. Zélia Profeta, pelo convívio e pela confiança nas atividades de treinamento em leishmanioses dos profissionais de saúde da RMBH.

Ao Dr. Roberto Senna Rocha, então diretor do CPqRR quando aqui cheguei, e ao Dr. Álvaro José Romanha, atual diretor, por terem me recebido com atenção e cuidado.

Ao amigo e colega de trabalho, Dr. Guenael Freire, que participou comigo do atendimento aos pacientes no CRL-CPqRR, com quem eu aprendi muito.

Aos amigos do CPqRR e principalmente do Laboratório de Pesquisas Clínicas. São tantos que não quero enumerar para não correr o risco de esquecer alguém sem querer. Entretanto, preciso lembrar das pessoas que estiveram muito próximas a mim no ambulatório, me suportaram e sofreram por minha causa nos meus momentos mais difíceis. São elas: o Fábio (Ledzeca), a Gabriela S. P. Cristo, a Eliana M. Costa, a Letícia C. Dias e a Juliana F. Lima.

Ao Segemar O. Magalhães, bibliotecário do CPqRR, cuidadoso e sempre solícito, pelo pronto atendimento às minhas solicitações de artigos.

Ao João Estabile pela ajuda na confecção de slides e discussão de audio-visual.

Aos meus pais, Josué e Conceição, que me constituíram em substância e caráter. Ao meu irmão André, amigo sempre. A eles devo minha vida.

À Marcilene, que trouxe a Júlia para o meu horizonte e a esta, *mi hija* muito amada, pela alegria que me proporciona.

Ao grande amigo Alexandre Barbosa Reis e à todos os grandes amigos.

RESUMO

Casos autóctones de leishmaniose cutânea (LC) na região metropolitana de Belo Horizonte (RMBH) foram documentados na década de 1980 e desde esta época observa-se o aumento do número de casos oriundos desta região. A necessidade de conhecer os aspectos particulares da LC na RMBH, visando reavaliar o protocolo de abordagem clínica, motivou a realização de um estudo descritivo, através de revisão de prontuários médicos de pacientes atendidos entre os anos de 2001 e 2005, no Centro de Referência em Leishmanioses (CRL) do Centro de Pesquisas René Rachou/Fiocruz, em Belo Horizonte. Foram incluídos 310 casos de LC com diagnóstico clínico corroborado por pelo menos um exame: intradermo-reação de Montenegro (IDRM), pesquisa direta do parasito em lâminas de microscopia (*imprint*), cultivo a partir de material aspirado da lesão ou a detecção de kDNA de *Leishmania* spp. através da reação em cadeia da polimerase (PCR) ou pela resposta ao tratamento específico. Foram excluídos casos que iniciaram tratamento para LC em outro serviço de saúde e casos de leishmaniose mucosa. Entre os 310 casos analisados, 85% eram procedentes da RMBH. O sexo masculino predominou com 70% dos casos e a mediana de idade foi de 35 anos. A maioria das lesões era ulcerada (85%). Lesão única foi observada em 66,8% dos casos. Os membros inferiores foram os locais de maior acometimento, com 51% das ocorrências. A mediana do tempo de evolução foi de 60 dias. A IDRM foi positiva em 82% e a positividade do *imprint* foi de 68,4%. A positividade dos dois exames não apresentou relação com o tempo de evolução. A positividade do aspirado da lesão foi de 63,3%, associada ao menor tempo de evolução ($p=0,0464$). A PCR apresentou positividade de 82%. A determinação de sub-gênero pela análise de tamanhos de fragmentos de DNA após digestão enzimática dos produtos de amplificação pela PCR (PCR-RFLP), feita em 95 lâminas demonstrou a presença de *Leishmania* do subgênero *Viannia* em 91 (94,8%) e do subgênero *Leishmania* em 4 (5,2%). Entre os pacientes analisados, 262 (84,5%) receberam como tratamento inicial injeções diárias de Glucantime® por período de 20 dias. Entre estes, 21 (9%) receberam dose diária menor do que 10 mg/kg de peso, 178 (75%) receberam entre 10 e 14,9 mg/kg e 39 (16%) receberam uma dose igual ou superior a 15 mg/kg. A recidiva ocorreu em 18 casos (6,9%). Não foram encontrados fatores sócio-demográficos, clínicos ou terapêuticos associados à recidiva. Entre 150 pacientes tratados no CRL-CPqRR, 126 (84,6%) foram considerados curados na data da última consulta, 22 (14,7%) apresentaram melhora, um (0,7%) apresentou novas lesões e um (0,7%) teve pouca melhora. Não houve diferença significativa entre a dose e o desfecho clínico. Efeitos adversos foram registrados em 122 (46,6%) prontuários, sendo os mais

freqüentes artralgia e mialgia, que corresponderam a 72% dos efeitos relatados. A presença de efeitos adversos foi maior em pessoas mais velhas. A análise da casuística do CRL-CPqRR confirma a predominância da *L. (L.) braziliensis* e a elevada taxa de cura obtida com o antimônio pentavalente na RMBH.

Palavras-chave: Leishmaniose cutânea, *Leishmania braziliensis*, Região Metropolitana de Belo Horizonte

ABSTRACT

Autochthonous cases of cutaneous leishmaniasis (CL) have been reported over the last two decades in the metropolitan region of Belo Horizonte (MRBH), where an increasing number of cases has been observed. In order to improve the knowledge of particular aspects of the disease in the MRBH, a retrospective study was carried out through a consistent revision of the medical records of patients admitted to the Reference Center of Leishmaniasis (RCL) at the Centro de Pesquisas René Rachou/Fiocruz in Belo Horizonte, Minas Gerais state, Brazil, from 2001 to 2005. Three hundred and ten CL cases with clinical diagnosis corroborated by a) at least one of the following laboratorial methods: delayed skin test (DTH), direct microscopy in Giemsa-stained *imprint*, culturing of biopsy samples in suitable medium, and the detection of kDNA of *Leishmania* spp. through polimerase chain reaction - PCR and b) positive response to specific treatment, were included. Patients with mucosal involvement and patients who started treatment in another health service were excluded. Among the 310 patients evaluated, 85% were originally from MRBH. Masculine participants predominated with 70% of the cases and the mean age of the study group was 35 years. Ulcer were the most frequent type of lesions (85%), 66.8% appeared as an isolated lesion and 51% of the lesions occurred on the inferior members. The average time of lesion evolution was 60 days. The DTH was positive in 82% out of 310 cases while the parasitological diagnosis was positive in 68.4%. In addition, no association between positive DTH or parasitological techniques and the duration of disease was observed. The culture of cutaneous lesions aspirates was positive in 63.3% of the cases, inversely associated to the time of development ($p=0.0464$). The PCR was positive in 82% of the patients and the determination of *Leishmania* subgenus by PCR-RFLP, carried out in 95 biological samples, identified the subgenus *Viannia* and the subgenus *Leishmania* in 91 (94.8%) and 4 (5.2%) out of the patients, respectively. The majority of the patients 262 (84.5%) was treated with daily injections of Glucantime[®] for 20 consecutive days. Twenty-one patients (9%) received daily doses lower than 10 mg/kg, 178 (75%) received between 10 and 14.9 mg/kg and 39 (16%) received doses equal or higher than 15 mg/kg. Of the 150 treated patients evaluated in the period equal or superior than thirty days after the ending of the treatment, 126 (84.6%) were considered cured at the last medical appointment, 22 (14.7%) presented clinical improvement, one (0.7%) presented new ulcers and one (0.7%) showed little improvement. No significant differences between number of doses and the clinical outcome were observed. Adverse side effects were registered in 122 (46.6%), being arthralgia and myalgia the most frequent events, which corresponded to 72%

of the overall reported adverse effects. This study confirmed the predominance of *L. (L.) braziliensis* and the high cure rate obtained with pentavalent antimony in the MRBH.

Keywords: Cutaneous leishmaniasis, *Leishmania braziliensis*, metropolitan region of Belo Horizonte

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Distribuição por sexo e faixa etária de 309 pacientes atendidos no CRL-CPqRR, no período de 2001-2005..... 38
- Figura 2 - Número de casos de LTA oriundos da RMBH notificados à Secretaria Estadual da Saúde e o número de casos de LC oriundos da RMBH atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005). Fonte: SINANW/GRS BH (agosto/2007) 41
- Figura 3 - Locais de ocorrência das lesões em 310 pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005): número de pacientes que apresentaram lesões nos locais indicados e distribuição percentual das regiões do corpo acometidas..... 44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Aspectos sócio-demográficos de 310 pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005)	39
Tabela 2 – Procedência dos 310 pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005)	40
Tabela 3 – Origem dos encaminhamentos dos 310 pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005)	42
Tabela 4 – Número, tipo de lesão e presença de envolvimento linfático de 310 pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005)	42
Tabela 5 – Condições clínicas concomitantes em 310 pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005)	44
Tabela 6 – Presença de infecção bacteriana nas lesões de 310 pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005)	45
Tabela 7 – Tratamentos utilizados por 310 pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005)	46
Tabela 8 – Resultados dos exames laboratoriais de diagnóstico da LC aos quais foram submetidos os pacientes atendidos no CRL-CPqRR no período do estudo (2001-2005)	46
Tabela 9 – Comparações entre o tempo evolução e o resultado dos exames laboratoriais dos 310 pacientes portadores da LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005)	48
Tabela 10 – Classificação etiológica pela PCR-RFLP em 96 raspados de lâminas de <i>imprint</i> de pacientes portadores da LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005)	49
Tabela 11 – Esquemas terapêuticos prescritos aos pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005)	49
Tabela 12 – Comparação entre a dose prescrita inicialmente e o uso de novo ciclo de Glucantime® entre 219 pacientes atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005) para os quais foi prescrito inicialmente um ciclo de 20 dias de Glucantime®	52
Tabela 13 – Ocorrência de efeitos adversos por faixa de dose prescrita de Glucantime® entre 238 pacientes portadores da LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005) para os quais foi prescrito Glucantime® durante 20 dias consecutivos	53
Tabela 14 – Frequência e causas de interrupção do Glucantime® entre os 262 pacientes portadores da LC para os quais foi prescrito Glucantime® durante 20 dias consecutivos	53

Tabela 15 – Evolução de 244 pacientes portadores de LC tratados inicialmente com um ciclo de Glucantime® e que não tiveram recidivas 54

SUMÁRIO

1. Introdução	16
1.1. Aspectos clínicos e epidemiológicos das leishmanioses.....	16
1.2. Diagnóstico laboratorial.....	25
1.3. Tratamento	27
1.4. Características relacionadas às espécies e diferenças regionais	33
2. Objetivo geral	29
2.1. Objetivos específicos	32
3. Materiais e métodos	32
3.1. Aspectos éticos	32
3.2. Fonte de dados para o estudo	32
3.3. Período do estudo	33
3.4. Critérios de inclusão	33
3.5. Critérios de exclusão	34
3.6. Dados analisados	34
3.7. Termos e definições	34
3.8. Descrição dos métodos de diagnóstico laboratorial da LC realizados no CRL-CPqRR	35
3.9. Plano de coleta e análise dos dados	37
4. Resultados	38
4.1. Aspectos sócio-demográficos	38
4.2. Aspectos clínicos	42
4.3. Aspectos do diagnóstico laboratorial	46
4.4. Aspectos do tratamento	49
4.5. Descrição dos casos tratados com injeções de Glucantime® durante 20 dias consecutivos	50
5. Discussão	56
5.1. Aspectos sócio-demográficos	56
5.2. Aspectos clínicos	59
5.3. Aspectos do diagnóstico laboratorial	63
5.4. Aspectos do tratamento	66
5.5. Aspectos evolutivos	68
6. Conclusões	70

7. Referências	71
8. Anexos	86

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos clínicos e epidemiológicos das leishmanioses

As leishmanioses são doenças parasitárias causadas pelos protozoários do gênero *Leishmania* (Ross 1903). São descritas diferentes formas clínicas e espectros de gravidade, guardando associação com espécies de *Leishmania* spp. infectante e com a resposta imune do hospedeiro (Pearson & Souza 1996).

As denominações leishmaniose visceral americana (LVA) e leishmaniose tegumentar americana (LTA) se referem às doenças causadas pelas espécies próprias do continente americano, com características clínicas e epidemiológicas distintas das encontradas nos outros continentes (Grimald & Tesh 1993). A LTA é classificada nas formas cutânea, mucosa e cutâneo-mucosa. A leishmaniose cutânea (LC) é caracterizada pela presença de lesão da pele, manifestação clínica das alterações fisiopatológicas decorrentes do parasitismo deste órgão.

A infecção é adquirida pela inoculação dos parasitos pelos insetos da subfamília *Phlebotominae*, durante seu repasto sanguíneo. Animais domésticos e silvestres são encontrados parasitados e podem servir como fonte de infecção para o inseto transmissor. Entre eles destacam-se os roedores, marsupiais, canídeos, edentados e eqüídeos (Ministério da Saúde 2007).

1.1.1. Os parasitos

O gênero *Leishmania* agrupa espécies de protozoários heteroxenos, parasitas pertencentes à ordem Kinetoplastida e à família Trypanosomatidae. Os parasitos deste gênero apresentam-se na forma flagelada (promastigota), encontrada no trato digestivo dos hospedeiros invertebrados e na forma não flagelada (amastigota), encontrada no interior de células do sistema fagocítico mononuclear (SFM) de hospedeiros vertebrados. No homem, as células parasitadas são os macrófagos, embora existam evidências experimentais de infecção em células dendríticas e fibroblastos (Bogdan et al. 2000, Chang et al. 2002). Nos estágios iniciais da infecção os polimorfonucleares neutrófilos fagocitam leishmanias, mas não são capazes de destruí-las. Estas células parasitadas, quando em apoptose, são fagocitadas pelos macrófagos e este mecanismo de infecção permite a sobrevivência do parasito no interior destes macrófagos (Zandbergen et al. 2004). A visualização de neutrófilos parasitados em cortes histológicos da pele corados pela hematoxilina-eosina (HE) é uma ocorrência rara (Pessoa & Barreto 1944).

A classificação taxonômica leva em consideração aspectos biológicos, bioquímicos e moleculares (Grimald & Tesh 1993). No continente americano, as espécies de *Leishmania* spp. são agrupadas em dois subgêneros, de acordo com o local de adesão e multiplicação dos parasitos no tubo digestivo dos flebótomos. As espécies que se desenvolvem no intestino posterior do inseto pertencem ao subgênero *Viannia*, enquanto as espécies que se desenvolvem na porção média e anterior do tubo digestivo pertencem ao subgênero *Leishmania* (Shaw & Lainson 1987).

Esta classificação é corroborada pelos métodos bioquímicos, sendo mais comumente empregada a eletroforese de isoenzimas, que permite a classificação em zimodemas e o uso de anticorpos monoclonais, que separa as espécies em serodemas. Estas técnicas permitem, ainda, uma diferenciação intra-específica, já que existe variabilidade de migração eletroforética e diferentes padrões de reatividade aos anticorpos entre populações de uma mesma espécie.

Além destes métodos, são empregadas as técnicas moleculares, como o seqüenciamento nucleotídico de regiões do genoma do parasito e a reação em cadeia da polimerase (PCR) e suas variantes, que permitem detectar polimorfismos genéticos intra e inter-específicos.

Até o momento, sete espécies do gênero *Leishmania* foram identificadas no Brasil como causadoras de LTA. Seis espécies pertencem ao subgênero *Viannia* e uma ao subgênero *Leishmania* (Ministério da Saúde, 2007). As espécies mais importantes são a *Leishmania (Viannia) braziliensis* e a *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, ambas de ampla distribuição no Brasil e a *L. (V.) guyanensis*, que ocorre na região Norte. As outras espécies, *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) shawi* e *L. (V.) lindenberg* concorrem para um número menor de notificações e são restritas aos estados do Norte e Nordeste.

1.1.2. Epidemiologia

A LC é endêmica em 88 países e estima-se incidência anual de 1,5 milhões de casos. Cerca de 90% dos casos anuais são provenientes do Afeganistão, Paquistão, Síria, Arábia Saudita, Algéria, Irã, Brasil e Peru (Desjeux 2004). No Oriente Médio e nos continentes africano, asiático e europeu, as espécies mais frequentemente associadas à LC são a *L. tropica*, a *L. major* e a *L. aethiopica*. Eventualmente são encontradas, causando a LC nesta região, as espécies caracteristicamente viscerotrópicas, a *L. infantum* e a *L. donovani* (Pearson

& Souza 1996). As formas mucosas são raras nestes continentes. No Sudão o agente causador de leishmaniose mucosa (LM) é a *L. donovani* (Ghalib et al. 1992).

Nas Américas a LC ocorre desde o Sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina (Blum et al. 2004).

No Brasil, a leishmaniose é considerada endêmica em quase todos os estados, sendo um importante problema de saúde pública, atingindo na maioria das vezes pessoas das camadas mais pobres da população. O número de casos notificados no país tem aumentado nas últimas décadas, sendo observado um processo de urbanização (Yoshida et al. 1990, Marzochi & Marzochi 1994, Luz et al. 2001). No Brasil foram registrados 28.712 casos de LTA no ano de 2004 (Ministério da Saúde 2007 b).

No estado de Minas Gerais, o primeiro relato de ocorrência da LTA com descrição clínica e epidemiológica foi feito em 1940 (Orsini 1940). A partir desta data observou-se número progressivamente maior de casos notificados, ocorrendo de forma endêmica nas áreas de assentamento antigo ou por surtos epidêmicos nestes locais e em áreas previamente indenes (Hermeto et al. 1994, Gontijo et al. 2002b). Neste estado, no período de 1988 a 1999, a média anual de casos notificados de LTA foi de 1.910. Neste mesmo período verificou-se aumento expressivo de municípios com registro de casos. Em 1999, a LTA foi notificada em 400 municípios, representando o dobro de municípios com a doença, se comparado a 1988 (SES/MG: dados não publicados). O número de casos registrados no estado em 2004 foi de 1.477 (Ministério da Saúde 2007 b).

Desde 1987 registram-se casos autóctones de LTA na região metropolitana de Belo Horizonte (Passos et al. 1993). Em 2001 foram notificados 188 casos na região (Luz et al. 2001).

A distribuição da doença é focal, dependendo da presença de vetores, reservatórios e hospedeiros suscetíveis. Ações do homem sobre o ambiente modificam as relações ecológicas existentes e podem favorecer a adaptação e a expansão da população de flebótomos transmissores e o encontro destes com os animais reservatórios e o homem (Barret & Senra 1989, Ashford 2000).

São conhecidas interações biológicas específicas entre algumas espécies de flebótomos e espécies de *Leishmania* spp., condicionando a transmissão destas espécies para o homem, entre outros fatores, a capacidade vetorial destes flebótomos, seus hábitat e preferências alimentares. Assim, a *L. (L.) amazonensis*, que tem como principal agente transmissor a *Lutzomyia flaviscutellata*, é o agente causal da LC em número menor de casos, apesar de

registrada em extensas áreas do território nacional, devido ao menor grau de antropofilia deste flebótomo (Shaw & Lainson 1987).

Por outro lado, a *L. (V.) guyanensis*, que é transmitida principalmente pela *L. umbratilis*, é na maioria das vezes associada à LC adquirida durante atividades profissionais ou de lazer em ambientes silvestres ou em áreas de assentamento perto da floresta amazônica, habitat natural desta espécie de flebótomo e dos animais reservatórios desta espécie de *Leishmania* spp. A expansão territorial da cidade de Manaus – AM para dentro da floresta e a criação de novos bairros estão associadas ao aparecimento de casos de LC provocada por esta espécie na periferia da cidade (Barret & Senra 1989, Romero 2000).

A *L. (V.) braziliensis* é a espécie associada à LC mais importante de todo continente americano. No Brasil é responsável pelo maior número de casos e pela maior distribuição geográfica. Tem como principais agentes transmissores a *L. wellcolmei*, *L. whitmani*, *L. intermerdia*, *L. migonei*, *L. complexa* e a *L. neivai*. Sua ocorrência é registrada em regiões de colonização antiga, onde os agentes transmissores teriam se adaptado às áreas de plantações (Alexander 2002). É também responsável pelo aparecimento de casos na periferia de centros metropolitanos em diversas regiões do Brasil (Oliveira-Neto 1998, Passos et al. 1999, Oliveira et al. 2004, Carvalho et al. 2006).

A presença de várias espécies de *Leishmania* spp. numa mesma região é resultado da coexistência dos diversos agentes transmissores e animais reservatórios, interagindo em seus nichos específicos. Na região amazônica são encontradas as sete espécies de *Leishmania* spp. causadoras da LC no Brasil. No estado do Acre um estudo recente demonstrou a presença de três espécies causando a LC, a *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis* e a *L. (V.) lainsoni* e mais uma espécie híbrida de *L. (V.) naiffi* e *L. (V.) lainsoni*, responsáveis por lesões cujas características não permitiam, por si, a distinção entre os agentes etiológicos (Tojal et al. 2006).

Nas outras regiões do Brasil a concomitância de duas espécies é observada pela constatação da presença da *L. (V.) braziliensis* e da *L. (L.) amazonensis* (Oliveira-Neto 1998, De Castro et al. 2002, Carvalho et al. 2006), como ocorre no estado de Minas Gerais. Estas, aliás, são as únicas espécies descritas neste estado até o momento (Mayrink et al. 1979, Hermeto et al. 1994, Passos et al. 1999, Gontijo et al. 2002a).

1.1.3. Descrição clínica da LC

A lesão cutânea inicial desenvolve-se após período de incubação variável, indo de poucas semanas a poucos anos (Pessoa & Barreto 1944, Grimald 1982). É representada por uma pápula que se desenvolve no local da picada do inseto, geralmente em áreas descobertas do corpo do hospedeiro. Evoluindo, a lesão papulosa aumenta seu tamanho e ulcera-se no vértice, a área ulcerada pode crescer e atingir grandes proporções, embora, na maioria dos casos, o tamanho é limitado a alguns centímetros.

A lesão ulcerada é a mais comumente encontrada. Observa-se, nestes casos, a presença de úlcera da pele de tamanho variável, na maioria das vezes de forma oval, cuja borda é eritematosa e endurecida dando um aspecto de moldura. O fundo é geralmente granuloso e costuma ser recoberto por crosta ou exsudato. Observa-se, em alguns casos, a presença de pequenas lesões papulosas na periferia da úlcera. Algumas lesões apresentam nítido infiltrado inflamatório na sua base e seus limites podem ultrapassar os limites da borda da úlcera, dando a característica de uma lesão ulcerada sobre uma placa.

A ferida pode ser infectada por bactérias e fungos (Fontes et al. 2005). A infecção bacteriana secundária modifica o quadro clínico, é responsável pelo aumento do edema, do eritema e pela produção de exsudato purulento. É uma possível causa do enfartamento dos gânglios, às vezes transitório, em áreas de drenagem linfática da região ulcerada. A dor é um importante elemento semiológico. A úlcera leishmaniótica é comumente assintomática e quando a dor, ou manifestações sistêmicas como febre estão presentes, pode-se suspeitar de infecção bacteriana associada. Uma vez que as úlceras de etiologia puramente bacteriana, ou de origem traumática fazem parte do diagnóstico diferencial da LC, é comum, na rotina de atendimento, o relato de pacientes terem recebido antes do diagnóstico da LC, um curso de antibióticos, cujo uso tenha melhorado o aspecto da lesão, diminuindo a dor, o edema e o exsudato.

Algumas vezes a pápula apresenta apenas uma leve descamação ou uma pequena pústula no centro elevado, tomando o aspecto semelhante à acne. A lesão papulosa, por outro lado, pode aumentar de tamanho sem ulcerar, assumindo a forma de nódulo, placa ou tubérculo.

Outras lesões descritas são as lesões vegetantes, que caracterizam-se pelo aspecto papilomatoso, úmido e de consistência mole e as lesões verrucosas que caracterizam-se por superfície seca, áspera, com presença de crostas e descamação. Estes dois tipos de lesões podem ser primárias ou evoluir a partir de úlceras (Oliveira-Neto 1998). São encontradas

ainda as denominações de lesões impetigóides, ectimóides e lupóides quando estas apresentam características semelhantes às observadas no impetigo (lesões com crosta espessa amarelo acastanhada, causadas por bactérias piogênicas), ectima (lesões úlcero-crostosas mais profundas que o impetigo, ocorre geralmente nos membros inferiores, causadas por bactérias piogênicas) e lupus (lesões em placa, apresentando crosta ou descamação em alguns pontos, de limites imprecisos e às vezes com área não atingida no centro).

O número de lesões é, na maioria das vezes, reduzido, freqüentemente menor que três. Com a evolução, lesões muito próximas podem confluír, formando uma lesão maior e de formato irregular. Quando múltiplas, as lesões podem se distribuir no mesmo segmento corporal ou em segmentos diferentes, apresentarem-se com as mesmas características e estágios de desenvolvimento ou como unidades semiológicas diferentes. Podem ser percebidas ao mesmo tempo ou surgirem ao longo da infecção como lesões secundárias.

A presença de múltiplas lesões pode ser explicada pela ocorrência de várias picadas infectantes do inseto transmissor ou pela disseminação dos parasitos pelos sistemas sangüíneo e linfático, o que explica o envolvimento do tecido de revestimento mucoso e a presença de lesões em estágios diferentes.

O envolvimento do tecido linfóide, percebido em alguns casos de LC, é denunciado pelo aumento dos gânglios linfonodais e o espessamento de trajetos linfáticos. A forma esporotricóide da LC é caracterizada pela presença da lesão ulcerada da pele acompanhada de linfangite. A pele sobre o trajeto linfático acometido pode apresentar-se com a coloração normal ou eritematosa, podendo, ocasionalmente, haver ulceração no trajeto. Numa região de alta endemicidade da LC, a linfadenopatia foi descrita como apresentação inicial, precedendo a lesão da pele ou como manifestação única da LTA, sendo demonstrada a infecção por *Leishmania* spp. a partir do cultivo do material obtido pela punção dos linfonodos acometidos (Barral et al. 1995).

A leishmaniose cutânea recidivante caracteriza-se pelo aparecimento de lesões papulosas ou pápulo-tubérculos inflamatórios, após a cura clínica de uma lesão inicial ulcerosa, sendo tipicamente localizadas nas bordas das cicatrizes.

Leishmanides são erupções cutâneas que podem ocorrer na LTA. Não se consegue demonstrar o parasito nestas lesões. O termo é empregado em alusão à possibilidade de tratar-se de lesões provocadas por reações imunológicas como ocorre em algumas infecções fúngicas.

As formas cutâneas da LTA devem ser diferenciadas das úlceras traumáticas, úlceras de estase, úlcera tropical, úlceras de membros inferiores por anemia falciforme, piodermites,

esporotricose, cromomicose, paracoccidiodomicose, neoplasias cutâneas, sífilis e tuberculose cutânea. A hanseníase virchowiana deve ser excluída, principalmente no diagnóstico diferencial da leishmaniose cutânea difusa (LDF). Nas lesões mucosas, o diagnóstico diferencial deve ser feito com a paracoccidiodomicose, hanseníase virchowiana, rinoscleroma, boubá, sífilis terciária, granuloma médio facial e neoplasias (Gontijo & Carvalho 2003).

1.1.4. Classificação clínica da LTA

a) Infecção assintomática

Em áreas de transmissão de *Leishmania* spp., a infecção assintomática é denunciada pela positividade da intradermo-reação de Montenegro (IDRM) e dos exames sorológicos em indivíduos que não apresentam lesão aparente (Marzochi & Marzochi 1994).

A infecção pode evoluir para a eliminação do parasito ou a persistência do mesmo (Weigle & Saravia 1996). O surgimento de lesão depende do desequilíbrio na interação entre o parasito e o hospedeiro, em favor da sobrevivência e multiplicação do primeiro. Este desequilíbrio pode ocorrer em condições de debilidade do sistema imune ou por agressão da pele provocada por traumatismo (Marzochi & Marzochi 1994). Lesões iniciadas por trauma foram relatadas em estudos clínicos (Pessoa & Barreto 1944 e Oliveira-Neto 1998) e devem estar associadas à migração de células parasitadas para o local, levando em conta a capacidade dos parasitos de se disseminarem e de permanecerem quiescentes após uma infecção inicial ou após a cura clínica (Wortmann et al. 2000).

Níveis menores das citocinas interferon gama (INF- γ) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e níveis maiores da interleucina IL-5 foram encontrados em pacientes com infecção assintomática quando comparados com indivíduos que apresentavam a LC. Este arranjo poderia modular o sistema imune no sentido de diminuir a reação inflamatória evitando o surgimento da lesão (Follador et al. 2002).

b) Forma cutânea localizada

É a forma clínica mais comumente encontrada, causada por todas as espécies descritas no continente americano. Representa o envolvimento primário da pele, com lesão única ou múltiplas lesões. Esta forma relaciona-se à resposta imunológica do hospedeiro que favorece a

cura, com elevada produção de INF- γ , principal citocina ativadora do macrófago. A capacidade do sistema imune celular de responder aos antígenos de *Leishmania* spp. é evidenciada pela resposta positiva à IDRМ e pela resposta positiva nos testes de proliferação de linfócitos, em ensaios utilizando células do sangue periférico (Grimald 1982, Silveira et al. 2004).

A tendência à cura espontânea é relatada por alguns autores como uma característica desta forma clínica (Marzochi & Marzochi 1994). Entretanto, no Brasil, a cura espontânea é raramente observada, tendo sido relatada em estudos epidemiológicos retrospectivos (Follador et al. 2002). A observação de cura espontânea em estudos clínicos no Brasil é reduzida e esta não parece ser uma tendência da infecção pela *L. (V.) braziliensis* (Herwaldt & Bermam 1992). A recomendação de se tratar todos os casos diagnosticados leva em conta a incerteza quanto ao prognóstico (Mattos 2005) e o receio de acometimento do tecido mucoso no futuro (Marsden 1986).

c) Forma cutânea disseminada

A leishmaniose cutânea disseminada (LDS) é uma entidade clínica pouco freqüente, caracterizada pela presença de múltiplas lesões, pleomórficas, geralmente acneiformes, acometendo dois ou mais segmentos corporais não contíguos, associada à infecção pela *L. (V.) braziliensis* e pela *L. (L.) amazonensis* (Carvalho et al. 1994). Nesta forma clínica é comum o envolvimento das mucosas e a resposta ao tratamento é mais lenta, com dependência de maior dose e tempo de medicação. Indivíduos concomitantemente infectados pelo vírus HIV podem apresentar lesões disseminadas e o diagnóstico da LDS sugere estado de imunodeficiência. Considerando este aspecto, é recomendada, pelo ministério da saúde brasileiro, a investigação de possível co-infecção *Leishmania* spp./HIV em indivíduos com esta forma clínica (Ministério da Saúde 2007).

d) Forma cutânea difusa

A leishmaniose cutâneo difusa (LDF) é uma forma clínica grave da LC, associada à infecção por parasitos do subgênero *Leishmania*. Até o momento foram descritas três espécies relacionadas a esta forma clínica no continente americano, a *L. (L.) mexicana*, a *L. (L.) pifanoi* e a *L. (L.) amazonensis* (Lainson & Shaw 1978). Sua ocorrência é rara. No Brasil, o agente causal é a *L. (L.) amazonensis* e os casos relatados são, quase totalmente, oriundos das regiões

Norte e Nordeste. Neste ano de 2007 foi relatado o primeiro caso autóctone da LDF em uma criança de nove anos, no estado do Rio de Janeiro, região Sudeste (Azeredo-Coutinho et al. 2007).

Esta forma clínica tem caráter crônico e a resposta ao tratamento é insatisfatória. Caracteriza-se pelo comprometimento extenso da derme, com lesões nodulares ou placas, na maioria das vezes não ulceradas. O estudo histopatológico destas lesões evidencia a presença de numerosos macrófagos vacuolizados e densamente parasitados. Os indivíduos portadores desta forma clínica apresentam uma deficiência específica do sistema imune celular, cuja incapacidade de responder aos antígenos de *Leishmania* spp. é denunciada pela resposta negativa à IDRMM e pela ausência de proliferação de linfócitos em ensaios utilizando células do sangue periférico (Convit 1996). Descrevendo 12 casos de LDF, Silveira e colaboradores chamaram a atenção para o fato de 58,3 % dos pacientes apresentarem menos de cinco anos de idade no início da doença (Silveira et al. 2004).

e) Forma mucosa e cutâneo-mucosa

O agente infeccioso mais freqüentemente envolvido é a *L. (V.) braziliensis*, embora exista o relato de casos causados pela *L. (L.) amazonensis* e pela *L. (V.) guyanensis* (Grimaldi, G. & Tesh 1993).

As lesões decorrentes do acometimento do tecido de revestimento mucoso são descritas como eritema, úlceras, vegetações ou lesões granulomatosas. As mucosas mais acometidas são as do nariz, lábios e cavidade oral, faringe e laringe, podendo se estender para a traquéia. Com a evolução, ocorre destruição de tecidos e perfurações, resultando em quadros desfigurantes. O envolvimento das mucosas dos órgãos genitais é raro (Schubach et al. 1998).

As formas mucosas recebem diferentes denominações dependendo da sua associação com as lesões cutâneas. A forma mucosa tardia é a denominação dada para a LM onde há o relato de LC adquirida e curada previamente e/ou presença de cicatrizes compatíveis com as deixadas pela LC. Ocorrem casos em que não se obtém o relato de LC prévia nem se observam cicatrizes compatíveis. A forma cutâneo-mucosa se refere à presença de lesões da pele concomitante à lesão mucosa. Neste caso, as lesões podem surgir por contigüidade da pele acometida ou por disseminação.

A LM representa uma forma grave da infecção por *Leishmania* spp., requer maior dosagem do Glucantime e maior tempo de tratamento (Ministério da Saúde 2007). Está associada ao maior número de falências terapêuticas primárias e recidivas (Marsden 1986). A

necessidade de exame otorrinolaringológico, e em alguns casos, de cirurgia de reconstrução encarecem a terapêutica.

A proporção de casos de LM é geralmente pequena. Passos encontrou 6,5% de LM entre os pacientes atendidos no CRL entre 1989 e 1995 (Passos 1998). Um estudo retrospectivo de 2820 casos de LTA da região do Vale do Rio Doce em Minas Gerais encontrou 145 (5%) com LM. Neste estudo, os fatores de risco independentes para se contrair esta forma clínica foram sexo masculino, idade maior do que 22 anos, estado nutricional debilitado e tempo de doença maior do que quatro meses (Machado-Coelho et al. 2005).

Os testes que avaliam a resposta imune celular como a IDRM e ensaios de proliferação de linfócitos frente a antígenos de *Leishmania* spp. são geralmente positivos, e muitas vezes, demonstram uma forte reatividade. Na LM é mais freqüente o aparecimento de uma grande área de endureção e flictena no local de aplicação do antígeno de Montenegro. Os exames de detecção de anticorpos têm maior positividade na LM do que na LC (Pedras 2002).

1.2. Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico da LC é realizado com base nos aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais. Os exames laboratoriais podem ser divididos em métodos diretos de detecção do parasito ou seus fragmentos de DNA (pesquisa direta por microscopia, isolamento em cultura, inoculação em animais, PCR e histopatologia) e métodos indiretos, pela detecção da reação imunológica do hospedeiro (detecção da resposta imune celular e dosagem de anticorpos).

A demonstração dos parasitos na lesão define o diagnóstico. Na prática clínica, o exame mais usado é a visualização por microscopia óptica de espécimes corados obtidos por raspado ou biópsia. A detecção por este método depende do tempo de evolução da doença, das espécie de *Leishmania* spp. e do treinamento do microscopista, tendo sensibilidade muito variável, chegando aos valores próximos de 60% em locais de transmissão da *L. (V.) braziliensis* (Pirmez et al. 1999, Marques et al. 2006). O isolamento e o cultivo do parasito demandam estrutura laboratorial complexa, entretanto, permitem a obtenção do parasito para identificação de espécies ou estudos de resistência à drogas. O aspirado de lesão é uma técnica de fácil execução e apresenta boa sensibilidade (Romero et al. 1994).

O estudo histopatológico da pele através da coloração pela HE permite a visualização do parasito em aproximadamente 60% dos casos (Magalhães et al. 1986). Muitas vezes, estes são escassos e podem ser confundidos com artefatos da técnica ou cariorréxis, tornando difícil

definir com certeza a infecção por *Leishmania* spp., sendo que a contribuição do exame para o diagnóstico pode se dar pelo padrão típico de alteração anatômica.

A reação intradérmica de Montenegro é um teste de hipersensibilidade tardia, que avalia a resposta imune celular pela medida de endureção da pele 48 a 72 horas após a injeção de antígeno padronizado na face volar do antebraço. Este teste é uma importante ferramenta auxiliar ao diagnóstico da LTA, embora sua positividade não permita a certeza da etiologia leishmaniótica da lesão e a sua negatividade não exclua a possibilidade de que a causa da lesão seja a infecção por *Leishmania* spp. Um resultado positivo pode significar infecção passada ou presente, infecção assintomática ou doença.

O teste apresenta boa sensibilidade e elevado valor preditivo positivo. A sensibilidade da IDRMM foi avaliada por diferentes autores em situações clínicas e epidemiológicas distintas. Em estudo retrospectivo no Rio de Janeiro apresentou 98,7% de positividade (Oliveira-Neto 1998), em Belo Horizonte 68,2% (Lucciola 1994). Em dois estudos prospectivos realizados em Minas Gerais a positividade foi de 75,2% (Marques et al. 2006) e 77,6% (Passos 1998). Durante surtos epidêmicos em Minas Gerais, a reação apresentou positividade de 89,1% em Virginópolis, vale do rio Doce (Hermeto et al. 1994) e de 94,2% em Araçuaí, vale do rio Jequitinhonha (Gontijo et al. 2002b). A sensibilidade do teste foi avaliada em crianças em uma área de transmissão no estado da Bahia. Os autores observaram maior positividade entre menores de cinco anos (93,3%) comparada à observada em crianças maiores (Ampuero et al. 2006).

O resultado do teste é influenciado pelo *status* imunológico do paciente, tempo de evolução da doença, espécie de *Leishmania* spp. infectante e pelo antígeno empregado.

Resultados falso-positivos podem ser causados por alergia ao diluente do teste ou reação cruzada com outras doenças, como doença de Chagas, esporotricose, hanseníase virchowiana, tuberculose, cromomicose (Ministério da Saúde 2007) ou por aplicação anterior do antígeno (José et al. 2001).

Resultados negativos são associados à depressão da resposta imune celular como ocorre na LCD, no período patente da leishmaniose visceral e nos estados de imunodepressão adquirida. Na LC, o curto tempo de evolução (Llanos-Cuentas et al. 1984) e infecções por *L. (L.) amazonensis* (Silveira et al. 2004) estão mais associados à resposta negativa ao teste.

O papel do exame sorológico no diagnóstico da LC não está definido. Atualmente são empregados diferentes métodos de detecção de anticorpos circulantes. A reação de imunofluorescência indireta é o exame sorológico disponibilizado pelo sistema público de saúde brasileiro para o diagnóstico de leishmanioses. Na LC, a sensibilidade das reações

sorológicas é baixa e apresenta reatividade cruzada com doença de Chagas, hanseníase e tuberculose (Kar 1995).

O diagnóstico molecular tem sido cada vez mais utilizado no atendimento aos pacientes portadores de leishmanioses. A aplicação da reação em cadeia da polimerase e suas variantes permite a rápida detecção e identificação específica dos parasitos, sem necessidade de isolamento em cultura. Outra vantagem é a possibilidade de se utilizar a PCR em diferentes amostras clínicas (Marques et al. 2001). Esta técnica apresenta sensibilidade e especificidade comparáveis ou maiores que os outros métodos de diagnóstico parasitológicos (Pirmez et al. 1999, Aviles et al. 1999, De Andrade et al. 2001, Dish et al, 2003, Marques et al. 2006).

A identificação dos subgêneros de *Leishmania* spp. pode ser realizada a partir da observação dos perfis gerados pela digestão por enzimas de restrição de DNA amplificado. Uma das metodologias descritas utiliza o fragmento de 122 pares de base do DNA de minicírculo amplificado pela técnica de PCR, utilizando-se iniciadores específicos. Em seguida, este fragmento é digerido por enzimas de restrição, produzindo polimorfismos de tamanho dos fragmentos de restrição (RFLP). Os perfis de restrição subgênero específicos gerados pela PCR-RFLP têm apresentado elevada concordância com o método de hibridização após a PCR, evidenciando seu valor potencial em amostras clínicas, devido à facilidade de execução e confiabilidade dos resultados (Volpini et al. 2004). A técnica de PCR-RFLP pode ser empregada em amostras de lâminas coradas, permitindo o diagnóstico etiológico em material estocado.

O interesse na caracterização da espécie de *Leishmania* causadora da LC se justifica pela possibilidade de correlação com a evolução clínica e com o prognóstico. Em áreas de sobreposição de espécies de *Leishmania* spp., a identificação da *L. (V.) braziliensis*, por exemplo, pode sugerir maior risco de desenvolvimento de lesões mucosas tardias (Marsden 1986).

1.3. Tratamento

O medicamento de primeira escolha adotado pelo Ministério da Saúde brasileiro para o tratamento de todas as formas clínicas de leishmaniose é o antimoniato de N-metil glucamina. Seu mecanismo de ação ainda não é totalmente conhecido. Acredita-se que a droga atua nas formas amastigotas do parasito, inibindo a atividade glicolítica e a via oxidativa de ácidos graxos (Bermam 1988 e 1997). Para o tratamento da LC, é recomendada a via injetável intra-muscular ou endovenosa, na dose de 10 a 20 mg/Kg por dia, durante

período de 20 dias (Ministério da Saúde 2007). A principal limitação do Glucantime[®] é a sua toxicidade, que produz efeitos adversos potencialmente graves e fatais (Sampaio et al. 1997, Oliveira et al. 2005) e impede seu emprego em pacientes com doenças pré-existentes, além de exigir monitoramento cuidadoso de diversas funções orgânicas (Herwaldt & Bermam 1992). Seus principais efeitos tóxicos são observados no coração, causando arritmias, nos rins, comprometendo sua função, no fígado e no pâncreas produzindo inflamações destes órgãos (Sampaio et al. 1997, Mattos et al. 2000). A complexidade do tratamento aumenta mais devido à necessidade de aplicação pela via parenteral, o que gera custo com materiais e necessidade de pessoas treinadas e diminui a adesão do paciente ao tratamento (Azeredo-Coutinho & Mendonça 2002). A eficácia do Glucantime[®] na LC é variável dependendo da região estudada e do esquema de tratamento empregado.

Os medicamentos de segunda escolha são a anfotericina B e a pentamidina. A anfotericina B é um antibiótico poliênico que age no metabolismo do ergosterol das membranas de fungos e de *Leishmania* spp. Apresenta atividade leishmanicida contra formas amastigotas e promastigotas do parasito. Para o tratamento da LC, a formulação da anfotericina B desoxicolato é recomendada na dose de 0,5 a 1 mg/Kg do paciente por dia, até a dose acumulada de 1 a 1,5 grama. Os efeitos adversos mais temidos da anfotericina B são a lesão renal, podendo levar à insuficiência do órgão, a hipopotassemia com repercussões sobre o coração e a diminuição da produção celular pela medula óssea. Sua administração depende da hospitalização do paciente. As formulações lipídicas da anfotericina B (anfotericina B lipossomal, Ambisome[®] e anfotericina B de dispersão coloidal, Amphocil[®]) apresentam efeitos adversos bem menos frequentes e intensos e sua eficácia já foi comprovada no tratamento da leishmaniose visceral. Contudo, são poucos os trabalhos utilizando formulações lipídicas no tratamento da LC (Amato et al. 2004). O elevado custo destas formulações torna proibitivo o uso destes medicamentos em países com recursos financeiros limitados.

A pentamidina tem como mecanismo de ação a interferência com o transporte de aminoácidos e pode também ligar-se ao DNA do cinetoplasto da *Leishmania* spp. Há dois sais de pentamidina, o isotionato de pentamidina (Pentamidina[®]) e o mesilato de pentamidina, (Lomidine[®]). A pentamidina é utilizada por via intramuscular na dose de 4 mg/Kg por dia, três vezes por semana até a dose máxima de dois gramas (Ministério da Saúde 2007). O efeito adverso mais frequente é sobre o metabolismo da glicose, levando à hipoglicemia e o efeito diabetogênico na fase mais tardia. Outros efeitos incluem a alteração da função renal, hipotensão, náuseas, vômitos e síncope. A pentamidina foi testada clinicamente no Brasil com resultados de eficácia semelhantes ao antimônio (Correia et al. 1996, Paula et al. 2003),

porém, a gravidade dos efeitos adversos e a pequena experiência com o uso deste medicamento restringem sua utilização a centros de tratamento especializados.

Outras opções terapêuticas são esporadicamente utilizadas ou estão em estudo (Croft et al. 2003, Ouellette et al. 2004), como o Miltefosine, o Interferon, o Fator Estimulador de Colônia de Granulócitos e Neutrófilos (Santos et al. 2004), a azitromicina (Prata et al. 2003, Silva-Vergara et al. 2004) a imunoterapia e imunoquimioterapia (Mayrink et al. 1992, Machado-Pinto et al. 2002) e a termoterapia. (Navin et al. 1990 e Reithinger et al. 2005). O Miltefosine (hexadecil phosphocoline) é um análogo da fosfocolina que apresenta atividade contra *Leishmania* spp. através da inibição da biossíntese de fosfolipídios e esteróis. Tem a vantagem de ser administrado pela via oral, sendo os efeitos adversos mais comuns as náuseas e vômitos. Um ensaio clínico no tratamento da LC na Colômbia e na Guatemala mostrou boa tolerabilidade e porcentagens de cura diferentes nas duas regiões estudadas: 91% na Colômbia, onde o agente causal mais comum é a *L. (V.) panamensis* e 53% na Guatemala, onde são comuns a *L. (V.) braziliensis* e a *L. (L.) mexicana* (Soto et al. 2004).

1.4. Características relacionadas às espécies e diferenças regionais

Várias espécies de *Leishmania* spp. que parasitam o homem induzem a uma variedade de condições clínicas. Não existe uma característica clínica típica, que possibilite distinguir a infecção por determinada espécie. Além disto, os espectros clínicos das doenças eventualmente se sobrepõem (Weigle & Saravia 1996). Entretanto, algumas características clínicas são mais freqüentemente relacionadas a determinadas espécies, como as formas clínicas mucosa e cutâneo-mucosa, que estão quase sempre associadas à infecção pela *L. (V.) braziliensis* ou a forma cutânea difusa, associada à *L. (L.) amazonensis*.

As infecções por *L. (V.) guyanensis* resultam, quase sempre, em quadros benignos. Relatos de formas mucosas causadas por esta espécie são eventuais (Grimaldi et al. 1991). Levando em consideração a freqüência de casos de LM entre pessoas expostas à *L. (V.) guyanensis* que procuram atendimento em serviço de referência em Manaus, Romero coloca em questionamento a raridade desta apresentação clínica causada pela *L. (V.) guyanensis*, (Romero 2000). Em estudo comparativo com a *L. (V.) braziliensis*, foram encontradas na infecção por *L. (V.) guyanensis* maior número de lesões, com menor área e maior freqüência de localização nos membros superiores. A linfadenopatia e presença de exsudato foram menos freqüentes (Romero et al. 2001a). Em áreas de transmissão da *L. (V.) guyanensis* é conhecida a alta positividade dos exames de detecção direta, sendo estes os primeiros exames efetuados

mediante suspeita clínica. Os autores citados acima encontraram 92,6% de positividade na microscopia e 91,2% no cultivo. A resposta à IDRМ não foi diferente da infecção por *L. (V.) braziliensis*.

A *L. (L.) amazonensis* causa na maioria das vezes a forma localizada da LC. Em raras situações, a infecção evolui para a LDF. Silveira e colaboradores afirmam que as úlceras provocadas por esta espécie apresentam as bordas mais infiltradas e o exame histopatológico revela maior número de parasitos e maior presença de macrófagos vacuolados do que as úlceras provocadas pela *L. (V.) braziliensis*. Segundo estes autores a positividade da IDRМ é menor e a causa disto seria a modulação da resposta imune celular com padrão de resposta imunológica menos intensa em comparação com a resposta imune produzida pela *L. (V.) braziliensis* (Silveira et al. 2004).

Estudando 114 amostras clínicas de diferentes regiões do estado da Bahia, Barral e colaboradores encontraram a *L. (L.) amazonensis* em 20 casos de LC, um caso de LDF, três casos de LM e 11 casos de leishmaniose visceral, chamando a atenção para o amplo espectro clínico provocado por esta espécie (Barral et al. 1991).

No continente americano, são clássicas as denominações de “ulcera de los chicleros”, comumente adquirida por trabalhadores das florestas de Yucatan, Guatemala e Belize, de “uta” no Peru e região andina e “pian-bois” nas regiões ao norte do rio Amazonas e Guianas. Estas denominações fazem referência aos quadros clínicos e epidemiológicos distintos, envolvendo diferentes ecossistemas e sentidos por pessoas de diferentes culturas. As espécies frequentemente relacionadas aos quadros descritos acima são a *L. (L.) mexicana*, *L. (V.) peruviana* e a *L. (V.) guyanensis*, respectivamente, embora haja sobreposição com outras espécies.

O Brasil tem grande diversidade de espécies e cepas de *Leishmania* spp., de animais reservatórios e insetos transmissores. Soma-se a estes fatores, a variabilidade genética das populações expostas à infecção e as diferenças em ofertas de serviços de saúde. Este quadro resulta em diferenças quanto às características clínicas, epidemiológicas e evolutivas da LC em de cada região.

Entre diversas regiões, a apresentação clínica da LC causada pela *L. (V.) braziliensis* é muito semelhante (Mattos 2004). Entretanto, é bastante variável a resposta ao tratamento. No Brasil, a droga de escolha para todas as formas de leishmaniose é o antimoniato de meglumina. Esta droga tem elevada eficácia nos casos de LC no Rio de Janeiro – RJ, mesmo quando empregada em doses baixas, até três vezes menores do que a dose recomendada pelo Ministério da Saúde brasileiro (Oliveira-Neto et al. 1997). Entretanto, em outras regiões a

eficácia do antimônio parece bem menor, mesmo utilizando-se as doses máximas recomendadas (Romero et al. 2001b).

Um estudo realizado em Belo Horizonte descreveu as características clínico-epidemiológicas, laboratoriais e evolutivas da LTA de 358 pacientes. Neste estudo, a eficácia primária do tratamento da LC com Glucantime[®] foi de 100%, com recidiva de 10%. O fator associado à recidiva foi resultado negativo ao teste intradérmico de Montenegro (Passos et al. 2001). Nesta região, estudo anterior mostrou a predominância de *L. (V.) braziliensis* (92,5%) e uma pequena porcentagem de detecção de *L. (L.) amazonensis* (7,5%) (Passos et al. 1999).

Em um país de grandes dimensões territoriais como o Brasil, as diferenças epidemiológicas e clínicas da LC são marcantes, devido à diversidade de espécies ou cepas, condições do hospedeiro e acesso ao tratamento. Apesar disto, até o momento, o programa de controle da LC no Brasil estabelece um protocolo único de abordagem diagnóstica e de tratamento (Ministério da saúde 2007). A adequação destas medidas poderá ser revista à luz do conhecimento das características regionais de comportamento clínico-epidemiológico e evolutivo da LC.

No momento é necessário o aperfeiçoamento dos critérios de avaliação clínica, de condutas terapêuticas e de acompanhamento dos casos de LC, visando melhor atendimento clínico e compreensão da doença. O presente trabalho analisou a casuística nos últimos cinco anos de um serviço de referência em região urbana, descrevendo as características clínico-epidemiológicas da LC na RMBH.

2. OBJETIVO GERAL

Descrever a casuística de leishmaniose cutânea do Centro de Referência em Leishmanioses (CRL-CPqRR) do Centro de Pesquisas René Rachou, CPqRR/FIOCRUZ-MG, no período de cinco anos, compreendido entre janeiro de 2001 a dezembro de 2005.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.1.1. Descrever as características epidemiológicas e sócio-demográficas;
- 2.1.2. Descrever as características das lesões e condições clínicas;
- 2.1.3. Descrever a positividade dos métodos de diagnóstico;
- 2.1.4. Descrever as espécies de *Leishmania* spp. através da PCR-RFLP;
- 2.1.5. Descrever os aspectos do tratamento;
- 2.1.6. Descrever a evolução clínica após o tratamento.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Aspectos éticos

O estudo segue a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde que trata das diretrizes e normas de pesquisas envolvendo seres humanos. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisa René Rachou, protocolo: 20/2006.

3.2. Fonte de dados para o estudo

O Centro de Referência em Leishmanioses (CRL-CPqRR) do Centro de Pesquisas René Rachou, desenvolve atividades de atendimento ambulatorial, diagnóstico e tratamento das leishmanioses desde 1993, atendendo a demanda da rede pública do município de Belo Horizonte, da Região Metropolitana e do estado de Minas Gerais. O CRL-CPqRR atua formalmente como Centro de Referência para a Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte, como Laboratório Nacional de Referência em Leishmaniose Tegumentar e Laboratório Regional (região Sudeste) de Referência em Leishmaniose Visceral para a Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde. Integra a Rede de Laboratórios de Referência da FIOCRUZ e a Rede Internacional de Estudos de Co-infecção *Leishmania* – HIV da Organização Mundial de Saúde. A equipe é formada por três médicos, duas

bioquímicas e pessoal de apoio técnico e administrativo. O número de médicos que atendem aos pacientes no ambulatório pode ser maior do que três (no período do estudo foram cinco) devido aos projetos de capacitação profissional do CRL-CPqRR, incluindo a participação no atendimento por médicos ingressados em programas de pós-graduação de áreas afins. O suporte laboratorial é realizado pelo Laboratório de Pesquisas Clínicas do CPqRR, onde é realizado o diagnóstico parasitológico e sorológico da doença, por técnicas tradicionais e novas metodologias. Há colaboração com os Departamentos de Dermatologia e de Otorrinolaringologia da Faculdade de Medicina da UFMG e da Santa Casa de Belo Horizonte, para discussão de casos e condutas clínicas.

A coordenação clínica do CRL é feita por uma médica, doutora em medicina tropical, pesquisadora titular do CPqRR, chefe do Laboratório de Pesquisas Clínicas e orientadora desta dissertação.

No presente estudo foram analisados prontuários médicos dos pacientes atendidos no CRL durante o período de 2001 a 2005. Estes prontuários foram preenchidos por um dos cinco médicos que atenderam aos pacientes neste período. Esta casuística se refere ao atendimento de rotina, sendo os pacientes referenciados pelo sistema de saúde e contra-referenciados quando o acompanhamento de tratamento e desfecho era possível no serviço de origem.

3.3. Período do estudo:

Primeiro de janeiro de 2001 a 31 de dezembro de 2005

3.4. Critérios de inclusão:

Pacientes portadores de LC comprovada por exame clínico, corroborado por exames laboratoriais e ou pela resposta ao tratamento específico.

Pacientes que não haviam utilizado, até a data da primeira consulta, nenhuma das drogas recomendadas pelo Ministério da Saúde para o tratamento da LC.

Pacientes que se submeteram aos exames de diagnóstico e tiveram o diagnóstico firmado no CRL (exceto quanto aos exames histopatológicos, que foram todos feitos em outros serviços), mesmo tendo sido encaminhados para tratamento em outro serviço ou tendo abandonado o acompanhamento após o início do tratamento.

3.5. Critérios de exclusão:

Ausência de informação suficiente no prontuário. Casos em que o diagnóstico de LC foi descartado. Pacientes que iniciaram tratamento em outro serviço.

3.6. Dados analisados:

As informações dos prontuários foram colhidas por apenas uma pessoa, o autor deste trabalho, que preencheu um questionário (anexo 1) abordando os seguintes aspectos:

- 3.6.1.** Aspectos sócio-demográficos: idade, sexo, cor, renda, procedência e profissão.
- 3.6.2.** Aspectos do atendimento: origem do encaminhamento, tempo transcorrido entre o encaminhamento e o atendimento no CRL-CPqRR e propedêuticas utilizada.
- 3.6.3.** Aspectos clínicos: tempo de evolução, forma clínica, tamanho (medida pela fórmula matemática para formas elípticas: $D1 \times D2 \times \pi/4$, onde $D1$ = maior diâmetro, $D2$ =menor diâmetro e π =valor de $\pi=3,14$). Quando o paciente tinha mais de uma lesão foi considerada apenas a maior. Local e número de lesões, envolvimento linfático, infecção bacteriana associada e doença concomitante.
- 3.6.4.** Exames de diagnóstico: exame parasitológico direto, IDR, cultivo, PCR e histopatologia.
- 3.6.5.** Aspectos do tratamento: número de ampolas e dose do Glucantime[®], modo de aplicação, tempo e frequência de uso, efeitos adversos e uso de medicação concomitante.
- 3.6.6.** Resposta à medicação: necessidade de repetição após um ciclo de 20 dias, recidiva, tempo do final da medicação até a cura. Epitelização ou não na data da última consulta.

3.7. Termos e definições

- 3.7.1.** Cura: Neste estudo foram considerados curados os pacientes cujos prontuários tinham anotações de “lesão cicatrizada”, “lesão curada”, “lesão epitelizada, sem sinais de atividade inflamatória”.
- 3.7.2.** Lesão evoluindo com melhora: Evidência de cicatrização progressiva das lesões sem cumprir completamente com os critérios de cura. Foram consideradas as anotações em prontuário de “lesão epitelizada” ou “lesão cicatrizada” com

“infiltração, descamação ou eritema”, “lesão com excelente aspecto” e “lesão em cicatrização”.

3.7.3. Recidiva: Foi considerada a palavra “recidiva” em anotação no prontuário, mesmo quando o paciente não retornou para ser atestada a cura inicial.

3.8. Descrição dos métodos de diagnóstico laboratorial da LC realizados no CRL-CPqRR

3.8.1. Intradermo-reação de Montenegro (IDRM)

O antígeno empregado foi produzido pelo Centro de Produção e Pesquisa em Imunobiológicos do Centro de Pesquisas de Saúde do Paraná, utilizando *L. (L) amazonensis*, cepa de referência MHOM/BR/73/M2269 onde cada mL do produto continha 40µg de nitrogênio protéico. Após antissepsia, foi aplicado o volume de 0,1 mL na derme, utilizando agulha modelo 13 x 3,3, na face volar do antebraço. O resultado foi considerado positivo quando se observou endurecimento igual ou maior a 0,5 cm de diâmetro, 48 horas após a aplicação.

3.8.2. Exame microscópico de esfregaço por aposição

Procedeu-se à biópsia das lesões e retirada de um fragmento para análise. O fragmento de pele biopsiado foi levemente pressionado em uma lâmina de microscopia (*imprint*), deixando aí o material biológico que transuda, incluindo células da pele e sangue e, eventualmente, macrófagos parasitados por *Leishmania* spp. Após a fixação, o material foi corado pelo método de *Giemsa* e observado ao microscópio óptico (aumento de 1000 vezes). O resultado foi considerado positivo quando foram visualizadas formas amastigotas de *Leishmania* spp. no citoplasma de células fagocitárias ou fora destas. As lâminas coradas foram etiquetadas e arquivadas em caixas no CRL-CPqRR.

3.8.3. Exame de aspirado da lesão

Os aspirados foram obtidos utilizando-se sistema à vácuo, segundo a técnica de Romero et al. (1999), com pequenas modificações. Para o cultivo dos aspirados, utilizou-se tubos de vidro com tampa de borracha (Vacutainer®) com capacidade para 10ml. Aos tubos era adicionado meio de cultura bifásico composto de uma fase sólida de agar acrescido de 10% de sangue de coelho desfibrinado e, uma fase líquida de 200 µl de solução salina (0,9%),

adicionado de 25 ug/ml de gentamicina. Os tubos foram tampados com tampa de borracha e o vácuo restituído por aspiração de 20 ml de ar por duas vezes.

A técnica consistiu em puncionar a pele sadia adjacente à lesão, após anestesia e antissepsia, e dirigir a agulha em direção à área inflamada da lesão. Após procedimento de rotação da agulha, retirou-se o sistema permitindo que a ar do ambiente penetrasse no tubo e deslocasse os pequenos fragmentos de tecido cortados pelo bisel da agulha para o meio de cultivo. Para cada paciente foram utilizados três tubos.

Após a coleta do material, os tubos foram mantidos em estufa incubadora (tipo BOD) a 24-26°C por até 21 dias. A leitura das culturas foi feita aos 4, 7, 14 e 21 dias, após o cultivo. No momento do exame, os tubos foram agitados suavemente para homogeneizar a suspensão e, aproximadamente 10 ul foram colocados entre lâmina e lamínula (22x22mm), examinados ao microscópio ótico com aumento de 40 vezes (aproximadamente 150 campos). O resultado positivo foi dado na presença de formas promastigotas no material examinado. O resultado negativo foi dado quando após um mês e repetidas leituras, não se observou crescimento do parasito.

3.8.4. Exame histopatológico

O exame histopatológico não foi realizado no CRL. Procedeu-se a anotação das informações a partir dos laudos de 74 pacientes que haviam realizado estes exames em diversos laboratórios de Belo Horizonte e outras cidades. Ao todo foram avaliados 74 laudos feitos por 34 patologistas diferentes. Os dados colhidos foram: na derme presença ou não de formas amastigotas, tipo de infiltrado inflamatório, presença de granulomas. Na epiderme, presença de alterações anatômicas do epitélio.

3.8.5. Diagnóstico pela PCR e caracterização molecular das espécies de *Leishmania* spp. pela técnica da PCR-RFLP:

Foram empregadas técnicas de biologia molecular para diagnóstico e classificação do parasito, no nível de subgênero, a partir do material obtido por raspado de uma parte das lâminas coradas.

O DNA do parasito foi extraído das lâminas segundo Volpini et al. 2004, com pequenas modificações. O material raspado foi acondicionado em tubos estéreis com 60 µL de água ultra-pura. Em seguida, os tubos foram levados a 70°C em um banho-maria a seco por 10 minutos. Após este período, foram centrifugados a 13.000 rpm por cinco minutos. Então, o

sobrenadante foi transferido para novo tubo de 0,5mL, produzindo duas alíquotas para cada extração de lâmina. As amostras foram então congeladas a -20°C até o momento do uso.

Para a amplificação do DNA por PCR foi utilizada mistura contendo 0,5U de *Taq-DNA polimerase* (Promega Corporation[®], Estados Unidos) em Tampão contendo 10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 2mM MgCl₂, 200µl de cada dNTP (Promega Corporation[®], Estados Unidos) e 2ng de cada oligonucleotídeo. A esta mistura foram acrescentados 2µl de DNA extraído, para volume final de cada amostra de 20µl. As condições da reação de PCR incluíram a desnaturação a 94°C por 4 minutos, seguida de 30 ciclos de 30 segundos de desnaturação a 94°C, 30 segundos de anelamento a 50°C e 30 segundos de extensão a 72°C. Após o 30º ciclo, cinco minutos para completar a extensão a 72°C. Após a amplificação do DNA, os produtos obtidos foram analisados através da eletroforese em gel de poliacrilamida a 6%, corado pelo nitrato de prata com visualização direta. Para cada uma das amostras, verificou-se o resultado positivo para *Leishmania*, observando-se a presença de bandas amplificadas de 120pb.

Os produtos obtidos pela PCR (amplicons) foram submetidos a cortes pela enzima de restrição *HaeIII*, pela reação de RFLP. Para esta reação, 3µL dos produtos da PCR foram adicionados à mistura contendo 0,5 UI da enzima e seu tampão específico (Promega Corporation[®], Estados Unidos). Os microtubos foram aquecidos a 37°C por 3 horas.

Os produtos da digestão foram aplicados em gel de acrilamida a 8% e corridos em eletroforese a 120 V, em torno de 45 mA, por 40 minutos. Em seguida, os géis de acrilamida foram corados pelo nitrato prata. Os géis foram secos em papel celofane e os perfis eletroforéticos dos fragmentos de restrição foram analisados.

3.9. Plano de coleta e análise dos dados

As informações obtidas dos prontuários e dos resultados de caracterização dos parasitos foram incluídos em questionário estruturado (Anexo). Os dados foram digitados em banco de dados informatizado e analisados com o uso do programa estatístico Epi-info versão 6.04. Para as variáveis contínuas foram calculadas as médias e medianas. A comparação das médias foi realizada utilizando-se do teste t de Student e das medianas, o teste de Kruskal-Wallis. Para as variáveis categóricas foi utilizado o teste do Qui-quadrado. Para todos os testes foi utilizado o nível de significância de 5%.

4. RESULTADOS

No período do estudo foram atendidos 379 pacientes com diagnóstico de LC no CRL-CPqRR, dos quais 310 (81,8%) preencheram os critérios de inclusão para análise. Sessenta e sete (17,7%) foram excluídos por terem iniciado o tratamento em outro serviço no momento da primeira consulta no CRL-CPqRR. Dois (0,5%) foram excluídos por falta de informação suficiente no prontuário.

Entre os 310 casos incluídos, a média de atendimentos foi de 60 por ano, com menor número em 2003 (46 pacientes) e maior em 2005 (79 pacientes).

4.1. Aspectos sócio-demográficos

A tabela 1 apresenta os aspectos sócio-demográficos dos 310 pacientes do estudo.

Do total de pacientes analisados, 215 (70%) eram do sexo masculino e 95 (30%) do feminino. A média de idade foi de 35,7 anos e a mediana de 35 anos. O paciente mais novo tinha idade de quatro meses e meio e o mais velho de 85 anos. A faixa etária entre 21 e 50 anos incluiu 173 casos (55%). O número de crianças com cinco anos ou menos foi de 12 (3,9%) e o número de maiores de 65 anos foi de 16 (5,2%). A idade não estava registrada no prontuário de um paciente. A figura 1 mostra a distribuição por sexo e faixa etária de 309 pacientes.

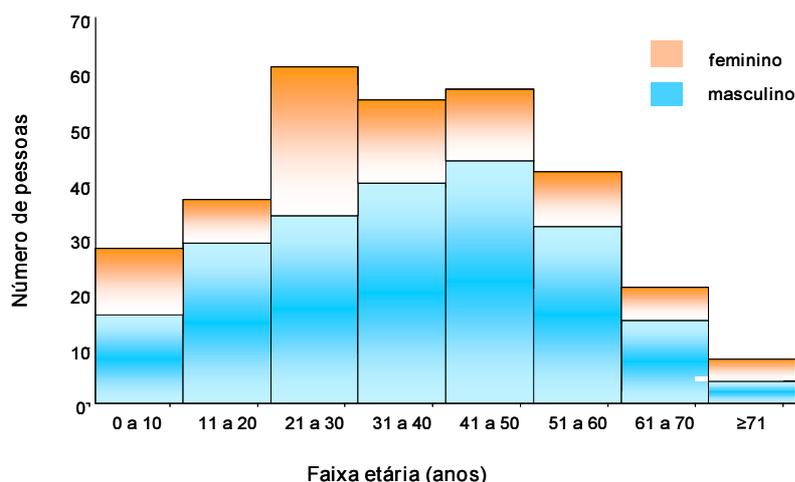


Figura 1 - Distribuição por sexo e faixa etária de 309 pacientes portadores de LC, atendidos no CRL-CPqRR no período de 2001-2005

Em todas as faixas etárias o sexo masculino ocorreu em maior número. A mediana de idade foi de 37 anos para o sexo masculino e 31 anos para o feminino. Não foi observada diferença estatística entre as medianas de idade do sexo masculino e do feminino ($p=0,122$).

Tabela 1 – Aspectos sócio-demográficos de 310 pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005).

	Variável	Frequência	%
Sexo	Masculino	215	70,0
	Feminino	95	30,0
Faixa etária (anos)	0 a 10	28	9,0
	11 a 20	37	12,0
	21 a 50	173	55,0
	51 a 60	42	14,0
	61 a 70	21	6,7
	≥71	8	3,0
	Sem informação	1	0,3
Cor	Parda	153	49,3
	Branca	133	43,0
	Negra	23	7,4
	Sem informação	1	0,3
Grau de instrução	I grau	170	54,8
	II grau	56	18,2
	Superior	47	15,2
	Analfabeto	17	5,4
	Sem informação	20	6,4
Renda (salários mínimos)	Mais de dois	126	40,6
	Entre um e dois	91	29,4
	Até um	28	9,0
	Sem informação	65	21,0

Foi observada maior frequência de pessoas pardas entre os pacientes, com 153 (49,3%), seguidas de brancas, com 123 (42,9%) e de negras, com 23 (7,4%). A baixa escolaridade predominou, sendo maior a frequência de pessoas que completaram apenas o primeiro grau (54,8%), além dos 5,4% de analfabetos. Entre 245 pacientes que tiveram sua renda mensal aferida, 119 (48,6%) recebiam até dois salários mínimos por ocasião da primeira consulta no serviço.

Entre os 252 pacientes com idade maior do que 18 anos, 245 tiveram sua atividade profissional anotada. Entre estes, apenas 40 (16%) exerciam profissões cuja natureza implica em exposição a áreas de matas, como 12 lavradores (4,8%), sete caseiros de sítio (2,8%), quatro militares (1,6%), quatro biólogos (1,6%) e outras 13 atividades com frequências menores. Vinte e quatro mulheres (9 %) eram “donas de casa”, 13 (5,2%) pessoas estavam aposentadas, 11 (4,4%) eram comerciantes, 10 (4%) pedreiros, 10 (4%) desempregados, nove (3,6%) estudantes e oito (3,2%) engenheiros. Os 120 (47,6%) restantes exerciam várias outras ocupações com frequências menores.

Com respeito à procedência (tabela 2), a RMBH compreendeu a maior parte dos casos (265; 85%), sendo que a cidade de Belo Horizonte foi o local de residência de 136 pessoas, 44% do total de pacientes e 51,5% dos casos residentes na RMBH. As outras cidades da RMBH com maior número de casos foram Betim, Sabará, Ribeirão das Neves e Contagem que juntas, somaram 67 casos (21,6% de todos os casos e 25,4% dos casos da RMBH). Apenas três pessoas (0,9%) vieram de outros estados da federação.

Tabela 2 – Procedência dos 310 pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005)

Procedência	Frequência	%
Belo Horizonte	136	44,0
Betim	28	9,0
Sabará	14	4,5
Ribeirão das Neves	13	4,2
Contagem	12	3,9
Outras cidades da RMBH	62	20,0
Total da RMBH	265	85,0
Outras cidades de MG	41	13,5
Outros estados do Brasil	3	0,9
Sem informação	1	0,3

O número total de casos de LTA, incluindo todas as formas, notificados em Minas Gerais no período do estudo foi de 8.607. Entre pessoas com residência na RMBH foram 813 notificações. A casuística de LC do CRL-CPqRR correspondeu a 3,6% das notificações do estado de Minas Gerais e 32,7% das notificações de pessoas com residência na RMBH. A figura 2 mostra o número de casos de LTA com residência na RMBH notificados na Secretaria Estadual de Saúde (SES) de Minas Gerais, através da Gerência Regional de Saúde (GRS) de Belo Horizonte entre 2001 e 2005 e a comparação com o número de casos de LC oriundos da RMBH atendidos no CRL-CPqRR no mesmo período.

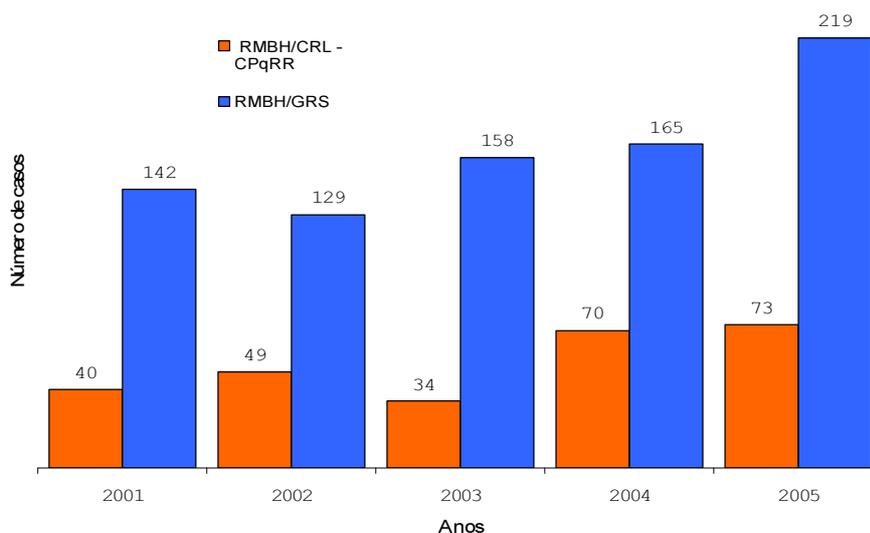


Figura 2. Número de casos de LTA oriundos da RMBH notificados à Secretaria Estadual da Saúde e o número de casos de LC oriundos da RMBH atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005). Fonte: SINANW/GRS BH (agosto/2007).

Entre as 265 pessoas residentes na RMBH, 124 (47%) relataram não terem viajado para fora desta região no período de um ano anterior à primeira consulta.

Entre os 306 pacientes residentes em Minas Gerais, 43 (14%) relataram ter viajado para fora do estado no período de um ano anterior à primeira consulta. Entre as viagens relatadas, 20 (6,5%) foram para estados do Norte: 11 (3,6%) para o Pará, três (1%) para Rondônia, três (1%) para o Amazonas e um (0,3%) para o Acre. Seis (2%) viajaram para o estado da Bahia. Quatro (1,3%) foram para outros estados do Sudeste, sendo três (1%) para São Paulo e um (0,3%) para o Espírito Santo; dois (0,6%) foram para o Mato Grosso, no Centro-Oeste e um (0,3%) foi para o Paraná, no Sul.

Com relação ao serviço de origem (tabela 3), a maioria dos pacientes foi encaminhada por unidade básica de saúde, 127 casos (40,9%). O tempo entre o encaminhamento pelo médico assistente e o primeiro atendimento no CRL-CPqRR, calculado em 184 prontuários, foi de 7,5 dias (média), com mediana de 6 dias, 31 pacientes (17%) foram atendidos até um dia após o encaminhamento e o tempo máximo foi de 36 dias.

Tabela 3 – Origem dos encaminhamentos dos 310 pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005)

Serviço que encaminhou	Frequência	%
Unidade básica de saúde	127	40,9
Serviço privado	54	17,4
Hospital público	27	8,7
Sem informação	102	32,9

4.2. Aspectos clínicos

Dos 310 pacientes analisados, 308 (99%) apresentavam a forma localizada da LC e dois (1%) apresentavam múltiplas lesões em segmentos não contíguos do corpo.

O número, o tipo de lesão e a presença de envolvimento linfático estão descritos na tabela 4.

Tabela 4 – Número, tipo de lesão e presença de envolvimento linfático de 310 pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005).

Variável	Frequência*	%	
Número de lesões	1	207	66,8
	2 a 3	76	24,7
	>3	25	8,1
	Sem informação	2	0,6
Tipo de lesão	Úlcerosa	264	85
	Placa	25	8
	Nodular	20	6,4
	Papulosa	15	4,8
	Úlcera vegetante	7	2,3
	Verrucosa	4	1,3
Envolvimento linfático	Não	129	41,6
	Sim	103	33,2
	Sem informação	78	25,2

*Refere-se ao número de pacientes, sendo que um paciente pode apresentar mais de um tipo de lesão

Em 302 pacientes foi possível acessar o tempo de evolução, anotada no prontuário na ocasião da primeira consulta. O tempo médio foi de 99 dias, a mediana foi de 60 dias e os tempos mínimo e máximo de 14 dias e quatro anos. O tempo de evolução de até 120 dias reuniu 75% dos pacientes.

A ocorrência de lesão única foi vista em 207 (66,8%) pacientes, em 76 (24,5%) registraram-se entre duas e três lesões e em 25 (8,1%) registraram-se mais de três lesões.

O acometimento de locais não contíguos do corpo, entre os 101 pacientes que tiveram mais de uma lesão, foi observado em 31 (30,6%), enquanto a presença de mais de uma lesão acometendo o mesmo segmento corporal foi observada em 44 (43,6%). Entre estes, dois

pacientes com 12 e um com 15 lesões localizadas nos membros e um paciente com dez lesões localizadas na cabeça.

O tipo de lesão mais freqüente foi a úlcera com 264 (85%) registros, seguida da lesão em placa, da nodular, da papulosa, da úlcera vegetante e da verrucosa. A presença de mais de um tipo de lesão foi verificada em 31 pacientes, sendo que o tipo ulceroso ocorreu em 28 casos, associado mais freqüentemente com a presença de nódulos. Em 24 casos foram observados dois tipos de lesões e em sete registraram-se três tipos diferentes de lesões.

O envolvimento do sistema linfático foi relatado em 103 (33,2%) casos, em 129 (41,6%) foi observada ausência de acometimento linfático perceptível e em 78 (25,2%) esta informação não pôde ser recuperada.

A figura 2 mostra os locais de ocorrência das lesões dos 310 pacientes. Os membros inferiores foram os locais de maior ocorrência, com 192 casos (51%), seguidos de 98 (26%) em membros superiores, 45 (12%) em cabeça e pescoço, 38 (10%) em tronco e 5 (1%) no abdome. A região da tibia foi o local de ocorrência de 126 (40,6%) pacientes, sendo isoladamente o local de maior acometimento, representando 65,6% dos casos de lesões em membros inferiores.

A área da lesão foi medida em 231 pacientes. A média das áreas foi de 9,3 cm² e a mediana de 7,1 cm². A maior lesão mediu 76,5 cm² e a menor 0,2 cm².

A tabela 5 resume as condições clínicas concomitantes. A este respeito, 240 (77,4%) pacientes negavam a existência de patologia ou condição clínica associada. Setenta pessoas (32,6%) apresentavam uma ou mais condições, sendo a hipertensão arterial sistêmica a mais freqüente, com 52 (16,8%), seguida de diabetes melito, asma e doença arterial crônica. Dois pacientes eram sabidamente infectados pelo vírus HIV e duas eram gestantes. Outras condições clínicas foram: um paciente portador de insuficiência cardíaca congestiva em grau avançado e uma paciente portadora de hepatite auto-imune, condições que contra-indicaram o uso de Glucantime®. Um paciente era portador de doença de Chagas e um de demência.

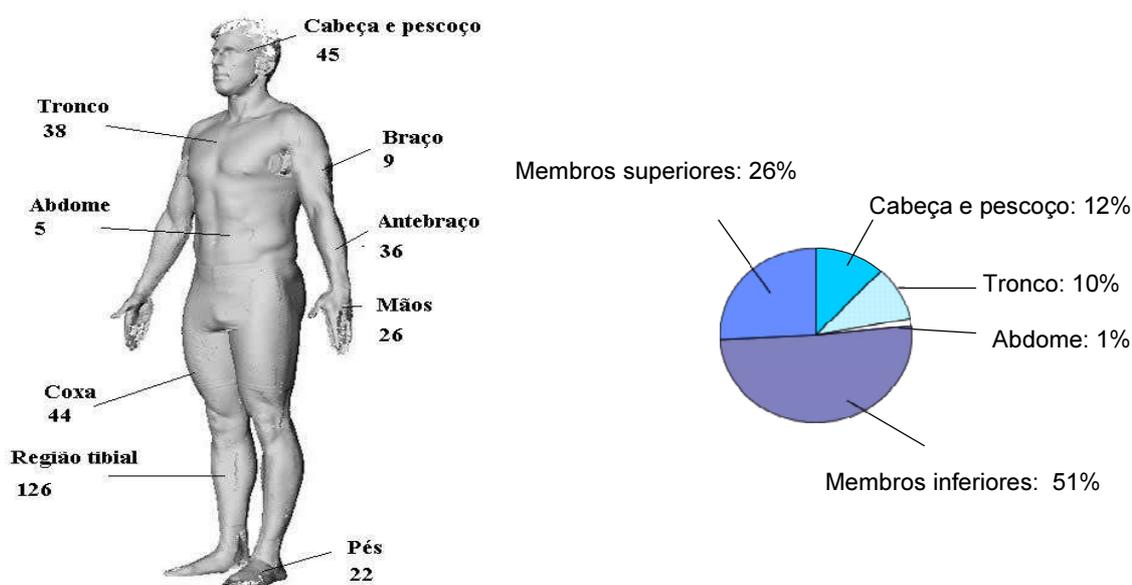


Figura 3 - Locais de ocorrência das lesões em 310 pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005): número de pacientes que apresentaram lesões nos locais indicados e distribuição percentual das regiões do corpo acometidas.

Tabela 5 – Condições clínicas concomitantes em 310 pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005).

Condição clínica concomitante	Freqüência	%
Nenhuma	240	77
Pelo menos uma condição	70	33
Hipertensão arterial	52	16,8
Diabetes	16	5,0
Asma	10	3,0
Doença arterial crônica	7	2,6
Gravidez	2	0,6
Infecção pelo vírus HIV	2	0,6
ICC	1	0,3
Hepatite auto-imune	1	0,3
Doença de Chagas	1	0,3
Demência	1	0,3

A presença de infecção bacteriana nas lesões foi anotada em 70 (22,6%) casos, sua ausência em 183 (59%) casos e em 57 (18,4%) casos esta informação não pôde ser recuperada (tabela 6).

Tabela 6 – Presença de infecção bacteriana nas lesões de 310 pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005).

Infecção bacteriana	Freqüência	%
Não	183	59,0
Sim	70	22,6
Sem informação	57	18,4

A presença de infecção bacteriana nas lesões foi comparada com a mediana do tempo de evolução da lesão em 249 prontuários. Entre estes, 181 não apresentavam sinais de infecção bacteriana e a mediana de tempo de evolução foi de 90 dias. Sessenta e oito pacientes apresentavam sinais de infecção bacteriana e a mediana do tempo de evolução foi de 60 dias. A análise estatística mostrou que lesões com tempo de evolução menor tiveram maior freqüência de sinais de infecção bacteriana associada ($p=0,023$).

A utilização de alguma medicação não específica para o tratamento da LC foi anotada 327 vezes (tabela 7). O uso de antibiótico por via oral foi o mais freqüente, com 167 (53,9%) registros, sendo que 48% dos casos não apresentavam sinais de infecção bacteriana secundária.

O uso de antibiótico tópico foi registrado em 105 (33,9%) prontuários. Medicação injetável foi registrada em 55 prontuários, todos estes receberam formulações injetáveis de penicilina (benzilpenicilia benzatina, Benzetacil[®] e/ou benzilpenicilina procaína, Despacilina[®]). Entre estes, 36 (65%) não apresentavam sinais de infecção bacteriana secundária.

O uso de medicação injetável quando comparado a renda, mostrou ser mais freqüente entre pessoas que relataram renda até dois salários mínimos. A este respeito 203 prontuários foram analisados. Entre 121 pacientes com renda até dois salários mínimos, 37 (30,6%) receberam medicação injetável. Entre 82 pacientes com renda maior do que dois salários mínimos, nove (11%) receberam medicação injetável ($p= 0,001$).

Em 37 pacientes (12%) foi registrado o uso de medicação analgésica.

Tabela 7 – Tratamentos utilizados por 310 pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005).

Tratamento não específico		Frequência	%*
Tópico	Antibiótico	105	33,9
	Não antibiótico	33	10,6
	Caseiro	15	4,8
	Corticóide	12	3,9
Oral	Antibiótico	167	53,9
	Analgésico	37	12,0
Injetável	Antibiótico	55	17,7

*A porcentagem é relativa aos 310 pacientes. Um paciente pode ter usado mais de um tipo de tratamento

4.3. Aspectos do diagnóstico laboratorial

A tabela 8 mostra os resultados dos exames laboratoriais usados para o diagnóstico da LC no CRL-CPqRR.

Tabela 8 – Resultados dos exames laboratoriais de diagnóstico da LC aos quais foram submetidos os pacientes atendidos no CRL-CPqRR no período do estudo (2001-2005).

Métodos de diagnóstico	Positivo (%)	Negativo (%)	Total
IDRM	239 (82,1)	52 (17,9)	291
Imprint	108 (68,4)	50 (31,6)	158
Aspirado	81 (63,3)	47 (36,7)	128
Histopatologia	22 (30,0)	52 (70,0)	74
PCR	113 (82,0)	25 (18,0)	138
Parasitológico*	168 (71,0)	70 (29,0)	238

* Exame parasitológico foi definido no texto.

A reação intradérmica de Montenegro foi realizada em 291 pacientes, com resultado positivo em 239 (82,1%). A pesquisa do parasito pela técnica de *imprint* foi positiva em 108 (68,4%) entre 158 exames realizados. A demonstração do parasito pelo aspirado da lesão foi positiva em 81 (63,3%) entre 128 exames realizados.

Setenta e quatro pacientes (23,8%) apresentaram-se à primeira consulta com resultados de exames histopatológicos realizados em outros serviços. Destes, 46 (62%) relatavam a observação de formas sugestivas de *Leishmania* spp., mas apenas 22 (30%) tinham laudo conclusivo para LC. Nos 52 (70%) restantes havia a descrição de alterações teciduais que são encontradas na LC, sem etiologia definida. Na descrição dos laudos, o infiltrado inflamatório linfo-histio-plasmocitário esteve presente em 35 casos (47%), em 23 (31%) foi encontrado o registro de infiltrado inflamatório constituído predominantemente por dois tipos celulares. A presença de granuloma foi anotada em 12 casos (16%) e de esboço de granuloma em 8 casos (11%). No epitélio, a alteração mais encontrada foi a acantose observada em 19 laudos (26%), seguida de hiperkeratose em 15 (20%) e hiperplasia pseudoepitelial em 10 (13%). Em um caso (1,4%) foi registrada a presença de micro-abscessos intra-epiteliais.

A PCR foi realizada em 138 lâminas de pacientes e foi positiva em 113 (82%). A PCR foi positiva em 27 (56%) das 48 lâminas que tiveram resultado negativo na pesquisa do parasito pela microscopia óptica. Entre as 25 lâminas que tiveram resultado negativo pela PCR, quatro foram positivas pela microscopia óptica. A PCR foi positiva em dois pacientes para os quais todos os outros exames de diagnóstico foram negativos.

A confirmação parasitológica foi definida pela positividade em pelo menos um dos exames seguintes: *imprint*, aspirado ou histopatológico. Entre 238 pacientes, 168 (71%) tiveram resultado de exame parasitológico positivo. Incluindo a PCR, a positividade aumentou para 77%.

A possível interferência do tempo de evolução sobre a positividade dos exames laboratoriais foi avaliada para os 310 portadores de LC (tabela 9).

Tabela 9 – Comparações entre o tempo evolução e o resultado dos exames laboratoriais dos 310 pacientes portadores da LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005).

Métodos de diagnóstico	Tempo de evolução (medianas em dias)		p ^(*)	
	resultado	n		
IDRM (284) ^(a)	Positivo	233	60	0,5125
	Negativo	51	60	
Imprint (157)	Positivo	108	60	0,2328
	Negativo	49	60	
Aspirado (127)	Positivo	80	60	0,0464
	Negativo	47	62	
Histopatológico (72)	Positivo	20	90	0,1418
	Compatível	52	115	
PCR (137)	Positivo	113	60	0,2432
	Negativo	24	90	

(^a) Número de exames realizados. (*) Teste estatístico de Kruskal Wallis.

Na IDRM a mediana de 60 dias de evolução foi observada tanto entre pessoas com resultado positivo como negativo. Entre os 57 pacientes que relataram o tempo de evolução igual ou menor do que 30 dias a positividade da IDRM também foi de 82,1%.

Também no *imprint* a mediana de 60 dias de evolução foi observada tanto entre pessoas com resultado positivo como negativo. Entre 22 pacientes com tempo de evolução igual ou maior do que cinco meses, a positividade do *imprint* foi de 72,7%.

Entre 127 exames de aspirado realizados, 80 tiveram resultado positivo e a mediana do tempo de evolução foi de 60 dias. Para os quarenta e sete pacientes que tiveram resultado negativo a mediana foi de 62 dias de evolução. A comparação entre estes resultados mostrou diferença estatisticamente significativa ($p=0,046$). Entre nove pacientes com tempo de evolução igual ou maior do que cinco meses, apenas um (11,1%) teve exame de aspirado positivo.

A RFLP foi realizada nas 113 amostras positivas pela PCR. Em 18 (16%) os resultados não foram conclusivos. A tabela 10 mostra a os resultados da classificação em subgênero pela RFLP de 95 raspados de lâmina.

Tabela 10 – Classificação etiológica pela PCR-RFLP em 96 raspados de lâminas de imprint de pacientes portadores da LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005)

Classificação em subgênero	Frequência	%
Viannia	91	95,8
Leishmania	4	4,2
Total	96	100

Noventa e um pacientes (95,8%) tiveram o agente etiológico classificado como pertencente ao subgênero *Viannia* e quatro (4,2%) como pertencentes ao subgênero *Leishmania*.

Entre os 91 casos classificados no subgênero *Viannia*, 46 (50,5%) relataram não terem saído da RMBH no último ano. Onze (12%) relataram viagem para fora de Minas Gerais, sendo três (3,3%) para o estado do Pará e um (1,1%) para o Amapá. Entre os quatro casos classificados no subgênero *Leishmania*, um (25%) viajou para fora de Minas Gerais.

4.4. Aspectos do tratamento

A tabela 11 apresenta os esquemas terapêuticos prescritos no CRL-CPqRR no período do estudo.

Tabela 11 – Esquemas terapêuticos prescritos aos pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005)

Tipo de tratamento	Frequência	%
Glucantime® 20 dias consecutivos	262	84,5
Glucantime® 10 dias intermitente	5	1,6
Glucantime® intralesional	5	1,6
Outras (*)	25	8,1
Não usou medicamento	2	0,65
Ignorado	11	3,5
Total	310	100

(*) Participação em ensaio clínico ou contra-indicação para uso do Glucantime®.

No período do estudo, 262 (84,5%) pacientes foram tratados com Glucantime® durante 20 dias consecutivos, cinco (1,6%) receberam Glucantime® durante 10 dias em esquema intermitente e cinco (1,6%) receberam injeções de Glucantime® intralesional. Vinte e cinco (8,1%) pacientes receberam tratamentos em esquemas alternativos, sendo que 24 usaram azitromicina e/ou paromomicina tópica, seguindo protocolo de pesquisa e uma paciente usou

anfotericina B liposomal devido à contra-indicação para o tratamento com outras drogas. Onze pacientes (3,5%) foram perdidos de seguimento após a prescrição.

Dois pacientes tiveram cura sem usar mediação convencional, um deles, homem de 67 anos apresentava duas lesões ulceradas na perna, região da tíbia, com cerca de 50 dias de evolução. Este paciente negou ter saído da RMBH no período de um ano anterior à consulta. Tinha exame parasitológico positivo (aspirado) e o IDRMM não reativo, utilizou medicamento homeopático e evoluiu para cura, sendo esta atestada um ano e sete meses após a primeira consulta. Permaneceu com as lesões curadas na data do último retorno, quatro meses após atestada a cura. Neste caso a espécie infectante não foi identificada. O outro paciente que evoluiu para cura sem ter usado medicamento específico teve o agente causador da LC classificado no subgênero *Leishmania*. O relato deste caso (caso 1) segue no anexo 2, dedicado ao relato dos quatro casos classificados neste subgênero.

4.5. Descrição dos casos tratados com injeções de Glucantime® durante 20 dias consecutivos

4.5.1. Doses e repetições

Entre os pacientes que receberam injeções de Glucantime® durante 20 dias consecutivos, 21 (9%) receberam dose diária menor do que 10 mg/kg de peso, 178 (75%) receberam entre 10 e 14,9 mg/kg e 39 (16%) receberam dose maior ou igual a 15 mg/kg. Em 24 prontuários não havia registro de peso ou de dose utilizada.

Pacientes que usaram dose menor do que 10 mg/Kg tinham mediana de idade de 46 anos. Entre 10 a 14,9 mg/Kg a mediana foi de 34 anos e entre os que usaram 15 mg/Kg ou mais a mediana foi de 22 anos. A análise estatística mostrou que estas diferenças são significativas ($p=0.0000$)

Em 32 pacientes (12%) foi prescrito mais de um ciclo de medicação para completar a cura. Entre estes, 20 receberam dois ciclos, seis receberam três e os outros seis receberam entre três e seis ciclos do medicamento. A repetição da medicação ocorreu num intervalo menor do que 90 dias após o término do primeiro ciclo em 23 (71,9%) dos pacientes que receberam mais de um ciclo. Em 15 (46,9%) dos casos a repetição da medicação ocorreu antes de se completar um mês de avaliação após o término do primeiro ciclo.

O uso de mais de um ciclo de Glucantime® não esteve relacionado a nenhuma variável sócio-demográfica. A variável clínica associada foi o tamanho da lesão. A este respeito, foram analisados 181 pacientes, dos quais 143 não utilizaram mais de um ciclo de Glucantime® e a mediana da área da lesão foi de 5 cm². Entre os 32 pacientes que usaram mais de um ciclo de

Glucantime[®], a mediana da área da lesão foi de 7 cm². A comparação entre estas medianas mostrou diferença estatisticamente significativa (p=0,009).

A necessidade de repetição da medicação não esteve associada com a dose recebida inicialmente. A este respeito foram avaliados 219 pacientes, comparando a dose dividida em três faixas com a necessidade ou não de mais de um ciclo de Glucantime[®], (Qui-quadrado=0,61. Valor de p=0,738).

Na última avaliação dos 32 pacientes que receberam mais de um ciclo de Glucantime[®] e que não tiveram recidiva observada, 24 (75%) estavam curados, 5 (15,6%) melhorados e 3 (9,3%) com quadro inalterado ou pior.

4.5.2. Efeitos adversos

Os efeitos adversos foram observados em 122 pacientes (46,5%), sendo artralgia e mialgia os mais frequentes, que somados, representavam 72% dos casos (tabela 12).

Um homem de 58 anos, portador de hipertensão arterial sistêmica (HAS), em uso de dois medicamentos, um diurético e um β -bloqueador para o tratamento da HAS, sofreu infarto agudo do miocárdio (IAM) no nono dia de uso do Glucantime[®]. Estava recebendo a dose de 8,1 mg/Kg por dia, dose acumulada de 72,9 mg/Kg. O eletrocardiograma deste paciente feito um dia antes do uso do Glucantime[®] não mostrava sinais de doença isquêmica do miocárdio. E uma mulher de 73 anos, portadora de HAS e diabetes melito, usando apenas metformina para tratamento do diabetes, apresentou acidente vascular cerebral (AVC) dois dias após o término do Glucantime[®]. Recebeu dose diária de 13,5 mg/Kg durante 20 dias, dose acumulada de 270 mg/Kg.

Tabela 12 – Presença de efeitos adversos entre os 262 pacientes portadores de LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005) para os quais foi prescrito Glucantime® durante 20 dias consecutivos.

Efeitos adversos	Frequência	%
Presentes	122	46,5
Ausentes	140	53,5
Mialgia	61	23,3
Artralgia	36	13,7
Mal-estar e franqueza	30	11,4
Cefaléia	26	10,0
Sonolência	27	10,3
Hiporexia	14	5,3
Náuseas	11	4,2
Sintomas nasais, rinorréia e resfriado	11	4,2
Lombalgia	8	3,0
Manifestação alérgica na pele	8	3,0
Tonteira	6	2,3
Tremor	6	2,3
Insônia	6	2,3
Inversão de onda T no eletrocardiograma	6	2,3
Palpitação	5	2,0
Dispepsia	4	1,5
Dor abdominal	3	1,1
Dor nas pernas	3	1,1
Febre	3	1,1
Falta de ar	3	1,1
Boca seca	3	1,1
Dor precordial	2	0,8
AVC isquêmico	1	0,4
IAM	1	0,4
Outras (*)	21	8,0

Porcentagem dos sintomas entre 262 pacientes. AVC=acidente vascular cerebral, IAM= infarto agudo do miocárdio. (*) aftas, alterações bioquímicas, poliúria, calafrio, crises de choro, depressão, diarréia, irritabilidade, pernas trêmulas, polidipsia, sede, sensação de desmaio, cabeça pesada, epistaxe, formigamento e lacrimejamento.

A idade teve influência no aparecimento de efeitos adversos. Entre os 122 pacientes que apresentaram efeitos adversos, a mediana de idade foi de 40 anos, entre os 140 que não apresentaram, a mediana foi de 30 anos. Esta diferença foi estatisticamente significativa ($p=0,0000$).

A tabela 13 mostra a relação entre dose do Glucantime® e a ocorrência de efeitos adversos. A comparação entre dose do Glucantime®, dividida em três faixas, com a presença de efeitos adversos mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,001$). A menor ocorrência de efeitos adversos foi entre pessoas que usaram dose igual ou maior do

que 15 mg/Kg por dia. Este grupo apresentava menor idade. Outros fatores sócio-demográficos, clínicos ou terapêuticos não tiveram associação com a ocorrência de efeitos adversos.

Tabela 13– Ocorrência de efeitos adversos por faixa de dose prescrita de Glucantime® entre 238 pacientes portadores da LC atendidos no CRL-CPqRR (2001-2005) para os quais foi prescrito Glucantime® durante 20 dias consecutivos.

Dose	Efeitos adversos				Total
	Presente (%)		Ausente (%)		
< 10 mg/kg	8	(38)	13	(62)	21
10 a 14,9 mg/kg	100	(56)	78	(44)	178
≥ 15 mg/kg	10	(26)	29	(74)	39
total	118	(100)	120	(100)	238

Teste do Qui-quadrado=13,15. Valor de p=0,001

O uso do Glucantime® foi interrompido em 14 (5,3%) pacientes por causa de efeitos adversos (tabela 14).

Excetuando o caso do paciente que teve IAM, os outros completaram mais de três quartos da dose prescrita. Entre estes, 12 (86%) evoluíram para cura e uma paciente apresentou recidiva. Alterações eletrocardiográficas foram as causas de interrupção em três pacientes, manifestações alérgicas da pele em um caso e sintomas como artralgia, mialgia e mal-estar foram as causas de interrupção dos outros.

Tabela 14 – Frequência e causas de interrupção do Glucantime® entre os 262 pacientes portadores da LC para os quais foi prescrito Glucantime® durante 20 dias consecutivos.

Interrupção	Frequência	%
Não interrompeu a medicação	221	84,4
Ignorado*	27	10,3
Artralgia, mialgia e mal-estar	10	3,8
Alterações eletrocardiográficas	3	1,1
Infarto agudo do miocárdio	1	0,4
Total	262	100

*Ignorado: pacientes que foram contra-referenciados para os serviços de origem após a prescrição da medicação. Sobre estes pacientes não existem informações no CRL-CPqRR a respeito do uso da medicação e desfecho clínico.

4.5.3. Aspectos evolutivos

O aspecto evolutivo de 244 pacientes, para os quais o Glucantime[®] foi prescrito durante 20 dias consecutivos e que não apresentaram recidiva durante o período de acompanhamento, foi classificado em cura, melhora, inalterado ou piora e foi determinado separadamente para pacientes que foram acompanhados no CRL-CPqRR até 30 dias após o término do tratamento e para os pacientes que permaneceram em observação no serviço após 30 dias (tabela 15). A média de tempo de acompanhamento após o tratamento foi de 95 dias, com desvio padrão de 154 dias e mediana de 39 dias.

Tabela 15 – Evolução de 244 pacientes portadores de LC tratados inicialmente com um ciclo de Glucantime[®] e que não tiveram recidivas.

Evolução	Último retorno: até 30 dias (%)		Último retorno: mais de 30 dias (%)	
	Cura	46	(42,6)	126
Melhora	46	(42,6)	18	(12,3)
Inalterado ou piora	10	(9,3)	2	(1,3)
Ignorado	6	(5,5)	1	(0,7)
Total	108	(100)	136	(100)

O número de pessoas examinadas no intervalo igual ou menor do que 30 dias após a medicação foi de 108 com 42,6% de cura. Cento e trinta e seis foram avaliados após 30 dias do término do Glucantime[®] e a porcentagem de cura foi de 85,7%. Entre estes, 75 foram avaliadas 90 dias ou mais após a medicação e a porcentagem de cura foi de 95%.

O número de pacientes que usaram apenas um ciclo de Glucantime[®] e que foram avaliados pela última vez 30 dias ou mais após o término da medicação foi de 119. Entre estes 112 (94%) foram considerados curados, 6 (5%) melhorados e evoluindo para cura e um (1%) ignorado.

A recidiva após cura foi observada em 18 (6,9%) pacientes, onze (61%) pacientes apresentavam reativação da lesão e em quatro (22%) surgiram lesões em locais diferentes da(s) primeira(s). O surgimento de lesões em mucosas foi observado em dois (11%) pacientes. Em um destes, a lesão mucosa foi percebida três meses após o término do tratamento e no outro a lesão mucosa foi percebida quatro meses e meio após.

Na última avaliação após o tratamento da recidiva 12 (66,7%) estavam curados, três (16,7%) estavam evoluindo para cura, dois (11,1%) tiveram piora da lesão e em um (5,6%) paciente surgiram novas lesões. Entre os 12 pacientes que se curaram após a recidiva, sete

necessitaram de apenas mais um ciclo de 20 dias de Glucantime[®]. Os outros necessitaram de mais ciclos de tratamento com 10 ou 20 dias contínuos de medicação. O tempo de acompanhamento destes pacientes foi de menos de três meses para sete (38,9%) pacientes, entre três e cinco meses para três (16,7%) pacientes e de mais de um ano para dois (11,1%) pacientes.

5. DISCUSSÃO

Considerando que LC é endêmica na RMBH (Passos et al. 2001, Luz et al. 2001) e que 85% dos casos atendidos no período do estudo é oriunda desta região, o estudo descritivo da casuística do CRL-CPqRR revela as características regionais da doença e oferece informações importantes para a discussão dos seus aspectos comuns e suas matizes, para a orientação quanto à sua abordagem na prática clínica e para o planejamento de novos estudos.

Em todos os aspectos abordados devem ser resguardados, para a análise, os fatores interferentes como o viés de seleção a partir dos encaminhamentos, a ausência de homogeneidade no registro das informações clínicas efetuadas por diferentes médicos, o curto período do estudo e as limitações inerentes aos estudos descritivos.

5.1. Aspectos sócio-demográficos

A qualidade das informações colhidas depende do paciente recordar e do entrevistador valorizar e registrar o que foi relatado. Assim, tornam-se, por natureza, imprecisos os dados colhidos durante uma entrevista clínica. À imprecisão do período de incubação, que é variável, indo de semanas a anos (Pessoa & Barreto 1944) soma-se a imprecisão da memória do tempo de evolução e dos locais visitados. A inferência sobre o provável local de infecção fica prejudicada pela subjetividade dos dados.

Entretanto, é lícito sugerir um provável local de infecção a partir do relato do paciente, por exemplo, quando este se refere à situação típica, de surgimento de lesão no local da picada de um inseto alado, chamado na maioria das vezes de “mosquito”, que ocorreu em região onde se conhece a existência de outros casos.

Embora a autoctonia dos casos descritos não seja provada, a sua demonstração em estudo anterior (Passos et al. 1993) e o relato de 47% dos pacientes deste estudo de não terem saído da RMBH no ano anterior ao da primeira consulta, são indicadores da possibilidade de grande parte dos casos ser autóctone da região. Esta autoctonia já era suspeitada por Orsini, que em 1940 relatou a presença de casos oriundos de Belo Horizonte e imediações, sendo que entre 609 casos descritos, 11% eram provenientes de locais hoje compreendidos na RMBH.

Passos e colaboradores descreveram a casuística do CRL-CPqRR no período de 1989 a 1995 e encontraram percentual menor de casos, 68% procedentes da RMBH e 28,7% procedentes de Belo Horizonte (Passos et al. 2001). Apesar do cuidado que se deve ter em fazer comparações entre os estudos, o aumento de casos da RMBH no atendimento do CRL-

CPqRR deve estar relacionado com a maior integração entre o CRL-CPqRR e os serviços de atendimento local, principalmente as unidades básicas de saúde (UBS), que seria responsável pelo maior afluxo de pessoas da RMBH para o CRL-CPqRR. Esta integração vem sendo procurada pelas reuniões conjuntas entre gestores da rede básica do Sistema Único de Saúde (SUS) e coordenação do CRL-CPqRR. No que diz respeito ao encaminhamento dos pacientes para o CRL-CPqRR observa-se o tempo bastante reduzido, mediana de seis dias, até o atendimento do paciente neste serviço.

Por outro lado, o re-encaminhamento dos pacientes para as UBS de origem faz com que muitos dos pacientes atendidos no CRL-CPqRR completem o tratamento ou acompanhamento no serviço que os encaminharam. Esta característica é responsável pelo pequeno número de pacientes que foram acompanhados no CRL-CPqRR por período prolongado após o término da medicação.

O número de pessoas portadoras da LC, com residência na RMBH atendidos no CRL-CPqRR correspondeu a 32,7% das notificações de leishmaniose tegumentar de pessoas com residência na RMBH. Conforme mostrado na figura 2, houve aumento do número de casos desta região notificados entre os anos de 2003 e 2005, acompanhado do aumento do número de atendimentos no CRL-CPqRR de pessoas desta região. O curto período de observação não permite saber se este aumento segue uma tendência ou se é episódico.

Em outro estudo descritivo realizado em Belo Horizonte, a participação da RMBH entre os pacientes examinados foi de 58,7% (Lucciola 1994). Este estudo descreveu a casuística dos serviços de dermatologia e de enfermarias de dois centros hospitalares, o Hospital das Clínicas e a Santa Casa de Misericórdia, que são referências para o estado de Minas Gerais.

Semelhante ao estudo anterior (Passos et al. 2001), a maior proporção de homens (70% na casuística atual e 65,3% na anterior) e a mediana de idade (35 anos na atual e 32 anos na anterior) são compatíveis com o padrão de transmissão relacionado ao trabalho e exterior ao domicílio (Marzochi & Marzochi 1994). Observou-se no estudo atual, número reduzido (16%) de profissões cuja natureza implica diretamente em exposição a áreas de matas e que são tradicionalmente associadas com este padrão, como o trabalho agrícola e o exercício militar (Mayrink et al. 1979, Guerra et al. 2003).

A presença de infecção em crianças pequenas e em mulheres está associada à transmissão muito próxima ou dentro do domicílio. A transmissão da LC em regiões metropolitanas ocorre geralmente em bairros mais afastados dos centros (Oliveira-Neto et al. 1988) e mais próximos às regiões de matas, em sítios ou casas dos bairros pobres da periferia.

A presença dos dois padrões de transmissão é compatível com a extensão da região, com a possibilidade da existência de vários focos e com a grande mobilidade das pessoas dentro da região, transportando-se de um município vizinho para o outro com objetivo de trabalho ou passeio.

O passeio, trabalho e moradia como elementos de exposição à infecção, podem ser exemplificados pela observação de seis pessoas atendidas no CRL-CPqRR em uma mesma época, cujos prováveis locais de infecção foram as imediações da gruta da Lapinha, em Lagoa Santa – MG (dados não publicados). Dois destes pacientes se expuseram à infecção por motivo de passeio à região da gruta, uma paciente morava na região, em um sítio muito próximo à gruta. Três pessoas trabalhavam como funcionários da empresa que explora esta gruta comercialmente, para fins de turismo, sendo que um destes funcionários, do sexo feminino, exercia trabalho de caráter administrativo, que neste caso funcionou como fator de exposição. Esta última informação remete para a necessidade de investigar a possibilidade de infecção no local do trabalho, além da simples anotação da atividade profissional que, por si, não é suficiente para sugerir a exposição.

Já o acometimento em várias pessoas da família, incluindo uma criança menor de um ano é exemplo de transmissão próxima ou dentro do domicílio. Entre as 12 crianças menores de cinco anos atendidas no CRL-CPqRR, seis (50%) relatavam o diagnóstico de LC em outro membro da família no mesmo período. A presença de história de LC no período de até um ano em algum membro da família foi identificada como fator de risco para o aparecimento da doença em crianças numa área endêmica de *L. (V.) braziliensis* no estado da Bahia (Ampuero et al. 2005).

Devido à ausência de estruturação na coleta de informações referentes às outras atividades que poderiam implicar na exposição ao agente infeccioso, como hábitos de escalar, excursionar em matas etc, os dados colhidos a este respeito ficaram esparsos e não foram incluídos na pesquisa. Entretanto, observou-se uma alta frequência de pessoas que relataram ter o hábito de pescar, 28% entre 85, para as quais esta pergunta foi feita diretamente pelos entrevistadores, recepcionistas ou o médico assistente. Embora não seja objetivo deste trabalho investigar os fatores de risco para infecção, informações deste tipo podem ajudar na estruturação de uma ficha de investigação que vise abordar estes aspectos.

A maior prevalência em pessoas pardas (49,4%) não é compatível com a distribuição da população de Minas Gerais segundo o Censo Demográfico 2000 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Com relação à cor, neste estado são 54% de brancos, 38, 2% de pardos, 7,3% de negros e 0,5% de amarelos e indígenas. O extrato social mais acometido,

avaliado pela renda e o grau de escolaridade, está de acordo com os estudos anteriores e revelam a maior vulnerabilidade das pessoas pobres frente às doenças infecciosas (Bates et al. 2004). Pessoas pardas e negras recebem em média, metade dos rendimentos dos brancos em todos os estados do Brasil (IBGE 2007). A maior prevalência de pardos entre os casos pode estar relacionada à renda.

5.2. Aspectos clínicos.

A forma cutânea localizada, com a presença da lesão ulcerada em membros inferiores e, na maior parte das vezes, única, foram os achados mais comuns e estão de acordo com a descrição clássica da LC no Brasil. Resultados semelhantes foram vistos por diversos autores em diversas regiões. (Mayrink et al. 1979, Llanos-Cuentas et al. 1984, Oliveira-Neto 1998, Passos 1998, Romero et al. 2001a, De Castro et al. 2002,).

A maior parte dos casos (75%) apresentou tempo de evolução de até 120 dias, mediana de 60. O tempo de evolução prolongado está muitas vezes associado à demora do paciente em procurar atenção médica, uma vez que a lesão é geralmente indolor. Outra causa é a possibilidade de confusão diagnóstica, principalmente com lesões provocadas por bactérias que resulta em atraso no tratamento específico.

Neste estudo observou-se o uso elevado de antibióticos pela via oral (80 entre 167, 48%) e injetável (36 entre 55, 65%) por pessoas que na primeira consulta no CRL não apresentavam sinais de infecção bacteriana na lesão. Suspeita-se que em alguns casos a antibioticoterapia tenha melhorado o quadro de infecção bacteriana concomitante e que em outros a piodermite ou úlcera traumática infectada tenham sido a primeira impressão diagnóstica no serviço de origem. A associação estatisticamente significativa entre o uso de antibióticos injetáveis e renda pode estar relacionada ao menor acesso às outras modalidades de tratamento e/ou maior aceitação a este tipo de medicação por parte das pessoas de menor renda.

A infecção bacteriana foi observada em 22,6% dos casos do CRL-CPqRR, sendo que este achado se refere à observação clínica de sinais, como inflamação local, dor e exsudato purulento. Não houve comprovação laboratorial.

Em um estudo que utilizou o cultivo em meio bacteriológico de fragmento de pele biopsiado, Vera e colaboradores isolaram bactérias em 54,2% (45 de 83 casos), com predominância do *Staphylococcus aureus* (88,9%). Entretanto, sinais inflamatórios perilesionais e odor fétido foram encontrados em apenas três e quatro pacientes,

respectivamente. Apenas estes pacientes receberam antibióticos. A presença de bactéria não influenciou a evolução após a terapêutica com o antimônio. Os autores chamaram a atenção para a contaminação dos meios de cultivo para *Leishmania* spp. por bactérias que invadem os tecidos e para as quais os métodos de anti-sepsia da pele antes da biópsia não são úteis (Vera et al. 2001). Um estudo realizado em Minas Gerais mostrou a presença de um ou mais patógenos em 67,7% (21 entre 31 lesões examinadas, cujo material foi colhido por swab). O *Staphylococcus aureus* foi o mais prevalente com 95,2%. Além de bactérias, foram encontrados *Candida albicans* e *C. tropicalis* (Fontes et al. 2005). Segundo estes autores a presença de infecção bacteriana estava associada com lesões mais graves.

O local de acometimento está relacionado, na maioria das vezes, com a área do corpo não coberta pela vestimenta. A presença de lesões na cabeça, pescoço e face, membros superiores, e porções distais dos membros inferiores é compatível com o desenvolvimento de lesões no local da picada do flebótomo, acreditando-se serem estas as áreas expostas ao inseto na maioria das pessoas. A presença de lesões em membros superiores e na cabeça foi observada com grande frequência em militares que se expuseram à infecção durante exercícios na floresta amazônica (Guerra et al. 2003). Na casuística do CRL-CPqRR, o único paciente que contraiu a LC durante exercício militar na Amazônia apresentava lesões na cabeça. Lesões em cabeça e face são observadas também em crianças muito pequenas, pelo uso de roupas e mantas que permitem a exposição apenas destas áreas (Oliveira-Neto 1998, Ampuero et al. 2006). Na casuística do CRL-CPqRR, as cinco crianças com idade até um ano apresentavam lesões na cabeça ou face, sendo que uma criança de sete meses apresentava cinco lesões não ulceradas nesta região do corpo.

Curiosamente, outras duas pessoas que provavelmente se contaminaram no mesmo local, uma mulher de 55 anos, auxiliar de enfermagem que exercia a atividade de babá da criança citada acima e uma mulher de 23 anos, tia desta criança, também apresentavam lesões não ulceradas.

Lesões não ulceradas, nodulares ou em placas foram observadas em outras duas pessoas que não tinham relações sociais com os casos descritos acima, mas que também adquiriram a LC concomitantemente, e provavelmente no mesmo município que os casos anteriores, Lagoa Santa – MG. Entre as cinco pessoas descritas, uma teve o agente etiológico da lesão classificado no subgênero *Viannia*.

Schriefer e colaboradores, estudando o polimorfismo genético da *L. (V.) braziliensis* na região de Corte de Pedra, estado da Bahia, encontraram associação estatisticamente significativa entre alguns agrupamentos dos isolados com as formas clínicas da LTA,

classificadas como localizadas, disseminadas ou mucosas (Schriefer et al. 2004). A associação entre espécies e cepas de *Leishmania* spp. com o quadro clínico foram observados também no Equador. Neste país foi demonstrada a presença de seis espécies de *Leishmania* spp., classificadas por técnicas de isoenzimas. Os isolados mostraram variados graus de polimorfismos, sendo que alguns zimodemas estavam associados a determinadas regiões e ao quadro clínico, como a forma mucosa associada a três zimodemas da *L. (V.) braziliensis* e a LC com lesões não ulceradas associada a um zimodema da *L. (L.) mexicana* (Calpovina et al. 2006).

Estes achados são compatíveis com a hipótese de que a variabilidade genética de uma espécie, determinante da sua infectividade, virulência e patogenicidade, exerce influência no quadro clínico.

Em pessoas infectadas pelo vírus HIV, com quadro de imunodeficiência, a infecção por *Leishmania* spp. pode evoluir para quadros clínicos diversos do que usualmente se observa em pessoas imunocompetentes (Alvar et al. 1997 e Da Cuz et al. 1999). Na co-infecção ocorrem casos de lesão cutânea causada por espécies de característica viscerotrópica, como a *L. (L.) chagasi* (Orsini et al. 2002) ou o contrário, disseminação para os órgãos internos de leishmanias de característica dermatotrópica (Pearson & Souza 1996). Na casuística do CRL-CPqRR os dois pacientes co-infectados apresentavam sinais e sintomas das duas formas clínicas, como visceromegalias, pancitopenia, febre e lesões cutâneas. Nestas lesões cutâneas foram encontradas leishmanias pelas técnicas de exame parasitológico, *imprint* ou aspirado. Mas a classificação destas espécies até o momento não foi determinada.

Múltiplas picadas infectantes dos flebótomos e a disseminação são as duas prováveis causas do surgimento de mais de uma lesão. Quando surgem ao mesmo tempo em áreas descobertas do corpo fazem pensar na primeira possibilidade, enquanto o surgimento de lesões um tempo depois da lesão inicial, em uma área coberta e apresentando característica clínica diferente, fazem pensar em disseminação.

O isolamento do parasito por cultivo do sangue de indivíduos portadores de LM (Martinez et al. 1992) e a detecção de material genético de *Leishmania* spp. pela PCR a partir do sangue de pessoas com LC (Pirmez et al. 1999, Coutinho et al. 2002) são evidências de disseminação pela via sangüínea. O fato de que o DNA é detectado em momentos diferentes da infecção, podendo não ser detectado em alguns momentos sugere uma flutuação desta disseminação (Delgado et al. 1996).

Na casuística do CRL-CPqRR, quando o paciente apresentava mais de uma lesão, a informação sobre o intervalo de tempo entre as lesões não pôde ser acessada. Nos casos de

pessoas com múltiplas lesões, a presença de tipos diferentes detectados em 31 pacientes (10%) e o acometimento de segmentos corporais não contíguos envolvendo áreas cobertas do corpo poderiam sugerir disseminação.

A disseminação pelo sistema linfático é aceita como mecanismo para o surgimento de novas lesões (Ministério da Saúde 2007). A demonstração do parasito nos linfonodos precedendo o aparecimento das lesões cutâneas sugere que esta disseminação ocorre nos estágios iniciais da infecção (Barral et al. 1995). Pessoa & Barreto em 1944 afirmavam que a adenopatia é muito freqüente, e quase sempre presente, sobretudo nas manifestações iniciais. Em alguns casos a adenopatia pode estar relacionada à infecção bacteriana secundária.

No estado da Bahia, numa área de transmissão da *L. (V.) braziliensis*, foi encontrada uma proporção de 66,7% casos com linfadenopatia (Barral et al. 1992). No Rio de Janeiro – RJ, que também é área de transmissão da *L. (V.) braziliensis*, entre 621 pacientes observados, a prevalência de linfadenopatia foi de 60,9% (Oliveira-Neto 1998). A prevalência de adenomegalia ao primeiro exame foi observada em 81,8% de 66 pessoas infectadas pela *L. (V.) braziliensis* e em 60,9% de 68 casos provocados pela *L. (V.) guyanensis* (Romero et al. 2001a). Estudando 358 casos de LTA no CRL-CPqRR, Passos faz referência a cinco pacientes classificados como pertencentes à forma “linfangítica” em comparação com as outras descrições das lesões (Passos 1998). Lucciola, estudando prontuários de 161 casos atendidos em Belo Horizonte – MG, não encontrou a anotação de linfadenopatia em nenhum destes prontuários (Lucciola 1994). Orsini, estudando casos de Minas Gerais, não relatou a presença de adenopatia (Orsini 1940).

O acometimento linfático foi observado em 33,2% dos casos do CRL-CPqRR. Embora tenham sido encontradas descrições detalhadas em alguns prontuários, não foi possível classificar o tipo de acometimento, como linfangite ou simples presença de gânglios enfartados próximos ou distantes da lesão. Além disto, foi elevado o número de casos ignorados (25%). O número reduzido de adenopatia no presente estudo e nas observações dos outros autores que avaliaram casos de Minas Gerais pode estar relacionado com o tempo de evolução e a possibilidade de ter ocorrido o desaparecimento do sinal clínico à época do exame.

Não foram utilizadas técnicas invasivas para detecção de parasitos nos linfonodos. Sua demonstração por punção aspirativa e cultivo ou por exame histopatológico (Oliveira-Neto 1998) são evidências do parasitismo, mas não são usados rotineiramente para o diagnóstico da LC.

5.3. Aspectos do diagnóstico laboratorial

Os exames de diagnóstico apresentaram positividade comparável às relatadas por outros centros. As diferenças na positividade de um ou outro exame dependem de fatores ligados à espécie infectante, à natureza genética do hospedeiro e às variações no uso de materiais e aplicação de técnicas.

A positividade de 82% da IDRM neste estudo foi aproximada ao observado no trabalho de Passos em 1998 (77,6%) estudando a casuística do mesmo serviço. Esta positividade é considerada baixa por Romero, que a compara com o que foi observado em outras áreas de transmissão da *L. (V.) braziliensis* (Romero 2001c). Em Três Braços – BA a positividade foi de 92,8% (Cuba et al. 1984), no Rio de Janeiro – RJ de 98,7% (Oliveira-Neto 1998). Em outras regiões de Minas Gerais a positividade foi variável, sendo de 89,1% em Virginópolis (Hermeto et al, 1994), 94% em Araçuaí (Gontijo et al. 2002) e 75,2% em Caratinga (Marques et al. 2006).

A IDRM é uma reação de hipersensibilidade do tipo IV, dependente de células de memória. O sistema imune celular do hospedeiro necessita de um tempo em contato com o parasito para desencadear o processo de reconhecimento e migração de células ao sítio de aplicação de antígenos na pele. Entretanto, neste estudo e no estudo de Passos, o tempo de evolução da doença não esteve associado à resposta do teste, dados discordantes do observado por outros autores (Cuba et al. 1984, Oliveira-Neto 1998). Para estes, lesões recentes, com tempo de evolução de até seis semanas estão associadas ao resultado negativo.

Deve ser levada em conta a existência de diferenças genéticas entre os hospedeiros e parasitos nas diferentes regiões, capazes de influenciar a resposta ao teste, bem como o tipo de antígeno empregado no teste. A positividade do teste em pessoas com pouco tempo de doença, observada nos casos atendidos no CRL, poderia estar associada a período de incubação maior, que seria responsável pelo contato mais prolongado do parasito com o sistema imune. Ou à exposição repetida do hospedeiro aos antígenos de *Leishmania* spp., por contatos freqüentes com o flebótomo infectado.

Entre os exames de demonstração do parasito, o exame microscópico em esfregaços de raspado ou imprint é o mais utilizado devido à facilidade de execução e ao baixo custo. A paucidade de parasitos na lesão, principalmente relacionada à infecção por *L. (V.) braziliensis*, resulta na baixa sensibilidade do exame (Shaw & Lainson 1987). Acredita-se que o maior tempo de evolução esteja relacionado com menor possibilidade de encontrar o parasito por esta técnica e por outras técnicas de detecção direta como cultivo e exame histopatológico

(Magalhães et al. 1986). A associação estatisticamente significativa entre o menor tempo de evolução e o achado do agente infeccioso nas lesões foi observada por alguns autores (Cuba et al. 1984 e Oliveira-Neto 1998). Entretanto, tal associação não foi encontrada por outros, que avaliaram os métodos de diagnóstico da LC em estudo prospectivo (Marques et al. 2006). Estes autores chamaram a atenção para o fato de no mesmo serviço de atendimento de LTA, localizado no município de Caratinga – MG, vale do rio Doce, a sensibilidade do *imprint* aumentou de 19,4% em 1979 para 62,8% nos dias atuais, devido provavelmente à melhoria da técnica de preparação do material e ao tempo em que o microscopista se dedica à procura do parasito.

A positividade do *imprint* encontrada na casuística do CRL foi de 68%. Também não houve relação entre o tempo de doença e a positividade do *imprint*.

O exame de aspirado e cultivo de material obtido da lesão apresenta-se como uma alternativa menos invasiva de diagnóstico parasitológico. A punção resulta em menor traumatismo e é aplicável nos casos de lesões na face ou necessidade de procedimento em crianças pequenas. A positividade do aspirado observada neste estudo foi de 63%. Em estudo preliminar no CRL, o exame mostrou a mesma positividade de 63% (29 entre 46) sendo que 52% dos casos foram positivos até o sétimo dia de cultivo e o restante, até o décimo quarto (Luz et al. 2004). O tempo entre o procedimento e o diagnóstico é uma vantagem deste método de isolamento e cultivo. Em outra região de transmissão da *L. (V.) braziliensis*, a positividade do método foi de 43% (Romero et al. 2001a). A contaminação do meio de cultivo por bactérias e fungos contribui para parte de resultados negativos.

O exame histopatológico da pele é uma ferramenta importante para o diagnóstico da LC. O achado de parasitos em cortes histológicos corados pela HE é variável, indo de 39,6% entre 201 preparações (Oliveira-Neto 1998) a 63,7% entre 378 (Magalhães et al. 1986). Quando não se visualiza o parasito, a imagem histológica da LC é de uma inflamação crônica, não específica, com ou sem presença de granulomas.

A reação tissular consiste em infiltração mais ou menos intensa e de extensão variável, constituída de elementos histiocitários, plasmócitos e linfócitos (Pessoa & Barreto 1944). A proporção destas células varia, podendo ser predominante a presença de infiltrado formado por apenas dois tipos celulares. A presença de células inflamatórias é importante, levando Bittencourt & Barral a afirmarem que se o material da biópsia da LC apresentar pouca ou nenhuma célula inflamatória, deve-se considerar que o procedimento não foi feito corretamente.

A classificação histológica não se associa com o prognóstico. Estudando biópsias feitas em diferentes áreas da mesma lesão, e classificando o quadro histológico em três padrões diferentes, os autores citados acima observaram que a mesma lesão pode apresentar dois padrões simultaneamente. Estes padrões foram assim classificados: a) infiltrado inflamatório de células plasmáticas, linfócitos e macrófagos, na ausência de células epitelióides e de células gigantes; b) ocorrência de células epitelióides e de células gigantes distribuídas aleatoriamente, associadas a um infiltrado inflamatório e c) presença de granulomas bem circunscritos com células epitelióides e células gigantes, associadas ou não aos outros dois padrões (Bittencourt & Barral 1991).

Os resultados de exames histológicos da casuística do CRL não puderam ser comparados, devido à ausência de padronização da coleta do material e descrições dos laudos feitos por diferentes patologistas. O exame é importante no auxílio ao diagnóstico, confirmando a infecção em 30%, pelo encontro do parasito ou somando informações que levaram à decisão para o tratamento específico da LC, mesmo que por este método ou outro, a demonstração do parasito não fosse possível.

O valor da PCR no diagnóstico da LTA está na elevada sensibilidade e na possibilidade de caracterização da espécie infectante, que contribui na decisão terapêutica, avaliação prognóstica e fornece dados para estudos epidemiológicos (Rodrigues et al. 1994). Para alguns autores é considerado o método de primeira escolha (Schwartz et al. 2006). Utilizando fragmentos de biópsias, a sensibilidade do método variou de 94 a 100% em diferentes estudos (Pirmez et al. 1999, De Oliveira et al. 2003, Marques et al. 2006). A positividade de 82% da PCR dos raspados de lâminas na casuística do CRL-CPqRR foi menor do que a relatada por tais autores. A má qualidade do DNA presente na amostra clínica (raspados de lâminas armazenadas) poderia explicar parte dos resultados negativos. Além disto, as verificações de quatro lâminas positivas no *imprint* e negativas na PCR chamam a atenção para possíveis problemas relacionados com o método, como a presença de inibidores da reação na amostra ou a possibilidade de que o material raspado não contivesse as formas amastigotas ou seus fragmentos.

Por outro lado, a positividade da PCR de 56% entre as 48 lâminas que tiveram resultado negativo no *imprint* demonstra a vantagem do método de detecção de DNA sobre o exame microscópico, onde muitas vezes não é possível visualizar as formas características das amastigotas, com seu cinetoplasto.

A decisão pela prescrição do Glucantime[®] para duas pessoas com suspeita clínica de infecção por *Leishmania* spp., cujo único exame de diagnóstico positivo foi a PCR demonstra

sua utilidade nos casos onde os métodos convencionais falham. Fato semelhante foi observado também no diagnóstico da leishmaniose visceral (Disch 2003).

A análise dos resultados dos exames, de maneira geral, orienta para a necessidade de dispor de vários métodos, escolhendo a ordem de utilização de cada um de acordo com a circunstância clínica e logística (incluindo o custo). A confirmação diagnóstica por exame de detecção direta do parasito ou do seu material genético deve ser perseguida para maior segurança do clínico que prescreve um medicamento de elevada toxidez.

A classificação etiológica da LC tem importância epidemiológica, terapêutica e prognóstica. O isolamento do parasito em meio de cultivo permite a classificação por técnica de isoenzimas, considerada o padrão ouro para a taxonomia de *Leishmania* spp. (Tojal et al. 2006), pelo uso de anticorpos monoclonais ou por técnicas moleculares.

A RFLP representa uma alternativa promissora para a classificação etiológica sem a necessidade de isolamento em meio de cultivo (Volpini et al. 2004, Tojal et al. 2006). A porcentagem de 16% de resultado não conclusivo na RFLP pode ser atribuída à fatores de padronização da técnica e à possibilidade de polimorfismos em sítios de restrição das espécies encontradas. A classificação de 95 espécies a partir do material raspado de lâminas confirma a prevalência da *Leishmania* do subgênero *Viannia* na casuística do CRL-CPqRR, e por extensão, a provável prevalência da *L. (V.) braziliensis* na RMBH. Excetuando os pacientes que relataram viagem para os estados do Norte e Nordeste, é mais provável que todas as espécies classificadas como *Viannia* sejam a *L. (V.) braziliensis*. A presença da *L. (L.) amazonensis* (considerando que as espécies classificadas no subgênero *Leishmania* sejam a *L. (L.) amazonensis*) em menor proporção está de acordo com o que foi encontrado por outros autores, estudando a mesma região (Passos et al. 1999). O pequeno número de casos encontrados não permitiu comparações, mas a descrição destes casos (anexo2) revela quadros benignos da LC causada por esta espécie.

5.4. Aspectos do tratamento

Para o Ministério da Saúde brasileiro, o critério de cura é definido pela epitelização das lesões ulceradas e regressão total da infiltração e eritema, até três meses após a conclusão do esquema terapêutico. Com o interesse em conhecer na região do estudo, a resposta ao esquema de tratamento proposto pelo Ministério da Saúde, realizou-se o detalhamento de análise de eficácia terapêutica, tendo como foco os pacientes para os quais foi prescrito Glucantime[®], no esquema de 20 dias consecutivos. Entre os fatores que limitaram a análise, o

mais expressivo foi o número de pacientes perdidos de seguimento após o término da medicação. Assim, a taxa de cura com um ciclo da medicação e a frequência de recidiva poderiam ser diferentes das que foram observadas, considerando a possibilidade de alguns pacientes terem procurado outro serviço, em caso de ausência de melhora ou recidiva após a cura clínica.

Outro fator identificado no presente estudo, foi a prescrição de novo curso de antimoniato de meglumina antes de 90 dias ocorrida em 71,9% dos 32 pacientes que receberam mais de um ciclo para completar a cura. A indicação de novo ciclo de medicamento foi mais freqüente entre pacientes que apresentavam lesões de dimensões maiores. A lentidão do processo de cicatrização e a ausência de determinantes prognósticos definidos podem ter contribuído para a repetição da medicação antes do período recomendado. Para pacientes com lesões extensas, processo de cicatrização lento, história de efeitos adversos leves ou inexistentes é possível que o médico assistente julgasse conveniente prescrever novo ciclo do Glucantime[®] com intenção de completar mais rapidamente a cura. Na prática clínica, os diversos serviços têm adotado protocolos diferentes, de acordo com a experiência do grupo, muitas vezes com bases empíricas. É o caso dos esquemas terapêuticos de antimoniato de meglumina por 10 dias, com alternância de intervalos de 10 dias, usados até a re-epitelização completa da lesão (Mayrink, comunicação pessoal, Azeredo Coutinho & Mendonça 2002) ou a opção por doses mais baixas de antimônio, também com uso da medicação por vários ciclos, até a re-epiteização (Mattos 2004).

Procurando determinar os parâmetros clínicos e prognósticos para o controle de cura da LC, Mattos concluiu que a completa epitelização da lesão imediatamente ao final do tratamento é o principal fator prognóstico para a cura, aumentando em 21 vezes o potencial de curar no intervalo de um mês (Mattos 2004).

É possível que a definição de cura da LC entre os pacientes tratados no CRL-CPqRR tenha sofrido interpretações diferentes entre os cinco médicos responsáveis pelo atendimento no período do estudo. Este fato poderia estar relacionado à necessidade de tempo maior de observação no caso de se utilizar maior rigor para definir a cura. Por outro lado, um paciente poderia ser considerado curado precocemente quando não se levasse em conta a presença de infiltração, eritema ou descamação.

5.4.1. Efeitos adversos

Apesar da presença de pelo menos um efeito adverso ao Glucantime[®] em 44,6% dos pacientes, apenas 5,3% interromperam a medicação, sendo que todos, exceto um, receberam a medicação por mais de quinze dias. Estas observações sugerem razoável tolerabilidade do medicamento por parte dos pacientes atendidos no CRL-CPqRR. Entre os efeitos adversos relatados, a maior frequência de artralgia e mialgia está de acordo com o que foi encontrado por outros autores (Bermam 1996, Paula et al. 2003).

A ocorrência de intercorrências graves durante o tratamento, como os casos de IAM e de AVC, possivelmente relacionados com o uso de Glucantime[®], chama a atenção para a necessidade de monitoramento mais a miúdo dos pacientes de maior risco para estes eventos (doença cardíaca pré-existente, idade avançada, uso concomitante de medicação cardiotóxica). A toxidez do Glucantime[®] para o coração é conhecida (Herwaldt & Bermam 1992, Ribeiro et al. 1999). Alterações graves e potencialmente fatais são observadas também em crianças sem doença cardíaca prévia (Baranwal et al. 2005). Eventualmente são relatados casos de óbito relacionados a esta toxidez (Oliveira et al. 2005, Lima et al. 2006). O aumento do intervalo QT corrigido e a assunção de forma côncava do segmento ST no eletrocardiograma são alterações reconhecidas como associadas ao evento cardiovascular e morte (Chulay et al. 1985, Ministério da Saúde 2007).

A observação de que pessoas mais velhas receberam doses menores de Glucantime[®] sugere que a opção se deveu ao risco conhecido do uso de doses plenas para estas pessoas,

5.5. Aspectos evolutivos

A evolução para cura espontânea foi observada em dois pacientes incluídos no estudo. Estes casos demonstram que a infecção por *Leishmania* spp. pode resultar em quadros benignos. Relatando a cura espontânea em 16 pessoas numa área de transmissão da *L. (V.) braziliensis*, Costa e colaboradores observaram tempo de cicatrização de até seis meses em 40,9% e de até 12 meses em 86,3%. Chamaram a atenção para a possibilidade da ocorrência de cura espontânea ser maior, levando em conta o fato de pacientes que evoluem para cura rápida não procurarem atenção médica (Costa et al. 1990). Um estudo da resposta imune em 10 pessoas que evoluíram rapidamente para a cura espontânea (em menos de três meses) mostrou forte resposta do sistema imune celular a antígenos de *Leishmania* spp., medidos pelo

tamanho da enduração da IDRMM, teste de proliferação de linfócitos e produção de IFN- γ , que foram maiores do que entre pessoas com LC ativa (Carvalho et al. 1995).

Entre as pessoas tratadas com Glucantime[®] durante 20 dias, a análise dos resultados mostra a eficácia da medicação para a maioria dos pacientes tratados.

A observação de que a taxa de cura foi independente da dose de Glucantime[®] remete para a necessidade de se definir a melhor dose de para os pacientes atendidos no CRL-CPqRR. Embora poucas pessoas (apenas 21) tivessem usado dose menor do que 10 mg/Kg, a ausência de diferença entre estes e os que receberam doses maiores no que diz respeito à evolução após tratamento sugere a possibilidade de que na região do estudo, doses menores do que as recomendadas pelo Ministério da Saúde poderiam ser úteis para o tratamento da LC.

A eficácia da dose de 5 mg/Kg para o tratamento da LC no Rio de Janeiro foi comprovada em estudo de longo tempo de acompanhamento (Oliveira-Neto et al. 1997). Esquema de dose baixa também foi usado em 22 pessoas que contraíram a LC durante treinamento militar no estado de Pernambuco, área de ocorrência da *L. (L.) braziliensis*. Todos os pacientes curaram após receber 20 dias de Glucantime[®] na dose de uma ampola por dia (Andrade et al. 2005).

6. CONCLUSÕES

- 6.1. A maior parte dos pacientes atendidos no CRL-CPqRR no período é oriunda da RMBH, onde ocorre a transmissão da *L. (V.) braziliensis* e da *L. (L.) amazonensis*.
- 6.2. Verificou-se maior proporção de homens em idade produtiva. O grupo estudado tem cor parda, baixa escolaridade e baixa renda.
- 6.3. A apresentação clínica mais comum da LC na casuística do CRL-CPqRR no período do estudo foi a lesão ulcerada, única, acometendo os membros inferiores.
- 6.4. A IDR e a PCR foram os métodos de diagnóstico laboratorial que apresentaram maior positividade, seguidos do imprint, do aspirado e do exame histopatológico. A combinação de vários métodos permitiu a definição diagnóstica em 77% dos casos.
- 6.5. A espécie mais prevalente na casuística do CRL-CPqRR no período do estudo, detectada pela PCR-RFLP, foi a *L. (V.) braziliensis*.
- 6.6. O antimonial de meglumina apresentou boa eficácia e razoável tolerabilidade.
- 6.7. A maior parte dos pacientes portadores de LC, tratados no CRL-CPqRR no período do estudo, evoluiu para cura após um ciclo de medicamento.
- 6.8. São necessários estudos prospectivos para definição da melhor dose do antimônio para o tratamento da LC na RMBH.

7. BIBLIOGRAFIA

Alexander B, Oliveria E.B, Haigh E., Almeida L.L. **Transmission of Leishmania in Coffee Plantations of Minas Gerais, Brazil.** *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 97(5):627-30. 2002.

Alvar J., Canavate C., Gutierrez-Solar B., Jimenez M., Laguna F., Lopez-Velez R., Molina R., Moreno J. **Leishmania and Human Immunodeficiency Virus Coinfection: the First 10 Years.** *Clin Microbiol Rev.* 10(2):298-319. 1997.

Amato V.S., Rabello A., Rotondo-Silva A., Kono A., Maldonado T.P., Alves I.C., Floeter-Winter L.M., Neto V.A., Shikanai-Yasuda M.A. **Successful Treatment of Cutaneous Leishmaniasis With Lipid Formulations of Amphotericin B in Two Immunocompromised Patients.** *Acta Trop;* 92(2):127-32, 2004.

Ampuero J., Urdaneta M., Macedo V.de O. **Risk Factors for Cutaneous Leishmaniasis Transmission in Children Aged 0 to 5 Years in an Endemic Area of Leishmania (Viannia) braziliensis** *Cad Saude Publica,* 21(1):161-70. 2005.

Ampuero J., Macedo V., Marsden P. **Clinical findings of Tegumentary Leishmaniasis in Children Under Five Years of Age in an Endemic Area of Leishmania (Viannia) braziliensis** *Rev Soc Bras Med Trop.* 39(1):22-6. 2006.

Andrade MS, Brito ME, Silva ST, Lima BS, Almeida EL, Albuquerque EL, Marinho Junior JF, Ishikawa E, Cupolillo E, Brandao-Filho SP. **American Tegumentary Leishmaniasis Caused by Leishmania (Viannia) braziliensis in Military Training Area of Zona da Mata in Pernambuco** *Rev Soc Bras Med Trop.* 38(3):229-33. 2005.

Ashford R.W. **The Leishmaniasis as Emerging and Reemerging Zoonosis.** *Int J. parasitol;* 30:1269-81, 2000.

Aviles H., Belli A., Armijos R., Monroy F.P., Harris E., **PCR Detection and Identification of Leishmania Parasites in Clinical Specimens in Ecuador: a Comparison With Classical Diagnostic Methods.** *J Parasitol;* 85: 181–187, 1999.

Azeredo-Coutinho, R.B.G. & Mendonça, S.C.F. **An Intermittent Schedule is Better Than Continuous Regimen of Antimonial Therapy for Cutaneous Leishmaniasis in the Municipality of Rio de Janeiro, Brazil.** *Rev. Soc. Bra. Med. Trop*; 35 (5): 477-481, 2002

Azeredo-Coutinho R.B.G, Conceição-Silva F., Schubach A., Cupolillo E., Quintella L.P., Madeirae M.F., Pacheco R.S., Valete-Rosalino C.M., Mendonça S.C.F. **First Report of Diffuse Cutaneous Leishmaniasis and Leishmania amazonensis Infection in Rio de Janeiro State, Brazil.** *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 101: 735-37, 2007.

Baranwal A.K., Mandal R.N., Singh R., Singhi S.C. **Sodium Stibogluconate and Polymorphic Pentricular Tachycardia.** *Indian J Pediatr.* 72(3):269. 2005 .

Barral A, Pedral-Sampaio D, Grimaldi Junior G, Momen H, McMahon-Pratt D, Ribeiro de Jesus A, Almeida R, Badaro R, Barral-Netto M, Carvalho EM, et al. **Leishmaniasis in Bahia, Brazil: Evidence that Leishmania amazonensis Produces a Wide Spectrum of Clinical Disease.** *Am J Trop Med Hyg.* 44(5):536-46. 1991.

Barral A., Barral-Netto M., Almeida R., De Jesus A.R., Grimaldi Jr G., Netto E.M., Santos I., Bacellar O. Aand Carvalho E.M. **Lymphadenopathy Associated with Leishmania braziliensis Cutaneous Infection** *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 47(5): 587-592. 1992.

Barral A, Guerreiro J, Bomfim G, Correia D, Barral-Netto M, Carvalho EM. **Lymphadenopathy as the First sign of Human Cutaneous Infection by Leishmania braziliensis.** *Am J Trop Med Hyg.* 53(3):256-9, 1995.

Barret, T.V. & Senra, M.S. **Leishmaniasis in Manaus, Brazil.** *Parasitology Today*; 5 (8):255-7, 1989.

Bates I., Fenton C., Gruber J., Laloo D., Lara A. M., Squire S.B., Theobald S., Thomson R., and Tolhurst R. **Vulnerability to Malaria, Tuberculosis, and HIV/AIDS Infection and Disease. Part 1: Determinants Operating at Individual and Household Level.** *Lancet Infect. Dis.* 4: 267-77, 2004.

Bates I., Fenton C., Gruber J., Lalloo D., Lara A. M., Squire S.B., Theobald S., Thomson R., and Tolhurst R. **Vulnerability to Malaria, Tuberculosis, and HIV/AIDS Infection and Disease. Part II: Determinants Operating at Environmental and Institutional level.** *Lancet Infect. Dis.* 4: 368-75, 2004.

Berman JD. **Chemotherapy for Leishmaniasis: Biochemical Mechanisms, Clinical Efficacy and Future Strategies.** *Reviews of Infectious Diseases*; 10: 560-586, 1988.

Berman JD. **Human Leishmaniasis: Clinical, Diagnostic, and Chemotherapeutic Developments in The Last 10 Years.** *Clin Infect. Dis*; 24:684-703, 1997.

Bittencourt AL, Barral A. **Evaluation of the Histopathological Classifications of American Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis.** *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 86(1):51-6. 1991.

Blum J., Desjeux P., Schwartz E., Beck B. and Hatz C. **Treatment of Cutaneous Leishmaniasis Among Travellers** *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*; 53: 158–166. 2004.

Bogdan C., Donhauser N., Doring R., Rollinghoff M., Diefenbach A., Rittig G.M. **Fibroblasts as Host Cells in Latent Leishmaniosis.** *J Exp Med*; 191:2121-30, 2000.

Calvopina M., Armijos R.X., Marco J.D, Uezato H., Kato H., Gómez E. A., Korenaga M. , Barroso P.A., Mimori T., Cooper P.J., Nonaka S. and Hashiguchi Y. **Leishmania Isoenzyme Polymorphisms in Ecuador: Relationships With Geographic Distribution and Clinical Presentation.** *BMC Infectious Diseases*, 6:139, 2006

Carvalho E. M., Barral A., Costa J. M., Bittencourt A., and Marsden P. **Clinical and Immunopathological Aspects of Disseminated Cutaneous Leishmaniasis.** *Acta Trop*; 56:315–325, 1994.

Carvalho E.M, Correia Filho D., Bacellar O., Almeida R.P., Lessa H., Rocha H. **Characterization of the Immune response in Subjects With Self-healing Cutaneous Leishmaniasis.** *Am J Trop Med Hyg.* 53(3):273-7. 1995.

Carvalho M. de L., de Andrade A.S., Fontes C.J., Hueb M., de Oliveira Silva S., Melo M.N. **Leishmania (Viannia) braziliensis is the Prevalent Species Infecting Patients With Tegumentary Leishmaniasis From Mato Grosso State, Brazil.** *Acta Trop.* 98(3):277-85. 2006.

Chang K.P. & McGwire B.S. **Molecular Determinants and Regulation of Leishmania Virulence** *Kinetoplastid Biology and Disease*; 1(1):1-7, 2002.

Chulay J.D., Spencer H.C., Mugambi M. **Electrocardiographic Changes During Treatment of Leishmaniasis With Pentavalent Antimony (Sodium Stibogluconate).** *Am J Trop Med Hyg.* 34(4):702-9. 1985

Convit J. **Leishmaniasis: Immunological and Clinical Aspects and Vaccines in Venezuela.** *Clinics in Dermatology.* 14:479-87. 1996

Correia D., Macedo V.O., Carvalho E.M., Barral A., Magalhães A.V., Abreu N.V.A., Orge M.G.O., Marsden P. **Estudo Comparativo entre Antimoniato de Meglumina, Isotionato de Pentamidina e Sulfato de Aminosidine no Tratamento de Lesões Cutâneas Primárias Causadas por Leishmania (Viannia) braziliensis.** *Rev. Soc. Bra. Med. Trop*; 29(5):447-453, 1996.

Costa J.M. Vale K.C., Franca F., Saldanha A.C., da Silva J.O., Lago E.L., Marsden P.D., Magalhaes A.V., e Silva C.M., Serra Neto A. and Galvão C. E. S. **Spontaneous Healing of Leishmaniasis Caused by Leishmania Viannia Braziliensis in Cutaneous Lesions** *Rev Soc Bras Med Trop.* 23(4):205-8. 1990.

Coutinho S.G., Pirmez C., Da-Cruz A.M. **Parasitological and Immunological Follow-up of American Tegumentary Leishmaniasis Patients.** *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 96 Suppl 1:173-8. 2002.

Croft S.L. & Coombs G.H. **Leishmaniasis— Current Chemotherapy and Recent Advances in the Search For Novel Drugs** *Trends in Parasitology*; 19(11):502-508, 2003.

Cuba C. C., Llanos-Cuentas E. A., Barreto A.C., Magalhães A. B., Lago E., Reed S. G. and Marsden P.D. **Human Mucocutaneous Leishmaniasis in Três Braços, Bahia, Brazil. An Area of *Leishmania braziliensis braziliensis* Transmission I Laboratory Diagnosis.** *Rev Soc Bras Med Trop.* 17:161-67. 1984

Da-Cruz AM, Filgueiras DV, Coutinho Z, Mayrink W, Grimaldi G Jr, De Luca PM, Mendonca SC, Coutinho SG. **Atypical Mucocutaneous Leishmaniasis Caused by *Leishmania braziliensis* in an Acquired Immunodeficiency Syndrome Patient: T-Cell Responses and Remission of Lesions Associated With Antigen Immunotherapy.** *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 94(4):537-42. 1999.

De Andrade A.S., Gomes R.F., Fernandes O., de Melo M.N. **Use of DNA-based Diagnostic Methods for Human Leishmaniasis in Minas Gerais, Brazil.** *Acta Trop;* 30;78(3):261-7. 2001.

De Castro E.A., Soccol V.T., Membrive N., Luz E. **Epidemiological and Clinical Study of 332 Cases of Cutaneous Leishmaniasis in the North of Paraná State From 1993 to 1998.** *Rev Soc Bras Med Trop;* 35(5):445-52. 2002.

De Oliveira C.I., Báfica A., Oliveira F., Favali C.B., Correa T., Freitas L.A., Nascimento E., Costa J.M., Barral A. **Clinical utility of Polymerase Chain Reaction-based Detection of *Leishmania* in the Diagnosis of American Cutaneous Leishmaniasis.** *Clin Infect Dis.* 1;37(11):e149-53. 2003

Delgado O, Guevara P, Silva S, Belfort E, Ramirez JL. **Follow-up of a Human Accidental Infection by *Leishmania (Viannia) Braziliensis* Using Conventional Immunologic Techniques and Polymerase Chain Reaction.** *Am J Trop Med Hyg.* 55(3):267-72. 1996

Desjeux P. **Leishmaniasis: Current Situation and New Perspectives.** *Comp Immunol Microbiol Infect Dis;* 5:305-18, 2004

Disch J. **Detecção de DNA de *Leishmania* spp. em Sangue Periférico para o Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Humana.** Tese. Fundação Oswaldo Cruz. Belo Horizonte – MG. 2003.

Disch J., Pedras M.J., Orsini M., Pirmez C., de Oliveira M.C., Castro M., Rabello A. **Leishmania (Viannia) Subgenus kDNA Amplification for the Diagnosis of Mucosal leishmaniasis.** *Diagn Microbiol Infect Dis.* 51(3):185-90. 2005.

Follador I., Araujo C., Bacellar O., Araujo C.B., Carvalho L.P., Almeida R.P., Carvalho E.M. **Epidemiologic and Immunologic Findings for the Subclinical Form of Leishmania braziliensis Infection.** *Clin Infect Dis.* 1; 34(11):54-8, 2002.

Fontes C.O., Carvalho M.A.R., Nicoli J.R., Hamdan J.S., Mayrink W., Genaro O., Carmo O.L. and Farias L.M. **Identification and Antimicrobial Susceptibility of Micro-organisms Recovered From Cutaneous Lesions of Human American Tegumentary Leishmaniasis in Minas Gerais, Brazil.** *Journal of Medical Microbiology.* 54, 1071–76. 2005

Ghalib HW, Eltoun EA, Kroon CC, el Hassan AM. **Identification of Leishmania From Mucosal Leishmaniasis by Recombinant DNA Probes.** *Trans R Soc Trop Med Hyg.*;86(2):158-60. 1992.

Gontijo C.F.M., Raquel S Pacheco R.S, Oréfica f., Lasmar E., Silva E.S., Melo M.N. **Concurrent Cutaneous, Visceral and Ocular Leishmaniasis Caused by Leishmania (Viannia) braziliensis in a Kidney Transplant Patient** *Mem Inst Oswaldo Cruz*; 97(5): 751-753, 2002.

Gontijo, C.M.F, da Silva E.S. , de Fuccio M.B. , de Sousa M.C.A., Pacheco R.S., Dias E.S., Andrade Filho J.D., Brazil R.P., Melo M.N. **Epidemiological Studies of an Outbreak of Cutaneous Leishmaniasis in the Rio Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, Brazil.** *Acta Tropica*; 81:143–150, 2002.

Gontijo B., de Carvalho M.de L. **American Cutaneous Leishmaniasis** *Rev Soc Bras Med Trop.* 36(1):71-80. 2003.

Grimald Jr, G. **Leishmanioses Tegumentares: Aspectos Clínicos e Imunopatológicos.** *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 77(2):195-215, 1982.

Grimaldi Jr. G. Momen H, Naiff RD, McMahon-Pratt D, Barrett TV. **Characterization and Classification of Leishmanial Parasites From Humans, Wild Mammals, and Sand Flies in the Amazon Region of Brazil.** *Am J Trop Med Hyg.* 44(6):645-61. 1991

Grimaldi Jr. G. & Tesh, R.B. **Leishmaniasis of the New World: Current Concepts and Implications for Future Research.** *Clinical Microbiological Review*; 6: 230-250, 1993.

Guerra J.A.O., Talhari S., Paes M.G. **Aspectos Clínicos e Diagnósticos da Leishmaniose Tegumentar Americana em Militares Simultaneamente Expostos à Infecção na Amazônia.** *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*; 36(5):587-90, 2003.

Hermeto M.V., Vieira-Dias D. Genaro O., Rotondo-Silva A., Costa C.A., Toledo V.P.C.P., Michalick M.S. Willians P., Mayrink W. **Outbreak of Cutaneous Leishmaniasis in the Rio Doce Valley, Minas Gerais, Brazil.** *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*; 89(4):519-21, 1994.

Herwaldt B.L. & Bermam J.D. **Recommendations for treating Leishmaniasis With Sodium Stibogluconate (Pentostam) and Review of Pertinent Clinical Studies.** *Am. J. Trop. Med. Hyg*; 46(3):296-306, 1992.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico 2002.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Síntese de Indicadores Sociais 2002**

<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/12062003indic2002.shtm>

José F.F., da Silva I.M., Araújo M.I., Almeida R.P., Bacellar O., Carvalho E.M.. **Evaluation of the Sensitization Power of Montenegro Skin Test** *Rev Soc Bras Med Trop.*;34(6):537-42. 2001.

Kar, K. **Serodiagnosis of leishmaniasis.** *Crit. Rev. Microbiol*; 21:123–152,1995.

Lainson & Shaw **Epidemiology and Ecology of Leishmaniasis in Latin-America** *Nature* 273: 595-600. 1978

Lima M.V.N., Oliveira R.Z., Lima A.P., Cerino D.A.C. Silveira T.G.V. **Leishmaniose Cutânea com Desfecho Fatal Durante Tratamento com Antimonial Pentavalente.** *An Bras Dermatol.* 82(3):269-71. 2007

Llanos-Cuentas E. A., Marsden P.D., Lago E. L., Barreto A.C., Cuba C. C. and Johnson W. D. **Human Mucocutaneous Leishmaniasis in Três Braços, Bahia, Brazil. An Area of Leishmania Braziliensis Braziliensis Transmission II. Cutaneous Disease. Presentation and Evolution.** *Rev Soc Bras Med Trop.* 17:169-77. 1984

Lucciola G.V. **Aspectos Clínicos e Epidemiológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana em Belo Horizonte: Análise de Prontuários Médicos de Hospitais no Período de 1987 a 1991.** Dissertação de Mestrado. UFMG, Belo Horizonte. 1994.

Luz Z. M. P., Pimenta D.N., Cabral A.L., Fiuza V.O., Rabello A. **Leishmaniasis Urbanization and Low Diagnosis Capacity in the Metropolitan Region of Belo Horizonte** *Rev Soc Bras Med Trop;* 34(3):249-54, 2001.

Luz, Z. M. P., Silva, A. R., Maciel, F., Santos, M. R. M., Rabello, A. **Positividade de Cultivo de Aspirado de Lesão para Diagnóstico de Leishmaniose Cutânea .** *Anais da XX Reunião Anual de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas e VII de Leishmanioses.* , 2004. p.20 - 20

Machado-Coelho G.L.L., Caiaffa W.T., Genaro O., Magalhães P.A., Mayrink W. **Risk Factors for Mucosal Manifestation of American Cutaneous Leishmaniasis** *Trans Royal Soc Trop Med Hyg;* 99: 55—61, 2005.

Machado-Pinto J, Pinto J, da Costa CA, Genaro O, Marques MJ, Modabber F, Mayrink W. **Immunochemotherapy for Cutaneous Leishmaniasis: a Controlled Trial Using killed Leishmania (Leishmania) amazonensis Vaccine Plus Antimonial.** *Int J Dermatol;* 41(2):73-8. 2002.

Magalhães A.V., Moraes M.A.P., Raick A. N., Llanos-cuentas A., Costa J.M.L., Cuba C.C., Marsden P.D. **Histopatologia da Leishmaniose Tegumentar por Leishmania braziliensis braziliensis. 1. Padrões Histopatológicos e Estudo Evolutivo das Lesões.** *Rev. Inst. Méd. Trop. São Paulo;* 28(4):253-262. 1986.

Marques M.J, Volpini A.C., Genaro O., Mayrink W., Romanha A.J. **Simple Form of Clinical Sample Preservation and Leishmania DNA Extraction From Human Lesions for Diagnosis of American Cutaneous Leishmaniasis Via Polymerase Chain Reaction.** *Am J Trop Med Hyg;* 65:902– 906. 2001

Marques M.J, Volpini A.C., Machado-Coelho G.L.L, Machado-Pinto J., C.A Costa, Mayrink W., Genaro O., Romanha A.J., **Comparison of Polymerase Chain Reaction With Other Laboratory Methods for the Diagnosis of American Cutaneous Leishmaniasis: Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis by Polymerase Chain reaction.** *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*; 54(1):37-43, 2006.

Marsden P.D. **Mucosal leishmaniasis ("espundia" Escomel, 1911).** *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 80(6):859-76. 1986

Martinez JE, Alba, Arias L, Escobar MA, Saravia NG. **Haemoculture of Leishmania (Viannia) braziliensis From Two Cases of Mucosal Leishmaniasis: Re-examination of Haematogenous Dissemination.** *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 86(4):392-4, 1992.

Marzochi M.C.A. & Marzochi K.B.F. **Tegumentary and Visceral Leishmaniasis in Brazil- Emerging Anthroponosis and Possibilities for Their Control.** *Cad. Saúde Públ*;10 (supl 2):359-75, 1994 .

Mattos M.S., Friedman R.K., Filho I.L.S., Oliveira-neto M.P. **Pancreatite: Um dos Efeitos Adversos da Terapia Antimonial na Leishmaniose.** *An Bras Dermatol*; 75(1):45-50, 2000.

Mattos M. S. **Determinação de Parâmetros Clínicos e Prognósticos Para o Controle de Cura da Leishmaniose Tegumentar Americana.** Tese. Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. 2004.

Mayrink W., Williams P., Coelho M.V., Dias M., Martins A.V., Magalhães P.A., da Costa C.A., Falcão A.R., Melo M.N., Falcão A.L. **Epidemiology of Dermal Leishmaniasis in the Rio Doce Valley, State of Minas Gerais, Brazil.** *Ann. Trop. Med. Parasitol*; 73: 123–137, 1979.

Mayrink W., Magalhães P.A., Michalick M.S.M., Da Costa C.A., Lima A.O., Melo M.N., Toledo V.P.C.P., Nascimento E., Dias M., Genaro O., Hermeto M.V., Williams P. **Immunotherapy As A Treatment of Cutaneous Leishmaniasis: Preliminary Studies in Brazil.** *Parassitologia*; 34:159-165, 1992.

Ministério da Saúde do Brasil. Secretaria de vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. 2007 a

Ministério da Saúde do Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Leishmaniose Tegumentar Americana** 2007 b

http://portal.saude.gov.br/portal/svs/visualizar_texto.cfm?idtxt=21918

Ministério da Saúde do Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Recomendações para Diagnóstico, Tratamento e Acompanhamento da Co-infecção Leishmania-HIV**. 2004

Navin T.R., Arana B.A., Arana F.E., Mérida A.M., Castilh A.L., Pozuelos J.L. **Placebo Controlled Clinical Trial of Meglumine antimoniate (Glucantime) VS. Localized Controlled Heat in the Treatment of Cutaneous Leishmaniasis in Guatemala**. *Am J Trop Med Hyg*; 42(1):43-50, 1990.

Oliveira M.C., Amorim R.F.B., Freitas R.A., Costa A.L.L. **Óbito em Caso de Leishmaniose Cutâneomucosa Após o Uso de Antimonial Pentavalente** *Rev Soc Bras Med Trop*; 38(3):258-260, 2005.

Oliveira-Neto MP, Pirmez C, Rangel E, Schubach A, Grimaldi Júnior G. **An Outbreak of American Cutaneous Leishmaniasis (*Leishmania braziliensis braziliensis*) in a Periurban Area of Rio de Janeiro city, Brazil: Clinical and Epidemiological Studies**. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 83(4):427-35, 1988

Oliveira-Neto M.P., Schubach A., Mattos M., Gonçalves-Costa S.C., Pirmez C. **A. Low-dose Antimony Treatment in 159 Patients With American Cutaneous Leishmaniasis: Extensise Follow-up Studies (up to 10 years)** *Am. J. Trop. Med. Hyg*; 57(6):651-655, 1997.

Oliveira-Neto M.P. **Leishmaniose Tegumentar no Estado do Rio de Janeiro: Estudo de 648 Casos Observados no Hospital Evandro Chagas-Instituto Oswaldo Cruz - Fundação Oswaldo Cruz**. Tese. Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro – RJ. 1998.

Ouellette M., Drummelsmith J., Papadoupoulou B. Leishmaniasis: **Drugs in The Clinic, Resistance and New Developments.** *Drug Resistance Updates*; 7:257-266, 2004.

Orsini O. **Leishmaniose em Minas Gerais.** *Brasil Médico*, pp. 762–765, 1940.

Orsini M, Silva M, Luz ZM, Disch J, Fernandes O, Moreira D, Guedes AC, Rabello A. **Identification of Leishmania Chagasi From Skin in Leishmania/HIV Co-infection: a Case Report.** *Rev Soc Bras Med Trop.* 35(3):259-62. 2002.

Passos V. M. A., Falcao A.L., Marzochi M.C., Gontijo C.M., Dias E.S., Barbosa-Santos E.G., Guerra H.L., Katz N. **Epidemiological Aspects of American Cutaneous Leishmaniasis in a Periurban Area of the Metropolitan Region of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.** *Mem Inst Oswaldo Cruz* ; 88(1):103-10, 1993.

Passos V. M. A **Leishmaniose Tegumentar Americana: Caracterização Clínica, Evolutiva, Laboratorial e Epidemiológica (Belo Horizonte, 1989-95).** Tese. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - MG. 1998.

Passos V. M. A., Fernandes O., Lacerda P.A., Volpini A.C., Gontijo C.M., Degrave W., Romanha A.J. **Leishmania (Viannia) braziliensis is the Predominant Species Infecting Patients with American Cutaneous Leishmaniasis in the State of Minas Gerais, Southeast Brazil.** *Acta Trop* ; 72(3):251-8, 1999.

Passos V.M., Barreto S.M., Romanha A.J., Krettli A. U., Volpini A.C., Gontijo C.M.F, Falcão A.L., Lima-Costa M.F.F. **Leishmaniose Tegumentar na Região Metropolitana de Belo Horizonte: Aspectos Clínicos, Laboratoriais, Terapêuticos e Evolutivos (1989-1995).** *Rev. Soc. Bra. Med. Trop*; 34(1):5-12. 2001.

Paula CDR, Sampaio JHD, Cardoso DR, Sampaio RNR. **Estudo Comparativo da Eficácia de Isotionato de Pentamidina Administrada em Três Doses Durante uma Semana e de N-metil-glucamina 20mgSbv/kg/dia durante 20 dias Para o Tratamento da Forma Cutânea da Leishmaniose Tegumentar.** *Rev. Soc. Bra. Med. Trop*; 36(3): 365-371, 2003.

Pearson R.D. & Sousa A.Q. **Clinical Spectrum of Leishmaniasis.** *Clin Infect Dis*; (22):1-13, 1996.

Pedras M.J. **Diagnóstico Laboratorial das Formas Mucosa e Muco-Cutânea da Leishmaniose Tegumentar Americana.** Dissertação mestrado. Instituto Oswaldo Cruz. Belo Horizonte - MG. 2002.

Pessôa S. B. & Barreto M. P. **Leishmaniose Tegumentar Americana.** In Rio de Janeiro: Ministério da Educação e saúde. 1944

Pirmez C., Trajano V.S., Oliveira-Neto M.P., Da-Cruz A.M., Goncalves-da-Costa S.C., Catanho M., Degraive W., Fernandes O. **Use of PCR in Diagnosis of Human American Tegumentary Leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil.** *J Clin Microbiol*; 37: 1819–1823, 1999.

Prata A, Silva-Vergara ML, Costa L, Rocha A, Krolewiecki A, Silva JC, de Paula EV, Pimenta Junior FG, Giraldo LE. **Efficacy of Azithromycin in the Treatment of Cutaneous Leishmaniasis.** *Rev Soc Bras Med Trop.* 36(1):65-9. 2003

Reithinger R., Mohsen M., Wahid M., Bismullah M., Quinnel R.J., Davies C.R., Kolaczinski J., David J.R. **Efficacy of Thermoherapy to Treat Cutaneous Leishmaniasis Caused by Leishmania tropica in Kabul, Afghanistan: A Randomized, Controlled Trial.** *Clin Infect Dis*; 40:1148-1155, 2005.

Ribeiro AL, Drummond JB, Volpini AC, Andrade AC, Passos VM. **Electrocardiographic Changes During Low-Dose, Short-Term Therapy of Cutaneous Leishmaniasis With the Pentavalent Antimonial Meglumine.** *Braz J Med Biol Res.* 32(3):297-301. 1999

Rodriguez N., Guzman B., Rodas A., Takiff H., Bloom B.R., Convit J. **Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis and Species Discrimination of Parasites by PCR and Hybridization.** *J Clin Microbiol.* 32(9):2246-52. 1994.

Romero G.A.S., Ribeiro R.N.S., Macedo V.O., Marsden P.D. **Sensitivity of Vacuum Aspiratory Technique for Diagnosis of Localized Cutaneous leishmaniasis in a Endemic**

area of Leishmania (Viannia) braziliensis Transmission. *Mem Inst Oswaldo Cruz*; 94(4):505-08. 1999.

Romero G.A. S. **Estudo da Doença Cutânea Causada por Leishmania (Viannia) braziliensis e Leishmania (Leishmania) guyanensis** Tese. Universidade de Brasília, Distrito Federal. 2000

Romero G.A.S., Guerra M.V.F., Paes M.G., Macedo V.O. **Comparison of Cutaneous Leishmaniasis Due to Leishmania (Viannia) Braziliensis and L. (V.) Guyanensis in Brazil: Clinical Findings and Diagnostic Approach.** *Clin Infect Dis*; 32:1304-12, 2001 a.

Romero G.A.S., Guerra M.V.F., Paes M.G., Macedo V.O. **Comparison of Cutaneous Leishmaniasis Due to Leishmania (Viannia) Braziliensis and L. (V.) Guyanensis in Brazil: Therapeutics Response to Meglumine Antimoniate** *Am. J. Trop. Med. Hyg*; 65(5):456-465, 2001 b.

Romero G.A.S. **Predicting Relapse After Treatment for American Cutaneous Leishmaniasis.** *Bulletin of the World Health Organization*, 79 (12):1169, 2001.

Sampaio R.N.R., De Paula C.D.R., Sampaio J.H.D., Furtado R.S., Leal P.P., Rosa T.T., Rodrigues M.E., Veiga J.P.R. **Avaliação da Tolerância e Nefrotoxicidade do Antimonial Pentavalente Administrado na Dose de 40 mg/Kg/dia , de 12/12 horas, Por Trinta Dias na Forma Cutâneo Mucosa de Leishmaniose.** *Rev. Soc. Bra. Med. Trop*; 30(6):457-463. 1997

Santos J.B., Jesus A.R., Machado P.R., Magalhães A., Salgado K., Carvalho E.M., Almeida R.P. **Antimony plus Recombinant Human Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor Applied Topically in Low Dose Enhances Healing of Cutaneous Leishmaniasis Ulcers: A Randomized, Double-Blind, Placebo Controlled Study.** *J Infect Dis*; 190:1793-1796. 2004.

Schriefer, A. L. F. , Góes-Neto, L. H. Guimarães, L. P. Carvalho, Almeida R., Machado P.R., Lessa H.A., Jesus A.R., Riley L.W., Carvalho E.M. **Multiclonal Leishmania braziliensis**

Population Structure and Its Clinical Implication in a Region of Endemicity for American Tegumentary Leishmaniasis *Infection and Immunity*; 72: 508–514. 2004.

Schubach A, Cuzzi-Maya T, Goncalves-Costa SC, Pirmez C, Oliveira-Neto MP. **Leishmaniasis of Glans Penis.** *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 10 (3): 226-8. 1998.

Schwartz E, Hatz C, Blum J. **New World Cutaneous Leishmaniasis in Travellers.** *Lancet Infect Dis.* 6(6):342-9. 2006

Shaw, J.J. & Lainson, R. **Ecology and Epidemiology: New World.** In: The Leishmaniasis in Biology and Medicine. *London. Academic Press*, 1987.

Silveira F.T., Lainson R., Corbett C.E. **Clinical and Immunopathological Spectrum of American Cutaneous Leishmaniasis With Special Reference to the Disease in Amazonian Brazil: a Review.** *Mem Inst Oswaldo Cruz*; 99(3):239-51, 2004.

Silva-Vergara ML, Silva Lde A, Maneira FR, da Silva AG, Prata A. **Azithromycin in the treatment of mucosal leishmaniasis.** *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2004: 46(3):175-7. 2004.

Soto J., Arana B.A., Toledo J., Rizzo N., Vega J.C., Diaz A., Luz M., Gutierrez P., Arboleda M., Berman J.D., Junge K., Engel J., Sindermann H. **Miltefosine For New World Cutaneous Leishmaniasis.** *Clin Infect Dis.*; 38(9):1266-72, 2004.

Tojal da Silva A.C., Cupolillo E., Volpini A.C., Almeida R. and Romero G.A.S. **Species diversity causing human cutaneous leishmaniasis in Rio Branco, state of Acre, Brazil.** *Trop Med Int Health.* 11(9):1388-98, 2006

Vera LA, Santos JB, Macedo VO, de Magalhaes AV, Ciuffo IA, Santos CG **Evaluation of Secondary Bacterial Infection's Influence on the Course of Cutaneous Leishmaniasis in Corte de Pedra, Bahia** *Rev Soc Bras Med Trop.* 34(3):233-7. 2001.

Volpini A.C., Passos V.M., Oliveira G.C., Romanha A.J. **PCR-RFLP to Identify Leishmania (Viannia) braziliensis and L. (Leishmania) amazonensis Causing American Cutaneous Leishmaniasis.** *Acta Trop*; 90(1):31-7, 2004.

Weigle, K. & Saravia, N. G., **Natural History, Clinical Evolution, and the Host-parasite Interaction in New World Cutaneous Leishmaniasis.** *Clinics in Dermatology*; 14: 433-450, 1996.

Wortmann G. W., Aronson N.E., Miller R.S., Blazes D and Oster C. N. **Cutaneous Leishmaniasis Following Local Trauma: A Clinical Pearl.** *Clinical Infectious Diseases*, 31:199–201, 2000

Yoshida E.L.A., Correa F.M.A., Marques S.A. **Human Cutaneous Leishmaniasis Due to Leishmania braziliensis in the South-West Region of São Paulo State, Brazil.** *Mem Inst Oswaldo Cruz*; 85: 133–134, 1990.

Zandbergen G.V., Klinger M., Mueller A., Dannenberg S., Gebert A., Solbach W. and Laskay T. **Cutting Edge: Neutrophil Granulocyte Serves as a Vector for Leishmania Entry into Macrophages** *J Immunol.* 173(11):6521-5, 2004.

8. ANEXOS

ANEXO 1: Questionário montado no programa Epi info versão 6.04

Nome <A >

Prontuario####

Atendimento <dd/mm/yyyy>

Cidade <A >

Nascimento <dd/mm/yyyy>

Sexo# (1) masculino (2) feminino (9) ignorado

Cor: #
 (1) branca
 (2) parda
 (3) negra
 (9) ignorado

Grau de instrucao#
 (1) analfabeto
 (2) Igrau
 (3) IIgrau
 (4) superior
 (8) nao se aplica
 (9) ignorado

Renda#
 (1) menos de 100 Reais
 (2) entre 100 e 300
 (3) entre 300 e 500
 (4) mais de 500
 (9) ignorado

Profissao <A >

Medico responsavel <A >

servico que encaminhou#
 (1) SUS unidade basica
 (2) SUS hospital
 (3) clinica particular
 (4) hospital particular
 (5) convenio

{Encami}nhamento {data} <dd/mm/yyyy>

{Tempo} de {resid}encia em meses###

{viagem} para fora da {RMBH}#

(1) sim
 (0) nao
 (8) nao se aplica
 (9) ignorado

{viagem} para fora de {MG}#
 (1) sim
 (0) nao
 (8) nao se aplica
 (9) ignorado

Tipo entrada# (1) caso novo (2) recidiva

Tipo de lesão

{F} {Ulcer}a# (1) sim (0) nao
 {F} Lesao {vegetante}#
 {F} Lesao {verrucosa}#
 {F} {Nodulo}#
 {F} {Papula}#
 {F} {Placa}#
 {F} Forma Clinica {ignorado}#

{Tempo} de {evolu}cao em dias####

Numero de lesoes em {cabeca} e {pesc}oco##

{tronco}## {Abdome}##

{Antebraco}## {Braco}## {Mao}## {MMSS}##

{Coxa}## {Tibia}## {Pes}## {MMII}##

{Num}ero {total} de lesoes### Total livre###

{L1} {maior} {dia}metro##.# {L1} {menor} {dia}metro##.# L1
 area####.##

{Envolv}imento {linf}atico#

Infeccao bacteriana#

Tratamento {topico}# (1) sim (0) nao

{Top}ico {antibio}tico#
 {Top}ico {nao anti}biotico#
 {Top}ico {caseiro}#
 {Top}ico {cortico}ide#
 {Top}ico {ignorad}o#

{Antibi}otico {oral}# (1) sim (0) nao (9) ignorado

{Antibi}otico {inje}tavel# (1) sim (0) nao (9) ignorado

{Nome} {injet}avel <A >

{Doen}ca {concom}itante# (1) sim (0) nao (9) ignorado

HAS# Alcoolismo# Diabetes# varizes mmii# Outras#

{Analgesic}os e antiinflamatorios#

Aspirado# (1) positivo (0) negativo (9) ignorado
(7) colhido sem resultado (8) nao realizado

cultivo#

Imprint#

PCR#

RFLP# (1)Viannia (2)Leishmania

IDRM data <dd/mm/yyyy>

IDRM# (1)Positivo (2)Negativo

Anatomia patologica#

(1) encontro do parasito

(2) compativel sem visualizar o parasito

(3) nao compativel

(7) colhido mas sem resultado

(8) nao realizado

(9) ignorado

Peso###.#

Altura###.#

Tratamento inicial no CRL-CPqRR? # (1) sim (2) nao

Tratamento inicial#

(1) Sbv regular (20 a 40 dias continuas)

(2) Sbv esquema intermitente

(3) Sbv dose menor que 10 mg/Kg

(4) Sbv dose menor que 5mg/Kg

(5) Sbv intralesional

Adesao# (1) sim (2) irregular (3) encaminhado (4) abandono

{T}ratamento{1inicio} data <dd/mm/yyyy>

{T}ratamento{1termino} data <dd/mm/yyyy>

{T}ratamento{1dose mL}###.#

{T}ratamento{1mgKg}###.#

{T}ratamento{1ampolas}###

{T}ratamento{1duracao}###

{T}ratamento{1via}# (1)EV (2)IM (9)ignorado

{T}ratamento{1priavali}acao data <dd/mm/yyyy>

```

{T1}tratamento 1 {evoluc}ao#
(1) cura
(2) evolucao para cura
(3) inalterado
(4) piora da lesao
(5) surgimento de novas lesoes
(9) ignorado
Observacao da {reepiteliz}acao data <dd/mm/yyyy>

{Def}inicao de {cural} data <dd/mm/yyyy>

{Ult}imo {retorno} data <dd/mm/yyyy>

{Evol}ucao apos {ult}imo {ret}orno#
(1) cura
(2) evolucao para cura
(3) inalterado
(4) piora da lesao
(5) surgimento de novas lesoes
(9) ignorado

surgiu nova lesao durante o tratamento# (1)sim (0)nao
(9)ignorado

foi percebido lesao mucosa durante o tratamento#

necessitou de mais de um ciclo#
(1) para ter cura inicial
(2) por causa de recidiva
(3) cura inicial e recidiva
(0) nao usou mais de um ciclo ate o ultimo retorno

{foram ne1}cessarios quantos ciclos de 20 dias##
{foram ne2}cessarios quantos ciclos de 10 dias##

Efeitos adversos# (1)sim (0)nao (9)ignorado
dor no local#
artralgia#
mialgia#
insomnia#
sonolencia#
tremor#
lombalgia#
hiporexia#
mal estar#
nauseas#
cefaleia#
febre#
outro1 adverso <A >
outro2 adverso <A >
outro3 adverso <A >

inlterrompeu por efeitos adversos#
colnsultas numero total##

Recidiva# (1) sim (0) nao (9) ignorado

```

{Recidiv1}a {dt}a <dd/mm/yyyy>
 {Recidiv2}a {dt}a <dd/mm/yyyy>
 {Recidiv3}a {dt}a <dd/mm/yyyy>
 {Recidiv4}a {dt}a <dd/mm/yyyy>

{T}ratamento {apos recid}iva#
 (1) Sbv regular (20 a 40 dias)
 (2) SBv intermitente
 (3) Sbv dose menor que 10 mg por Kg
 (4) Sbv dose menor que 5 mg por Kg
 (5) Sbv intralesional

{N}umero de {recidivas}##

Onde Recidivou? (1)na lesão (2)outro local (3)1 e 2 (4)mucosa

peso2###.#

{T}ratamento {2 inicio} data <dd/mm/yyyy>
 {T}ratamento {2 termino} data <dd/mm/yyyy>
 {T}ratamento {2 dose mL}##.#
 {T}ratamento {2 mgKg}##.#
 {T}ratamento {2 ampolas}###
 {T}ratamento {2 duracao}##

peso3###.#

{T}ratamento {3 inicio} data <dd/mm/yyyy>
 {T}ratamento {3 termino} data <dd/mm/yyyy>
 {T}ratamento {3 dose mL}##.#
 {T}ratamento {3 mgKg}##.#
 {T}ratamento {3 ampolas}###
 {T}ratamento {3 duracao}###

peso4###.#

{T}ratamento {4inicio} data <dd/mm/yyyy>
 {T}ratamento {4trmino} data <dd/mm/yyyy>
 {T}ratamento {4 dose mL}##.#
 {T}ratamento {4 mgKg}##.#
 {T}ratamento {4 ampolas}###
 {T}ratamento {4 duracao}###

peso5###.#

{T}ratamento {5 inicio} data <dd/mm/yyyy>
 {T}ratamento {5 termino} data <dd/mm/yyyy>
 {T}ratamento {5 dose mL}##.#
 {T}ratamento {5 mgKg}##.#
 {T}ratamento {5 ampolas}###
 {T}ratamento {5 duracao}##

ANEXO 2. Relato dos quatro casos classificados no subgênero *Leishmania*

Caso 1.

Iniciais: I.J.P. Idade: 21 anos. Sexo: Masculino. Procedência: Ribeirão das Neves – MG.

Relato de viagem: negou ter saído da RMBH no período de um ano anterior à consulta.

Tempo de evolução: 45 dias Número de lesões: uma Local: região tibial anterior.

Tipo de lesão: ulcerada. Adenopatia: ignorado

Uso de medicação: pomada de neomicina e associação de colagenase mais cloranfenicol

IDRM: positivo. Imprint: negativo. Aspirado: negativo.

PCR-RFLP: Subgênero *Leishmania*

Trinta dias após o diagnóstico, cerca de 80 dias de evolução, apresentava lesão reepitelizada sem ter utilizado droga específica, não retornou à consulta para acompanhamento nos meses subsequentes. Dois anos após foi reavaliado e apresentava lesão cicatricial, sem eritema ou descamação.

Caso 2.

Iniciais: M.C.S. Idade: 24 anos. Sexo: Masculino. Procedência: Belo Horizonte – MG.

Relato de viagem: viajou para fora de MG no último ano.

Tempo de evolução: 120 dias. Número de lesões: uma. Local: maléolo medial.

Tipo de lesão: ulcerada. Adenopatia: não

Uso de medicação: pomada de neomicina e comprimidos de tetraciclina sem dose especificada.

IDRM: positivo. Imprint: negativo. Aspirado: negativo.

PCR-RFLP: Subgênero *Leishmania*

Na data do início da medicação, já com cinco meses de evolução, apresentava sinais de melhora espontânea da lesão, com diminuição da atividade inflamatória das bordas e superficialização da área ulcerada. Ao todo recebeu 20 comprimidos de azitromicina de 500 mg, evoluindo para cura, sendo esta observada no décimo dia após o término da medicação. Retornou no quarto mês, mantendo-se sem lesão ativa.

Caso 3.

Iniciais: P.H.L.C. Idade: 9 anos. Sexo: Masculino. Procedência: Belo Horizonte – MG.

Relato de viagem: negou ter saído da RMBH no período de um ano anterior à consulta.

Tempo de evolução: 180 dias Número de lesões: três Local: uma lesão no braço e duas na região tibial. Tipo de lesão: placas com ulceração. Adenopatia: ignorado

Uso de medicação: Benzetacil[®] dose não especificada

IDRM: positivo. Imprint: positivo. Aspirado: não realizado

PCR-RFLP: Subgênero *Leishmania*

Iniciou tratamento com azitromicina, seguindo protocolo de pesquisa. Ao todo recebeu seis comprimidos de 500 mg, evoluindo para cura um mês após o término da medicação. Na última avaliação, um ano e nove meses após a medicação, não apresentava sinais de atividade inflamatória na cicatriz.

Caso 4.

Iniciais: A.N.R.. Idade: 38 anos. Sexo: Masculino. Procedência: Contagem – MG.

Relato de viagem: Saiu da RMBH no período de um ano anterior à consulta.

Tempo de evolução: 330 dias Número de lesões: uma Local: orelha

Tipo de lesão: ulcerada Adenopatia: não

Uso de medicação: Comprimido de amoxicilina, dose não especificada

IDRM: positivo. Imprint: negativo. Aspirado: não realizado

PCR-RFLP: Subgênero *Leishmania*

Recebeu injeções diárias de Glucantime[®] na dose de 11,25 mg/kg durante 20 dias. Um mês após o término da medicação apresentou-se com a lesão curada. Não retornou para acompanhamento.