

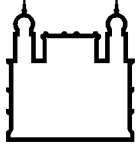
INSTITUTO OSWALDO CRUZ  
Doutorado em Medicina Tropical

**ESTUDOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E  
TERAPÊUTICOS DA LEISHMANIOSE VISCERAL,  
MATO GROSSO DO SUL, BRASIL, 2000-2005.**

ANA LÚCIA LYRIO DE OLIVEIRA

Rio de Janeiro

2006



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

## **INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

**Doutorado em Medicina Tropical**

# **ESTUDOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E TERAPÊUTICOS DA LEISHMANIOSE VISCERAL, MATO GROSSO DO SUL, BRASIL, 2000-2005.**

**ANA LÚCIA LYRIO DE OLIVEIRA**

Tese apresentada à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Medicina Tropical, do Instituto Oswaldo Cruz-FIOCRUZ, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Medicina, área de concentração Medicina Tropical.

**Orientadores:**

Prof. Dr. Márcio Neves Bóia

Prof. Dr. Rivaldo Venâncio da Cunha

**RIO DE JANEIRO**

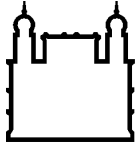
Maio de 2006

## FICHA CATALOGRÁFICA

Oliveira, Ana Lúcia Lyrio de  
Estudos clínicos, epidemiológicos e terapêuticos da leishmaniose visceral, Mato Grosso do Sul, Brasil, 2000-2005. / Ana Lúcia Lyrio de Oliveira – Rio de Janeiro: 2006.  
xv; 112f.

Tese (Doutorado) – Instituto Oswaldo Cruz, Medicina Tropical, 2006.

1. Leishmaniose Visceral
2. Mato Grosso do Sul
3. Epidemiologia
4. Infecção assintomática
5. Reações adversas ao antimonial pentavalente.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

## **INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

**Doutorado em Medicina Tropical**

**AUTOR: ANA LÚCIA LYRIO DE OLIVEIRA**

### **ESTUDOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E TERAPÊUTICOS DA LEISHMANIOSE VISCERAL, MATO GROSSO DO SUL, BRASIL, 2000-2005.**

**ORIENTADOR (ES): Prof. Dr. Márcio Neves Bóia**  
**Prof. Dr. Rivaldo Venâncio da Cunha**

**Aprovada em: 08 / 05 / 2006**

#### **EXAMINADORES:**

**Prof. Dr. José Rodrigues Coura - Presidente**  
**Prof. Dr. Luiz Rey**  
**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alda Maria da Cruz**  
**Prof. Dr. Carlos Henrique Nery Costa**  
**Prof. Dr. Durval Batista Palhares**

Rio de Janeiro, 08 de maio de 2006

Trabalho realizado com apoio financeiro do  
Departamento de Ciência e Tecnologia do  
Ministério da Saúde (FUNDECT/DECIT/MS).

*Eu dedico este trabalho aos meus filhos João Pedro e Michaela, pelo amor incondicional que os fez suportar esta jornada.*

*Aos meus pais José e Lyria que sempre apoiaram minhas iniciativas doando amor e carinho.*

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Márcio Neves Bóia e Prof. Dr. Rivaldo Venâncio da Cunha pela presença e orientação constantes, acompanhadas de paciência, apoio e amizade nos momentos difíceis desta jornada.

A Profa. Maria Elizabeth Cavalheiros Dorval que, pelo entusiasmo e amor ao estudo das leishmanioses nos inspirou e apoiou durante todo o transcorrer do estudo.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Rodrigues Coura que, por sua atitude desbravadora e paixão pelas doenças infecciosas, nos ofereceu a oportunidade de seguir a carreira científica.

Ao Prof. Dr. Durval Batista Palhares, Chefe do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) por acreditar e nos incentivar para a formação acadêmica e científica e pela confiança que nos tem depositado.

Ao Diretor do Hospital da Faculdade de Medicina/UFMS, Dr. Pedro Rippel Salgado, pela liberação e paciência durante minhas ausências para realizar a pós-graduação.

Aos professores do Departamento de Pediatria, Prof.<sup>a</sup> Yvone Maia Brustoloni, Prof.<sup>a</sup> Maria Cristina Arrua Sanchez, Dr. Joel de Freitas, Prof.<sup>a</sup> Lourdes Zélia Zanoni Cônsolo, Prof. Luiz Carlos Tesini Cônsolo e Dr. João Cândido Câmara Neto, de quem fomos alunos na sua maioria e hoje colegas, os quais tiveram papel fundamental em nossa formação e dos quais recebemos apoio em momentos críticos de nossa ausência para que pudéssemos nos dedicar às exigências do curso.

À amiga e colega de pós-graduação, Anamaria Mello Miranda Paniago, pelo carinho e companheirismo durante todo o curso, e, principalmente, pelo apoio durante o trabalho de campo.

Às amigas da Disciplina de Parasitologia, Prof.<sup>a</sup> Elisa Teruya Oshiro e Prof.<sup>a</sup> Alessandra Gutierrez de Oliveira, pela colaboração e amizade nos auxiliando com críticas e sugestões.

À Prof.<sup>a</sup> Cássia Rejane Leal, da Disciplina de Parasitologia da Faculdade de Veterinária/UFMS, pela presteza e dedicação na realização dos exames laboratoriais.

Aos alunos da UFMS, Luiz Gustavo Pereira, Fernando Henrique de Paula, Thiago Dias Fernandes, Alda Urdapilleta e Suelen Castilho, que nos auxiliaram no desenvolvimento destes estudos.

À Secretaria de Saúde e Coordenação de Controle de Vetores de Três Lagoas, pela atenção e apoio logístico durante a realização do trabalho de campo.



À Coordenadoria de Controle de Vetores da Secretaria Estadual de Saúde pelo fornecimento de dados e apoio estrutural para que desenvolvêssemos o trabalho.

Ao Departamento de Vigilância Epidemiológica do Ministério da Saúde, em especial à Coordenadora das Leishmanioses, Enf<sup>a</sup>. Ana Nilce Maia Elkhoury, pela competência, seriedade e envolvimento no desempenho de suas funções.

Ao Departamento de Ultraestrutura e Biologia Celular da FIOCRUZ, na pessoa do Prof. Dr. Renato Porrozzi de Almeida, por ter disponibilizado sua estrutura para realização de parte dos exames laboratoriais.

Aos colegas da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar, Enf. Olcinei Alves de Oliveira, Maria Raquel, Célia Araújo pela amizade, paciência e auxílio durante o transcorrer do curso.

Aos médicos residentes e alunos dos cursos de Medicina da UFMS e da Universidade para o Desenvolvimento do Pantanal (UNIDERP) pelo incentivo e carinho.

A todos os funcionários do Hospital Dr. Hélio Mandetta/UFMS, sem os quais dificilmente conseguiríamos desenvolver estes estudos.

Aos pacientes e familiares que, prontamente atenderam nossos pedidos, nosso respeito e amizade.

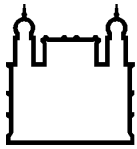
“A consciência sanitária é um conjunto de diferentes fatores como: conhecimento científico e geral, união da vontade popular de melhorar as condições patogênicas de uma sociedade e da vontade individual de melhorar a si mesmo, o estilo de vida e o comportamento pessoal com a própria saúde”.

G. Berlinger

# ÍNDICE

RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS. Leishmaniose Visceral.....	3
2.1. Agente etiológico.....	3
2.2. O vetor.....	4
2.3. O reservatório.....	5
2.4. Mecanismo de transmissão.....	7
2.5. Epidemiologia.....	8
2.6. Aspectos de fisiopatogenia.....	9
2.7. Manifestações clínicas.....	13
2.8. Diagnóstico.....	15
2.9. Tratamento.....	19
2.10. Prevenção e controle .....	24
3. JUSTIFICATIVA.....	28
4. OBJETIVOS.....	30
5. PACIENTES E MÉTODOS.....	31
6. RESULTADOS.....	32
6.1. “Leishmaniose visceral em Mato Grosso do Sul, Brasil: uma doença em expansão”.....	33
6.2. “Foco emergente de leishmaniose visceral em Mato Grosso do Sul, Brasil”.....	43
6.3. “Infecção assintomática por <i>Leishmania chagasi</i> em área de instalação recente da doença, Três Lagoas, MS”.....	62
6.4. “Severe adverse reactions to meglumine antimoniate in the treatment of visceral leishmaniasis: report of 14 cases in Campo Grande (MS), Brazil”.....	77

7. DISCUSSÃO.....	90
8. CONCLUSÕES.....	97
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	98



Ministério da Saúde

FIOCRUZ  
Fundação Oswaldo Cruz

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

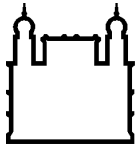
Estudos clínicos, epidemiológicos e terapêuticos da leishmaniose visceral, Mato Grosso do Sul, Brasil, 2000-2005.

### RESUMO

#### TESE DE DOUTORADO

Ana Lúcia Lyrio de Oliveira

As características clínicas, epidemiológicas, laboratoriais e terapêuticas da leishmaniose visceral humana foram estudadas em áreas de ocorrência recente da doença no Estado de Mato Grosso do Sul, resultando em quatro estudos, no período de 2000 a 2005. A leishmaniose visceral (LV) é uma doença em franca expansão no Mato Grosso do Sul, com características de urbanização, apresentando maior coeficiente de incidência nos municípios de Campo Grande e Três Lagoas, representando importante agravo à saúde pública no Estado. No município de Três Lagoas, a doença predominou no sexo masculino, com maior incidência de 0 a 4 anos, porém, com maior número de casos entre os adultos. As manifestações clínicas foram precoces, e os achados mais freqüentes foram febre, esplenomegalia, anemia e hepatomegalia. A pneumonia foi a infecção associada mais encontrada. O diagnóstico, em 90,6% dos casos, foi feito por pesquisa direta da leishmania em medula óssea, sendo o parasito isolado, caracterizado como *Leishmania (L) chagasi*. Os pacientes foram tratados adequadamente com antimoniato de meglumina em 78,2% dos casos com boa resposta. A letalidade foi maior acima de 60 anos, com uma taxa de 7,5% e 50% dos óbitos apresentou infecção associada. A prevalência de infecção assintomática no mesmo município foi de 34,1% na Reação de Imunofluorescência Indireta e 35,3% no teste imunoenzimático ELISA, sem diferença quanto ao sexo ou idade. As características socioeconômicas e epidemiológicas mais observadas foram: ensino fundamental incompleto, renda familiar de até dois salários mínimos e moradias com infra-estrutura adequada. A permanência de crianças no peridomicílio ao entardecer, cães presentes do domicílio ou no peridomicílio e o relato da presença do flebótomo também foi constatado. Quanto ao tratamento com antimoniato de meglumina no Hospital Universitário/UFMS observou-se que as reações adversas graves mais freqüentes foram a insuficiência renal e hepática e a pancreatite. Ocorreram mais em adultos acima de 50 anos, com predomínio do sexo masculino. Dois pacientes cursaram com miocardiopatia e um apresentou crise convulsiva tônico-clônica generalizada. Metade dos casos evoluiu para o óbito. Concluindo, os dados aqui apresentados permitiram delinear um perfil clínico e epidemiológico da LV em áreas de instalação recente no Mato Grosso do Sul, reforçando sua importância em termos de Saúde Pública e subsidiando os órgãos responsáveis pela saúde no Estado a fim de definir ações efetivas para o diagnóstico, tratamento e controle, contribuindo para minimizar o impacto desta parasitose.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

The clinical, epidemiological and therapeutical studies of leishmaniasis visceral (LV), Mato Grosso do Sul State, 2000-2005.

### ABSTRACT

#### Thesis

Ana Lúcia Lyrio de Oliveira

Visceral Leishmaniasis's (VL) clinical, epidemical, laboratory and therapeutic aspects were studied in areas where recent cases occurred in Mato Grosso do Sul, leading to four studies, from 2000 to 2005. VL is a spreading disease in Mato Grosso do Sul, with urban characteristics, occurring mostly in the cities of Campo Grande and Três Lagoas, representing a severe problem to the state health care system. In the city of Três Lagoas, this disease caused more victims among male, the majority of cases reported between ages 0 – 4, most cases happened in adults. The symptoms were precocious, and the most frequent were fever, esplenomegaly, anemia and hepatomegaly. The most common side infection found was pneumonia. The diagnosis, in 90.6% of the cases, was made by smearing the bone marrow and isolating the parasite, being classified as *Leishmania chagasi*. The patients were properly treated with pentavalent antimony, achieving a 78.2% rate of response. Death rate was higher in patients over 60 years old, with a 7.5% rate, and 50% of the deceased presented side infections. The percentage of asymptomatic infections in the same city was of 34.1% in the Immunofluorescence Indirect Reaction and 35.3% in the ELISA test, no differences were found regarding sex or age. The social, economical and epidemical characteristics found were: elementary school level not completed, family incomes up to two minimum wages and house masonry properly built. Children spending evenings outside home, dogs within the houses or nearby them and phlebotomy were also noticed. Regarding the treatment with pentavalent antimony, that was held by the University Hospital of UFMS, it follows that the most common severe side effects were kidney and liver failure and pancreatitis. These effects were more common among male over 50 years old. Two patients presented myocardiopathy and another one presented a tonic clonic convulsion. Half of the cases lead to death. Concluding, the presented data here had allowed to delineate a clinical profile and epidemologic LV in areas of recent installation in the Mato Grosso do Sul, being strengthened its importance in terms of Public Health and subsidizing the responsible agencies for the health in the State in order to define action effective for the diagnosis, treatment and control, contributing to minimize the impact of this parasitism.

## LISTA DE ABREVIATURAS

LV	Leishmaniose visceral
<i>L. chagasi</i> ; <i>L. (L.) chagasi</i>	<i>Leishmania (Leishmania) chagasi</i>
<i>L. donovani</i>	<i>Leishmania (Leishmania) donovani</i>
<i>L. infantum</i> ; <i>L. (L.) infantum</i>	<i>Leishmania infantum</i>
<i>L. (V.) braziliensis</i>	<i>Leishmania (Viannia) braziliensis</i>
<i>L. (L.) mexicana</i>	<i>Leishmania (Leishmania) mexicana</i>
<i>L. tropica</i>	<i>Leishmania tropica</i>
<i>L. (L.) amazonensis</i>	<i>Leishmania (Leishmania) amazonensis</i>
<i>L. longipalpis</i>	<i>Lutzomyia longipalpis</i>
<i>L. cruzi</i>	<i>Lutzomyia cruzi</i>
INF $\gamma$	Interferon gama
IL	Interleucina
Th	Linfócitos T auxiliares
NNN	Novy-MacNeal-Nicole
LIT	<i>Liver Infusion Tryptose</i>
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
DAT	Teste de Aglutinação Direta
TRALd	Teste Rápido Anticorpo <i>Leishmania donovani</i>
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 As Leishmanioses

As leishmanioses são enfermidades que acometem o homem e diferentes espécies de mamíferos silvestres e domésticos das regiões tropicais e subtropicais, com diferentes vetores e reservatórios, fazendo parte das mais importantes doenças do planeta para a Organização Mundial de Saúde (123).

As formas clínicas descritas são tegumentar e visceral. A forma tegumentar é mais prevalente e se caracteriza por lesões cutâneas, com a lesão primária geralmente ocorrendo no local da picada do inseto vetor, sendo, portanto, mais freqüente em áreas expostas do corpo (70). Esta pode apresentar diversas formas clínicas tais como cutânea localizada, disseminada, difusa e mucosa (70, 107, 114).

Já a leishmaniose visceral (LV), também denominada calazar pelo aspecto escurecido que confere à pele no Velho Mundo, é uma doença que acomete meio milhão de pessoas a cada ano (49, 114). A LV tem sido caracterizada pelas manifestações clássicas determinadas pela interação do agente etiológico com o sistema fagocítico-mononuclear do hospedeiro, sendo manifestada por febre, hepatoesplenomegalia, anemia, leucopenia, emagrecimento progressivo, que, quando não tratada precocemente, pode evoluir para o óbito (8, 69).

A emergência das leishmanioses em áreas urbanas de países desenvolvidos e a sua contribuição para avanços no estudo da resposta imune de patógenos intracelulares têm aumentado o interesse por estas doenças (74).

No Estado de Mato Grosso do Sul a LV tem sido relatada desde 1911, ocorrendo esporadicamente até 1980, quando o município de Corumbá tornou-se área endêmica, sendo incriminado como vetor da doença a *Lutzomyia cruzi* (153). A LV permaneceu restrita a esta área até 1995. Neste período iniciou lentamente sua expansão para municípios adjacentes, apresentando, atualmente, casos autóctones em 34 dos 77 municípios do Estado (157).



A partir de 1998, com o primeiro relato de cão parasitado no município de Campo Grande, capital do Estado, com 734 mil habitantes, iniciou-se a busca de *Lu. longipalpis* no município com o encontro desta e de *Lu. cruzi* em 1999 (119, 120).

Em outubro de 2000, o município de Três Lagoas teve confirmado a autocnia da doença na cidade, com expansão rápida e de difícil controle.

No ano de 2005 ocorreram 261 casos novos com 23 óbitos no Estado, sendo 140 casos em Campo Grande, demonstrando a pouca efetividade das ações de controle, o que justifica seu estudo associado à necessidade urgente de se conhecer as características clínicas, laboratoriais, epidemiológicas e terapêuticas da LV no Mato Grosso do Sul.

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### Leishmaniose Visceral

#### 2.1 Agente etiológico

A LV é uma zoonose causada por espécies do complexo *Leishmania donovani*, protozoários intracelulares obrigatórios, que se reproduzem dentro do sistema fagocítico mononuclear do hospedeiro susceptível. A *Leishmania donovani* foi primeiro identificada na Índia por Leishman em 1903, ao visualizar formas amastigotas em material obtido por necropsia de um paciente proveniente de Dum-Dum, e por Donovan no mesmo ano, em material obtido de punção esplênica de uma jovem (53, 90).

No Brasil a primeira descrição foi em 1911, em necropsia de um imigrante italiano, procedente do distrito de Porto Esperança, município de Corumbá, no antigo Estado de Mato Grosso, hoje Mato Grosso do Sul, por Migone, em Assunção, no Paraguai (104). Em 1934, Penna, ao realizar viscerotomia pós-morte para determinação anatomopatológica de febre amarela, encontrou formas amastigotas em cortes histológicos de fígado de 41 indivíduos (129).

As leishmanias, da família Trypanosomatidae, filo Sarcomastigophora, ordem Kinetoplastida (128), apresentam duas formas, uma promastigota encontrada no tubo digestivo do flebotomíneo e outra amastigota nos tecidos dos vertebrados (106, 138). As formas amastigotas são arredondadas, sem flagelo exterior, medindo de 2 a 5 $\mu$  de comprimento, multiplicando-se por divisão binária no interior dos fagossomos de células do sistema mononuclear fagocitário (macrófagos e monócitos). A forma promastigota é encontrada no tubo digestivo do vetor ou em meios de cultura apropriados. Esta forma apresenta-se como uma estrutura alongada, de 10 a 15 $\mu$ , com um longo flagelo na extremidade, de 15 a 28 $\mu$ , que emerge da base, bastante móvel, impulsionando o parasito para frente. A promastigota é considerada a forma infectante, possuindo mais moléculas de superfície que se ligariam aos receptores das células do hospedeiro (8, 131).

As espécies responsáveis pela LV no Velho Mundo são *Leishmania (Leishmania) donovani*, ocorrendo em Bangladesh, Sudão, Índia, Paquistão e Nepal, e *Leishmania (Leishmania) infantum*, no Mediterrâneo, na Ásia, na China e norte da África (70, 95) e nas Américas a *Leishmania (Leishmania) chagasi* (83, 138). Com o desenvolvimento de técnicas moleculares descobriu-se que a *L. (L.) chagasi* e a *L. (L.) infantum* são indistinguíveis bioquímica e antigenicamente, sendo consideradas atualmente o mesmo microrganismo (99, 177).

Esporadicamente existem relatos de visceralização da leishmaniose tegumentar ou quadro clássico de LV por *L. (V.) braziliensis*, *L. (L.) amazonensis*, *L. tropica* e *L. (L.) mexicana* em pacientes imunocompetentes e, principalmente, em pacientes imunossuprimidos (11, 70, 73, 74, 118, 135, 150, 164, 171).

## 2.2 O vetor

A doença é transmitida por meio da picada de insetos dos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia*, no Velho e Novo Mundo, respectivamente (48). Existem mais de 30 espécies vetoras, entre elas destacam-se *Lutzomyia longipalpis* nas Américas (169, 182) e *Phlebotomus spp* no Velho Mundo (74). No final da década de 90, *Lutzomyia cruzi* foi incriminada como vetor no município de Corumbá, Estado de Mato Grosso do Sul (153).

A *Lu. longipalpis* é considerada um complexo de espécies que produzem colônias de formas variadas, com alterações genéticas, epidemiológicas e ecológicas distintas não bem esclarecidas (88, 93, 169, 182). Esta espécie recebeu inúmeras denominações de acordo com a região onde foi encontrada no País, tais como: mosquito palha, cangalha, cangalhinha, tatuquira, entre outros e é conhecida genericamente por flebotomíneo (106).

No Brasil, *Lu. longipalpis* está em expansão, com ampla distribuição em quatro regiões: Norte, Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste, sendo, primordialmente, uma espécie silvestre, encontrada em pés de serra, boqueirões, vales e rios, e, atualmente, adaptada ao ambiente urbano, no peri, intradomicílio e em abrigos de animais domésticos (86, 106, 119).

O flebotomíneo é um inseto pequeno holometabólico, medindo de 1 a 3 mm de comprimento, com cor clara e corpo coberto de pêlos. O seu vôo é curto e baixo, saltitante, apresentando dispersão de até 200 metros. Seu ciclo biológico apresenta quatro fases de desenvolvimento: ovo, larva, pupa e adulto (79). Somente as fêmeas são hematófagas, necessitando da alimentação sangüínea para a maturação dos ovos, podendo realizar o repasto sangüíneo em várias espécies de animais vertebrados, inclusive no homem (106).

As fêmeas iniciam suas atividades ao anoitecer e repousam em lugares escuros e úmidos, com capacidade de adaptar-se a baixos graus de umidade e elevadas temperaturas (74). Estas são capturadas durante o ano todo, porém, durante períodos de seca, são mais encontradas no intra e peridomicílio (160).

### **2.3 O Reservatório**

A LV possui dois tipos de reservatório, o doméstico e o silvestre. O cão (*Canis familiaris*) é o principal reservatório no ciclo doméstico da LV devido ao seu intenso parasitismo cutâneo e à preferência antropofílica de *Lu. longipalpis* (51, 160, 162). Os reservatórios silvestres descritos são as raposas e os marsupiais que possuem hábitos sinantrópicos podendo fazer o elo entre o ciclo urbano e o silvestre (45, 167, 180). Eventualmente, hospedeiros acidentais podem albergar parasitos, porém, sem relevância (7).

A primeira descrição de formas amastigotas em canídeos domésticos foi na Tunísia, em 1908 (117). No ciclo doméstico, diversos estudos demonstram que a infecção canina precede a infecção humana, confirmando a importância do cão como reservatório da LV em áreas urbanas (15, 46, 65, 110).

A doença no cão é sistêmica e crônica, porém, alguns podem ter manifestação aguda e grave, podendo levar o animal a óbito em poucas semanas. A forma assintomática é encontrada em 40 a 60% da população canina que apresenta sorologia positiva (106). A variação clínica da LV canina vai de assintomática, oligossintomática até estágios graves da doença (67). Estudos observaram que os flebotomíneos infectam-se mais intensamente quando o cão apresenta clínica

evidente da doença (51,160, 181). As manifestações clínicas mais comuns no cão doente são emagrecimento, lesões de pele (úlceras, descamação, alopecia, entre outros) e onicogribose. Linfadenomegalia, esplenomegalia e hepatomegalia são achados menos freqüentes (2, 36). Laboratorialmente, semelhantes ao homem, apresentam hiperproteinemia com hipoalbuminemia e aumento de gamaglobulina.

Na Índia, a LV já é considerada uma antroponose, sendo transmitida homem-vetor-homem, porém, nas Américas, existe a necessidade de estudos mais aprofundados acerca do potencial de transmissão do ser humano. Acredita-se que exista a possibilidade de que crianças desnutridas venham, em alguns casos, a ser reservatório da doença (37, 67).

No ciclo silvestre dois gêneros de raposa foram encontrados infectados, *Lycalopex vetulus*, no Ceará e *Cerdocyon thous* no Pará, em Minas Gerais e no Mato Grosso do Sul (46, 84, 102, 165). As raposas são consideradas importantes reservatórios por serem facilmente infectadas e possuírem hábitos migratórios. Quanto aos marsupiais, sobretudo o *Didelphis albiventris*, vem sendo encontrados com alta prevalência de infecção na área de Guaratiba – RJ (20, 67, 162). Estudos realizados na Colômbia sugeriram que o roedor *Proechimys canicollis* possa ser reservatório da *L. chagasi*, porém, no Pará, não conseguiram reproduzir a infecção (85, 180).

## **2.4 Mecanismo de transmissão**

Nas Américas a forma de transmissão da LV é zoonótica (131). O flebotomíneo, durante o repasto sangüíneo das fêmeas, ingere o sangue dos mamíferos infectados, deglutindo macrófagos parasitados por formas amastigotas de *L. chagasi*. Após o rompimento da célula, transformam-se em promastigotas no tubo digestivo do inseto, e, após inúmeras multiplicações, diferenciam-se em formas flageladas denominadas promastigotas metacíclicas, que são as formas infectantes

com capacidade de migrar até a probóscida do inseto. Quando este flebotomíneo realiza novo repasto sanguíneo em um novo hospedeiro vertebrado, estes regurgitam estas formas juntamente com a saliva (145).

No hospedeiro, as células do sistema monocítico fagocitário englobam as promastigotas metacíclicas, onde estas se diferenciam em amastigotas, resistindo às enzimas fagolisossomais, multiplicam-se e atingindo dezenas de parasitos em única célula até destruí-la (74). Estes protozoários circulantes dentro dos monócitos são novamente fagocitados pelo flebotomíneo, fechando o ciclo biológico (123).

O crescente número de casos de co-infecção com o vírus HIV levou ao aparecimento de nova forma de transmissão devido ao compartilhamento de agulhas contaminadas com instalação do ciclo antroponótico artificial (67). Outras formas de transmissão descritas são congênita, transplante de órgãos, transfusão sanguínea, acidentes de laboratório, porém com pouco significado epidemiológico (13, 17, 74, 75, 100).

Uma das hipóteses para o desenvolvimento da doença após a infecção está diretamente relacionada ao tamanho do inóculo parasitário (56), com isso o contato prolongado com o vetor seria necessário para a instalação do quadro (95).

Em 1987, Ribeiro descobriu que a saliva do flebotomíneo possui uma variedade enorme de substâncias responsáveis pelo sucesso da infecção, e, desde então, vem sendo objeto de estudo para criação de vacinas (141, 142, 179). Estes componentes incluem peptídeos vasodilatadores, antiinflamatórios, anti-histamínicos, os quais alteram a homeostasia, como a maxadila, que minimiza a percepção do hospedeiro vertebrado, favorecendo a disseminação do agente etiológico (91).

## **2.5 Epidemiologia**

Em todo o Mundo, estima-se que mais de 500.000 novos casos de LV surjam a cada ano, sendo esta considerada endêmica em mais de 62 países, resultando em 41.000 mortes no ano de 2000. Pode ser encontrada em áreas tropicais e

subtropicais, com cerca de 90% de todos os casos ocorrendo em Bangladesh, Índia, Nepal, Sudão e Brasil (49, 123). Nas duas últimas décadas tem ocorrido aumento recorde nas áreas geográficas afetadas, com áreas endêmicas apresentando crescimento de até 500% entre 1993 e 2000 (143).

No Brasil, a LV representa um sério problema de saúde pública, com expansão da área geográfica de sua ocorrência, observando-se que na região Nordeste, em 1998, ocorreram 1.840 casos e em 2002, 6.000 casos (49), destacando-se ainda a reemergência da doença em localidades desta região, tais como Teresina – PI (5, 38) e São Luís – MA (5, 161).

A LV tem sido registrada em 20 Estados com uma média anual nos últimos dez anos de 3.156 casos, predominando na região Nordeste, responsável por cerca de 77% do total de notificações. Nesta região, destacam-se os Estados da Bahia, do Ceará, do Piauí e do Maranhão (57, 106, 161).

Com a mudança do perfil da LV, nas últimas décadas têm ocorrido epidemias em diversas áreas do País, como no Rio de Janeiro (RJ), Belo Horizonte (MG), Araçatuba (SP), Três Lagoas (MS), Campo Grande (MS) e Palmas (TO) (24, 98, 106, 163).

A LV, anteriormente considerada doença de ambiente rural, ocorrendo em áreas com baixo índice pluviométrico, em regiões de pé de serra e boqueirões, deslocou-se para a periferia das grandes cidades. O homem ocupando de forma desorganizada a área situada no limite da cidade com a mata (denominada franja) veio a favorecer o contato do animal doméstico, o cão e o flebotomíneo com o reservatório silvestre, e, atualmente, está adaptada aos centros urbanos de médio e grande porte, com alta densidade populacional, contribuindo para o aumento da doença (30, 59, 86, 138).

Diversas causas são citadas para essas mudanças no padrão de transmissão, principalmente a migração resultando em adensamento da população em grandes centros urbanos, a guerra, a fome, o grande número de cães infectados, o término do programa de desinsetização para o controle da malária, a oferta abundante de alimento para os flebotomíneos, a arborização e, na região do Mediterrâneo, a clínica de imunossupressão pela expansão do vírus HIV (42, 49, 70, 187).

A implantação de projetos agroindustriais, com desmatamentos no Velho e Novo Mundo, levando ao deslocamento dos flebotomíneos para as áreas urbanas, com adaptação e aumento considerável dos mesmos, tendo em vista o encontro de condições ambientais propícias para a manutenção do seu ciclo de vida, também contribuiu para esta mudança no padrão de transmissão (23, 75).

A doença acomete adultos e crianças na África e Índia, e nas Américas e região do Mediterrâneo há um predomínio em crianças jovens, principalmente em áreas endêmicas (72, 74, 124). Na região nordeste da Índia (particularmente o Estado de Bihar), têm ocorrido epidemias antroponóticas por *L. donovani* desde a década de 70. O Sudão convive com a LV desde o início do século XX, sendo a região endêmica para a infecção pela *L. donovani* (190). Devido à guerra civil neste País, acarretando difícil acesso aos alimentos e aos medicamentos, morreram centenas de milhares de pessoas com LV na década de 80 (156).

## 2.6 Aspectos de fisiopatogenia

As leishmanioses têm sido usadas como modelos para estudos da resposta imune a patógenos intracelulares. Os avanços nos estudos de imunomodulação na doença têm trazido progressos na área de diagnóstico, tratamento e prevenção da infecção (74).

O parasito *Leishmania spp* é um protozoário intracelular obrigatório dentro de macrófagos, onde assume a forma de amastigota, resistindo às enzimas fagolisossomais, devido a modificações bioquímicas na camada glicopeptídica do parasito que permite que ele sobreviva ao sistema complemento do hospedeiro (143).

Após a infecção pela *L. chagasi*, a forma clínica e a gravidade que o hospedeiro humano vai manifestar dependem da imunorregulação. A resposta imune baseia-se, entre outros, nos fenótipos tipo 1 ou tipo 2. No modelo experimental clássico de infecção por *L. major*, quando o animal consegue elaborar uma resposta celular efetiva, observa-se aumento de INF  $\gamma$ , IL2 e IL12 podendo levar a resposta imune tipo 1, a qual confere resistência; caso haja predomínio de IL4, IL5,



IL6 e IL10, com ativação policlonal de linfócitos B, espera-se a resposta imune Tipo 2, conferindo susceptibilidade (1, 68). A presença de IL10 e IL4 em associação com doença por LV contribui para progressão da doença (176).

Segundo Carvalho *et al* (26) as alterações na resposta imune encontradas na LV foram:

- Depressão da atividade linfocitária frente aos antígenos de *Leishmania*;
- Ausência de produção de IL2 e INF  $\gamma$  por mononucleares quando estimulados pelas leishmanias;
- Ativação policlonal de linfócitos B com altos níveis de imunoglobulinas;
- Presença de imunossupressor sérico;
- Diminuição do número de neutrófilos.

Outros fatores associados à manifestação da doença são sexo masculino, fato pouco explicado na literatura (38, 163), e faixa etária abaixo de dez anos, o que pode ser justificado pela resposta imune incompleta, desnutrição, genética, entre outras (12).

Estudos recentes têm demonstrado que a saliva do flebotomíneo possui componentes que potencializam a ação da promastigota e aumentam a sua virulência, induzindo a ativação do fator de crescimento  $\beta$  e IL10, citocinas com propriedades inativadoras de macrófago (75).

### **2.6.1. Achados Anátomo-Patológicos**

## **Baço**

A esplenomegalia está presente em quase todos os casos de LV. Este aumento ocorre devido à intensa hipertrofia e à hiperplasia do sistema retículoendotelial. O órgão encontra-se com aumento acentuado de volume, congesto, com áreas de infarto e cápsula espessada. A polpa branca encontra-se atrofiada com células plasmáticas e macrófagos parasitados com formas amastigotas. A polpa vermelha também se encontra infiltrada por macrófagos parasitados, ainda apresenta congestão dos sinusóides e os cordões de Bilioth evidenciam importante plasmocitose (190).

## **Fígado**

O tamanho do fígado é usualmente aumentado na LV. Microscopicamente observa-se hipertrofia e hiperplasia difusa das células de Kupffer, com várias células apresentando numerosas formas amastigotas. Uma moderada expansão do espaço porta por células mononucleares também é freqüente. Os hepatócitos encontram-se discretamente intumescidos, com esteatose variável. Alguns pacientes podem apresentar insuficiência hepática, necrose de células isoladas e retenção biliar (54).

Alguns pacientes têm a forma nodular no fígado, que representa uma resposta do hospedeiro mais eficaz frente ao parasito. Esta é caracterizada pela presença de agregados de linfócitos T e B, macrófagos e plasmócitos nos lóbulos hepáticos e nos espaços portais (8).

Na forma terminal da doença os sinusóides hepáticos podem estar dilatados, e em alguns pacientes podem ocorrer depósitos de colágeno intralobular e intercelular, tornando-os isolados, quase de cada célula hepática, denominada fibrose leishmaniótica do tipo Rogers (131). Há relatos de comprometimento grave do fígado na LV com hepatite aguda como primeira manifestação da doença.

## **Pulmão**

A hemorragia pulmonar é um achado comum no exame de órgãos obtidos por necropsia de pacientes com LV (55). Esta pode apresentar um quadro

respiratório caracterizado por tosse seca, denominado pneumonite intersticial, muitas vezes confundido com pneumonia viral ou broncopneumonia. O exame histopatológico dos pulmões demonstra septos interalveolares espessados por infiltrado inflamatório constituído de macrófagos, linfócitos e plasmócitos, leve grau de edema, células intersticiais aumentadas com vacúolos de gordura e congestão dos capilares septais (8).

## **Medula Óssea**

Na medula óssea encontra-se hiperplasia funcional, com intensa atividade hematopoética. Os macrófagos estão aumentados em número e volume, a maioria parasitada por amastigotas. Os eosinófilos são raros ou ausentes. A anemia é freqüente ocorrendo em decorrência do seqüestro esplênico, da hemólise imune e do bloqueio medular. O encontro de formas amastigotas é comum em 70 a 80% dos casos. A linhagem megacariocítica mostra-se hipo ou normocelular (8, 131).

## **Coração**

No coração foram encontradas alterações agudas, denominadas reatividade inespecífica do coração, que consistiram em edema, leve infiltrado linfocitário, distribuídos ao longo do endocárdio. No miocárdio observou-se resposta inflamatória (linfócitos e neutrófilos esparsamente distribuídos) leve ou moderada, com edema e hiperplasia de células de Anitschkow. Não foram observadas leishmanias ou seus antígenos (112). Existem relatos do início do século passado do encontro de poucos parasitos dentro dos histiócitos e células endoteliais e de leucócitos (18, 101).

## **Outros órgãos**

Outros órgãos são pouco comprometidos na LV nas Américas, tais como: linfonodos, onde se observa discreto aumento dos folículos linfóides, com reatividade dos seios marginais, intermediários e medulares; rins que demonstram alterações da função renal com proteinúria assintomática, hematúria, nefrite intersticial e insuficiência renal aguda, com aumento da uréia e creatinina no soro levando a uma diminuição do clearance de creatinina (148); trato digestório que apresenta macrófagos densamente parasitados em toda

lâmina própria do intestino delgado e grosso, tendo sido descritos quadros de má-absorção, o que contribuiria para a hipoproteïnemia encontrada na forma clássica da doença (190).

## **Alterações patológicas na co-infecção com o HIV**

No paciente com HIV associado, os achados são semelhantes aos da LV clássica, porém com intenso parasitismo dos órgãos do sistema fagocítico mononuclear. Foram observados macrófagos parasitados na luz de pequenos vasos em vários tecidos, em amostras de lesões de pele, aspirados de linfonodos, líquido sinovial, duodeno, cólon, envolvimento inflamatório do pericárdio, miocardite focal, comprometimento de adrenais, rins, pulmão e cérebro (126, 134).

### **2.7 Manifestações clínicas**

O período de incubação da LV humana varia de 10 dias a 24 meses, com média de 2 a 6 meses. Após a infecção, o hospedeiro pode evoluir para cura, forma oligossintomática ou doença propriamente dita (116). Quando não há evidência clínica e o exame sorológico é positivo, tem-se a chamada **infecção assintomática**. Geralmente os títulos sorológicos são baixos. Nos exames laboratoriais não se encontram alterações. Sabe-se que em áreas endêmicas as pessoas podem ser infectadas com o parasito e não desenvolver as manifestações clássicas da doença (22). Diversos estudos têm sido realizados para esclarecer o porquê do adoecimento, embora vários fatores sejam citados como determinantes do desenvolvimento da doença, como extremos de idade, desnutrição, baixa produção de INF  $\gamma$ , resposta linfocitária precária entre outros (9, 22, 25).

A **forma oligossintomática** dá-se quando as manifestações clínicas da doença são discretas. Os sinais e sintomas são inespecíficos; incluem febre baixa, diarreia, tosse seca, adinamia, discreta hepatoesplenomegalia, curto período de evolução e freqüentemente os indivíduos evoluem para a cura espontânea.

Laboratorialmente, observa-se anemia discreta, predomínio de linfócitos, elevação das gamaglobulinas e no exame direto de células da medula freqüentemente não se encontra o parasito (106).

O período inicial da doença pode ser chamado também de **forma aguda**. Na maioria dos casos os pacientes apresentam febre há menos de um mês, palidez cutâneo-mucosa, hepatoesplenomegalia discreta (menor que 5 cm), podendo ou não vir acompanhada de diarréia e tosse seca (76).

A **LV clássica ou período de estado** caracteriza-se por febre irregular de longa duração, esplenomegalia, hepatomegalia, perda de peso progressiva, adinamia, prostração e palidez cutâneo-mucosa. O esfregaço de sangue medular é positivo em 70 a 80% das vezes. A doença cursa com anemia, leucopenia com linfocitose relativa, trombocitopenia, hipergamaglobulinemia, hipoalbuminemia e elevação da velocidade de hemossedimentação (4, 28, 124).

Caso o paciente com manifestações de LV clássicas não seja tratado poderá evoluir para caquexia, desnutrição protéico-calórica grave, edema de membros inferiores e apresentar manifestações hemorrágicas tais como: epistaxes, gengivorragia e petéquias, tornando-se susceptível a infecções e podendo evoluir rapidamente para o óbito (34, 106, 132).

As infecções bacterianas e as hemorragias são as **complicações** mais freqüentes que ocorrem na LV, que junto com anemia grave, febre por mais de 60 dias e diarréia são considerados sinais de mau prognóstico (185).

Outras manifestações clínicas que ocasionalmente são relacionadas com a LV são púrpura trombocitopênica, glomerulopatia assintomática, síndrome hemofagocítica, hepatite, colecistite e Síndrome Guillain-Barré (62, 80, 148).

A leishmaniose dérmica pós-calazar é uma entidade que ocorre na Índia, causada pela *L. donovani*, que pode ser considerada como recidiva ou falha no tratamento, manifestando-se por lesões de pele, inicialmente na face, podendo acometer mucosas, servindo de reservatório para infecção (190).

A **LV em pacientes com sorologia positiva para HIV** é uma doença oportunística, tendo sido incluída como um dos critérios definidores de AIDS. Pode ser reativação de uma infecção anterior ou ter sido adquirida recentemente (75). A

resposta ao tratamento, bem como a evolução e o prognóstico estão diretamente associados à condição imunológica do paciente (107). Pacientes com co-infecção e depleção de linfócitos CD4 podem apresentar dificuldade no diagnóstico clínico, má resposta ao tratamento e recidivas freqüentes (70, 126).

As manifestações clínicas na co-infecção podem ser semelhantes à LV clássica, porém, o paciente pode desenvolver rapidamente um quadro grave da doença. A esplenomegalia pode estar ausente devido à depleção dos macrófagos responsáveis pelo crescimento do baço. Outras manifestações são disseminação cutânea sistêmica, parasito em lesões do Sarcoma de Kaposi, síndrome de má-absorção e anemia aplásica (109, 134).

A infecção pode estar presente na pele, nas vísceras e em outros órgãos. Podem ocorrer lesões nodulares e ulcerativas na língua, esôfago, reto, laringe e pulmões. A LV facilita a instalação de doenças oportunistas e diminui a expectativa de vida de pessoas HIV positivas (123).

## **2.8 Diagnóstico**

O diagnóstico da LV em humanos é baseado em manifestações clínicas clássicas, epidemiologia compatível, associados à identificação de amastigotas em esfregaço ou teste sorológico positivo (29, 67, 74). O diagnóstico laboratorial pode ser inespecífico e específico. Entre os específicos encontram-se os métodos parasitológico, imunológico e molecular.

### **Diagnóstico laboratorial inespecífico**

O hemograma apresenta depleção de todas as linhagens celulares com anemia, que, conforme a evolução da doença, vai se acentuando, além de leucopenia com predomínio de células linfomononucleares e trombocitopenia. A velocidade de hemossedimentação encontra-se elevada (106).

No exame bioquímico observa-se que as proteínas totais e frações apresentam inversão da relação albumina/globulina, com hipergamaglobulinemia, podendo ocorrer aumento discreto das aminotransferases, das bilirrubinas, da uréia e da creatinina (97).

## Diagnóstico parasitológico

O diagnóstico parasitológico é feito em material obtido por biópsia ou por punção aspirativa do baço, fígado, medula óssea e linfonodos (175). O material é utilizado para realização de esfregaço, impressão em lâminas, análise histológica, isolamento em meios de cultura ou inoculação em animais de laboratório (67). Estes procedimentos necessitam de ambiente apropriado por serem invasivos, com isto, não são utilizados em estudos epidemiológicos (67).

As técnicas parasitológicas apresentam 100% de especificidade, mas a sensibilidade varia em função do tipo de material biológico coletado, da carga parasitária existente e da técnica de diagnóstico parasitológico utilizada (58, 123). A punção aspirativa esplênica é a mais sensível, variando de 90 a 95% de positividade, porém, a punção medular é considerada a técnica de escolha devido ao menor risco de complicações e simplicidade na sua execução (74, 106). As colorações utilizadas para visualização das formas amastigotas no exame microscópico direto, podem ser Giemsa, Leishman e Panóptico. A sensibilidade desse exame é variável (70 a 96,6%), dependendo da densidade parasitária, do tempo de visualização da lâmina e da experiência do observador (8, 166).

O **isolamento em meio de cultura** aumenta a probabilidade de detecção do parasito (123). Esta técnica apresenta positividade superior a 60% (8). O meio mais empregado para cultivo é o meio NNN. Pode ser utilizado também o LIT ou de Schneider. Eles aumentam e aceleram a positividade da cultura. Os tubos semeados necessitam ser mantidos à temperatura de 22°C por 1 a 4 semanas, mas, geralmente, os parasitos são detectados na primeira semana (106).

A **inoculação em animais susceptíveis** é usualmente realizada em hamsters (*Mesocricetus auratus*). Após um período de 30 a 90 dias, estes exibem

sinais de leishmaniose visceral, com encontro dos parasitos no baço e fígado (8). Esta técnica é pouco utilizada por ser cara, trabalhosa e demorada (14).

## Diagnóstico imunológico

Diversos métodos de imunodiagnóstico para mensurar anticorpos têm sido desenvolvidos para o diagnóstico da LV. Estes testes são pouco invasivos, porém, apresentam restrições que limitam o seu uso (190). Os testes diferem em sua sensibilidade e especificidade, podendo permanecer positivos por longo período após o tratamento e em vigência somente de infecção assintomática. Os resultados devem ser interpretados associados com as manifestações clínicas, lembrando que podem ocorrer reações cruzadas com outras doenças, principalmente leishmaniose tegumentar, doença de Chagas, malária, esquistossomose e tuberculose pulmonar (67).

Os testes mais utilizados no Brasil são o de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e o ensaio imunoenzimático *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). A RIFI é um método sorológico muito utilizado em estudos sobre leishmanioses e pode auxiliar no diagnóstico laboratorial, sobretudo em casos nos quais não é possível encontrar o protozoário (32, 103). O método apresenta especificidade superior a 70%, necessitando de pessoa treinada para realizá-lo. O resultado é normalmente expresso em diluições, sendo considerados positivos títulos acima de 1:80 (106, 183).

O ensaio imunoenzimático, em geral, apresenta maior sensibilidade (90 a 100%) e especificidade (85 a 94%) do que a RIFI que apresenta sensibilidade superior a 90% (183). O método ELISA possibilita o processamento de um grande número de amostras em curto intervalo de tempo e pode propiciar a possibilidade de uso em condições de campo, sendo, porém, considerado pouco menos específico. Utiliza antígenos de promastigotas lisados ou intactos e o resultado é lido por densidade óptica mensurada. É expresso em unidades de absorvância a um raio de luz (106). Atualmente, há uma tendência de utilização de antígenos purificados ou recombinantes, que assegurem maior sensibilidade e especificidade aos testes. Antígenos purificados (glicoproteínas de membrana do parasito) e recombinantes, como o **rK39**, têm sido utilizados no teste ELISA com bons resultados (155,191).



O Teste de Aglutinação Direta (**DAT**) apresenta alta sensibilidade (91 a 100%) e boa especificidade (72 a 100%), não necessitando de equipamentos especializados. A limitação do teste é o longo período de incubação (18 horas), os problemas com o controle da qualidade do antígeno e a baixa reprodutibilidade do teste (67, 190).

O **Teste Rápido Anticorpo *Leishmania donovani*** (TRALd) é um teste imunocromatográfico, que utiliza o antígeno rk39 fixado em papel, para detecção de anticorpos circulantes, no soro e no sangue, podendo ser usado para monitorar resposta ao tratamento (168). É o antígeno mais promissor para o diagnóstico da LV. O TRALd é um teste de leitura rápida, geralmente 10 minutos após a execução, o que agilizará o diagnóstico, podendo ser usado em trabalhos epidemiológicos. Este teste demonstrou alta sensibilidade (90 a 100%) em pacientes sintomáticos e especificidade variável de acordo com a região geográfica (114).

## Diagnóstico molecular

O diagnóstico molecular é baseado na detecção e análise dos ácidos nucléicos do parasito, com amplificação de regiões do DNA do cinetoplasto, sendo denominado Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). O material pode ser obtido de vários tipos de espécimes como medula óssea, aspirado de linfonodo, sangue, entre outros. A PCR tem sido utilizada principalmente em pesquisas por ser um exame dispendioso, necessitando de laboratório específico para a realização do exame (170).

**A PCR é uma técnica altamente sensível e específica, entretanto os resultados podem variar em função do método de extração de DNA aplicado e do DNA alvo utilizado para amplificação, tendo em vista que métodos utilizam *primers* para amplificação do DNA mitocondrial parecem ser mais sensíveis que os que utilizam DNA genômico (81).**

Teste de imunidade celular

A **Intradermorreação de Montenegro** é uma reação que avalia a hipersensibilidade tardia aos antígenos de leishmania na qual injeta-se extrato solúvel de parasitos mortos na face interna do antebraço e procede-se a leitura após 24 a 48 horas. Não é utilizada na LV porque, em geral, é negativa durante a forma clássica da doença, tornando-se positiva somente após a cura clínica do paciente (107).

## **2.9 Tratamento**

Avanços significativos têm surgido no tratamento da LV. Até o início da década de 90 o tratamento se limitava aos antimoniais pentavalentes. A partir de então estudos clínicos com novas opções terapêuticas têm sido desenvolvidos, incluindo drogas orais, drogas endovenosas tratadas por curto período, menos tóxicas, com bons resultados, mas não existe até o momento nenhuma que substitua com vantagens o antimonial (115).

### **Antimoniais pentavalentes**

Gaspar Vianna, em 1913, usou sal do antimonial trivalente para o tratamento de leishmaniose tegumentar (184). Os derivados pentavalentes foram introduzidos na década de 40 e, desde então têm sido a droga de escolha no tratamento da LV.

Estes foram utilizados no mundo todo para o tratamento das leishmanioses, com alta eficácia, sendo recomendado pela Organização Mundial de Saúde (63).

Existem atualmente duas apresentações dos antimoniais, o **Stibogluconato de sódio** e o **antimoniato de N-metil-glucamina**. O antimônio utilizado no Brasil é o antimoniato de meglumina que contém 81 mg/Sb<sup>5</sup> por ml. A dose preconizada é 20 mg/kg/dia até o máximo de três ampolas podendo ser usada via endovenosa ou intramuscular por um período de 20 a 40 dias (106). A droga apresenta atividade leishmanicida, atuando nas formas amastigotas do parasito, inibindo sua atividade glicolítica e a via oxidativa de ácidos graxos (63, 106). Estudos comparativos no Brasil demonstraram que o antimoniato de meglumina é menos tóxico e mais eficaz do que o estibogluconato de sódio BP88. (47, 147).

Estes antimoniais apresentam reações adversas que podem se manifestar de forma leve a grave, podendo ser até fatal, principalmente com pacientes imunossuprimidos (121, 149, 151). As reações adversas mais freqüentemente apresentadas são febre, mialgia, artralgia, cefaléia, hiporexia, náuseas, vômitos e cardiotoxicidade. Porém relatos de pancreatite e insuficiência renal têm sido cada dia mais evidenciados (64, 87). A cardiotoxicidade dos antimoniais se manifesta por alterações eletrocardiográficas (ECG), onde se observam prolongamento do intervalo QT, alterações inespecíficas de repolarização (achatamento ou inversão de onda T) e podem ser fatais, independente de doença cardiovascular subjacente (121, 140). No Brasil, o tratamento da LV em gestantes com antimoniais não é recomendado pela possibilidade de efeitos teratogênicos e toxicidade para o feto. A droga atravessa a barreira placentária e pode impregnar o sistema nervoso central do feto levando a variados graus de retardo mental (21, 60).

A resistência aos antimoniatos pentavalentes tem ocorrido principalmente na região de Bihar, na Índia, onde 60% dos doentes não respondem à droga. Estudos têm demonstrado que o tipo de resposta ao tratamento depende de diversos fatores, como variações da sensibilidade do parasito, podendo ser interespecífica ou intraespecífica e do estado imunológico do hospedeiro que irá receber o tratamento (63). Estas diferenças são observadas principalmente com a *L. donovani*, apresentando um ciclo de transmissão antroponótico quando comparada com a *L. infantum* ou *L. chagasi* com o seu ciclo zoonótico (44).

## Anfotericina B

A anfotericina B, considerada a segunda opção no tratamento da LV, é a droga mais efetiva nos pacientes que não respondem aos antimoniais, porém seu uso é limitado por se tratar de uma droga tóxica e pela necessidade de infusão endovenosa lenta por quatro horas. A sua ação se dá por meio da ligação com ergosterol presente na membrana plasmática da célula, ocasionando poros que alteram o seu balanço iônico, resultando em morte celular (44, 50).

A anfotericina B utilizada atualmente é o **desoxicolato de anfotericina B**, com posologia habitual de 0,5 a 1 mg/kg/dia, até o máximo de 3g de dose total para os adultos, e, nas crianças, de 15 a 25mg/kg de peso dose total, em dias alternados (105). Vários estudos demonstraram que este medicamento pode ser utilizado em doses menores, sem prejuízo da efetividade, com menor toxicidade (27, 178). Um estudo de caso-controle realizado em Teresina demonstrou que na ausência de resposta aos antimoniais e necessidade de se utilizar a Anfotericina B, os fatores preditores foram crianças abaixo de um ano de idade, pacientes que tinham co-infecção ou faziam uso de antibióticos (152).

Segundo dados do Ministério da Saúde, quando o paciente for gestante ou apresentar sinais de gravidade, o desoxicolato de anfotericina B deve ser a droga de primeira escolha, com o intuito de reduzir a letalidade por LV (105). Os sinais de gravidade são idade inferior a seis meses ou superior a 65 anos, desnutrição grave, co-morbidades, incluindo infecções bacterianas, fenômenos hemorrágicos, edema generalizado e sinais de toxemia.

As reações adversas causadas pela anfotericina B podem ocorrer durante a infusão como febre alta, calafrios, cefaléia, vômitos, hipotensão e mialgia, ou serem decorrentes de toxicidade da droga como cardiotoxicidade, hipocalcemia, insuficiência renal com poliúria e acidose metabólica. Existem relatos de hemólise e toxicidade na medula óssea levando a anemia. A tromboflebite é freqüentemente relatada devido à lesão do epitélio endotelial (190).

As formulações lipídicas à base de anfotericina B são os mais recentes avanços no tratamento da LV. As formulações disponíveis comercialmente são

**anfotericina B lipossomal e anfotericina B dispersão coloidal.** A droga que apresentou o melhor índice de eficácia/inocuidade foi a anfotericina lipossomal (50). A anfotericina B lipossomal é facilmente tolerada, com baixa concentração renal, o que minimiza a nefrotoxicidade. Esta apresenta uma meia-vida plasmática longa, sendo possível administrar uma dose maior de anfotericina e tratar o paciente em curto período de tempo, com eficácia próxima de 100% (174). A mesma é utilizada na dose de 3mg/kg/dia por 5 a 7 dias, pela via endovenosa, em dose única diária, por 30 a 60 minutos (105). Estão disponíveis comercialmente, porém o alto custo é o fator limitante para a utilização em larga escala. O Ministério da Saúde do Brasil tem disponibilizado a formulação lipídica da anfotericina B de forma restrita. A droga é recomendada quando o paciente apresenta falha terapêutica ou toxicidade ao desoxicolato de anfotericina B, em pacientes transplantados renais ou com insuficiência renal (105).

### **Pentamidina**

A pentamidina é usada como droga de terceira escolha nos casos de falência ao tratamento com antimoniais. A droga foi utilizada em grande escala na Índia na dose de 4mg/kg/dia por 20 a 30 dias. A eficácia da pentamidina tem declinado (70%) e a grave toxicidade apresentada como o *diabetes mellitus* insulino-dependente ocorrendo em 4-12% dos casos e o seu alto custo têm limitado a sua utilização (108, 174).

### **Paromomicina (aminosidina)**

A paromomicina é um antibiótico aminoglicosídeo que tem sido usado combinado ou isoladamente com antimoniais no tratamento da LV na Índia, com bons resultados e baixa toxicidade (174). Este é usado por via intramuscular, na dose de 16 a 21mg/k/dia por 21 dias variando de 93% a 97% de efetividade, em regiões de alta resistência aos antimoniais (115). Embora não tenham sido descritas toxicidades renal ou hepática há relatos de distúrbios auditivos (122).

## **Miltefosina**

Originalmente desenvolvido como droga antineoplásica, o miltefosina tem demonstrado atividade leishmanicida. É uma droga que ainda está em fase experimental no Brasil, mas já liberada na Índia. A sua apresentação é oral, com eficácia de 100%. Seis estudos sobre o esquema terapêutico adequado foram preconizados, sendo 100mg/kg/dia por 28 dias o esquema proposto onde se observou maior efetividade (173). Embora a sua liberação esteja sendo muita esperada devido a conseqüente redução das internações, esta droga é teratogênica, não podendo ser usada durante o período gestacional, o que complicaria o seu uso em mulheres adolescentes e adultas (122).

As reações adversas apresentadas foram efeitos gastrintestinais como vômitos, náusea e diarreia, toxicidade hepática e renal (19, 122, 173). Os riscos de toxicidade e uso irregular da medicação, por ser de administração oral e domiciliar, são fatores limitantes ao sucesso desta terapêutica (122).

## **Outras drogas em estudo**

A sitamaquina (WR6026) é um análogo da primaquina, também de uso oral. Esta apresenta diversos efeitos colaterais como metaemoglobinemia, nefropatias, e até o momento tem demonstrado baixa eficácia (52, 115).

Os azóis como o cetoconazol, triazóis, itraconazol e o fluconazol têm efeito na leishmânia bloqueando a síntese de ergosterol. Entretanto, estes necessitam de mais estudos para comprovar a efetividade no tratamento da LV (44).

O interferon gama, como coadjuvante dos antimoniais, pode acelerar ou melhorar a resposta ao tratamento, desde que não haja resistência aos antimoniais (74).

## **Crítérios de cura**

Considera-se o paciente curado quando apresenta melhora clínica evidente e regressão das alterações laboratoriais após o tratamento, independente do controle

parasitológico. O desaparecimento da febre, o que geralmente ocorre até o quinto dia, e há redução do volume do baço e do fígado durante as primeiras semanas de tratamento, consideram-se sinais de boa resposta terapêutica. A normalização dos exames laboratoriais pode demorar meses. O paciente deve ser acompanhado durante doze meses. Após este período será considerado curado. Caso ocorra manifestação da LV antes de um ano, o caso é considerado como recidiva da doença (106).

## **2.10 Prevenção e Controle da Doença**

As atividades de controle da LV no país envolvem os três elos da cadeia de transmissão: o vetor, o reservatório doméstico e o homem. Estas atividades envolvem a aplicação de inseticidas de ação residual, diagnóstico e eliminação dos cães sorologicamente positivos para LV, diagnóstico precoce e tratamento adequado dos casos humanos e ações de educação em saúde dirigidas à equipe e à população (106). Dificuldades técnicas como resistência e toxicidade das drogas anti-leishmanicidas, resistência ao inseticida, limitações financeiras e dificuldades operacionais têm impedido o progresso efetivo do controle da LV (33). A primeira campanha para o controle da leishmaniose visceral foi criada em 1953 pela Divisão de Organização Sanitária do Departamento Nacional de Saúde pertencente ao Ministério da Educação e Saúde e coordenada pelo médico sanitário Dr. Joaquim Eduardo de Alencar. Esta Campanha foi implantada devido à epidemia de LV em Sobral, no Ceará e mantida com relativo sucesso até a década de 60 quando são interrompidas as medidas preconizadas (144). Estas medidas tinham como objetivo quebrar os elos epidemiológicos da cadeia de transmissão da doença. A partir de 1980 começam a aumentar o número de casos e surgir novas áreas autóctones (111).

Para diminuir o risco de transmissão, devem ser incentivadas as medidas de proteção individual tais como: o uso de repelentes, telas em portas e janelas, mosquiteiros com malha fina e evitar exposição de áreas corpóreas no crepúsculo e à noite (106). Em países em desenvolvimento o uso de repelentes e mosquiteiros de

malha fina reduziu significativamente os casos de LV, principalmente onde o ciclo de transmissão é antroponótico (49, 75, 114).

A adequada limpeza de quintais, ruas, praças públicas e destino adequado do lixo evitam o estabelecimento de criadouros de formas imaturas do vetor (106). Outra medida preconizada para a população canina é o recolhimento de cães errantes. O controle do vetor recai sobre o uso de inseticidas. Utilizou-se o DDT por muitos anos, com considerável sucesso, devido ao seu baixo custo, alta eficácia e ação residual, porém é tóxico, com conseqüências ao meio ambiente e ao ser humano. O uso dos piretróides por aspersão espacial ou por aplicação residual é feito quando se confirma um caso humano de LV em área de instalação recente da doença, aumento da incidência ou incidência cumulativa maior que 5 casos por 100 mil habitantes (40). Os estudos sobre o controle biológico de *Lu. longipalpis* estão em andamento. O uso da gregarina para reduzir a longevidade, a produção de ovos e a destruição de colônias de *Lu. longipalpis* em laboratório foi efetivo, porém, deve-se aprofundar as pesquisas sobre a efetividade desta substância (86).

No Brasil, uma das recomendações para controle da LV é a eliminação de cães que são soropositivos para *Leishmania (L.) chagasi*, assim como em regiões endêmicas do Mediterrâneo e China (6). Esta estratégia é controversa, considerada inaceitável socialmente, com muitos aspectos relacionados à infecção canina desconhecidos (125, 127, 177). Alguns estudos têm demonstrado que a eliminação de cães como controle da LV não tem sido eficaz, como visto no Espírito Santo (51).

O tratamento de cães não é permitido em alguns países, entre eles o Brasil e a Venezuela, e, mesmo quando realizado em outros países, sua resposta é insatisfatória apesar da resistência dos donos dos cães e dos médicos veterinários (7, 139, 189).

Quanto às medidas preventivas preconizadas para o reservatório canino, a coleira impregnada com deltametrina a 4% protege o cão dos insetos por seis meses em até 85% dos casos (78, 96). Em estudo recente no Brasil deduziram que o impacto na redução da infecção canina com o uso da coleira seria de 64% em cinco anos, o que seria mais eficaz do que a eutanásia no cão, que reduz a infecção canina em 45% (136). As coleiras com inseticidas são efetivas, porém, inviáveis em larga escala, servindo como proteção individual do cão (106).



Recentemente, pesquisadores da Universidade Federal do Rio de Janeiro desenvolveram uma vacina constituída de uma fração glico-proteica (Fucose-Manose-Ligand) de *L. donovani* (154). A vacina que recebeu o nome de Leishmune® está sendo comercializada, com autorização do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, desde janeiro de 2004. Entretanto, como não foram realizados estudos com relação ao impacto na incidência humana e canina, nem estudos de custo/efetividade e custo/benefício, o Ministério da Saúde determinou a não utilização da vacina como medida de controle de LV no Brasil (67, 107).

Para que ocorra o adequado tratamento dos casos humanos de LV, o Ministério da Saúde tem investido em capacitação dos recursos humanos que irão atender e realizar os exames laboratoriais no atendimento primário e secundário do Sistema Único de Saúde, além de suprir as Unidades com materiais para diagnóstico clínico, laboratorial e fornecer os medicamentos para o tratamento, visando melhorar a resolutividade, contribuir para o diagnóstico e tratamento precoce, reduzindo, assim, a letalidade (106).

Quanto à utilização de vacinas para proteção em massa de populações sob risco muitos estudos têm sido realizados com parasitos inteiros mortos ou atenuados e também com proteínas, antígenos de membrana (glicoproteínas 63 e 64, lipofosfoglicano) e frações purificadas de *Leishmania*, “in vitro” ou em modelos murinos, entre outras, com o objetivo de se obter uma vacina protetora contra a LV em humanos. Entretanto, em virtude dos resultados apresentados até o momento não serem conclusivos, a utilização de vacina no Brasil e em outras áreas endêmicas no mundo está condicionada à demonstração da eficácia pelas pesquisas em andamento. (43, 66, 163, 172).

Muitas críticas têm sido feitas quanto à eficácia da eliminação dos cães comprovadamente infectados devido ao grande número de cães errantes infectados, sem diagnóstico. A falha deste método resultou numa expectativa maior em relação ao controle do vetor, buscando inseticidas mais eficazes, porém menos nocivos ao meio ambiente e ao homem (86). O controle da LV adequado depende do surgimento de vacinas eficazes e convenientes, associados a drogas não tóxicas (33).

### **3. JUSTIFICATIVA**

A Leishmaniose visceral americana era considerada uma zoonose restrita a áreas rurais e periurbanas. Com a emergência de focos da doença em áreas urbanas, a LV

vem assumindo um importante papel na saúde pública do Brasil (94, 98).

Esta entidade clínica está entre as patologias de maior impacto mundial sendo uma das doenças negligenciadas pela indústria farmacêutica, posto que seu tratamento está mantido há quase 100 anos (188). A LV encontra-se atualmente em franco processo de expansão e urbanização, sendo registrada em 20 dos 27 estados brasileiros (57).

Vários focos epidêmicos desta doença vêm sendo registrados em diversas áreas urbanas do País, tais como Teresina (PI), São Luis (MA), Fortaleza (CE), Natal (RN), Aracaju (SE), Belo Horizonte (MG), Santarém (PA) e Corumbá (MS), com média anual de aproximadamente 3.156 casos nos últimos dez anos (106). O coeficiente de incidência da LV tem alcançado 20,4/100 mil habitantes em algumas localidades de Estados nordestinos, como Piauí, Maranhão e Bahia (61). O Estado de Mato Grosso do Sul, apesar de relatos esporádicos no início do século passado, apresenta autoctonia há 25 anos, na região de Corumbá. Desde então, diversos trabalhos foram feitos estudando-se a fauna flebotomínea e o reservatório canino, porém, estudos na população humana, sua evolução e a urbanização da LV não haviam sido descritos.

No Mato Grosso do Sul tem-se verificado o aumento do número de casos da doença, com ampliação de sua área de ocorrência. A doença, que era observada numa freqüência de 1,2 casos para cada 100.000 habitantes em 2000, assumiu proporções preocupantes, com um coeficiente de incidência de 10,5 casos para cada 100.000 habitantes, em 2005, e uma taxa de letalidade de 10% (157). O município de Três Lagoas, que se localiza em uma planície na região leste do Estado de Mato Grosso do Sul, fazendo divisa com o Estado de São Paulo, presenciou, no final de 2000, a introdução da LV de forma abrupta, expandindo-se por toda a cidade, sem poupar domicílios com infra-estrutura adequada, com manifestações clínicas graves surgindo rapidamente, muitas vezes, evoluindo para o êxito letal. Simultaneamente, em pacientes do Hospital Universitário, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul em Campo Grande, reações adversas ao tratamento com antimonial foram observadas em graus variáveis de gravidade, resultando algumas vezes em óbitos por consequência da droga.

Em face do problema e da necessidade urgente de conhecer as características clínicas, laboratoriais e epidemiológicas da LV em Mato Grosso do Sul, os resultados obtidos neste trabalho poderão auxiliar os órgãos responsáveis pelas ações de saúde, nas políticas de intervenção necessárias ao controle da leishmaniose visceral em território sul-matogrossense a fim de fornecer subsídios aos profissionais de saúde para realização de diagnóstico e tratamento precoces, com riscos menores, contribuindo assim para a prevenção e redução da letalidade por este agravo.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Geral**

Estudar as características clínicas, epidemiológicas, laboratoriais e terapêuticas da leishmaniose visceral humana em áreas de ocorrência recente da doença no Estado de Mato Grosso do Sul, no período de 2000 a 2005.

## **4.2. Específicos**

**4.2.1.** Descrever a expansão da LV no Estado de Mato Grosso do Sul.

**4.2.2.** Caracterizar clínica, laboratorial e epidemiologicamente os casos de LV ocorridos no município de Três Lagoas, Mato Grosso do Sul.

**4.2.3.** Estudar a prevalência das formas assintomática da LV humana em indivíduos moradores no mesmo domicílio de pacientes com a doença manifesta durante a epidemia ocorrida no município de Três Lagoas e identificar condições socioeconômicas e epidemiológicas dos mesmos.

**4.2.4.** Estudar clínica e laboratorialmente as reações adversas graves ao antimonialto de meglumina no Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande – MS.

## **5. CASUÍSTICA E MÉTODOS**

A casuística trabalhada, bem como as metodologias empregadas, encontram-se descritas nos respectivos artigos científicos, os quais são apresentados a seguir.

## **6. RESULTADOS**

**6.1. Trabalho 1** - “Leishmaniose visceral em Mato Grosso do Sul, Brasil: uma doença em expansão”. (Submetido à publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical).

**6.2. Trabalho 2** - “Foco emergente de leishmaniose visceral em Mato Grosso do Sul, Brasil”. (Aceito para publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical).

**6.3. Trabalho 3** - “Infecção assintomática por *Leishmania chagasi* em área de instalação recente da doença, Três Lagoas, MS”. (A ser submetido à publicação).

**6.4. Trabalho 4** - “Severe adverse reactions to meglumine antimoniate in the treatment of visceral leishmaniasis: report of 14 cases in Campo Grande (MS), Brazil”. (Submetido à publicação na Revista Journal of Infection).

## **TRABALHO N ° 1**

# **“Leishmaniose visceral em Mato Grosso do Sul, Brasil: uma doença em expansão”.**

Submetido para publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.

## **LEISHMANIOSE VISCERAL EM MATO GROSSO DO SUL, BRASIL: UMA DOENÇA EM EXPANSÃO.**

### ***VISCERAL LEISHMANIASIS IN THE MATO GROSSO DO SUL STATE, BRAZIL: A DISEASE IN EXPANSION.***

Ana Lúcia Lyrio de Oliveira<sup>1 4</sup>, Maria Elizabeth Cavalheiros Dorval<sup>2</sup>, Elisa Teruya Oshiro<sup>2</sup>, Yvone Maia Brustoloni<sup>1</sup>, Rivaldo Venâncio da Cunha<sup>3</sup> e Márcio Neves Bóia<sup>4</sup>

#### **Resumo**

A leishmaniose visceral (LV) tem sido relatada no Mato Grosso do Sul desde 1911, ocorrendo esporadicamente até 1980, quando o município de Corumbá tornou-se área endêmica, sendo incriminado como vetor da doença a *Lutzomyia cruzi*. A LV permaneceu restrita a esta área até 1995. Neste período iniciou lentamente sua



expansão para municípios adjacentes, apresentando, atualmente, casos autóctones em 34 dos 77 municípios do Estado, porém com redução da letalidade de 12,5% para 7,4%.

**Palavras-chaves:** *Leishmaniose visceral. Epidemiologia. Mato Grosso do Sul.*

### **Abstract**

Visceral leishmaniasis (LV) has been reported in Mato Grosso do Sul since 1911, and it occurred sporadically until 1980, when Corumbá (a municipal district) became endemic area, *Lutzomyia cruzi* was considered as a vector of this disease. The LV remained restrict to this area until 1995. Since that, its expansion has spread slowly to the neighbouring districts, presenting now, autochthonous cases in 34 of the 77 districts of Mato Grosso do Sul, however, the lethality decreased of 12,5% to 7,4%.

**Key-words:** *Visceral leishmaniasis. Epidemiology. Mato Grosso do Sul.*

1. Departamento de Pediatria da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.
2. Departamento de Patologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.
3. Departamento de Clínica Médica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.
4. Departamento de Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ.

### **Endereço para correspondência**

Dra. Ana Lúcia Lyrio de Oliveira.

Rua Rui Barbosa 4273.

79002-368 Campo Grande, MS

Tel: (67) 3345-3200.

e-mail: [allyrio@nin.ufms.br](mailto:allyrio@nin.ufms.br)

A leishmaniose visceral (LV) constitui sério problema de saúde pública no Brasil e no mundo, pela alta letalidade na ausência de tratamento, como visto na epidemia do Sudão na década passada<sup>21</sup>. A mudança observada em seu perfil

epidemiológico é motivo de preocupação tanto nas áreas de ocorrência da parasitose como naquelas ainda indenes devido ao seu franco processo de expansão e urbanização no Brasil<sup>1 6 9</sup>.

O Estado de Mato Grosso do Sul possui uma área territorial de 358.158 km<sup>2</sup>, com uma população de 2.198.640 habitantes, sendo 84% em área urbana. Ele situa-se na rota de mercados potenciais de toda zona ocidental da América do Sul, fazendo fronteira com as Repúblicas da Bolívia e do Paraguai. A principal atividade econômica está representada pelo comércio e serviços, porém o setor agropecuário tem maior peso no processo de desenvolvimento da economia estadual, com o maior rebanho bovino do Brasil, com mais de 20 milhões de cabeças<sup>22</sup>.

### Antecedentes históricos da LV no Mato Grosso do Sul

A primeira referência sobre a ocorrência de LV no Estado coincide com o primeiro relato desta doença no País. O fato ocorreu em 1911, quando um imigrante italiano que residia em Porto Esperança, município de Corumbá, região oeste do Estado, foi encaminhado para tratamento no Paraguai e teve confirmação diagnóstica por viscerotomia *pós-mortem*<sup>11</sup>.

Três casos esporádicos foram relatados na década de 30 e 40 em áreas rurais, porém sem avanço da doença<sup>2 3 16</sup>.

Ressalta-se que Evandro Chagas, em 1937, ao visitar a região de Camapuã para confirmação do diagnóstico de uma criança de 9 anos<sup>16</sup>, e, não confirmando nenhum outro caso, caracterizou a doença como de transmissão silvestre, com o encontro de poucos flebotomíneos, descrevendo a área como não propícia ao desenvolvimento da LV<sup>3</sup>.

Após três décadas sem referência de LV no Estado, surgiram em 1980 em Corumbá, os primeiros casos humanos da doença e, em 1982, a notificação de cães infectados no município e a constatação da presença de *Leishmania chagasi* na região<sup>15 19</sup>. Nesse período houve também o encontro de uma raposa (*Cerdocyon thous*) infectada por esta espécie de parasito<sup>10</sup>.

No período de 1984 a 1986 em estudos da fauna flebotomínea na área urbana de Corumbá não se encontrou *Lutzomyia longipalpis* e verificou-se que 90% dos espécimes do centro da cidade eram *Lu. cruzi* e na periferia *Lu. forattinni*<sup>8</sup>. Em 1998, Santos e cols. relatam o encontro de *Lu. cruzi* infectada por *Leishmania chagasi*<sup>20</sup>.

O tratamento dos casos humanos, dedetização do intra e peridomicílio com casos da doença, diagnóstico e eliminação de cães soropositivos foram medidas adotadas no período, com relativo controle da doença.

A LV permaneceu restrita a esta área até 1995, quando iniciou lentamente a sua expansão para Miranda, Aquidauana e outros municípios adjacentes<sup>7</sup>.

### **A LV como problema de saúde pública**

O primeiro relato de cão parasitado no município de Campo Grande, capital do Estado com 734 mil habitantes, foi em 1998<sup>23</sup>. A partir deste encontro Oliveira e cols. iniciaram a busca de *Lu. longipalpis* no município com o encontro desta e de *Lu. cruzi* em 1999<sup>17 18</sup>. Na mesma época observou-se 23% de positividade em cães na região da Serra de Bodoquena, município de Bonito, em um assentamento do INCRA, com nítido predomínio de *Lu. longipalpis* no peridomicílio e abrigo de animais<sup>14</sup>.

A partir de 2001 houve franca expansão da doença, com 34 dos 77 municípios do Estado apresentando casos autóctones da LV (Fig. 1).

Estudos que vêm sendo realizados em áreas de ocorrência da parasitose demonstram a alta prevalência da infecção canina e a ampla distribuição das espécies *Lu. longipalpis* e *Lu. cruzi*, as quais podem ser incriminadas como transmissoras de *L. chagasi* no Estado<sup>4 13 18</sup>.

A doença apresenta características de urbanização, ocorrendo em várias áreas das cidades, sem poupar domicílios de médio e alto padrão socioeconômico, com adoecimento de pessoas desnutridas ou não, apresentando baixa carga parasitária e início precoce das manifestações clínicas, contrariando as características clássicas descritas por Deane<sup>5</sup>.

Assim como em outras regiões, o desmatamento devido à implantação de projetos agropecuários, o assentamento de trabalhadores rurais sem-terra, sem infra-estrutura adequada e o incremento no Estado dos agronegócios, com redução da população rural que se desloca para a periferia das cidades, podem justificar a extensa distribuição da doença<sup>1 17</sup>.

Um plano de intensificação das ações de controle da LV em Mato Grosso do Sul foi elaborado e desenvolvido desde julho de 2003, tendo como meta a redução das taxas de letalidade para 5% e 3% no primeiro e segundo ano, respectivamente. Para isso, entre outras ações, foram classificados os municípios quanto ao tipo de transmissão de acordo com a normatização adotada pelo Ministério da Saúde<sup>12</sup>,

elaborado um plano de capacitação em Entomologia, capacitação de médicos em diagnóstico e tratamento e aperfeiçoamento de profissionais para o diagnóstico canino, campanhas publicitárias e criação de um boletim informativo na página eletrônica do governo estadual<sup>13</sup>.

Observou-se discreto aumento do número de casos de LV, porém com redução na letalidade, que, apesar de alta, caiu de 12,6% em 2003 para 7,4% em 2005, refletindo a eficiência das medidas adotadas (Fig 2).

A doença que era observada numa frequência de 1,2 casos para cada 100.000 habitantes em 2000, assumiu proporções preocupantes, com um coeficiente de incidência de 10,5 casos para cada 100.000 habitantes, no ano de 2005. Como assinalado anteriormente, Campo Grande concentra um terço da população do Estado, mas é responsável por aproximadamente 50% dos casos de LV.

Novos estudos estão sendo realizados, para que se possa entender os mecanismos que levam à manutenção do quadro e propor estratégias efetivas de controle da doença.

## Referências Bibliográficas

1. Arias JR, Monteiro P, Zicker F. The re-emergence of visceral leishmaniasis in Brasil. *Emerging Infectious Diseases* 2:145-146, 1996.
2. Arruda W, Costa FC, Nahas S, Rosenfeld G. Leishmaniose visceral americana. *Brazil-Médico* 63:64-65, 1949.
3. Chagas E, Chagas AW. Notas sobre epidemiologia da leishmaniose visceral americana no Mato Grosso. *O Hospital* 13:471-480, 1938.
4. Cortada VMCL, Dorval MEC, Souza-Lima MAA, Oshiro ET, Meneses CRV, Abreu-Silva AL, Cupolilo E, Souza CSF, Cardoso FO, Zaverucha do Valle T, Brazil RP, Calabrese KS, Gonçalves da Costa SC. Canine visceral leishmaniosis in Anastácio, Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Veterinary Research Communications* 28:365-374, 2004.
5. Deane LM & Deane MP. Visceral leishmaniasis in Brazil: geographical distribution and transmission. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 4:198-212, 1962.

6. Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 27:305-318, 2004.
7. Fundação Nacional de Saúde. Leishmaniose visceral (LV). Coordenação Regional de Mato Grosso do Sul - Boletim Interno, 2002.
8. Galati EAB, Nunes VLB, Rego Jr FA, Oshiro ET, Chang MR. Estudo de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista de Saúde Pública* 31:378-390, 1997.
9. Gontijo CMF, Melo MN. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro clínico, desafios e perspectivas. *Revista Brasileira de Epidemiologia* 7:338-349, 2004.
10. Mello DDA, Rego Jr. FA, Oshiro E, Nunes VLB. *Cerdocyon thous* (L.) (Carnivora, Canidae) naturally infected with *Leishmania donovani chagasi* (Cunha & Chagas, 1937) in Corumbá (Mato Grosso do Sul State, Brazil). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 83:259, 1988.
11. Migone LE. Um cas de kala-azar à Assuncion (Paraguay). *Bulletin de la Société Pathologie Exotique* 6:118-120, 1913.
12. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Série A, Normas e Manuais Técnicos, Brasília, 2003.
13. Ministério da Saúde.  
[http://www.saude.ms.gov.br/Saude/Destaques/Leishmaniose visceralAmericana.htm](http://www.saude.ms.gov.br/Saude/Destaques/Leishmaniose%20visceralAmericana.htm), 2004.
14. Nunes VLB, Galati EAB, Nunes DB, Zinezzi RO, Savani ESMM, Ishikawa E, Camargo MCGO, D´Auria SRN, Cristaldo G, Rocha HC. Ocorrência de leishmaniose visceral canina em assentamento agrícola no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 34:301-302, 2001.
15. Nunes VLB, Yamamoto YY, Rego Jr FA, Dorval MEC, Galati EAB, Oshiro ET, Rodrigues M. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral em cães de Corumbá, Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8:17-21, 1988.
16. Oliveira AC. Um caso de leishmaniose visceral americana. *O Hospital* 13:465-470, 1938.
17. Oliveira AG, Andrade Filho JD, Falcão AL, Brazil RP. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) na zona urbana da cidade de Campo

Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, 1999-2000. Cadernos de Saúde Pública 19:933-944, 2003.

18. Oliveira AG, Falcão AL, Brazil RP. Primeiro encontro de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) na área urbana de Campo Grande, MS, Brasil. Revista de Saúde Pública 34:654-655, 2000.

19. Rego Jr. FA, Nunes VLB, Pereira MJS, Cavalheiros MEM, Silva RP, Barros E. Ocorrência de casos de leishmaniose em cães no município de Corumbá-MS. In: Resumos do VIII Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, São Paulo p.2, 1983.

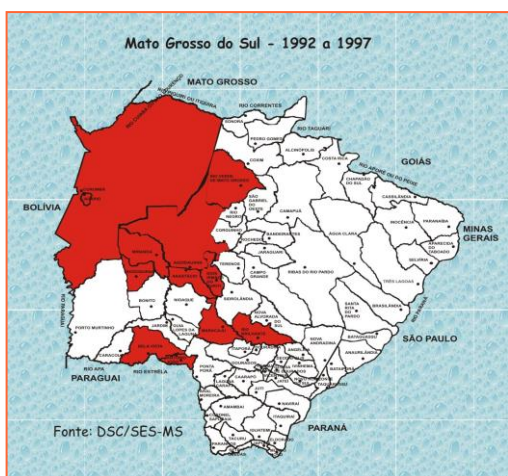
20. Santos SO, Arias J, Ribeiro AA, Hoffmann MP, Freitas RA, Malacco MAF. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American Visceral Leishmaniasis. Medical and Veterinary Entomology 12:315-317, 1998.

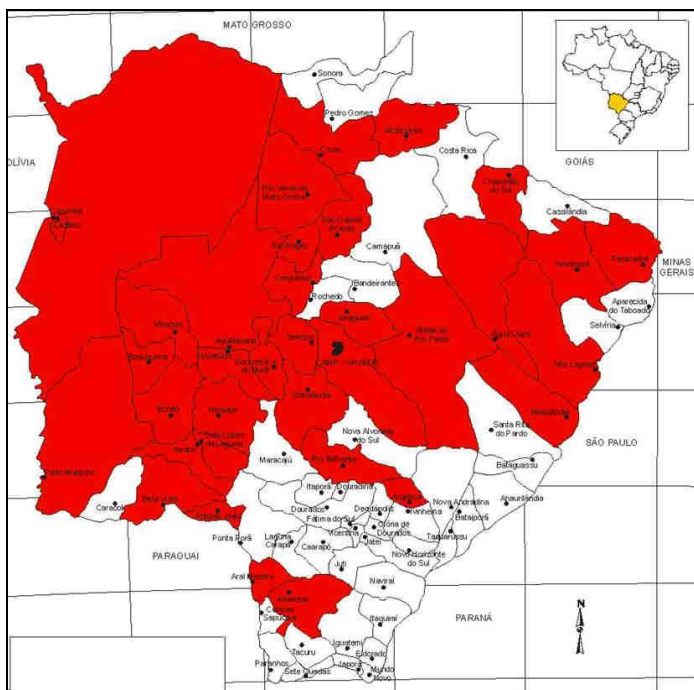
21. Seaman J, Mercer AJ, Sondorp E. The epidemic of visceral leishmaniasis in Western Upper Nile, Southern Sudan: course and impact from 1984 to 1994. International Journal of Epidemiology 25:862-871, 1996.

22. Secretaria de Planejamento de Ciência e Tecnologia. <http://www.secplant.ms.gov.br>, 2000.

23. Silva ES, De Carvalho FG, Silva, EA, Fiozi E, Oliveira AG, Brazil RP. Primeiro relato de leishmaniose visceral canina em área urbana do Município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 33:318-319, 2000.

Figura 1 - Distribuição da leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul de acordo com o período de ocorrência, 1992 a 2005\*.

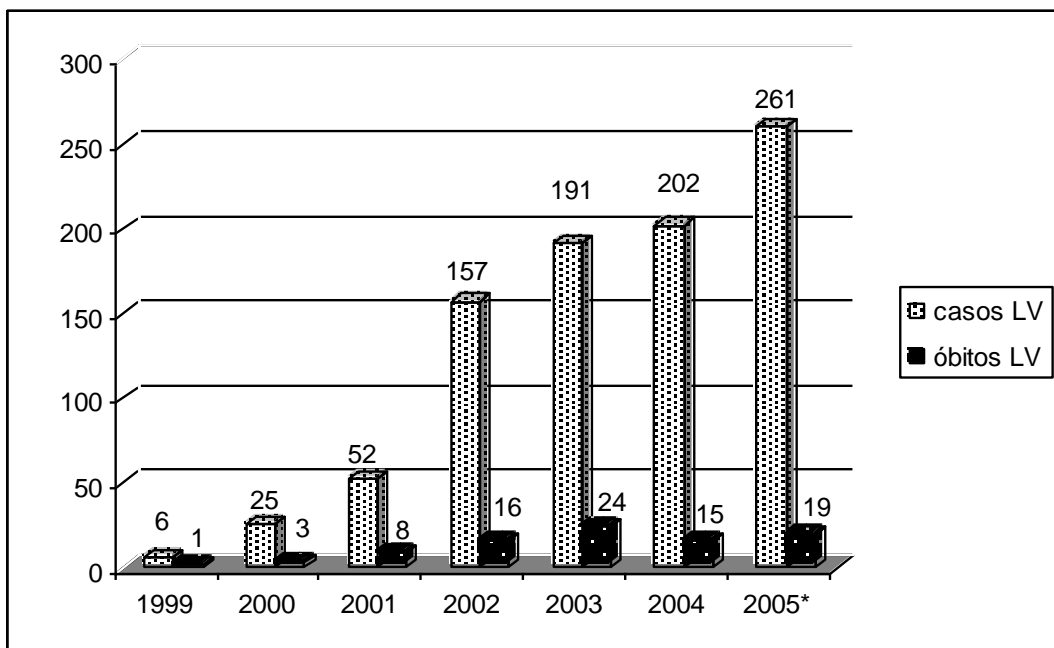




\* Dados parciais: até outubro de 2005.

Figura 2 – Distribuição por ano dos casos e óbitos por leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, no período de 1999 a 2005\*.





\* Dados parciais: até outubro de 2005.

## TRABALHO N ° 2

**“Foco emergente de leishmaniose visceral em Mato Grosso do Sul, Brasil”.**

Aceito para publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.

**FOCO EMERGENTE DE LEISHMANIOSE VISCERAL EM MATO GROSSO DO SUL, BRASIL**

***EMERGENT OUTBREAK OF VISCERAL LEISHMANIASIS IN MATO GROSSO DO SUL, BRASIL***

Ana Lúcia Lyrio de Oliveira<sup>1 5</sup>, Anamaria Mello Miranda Paniago<sup>2 5</sup>, Maria Elizabeth Cavalheiros Dorval<sup>3</sup>, Elisa Teruya Oshiro<sup>3</sup>, Cássia Rejane Leal<sup>4</sup>, Marcos Sanches<sup>2</sup>, Rivaldo Venâncio da Cunha<sup>2</sup> e Márcio Neves Bóia<sup>5</sup>

**1. Departamento de Pediatria da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.**

**2. Departamento de Clínica Médica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.**

**3. Departamento de Patologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.**

**4. Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.**

5. Departamento de Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ.

**Órgão financiador:** FUNDECT/DECIT.

**Endereço para correspondência**

Dra. Ana Lúcia Lyrio de Oliveira.

Rua Rui Barbosa 4273.

79002-368 Campo Grande, MS

Tel: (67) 345-3200.

e-mail: [allyrio@nin.ufms.br](mailto:allyrio@nin.ufms.br)

**Resumo**

Este trabalho, realizado a partir de outubro de 2000 até janeiro de 2003, descreve as características clínico-epidemiológicas da leishmaniose visceral (LV) em Três Lagoas, Mato Grosso do Sul. Foram confirmados 149 casos da doença, com predominância do sexo masculino (71,1%). A faixa etária mais acometida foi de 0 a 4 anos (42%). Quanto ao quadro clínico, estiveram presente febre (97,3%), esplenomegalia (85,9%) e anemia (75,8%). Em 32 (21,5%) pacientes ocorreu infecção associada, predominando a pneumonia. Sobre as

alterações laboratoriais observou-se mediana de hemoglobina de 8mg/dl e de leucócitos de 3.100 cél/mm<sup>3</sup>. O esfregaço de medula foi positivo em 90,6%. Dos 97,9% de pacientes tratados, 78,2% utilizaram antimoniato pentavalente. Ocorreram 8% de óbitos, metade deles portadores de infecção associada. O conjunto destes dados sugere mudanças no padrão fisiográfico de ocorrência da LV na localidade, com expansão e urbanização da doença, necessitando atenção para o diagnóstico e tratamento precoces.

**Palavras-chaves:** Leishmaniose visceral. *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Epidemiologia. Três Lagoas. Mato Grosso do Sul.

#### Abstract

This study, carried out from October 2000 to January 2003 describes the clinical epidemiological characteristics of visceral leishmaniasis (VL) in Três Lagoas, Mato Grosso do Sul State, Brazil. A total of 149 cases was confirmed, with a predominance of the male sex (71.1%), the principal age group was from 0 to 4 years (42%). The clinical picture included fever (97.3%), esplenomegaly (85.9%) and anemia (75.8%). Associated infections were seen in 32 patients (21.5%), pneumonia being most common. Changes registered in the laboratory included a median haemoglobin level of 8mg/dl and 3,100 leucocytes/mm<sup>3</sup>. Bone marrow smears were positive in 90.6% of patients. Of the 97.9% patients treated, 78.2% used pentavalent antimony. Mortalities summed 8% of cases, half of these with associated infection. Taken together, these data suggest changes in the physiographical occurrence of VL in the locality, with an expansion and urbanization of the disease, requiring greater attention for an early diagnosis and treatment.

**Key-words:** Visceral leishmaniasis. *Leishmania (L.) chagasi*. Epidemiology. Três Lagoas. Mato Grosso do Sul State. Brazil

Em todo o mundo, estima-se que mais de 350.000 novos casos de leishmaniose visceral (LV) surjam a cada ano, sendo esta considerada endêmica em mais de 72 países. Cerca de 90% de todos os casos de LV ocorrem em Bangladesh, Índia, Nepal, Sudão e Brasil<sup>12 41</sup>.

No Brasil, a LV representa um sério problema de saúde pública, com expansão da área geográfica de sua ocorrência, observando-se que na região Nordeste, em 1998, ocorreram 1.977 casos e em 2002, 3.102 casos<sup>27</sup>. Destaca-se ainda a reemergência da doença em localidades desta região, tais como Teresina PI<sup>3 9</sup> e São Luís MA<sup>3</sup>. A LV tem sido registrada em 19 estados com média anual de 3.156 casos, predominando na região Nordeste, com cerca de 77% do total de notificações<sup>27</sup>, destacando-se os Estados da Bahia, Ceará, Piauí e Maranhão<sup>23 39</sup>.

A primeira descrição de um caso humano, supostamente autóctone, do Continente Americano, comprovado parasitologicamente, ocorreu em 1911, em um imigrante italiano que, após viver treze anos em Santos, viajou para a região de Porto Esperança, Mato Grosso (hoje, Mato Grosso do Sul), onde ficou doente<sup>26</sup>. Após este relato, são esporádicas as menções sobre a existência da doença na zona rural de outras áreas do Estado de Mato Grosso do Sul<sup>4 8 30</sup>. Em outras regiões do país destaca-se a pesquisa realizada em 1942 em Pernambuco, Ceará e Bahia<sup>34</sup>, e os focos de Sobral CE<sup>1</sup> e Jacobina BA<sup>33</sup>.

A notificação de casos clínicos de LV em humanos a partir de 1980 no município de Corumbá, e o encontro de cães com aspecto sugestivo da doença, levaram à investigação desses animais, sendo esta a primeira confirmação parasitológica da doença no Estado<sup>29 36</sup>.

Inicialmente restrita aos municípios de Corumbá e Ladário, após 1995, paulatinamente, a LV disseminou-se para outras localidades, sendo registrada em 34 dos 78 municípios do Estado<sup>28</sup>. Observou-se um incremento no número de casos diagnosticados e nos coeficientes de incidência, com destaque para os municípios de Três Lagoas e Campo Grande, com taxas de incidência de 172,09 e 3,47 respectivamente, demonstrando o processo de expansão da doença e a sua gravidade em termos de saúde pública, tendo em vista também a letalidade média no Estado de 7,8%<sup>28</sup>.

Considerando, portanto, a instalação recente e a situação epidêmica da LV no município de Três Lagoas, o presente estudo teve como objetivo caracterizar clínica, laboratorial e epidemiologicamente os casos da parasitose ocorridos nesta localidade, no período de outubro de 2000 a janeiro de 2003.

## **Material e Métodos**

A cidade de Três Lagoas localiza-se em uma planície na região leste do Estado de Mato Grosso do Sul, fazendo divisa com o Estado de São Paulo ao leste, dista 324 km da capital, Campo Grande, com uma área territorial de 10.207 km<sup>2</sup>, na latitude de 20,75° e longitude de 51,67°<sup>19</sup>. O município possui 79.059 habitantes, com discreto predomínio do sexo feminino (40.124), desses habitantes 73.669 habitantes residem na área urbana. A densidade demográfica é de 7,73hab/km<sup>2</sup>. A sua fonte de renda principal é a pecuária<sup>19</sup>, e, há alguns anos a cidade tem recebido imigrantes devido à implantação de indústrias na região, com crescimento demográfico na localidade.

A distribuição por faixa etária no município é de 8,9% de habitantes entre 0 a 4 anos de idade, 9,5% de 5 a 9 anos, 20,4% de 10 a 19 anos, 17,3% de 20 a 29 anos, 15,2% de 30 a 39 anos, 12% de 40 a 49 anos, 7,7% de 50 a 59 anos e 8,9% com 60 anos ou mais<sup>19</sup>.

A cidade possui dois hospitais, 32 estabelecimentos de ensino fundamental, 13 estabelecimentos de ensino médio e dois campus universitários.

O clima do município é tropical quente e úmido, com estação chuvosa no verão e seca no inverno. O total anual de precipitações está compreendido entre 900 e 1.400mm. O trimestre mais chuvoso corresponde a novembro, dezembro e janeiro. A cobertura vegetal predominante é uniforme com campo limpo, cerrado e floresta perenifolia<sup>19</sup>.

Após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), foram estudados os 149 casos humanos de LV confirmados pela Secretaria Municipal de

Saúde de Três Lagoas no período de outubro de 2000 a janeiro de 2003.

Foram considerados casos confirmados de LV os pacientes que apresentavam manifestações clínicas da LV associados com esfregaço de medula óssea positivo ou sorologia pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)  $\geq 1: 80$ .

Os dados dos pacientes foram coletados a partir da Ficha de Notificação do SINAN/MS (Sistema Nacional de Agravos de Notificação/Secretaria de Estado de Saúde/MS), de prontuário médico do período de internação em dois hospitais da cidade (Hospital Nossa Senhora Auxiliadora e Hospital da Unimed), e do Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian em Campo Grande, que é o hospital de referência estadual para doenças infecciosas, e entrevista domiciliar. Na ficha de coleta de dados constavam: data e método do diagnóstico, idade, sexo, sintomatologia, exames clínicos, laboratoriais e o endereço. Os dados foram armazenados e analisados no programa EpiInfo versão 3.2.2.

***A identificação da espécie de Leishmania isolada foi realizada pela técnica de eletroforese de enzimas em gel de agarose, empregando protocolo previamente descrito<sup>11</sup>, utilizando 12 loci enzimáticos (G6PDH, MDH, IDHNADP, ME, 6PGDH, GPI, PGM, NH1, NH2, PEPD, MPI e ACON).***

## Resultados

A distribuição anual dos casos foi de dois casos a partir de outubro de 2000, 34 em 2001, 107 em 2002 e dois até janeiro de 2003. Assim, o maior número de casos ocorreu no ano de 2002, sendo que a incidência de LV no município foi de 1,83 casos em 1.000 habitantes neste período (Tabela 1).

Quanto à distribuição dos casos por bairro, observou-se um maior número de casos no Bairro Santa Rita com 10,1 casos em 1.000 habitantes, seguido pelo Bairro Vila Nova (3,9/1.000), Nossa Senhora Aparecida (2,3/1.000) e Colinos com 2,2/1.000 ( $p < 0,0001$ ).

A maioria dos casos ocorreu em pacientes na faixa etária de 0 a 4 anos (42/28,2%),

seguida pela de 30 a 60 anos (41/27,5%) conforme a Tabela 1. A Figura 1 compara a frequência de casos de LV e a distribuição por faixa etária na população total do município. Em relação ao sexo, 71,1% eram do sexo masculino, com predomínio no grupo economicamente produtivo.

As principais manifestações clínicas observadas no momento do diagnóstico estão apresentadas na Tabela 2. A febre foi o sinal presente em quase todos os casos (145/149) e o período de duração até o diagnóstico da doença variou de 3 a 87 dias, com 34% entre 11 e 20 dias, 15% entre 30 a 60 dias, 14% entre 21 e 30 dias, 11% entre 1 a 10 dias e 4% com mais de 60 dias. A esplenomegalia e a anemia também foram sinais quase sempre presentes. Infecção associada esteve presente em 32 pacientes (21,5%), sendo a pneumonia a mais freqüente, com 56,2% (18/32) dos casos.

Foram recuperados os exames hematológicos de 71 pacientes realizados no momento do diagnóstico (Tabela 3). Cento e trinta e oito pacientes foram submetidos ao aspirado de medula óssea para a pesquisa direta do parasito, que resultou positiva em 90,6% (125/138) após leitura de 3 a 5 lâminas. Vinte e seis amostras de sangue medular foram encaminhadas ao laboratório de Parasitologia da UFMS para cultivo em meio NNN/Schneider's medium e 23% apresentaram-se positivas. Os parasitos isolados foram identificados como *Leishmania (Leishmania) chagasi*.

Obteve-se positividade em 81,3% das 75 amostras submetidas à sorologia pela RIFI.

Quanto ao tratamento, 97,9% (147/149) foram tratados, sendo que 78,2% (115/147) utilizaram o antimoniato de meglumina na posologia e duração recomendadas, 18,4% (27/147) em posologia inadequada e 3,4% (5/147) fizeram uso de Anfotericina B.

Dos pacientes tratados, 88% (130/147) evoluíram para cura, 4,8% (7/147) apresentaram recidiva e 7,5% (11/147) foram a óbito. Dentre os doze óbitos ocorridos no período, um paciente recusou tratamento. Destes, 5 (45,4%) apresentaram doenças associadas: insuficiência renal crônica (2), diabetes mellitus (1), cardiopatia (1) e portador do vírus HIV (1). Dentre as complicações adquiridas durante a doença, cinco pacientes cursaram com pneumonia, dois evoluíram com insuficiência hepática, dois com insuficiência



renal aguda e três não tiveram causa definida para o óbito. Quanto à duração da febre, seis casos (50%) foram feitos os diagnósticos entre 11 e 20 dias. A taxa de letalidade média foi de 7,5 %, predominando acima de 60 anos com 23% (3/13), seguida por aquela de 30 a 60 anos com 14% (6/41) e abaixo de 4 anos com 7,1% (3/42). Quando se observa a taxa de mortalidade específica (12/79.059), o maior número permanece sendo acima de 60 anos (0,42/1.000), seguida pela faixa etária de 0 a 4 anos (0,28/1.000).

## Discussão

Os primeiros casos de LV no município de Três Lagoas foram notificados em 2000 e, assim como em todo o país, a distribuição da doença apresentou aumento do número de casos, com um pico observado em 2002. Isto decorre, provavelmente, devido a crescente expansão e urbanização da doença no Estado, com total desconhecimento da mesma e, conseqüentemente, dificuldades em relação ao seu diagnóstico<sup>13 24 27</sup>.

A LV está associada às profundas transformações ambientais antrópicas que favorecem a adaptação e formação de novos criadouros de flebotomíneos, agravadas por fatores socioeconômicos que conduzem um expressivo contingente da população rural a migrar para as periferias urbanas em condições precárias de habitação e de infra-estrutura sanitária, além de baixos níveis nutricionais<sup>22</sup>. Além disso, a cidade tem apresentado crescimento demográfico decorrente de processos migratórios secundários ao incremento industrial na região<sup>19</sup>, fato também já observado em outras localidades de ocorrência da doença como São Luís do Maranhão<sup>25</sup>.

O Bairro Santa Rita, situado na periferia da cidade onde ocorreram vários casos de LV, é habitado por moradores de baixa renda, desprovidos de rede de esgoto. A localidade sofreu significativo desmatamento em 2001 permitindo a observação de animais silvestres como gambás, raposas e tatus circulando pelas ruas, o que pode ser um fator de disseminação e maior circulação do parasito<sup>7 40</sup>.

Tais características, também presentes em outras regiões da cidade, permitem constatar a urbanização da doença, com a presença de animais domésticos, tais como cães, cavalos e galinhas. Ademais, a abundante área verde com o encontro de grandes

terrenos com árvores frutíferas e deposição de matéria orgânica no solo, propicia a procriação e a manutenção de flebotomíneos e favorece a adaptação destes vetores ao peridomicílio<sup>14 21 22 37</sup>.

A característica de preferência da LV pela população infantil<sup>6 16 35 39</sup>, também foi observada no presente estudo, no qual a parasitose predominou na faixa etária de 0 a 4 anos, com 28,2% de doentes. Ao observar a Tabela 1, que considera a população total infantil e adulta do município, pode-se constatar que realmente a doença preponderou em crianças, uma vez que a taxa de prevalência na faixa etária de 0 a 4 anos foi de 5,93 casos/1.000 habitantes, enquanto na faixa etária de 30 a 60 anos foi de 1,48 casos/1.000 habitantes.

Apesar da importância epidemiológica e de não totalmente esclarecido, a literatura aponta o sexo masculino como mais suscetível à parasitose<sup>27 31</sup>. Em Três Lagoas, ocorreu predomínio do sexo masculino, embora com uma similaridade entre os sexos nos dois extremos de idade, como também observado em Roraima<sup>16</sup>, em Minas Gerais<sup>20</sup> e em outras áreas de ocorrência da doença onde persiste o maior número de casos masculinos e também na população acima de 60 anos<sup>9 23 39</sup>. As manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes estão em consonância com as encontradas na literatura, com a esplenomegalia e as desordens hematológicas que a acompanham presentes em quase todos os pacientes<sup>2 6 15 18 31 32 35 38 39</sup>.

A febre foi encontrada em quase todos os pacientes, sendo um sinal para que, quando associado com hepatoesplenomegalia, se suspeite de LV em pacientes oriundos de área endêmica ou epidêmica. Na maioria dos casos, o diagnóstico foi feito com 11 a 20 dias de doença, compatível com revisão realizada em Palermo, Itália<sup>6</sup>, porém, mais precocemente que em outros estudos realizados no Brasil e em Malta, que relatam o tempo médio de 40 a 60 dias<sup>15 31 32 35</sup>.

A linfadenomegalia, achado comum na Índia e Sudão<sup>18 41</sup>, e que foi vista em 86% dos pacientes procedentes de Alagoas<sup>31</sup>, não foi observada nos pacientes estudados, assim como em outros trabalhos realizados no Brasil e na Itália<sup>2 6 16 31 38 39</sup>.

As alterações laboratoriais encontradas não diferem das observadas em pacientes de outras áreas de LV<sup>6 31</sup>.

Quanto ao tratamento, observou-se que os pacientes foram sensíveis ao antimoniato de meglumina, fato que não ocorre na Índia e outros países daquela região, que apresentam 60% de resistência ao medicamento<sup>1 17</sup>. Dentre os casos que apresentaram recidiva, 43% haviam feito tratamento de forma inapropriada, com dose insuficiente, do antimoniato, o que corrobora a eficácia do tempo e dose do medicamento preconizado pelo Ministério da Saúde e a Organização Mundial de Saúde<sup>27</sup>.

Quanto à mortalidade, 50% dos pacientes apresentavam patologia de base, o que pode ter contribuído para o êxito letal dos casos de LV. Em Três Lagoas, o primeiro paciente veio a óbito em 2000, antes mesmo da confirmação de casos autóctones no município. Ressalta-se o maior número de óbitos em 2002 (8/12), ano de maior incidência da doença, permitindo supor a falta de diagnóstico e tratamento precoces, assim como ocorrido em Belo Horizonte, onde a maior letalidade foi verificada no início da epidemia, possivelmente devido à demora no diagnóstico<sup>5</sup>. Por outro lado, a constatação da diminuição do número de casos em Três Lagoas sugere a organização do sistema de saúde local com vistas à resolução do problema<sup>28</sup>.

Em relação à idade dos óbitos, como encontrado em São Luís<sup>38</sup>, observa-se que, a maior letalidade ocorreu em indivíduos acima de 60 anos, que, em sua maioria, cursavam com patologia de base.

A crescente expansão e urbanização da LV em Mato Grosso do Sul, aliada às características fisiográficas da região, que contrastam com as classicamente incriminadas como área de ocorrência da LV<sup>27</sup>, demonstram mais uma vez a mudança do perfil epidemiológico da doença.

Os resultados encontrados em Três Lagoas, e conforme preconizado pelo Ministério da Saúde<sup>27</sup> impõem aos municípios atingidos pela LV diagnóstico e tratamento precoces, bem como a análise epidemiológica da doença em suas áreas de ocorrência a fim de que medidas de controle apropriadas possam ser rapidamente efetivadas pelos órgãos competentes.

## **Agradecimentos**

As Secretarias Municipais de Saúde e de Controle de Vetores de Três Lagoas e a Secretaria Estadual de Saúde pelo apoio logístico e fornecimento de dados.

## **Referências Bibliográficas**

1. Alencar JE, Aragão TC. Leishmaniose visceral no Ceará. Sintomas observados em 174 casos. Diagnóstico clínico. Congresso Brasileiro de Higiene p.9-15, 1955.
2. **Araújo Sobrinho JR, Celino MC. Aspectos epidemiológicos, laboratoriais e terapêuticos da leishmaniose visceral no Hospital Universitário Alcides Carneiro – PB. Revista do Instituto Materno Infantil de Pernambuco 13:13-16, 1999.**
3. Arias JR, Monteiro P, Zicker F. The re-emergence of visceral leishmaniasis in Brasil. *Emerging Infectious Diseases* 2:145-146, 1996.
4. Arruda W, Costa FC, Nahas S, Rosenfeld G. Leishmaniose visceral americana. *Brazil-Médico* 63:64-65, 1949.
5. Bevilacqua PD, Paixão HH, Modena CM, Castro MCPS. Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 53:1-8, 2001.
6. Cascio A, Colomba C, Antinori S, Orobello M, Paterson D, Titone L. Pediatric Visceral leishmaniasis in Western Sicily, Italy: a retrospective analysis of 111 cases. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 21:277-282, 2002.
7. Cerbino Neto J. *Fatores associados à incidência de leishmaniose visceral em Teresina – PI na década de 90*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2003.
8. Chagas E, Chagas AW. Notas sobre epidemiologia da leishmaniose visceral americana no Mato Grosso. *O Hospital* 13:471-480, 1938.
9. Costa CHN, Pereira HF, Araujo MV. Epidemia de leishmaniose visceral no Estado do Piauí, Brasil (1980-1986). *Revista de Saúde Pública* 24:361-372, 1990.
10. Croft SL, Graham HC. Leishmaniasis - Current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. *TRENDS in Parasitology* 19:502-508, 2003.
11. Cupolilo E, Grimaldi JrG, Momen H. A general classification of the New World Leishmanias using numerical zymotaxonomy. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 50:296-311, 1994.

12. Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 27:305-318, 2004.
13. Fundação Nacional de Saúde. Leishmaniose visceral (LV). *In: Ministério da Saúde Guia de Vigilância Epidemiológica volume II, 4ª. edição, Brasília, p.36-49, 1998.*
14. Galati EAB, Nunes VLB, Rego Jr FA, Oshiro ET, Chang MR. Estudo de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista de Saúde Pública* 31:378-390, 1997.
15. Grech V, Mizzi J, Mangion M, Vella C. Visceral leishmaniasis in Malta – an 18-year paediatric, population based study. *Archives of Disease in Childhood* 82:381-385, 2000.
16. Guerra JAO, Barros MLB, Fé NF, Guerra MVE, Castellon E, Paes MG, Sherlock A. Leishmaniose visceral entre índios no Estado de Roraima, Brasil. Aspectos clínicoepidemiológicos de casos observados no período de 1989 a 1993. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 37:305-311, 2004.
17. Guerin PJ, Olliaro P, Shyam S, Boelaert M, Croft S, Desjeux P, Wasunna MK, Bryceson ADM. Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. *The Lancet Infectious Diseases* 2:494-500, 2002.
18. Herwaldt B. Leishmaniasis. *The Lancet* 354:1191-1199, 1999.
19. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/default.php>, 2000.
20. Magalhães PA, Mayrink W, Costa CA, Melo MN, Batista SM, Michalick MSM, Williams P. Calazar na Zona do Rio Doce – Minas Gerais. Resultados de medidas profiláticas. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 22:197-202, 1980.
21. Marzochi MCA & Marzochi KBF. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil - Emerging antropozoonosis and possibilities for their control. *Cadernos de Saúde Pública* 10:359-375, 1994.
22. Marzochi MCA & Marzochi KBF. Leishmanioses em áreas urbanas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 30:162-164, 1997.

23. Marzochi MCA, Marzochi KBF, Carvalho RW. Visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro. *Parasitology Today* 10:34-37, 1994.
24. Mendes WS, Silva AAM, Trovão JR, Silva AR, Costa JML. Expansão espacial da leishmaniose visceral americana em São Luís, Maranhão, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 35:227-231, 2002.
25. Mendes WS, Trovão JR, Silva AAM. Dinâmica de ocupação do espaço na cidade de São Luís e a leishmaniose visceral. *Cadernos de Saúde Pública* 16:872, 2000.
26. Migone LE. Um cas de kala-azar à Assuncion (Paraguay). *Bulletin de la Société Pathologie Exotique* 6:118-120, 1913.
27. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Série A, Normas e Manuais Técnicos, Brasília, 2003.
28. Ministério da Saúde.  
[http://www.saude.ms.gov.br/Saude/Destaques/Leishmaniose visceralAmericana.htm](http://www.saude.ms.gov.br/Saude/Destaques/Leishmaniose%20visceralAmericana.htm), 2004.
29. Nunes VLB, Yamamoto YY, Rego Jr FA, Dorval MEC, Galati EAB, Oshiro ET, Rodrigues M. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral em cães de Corumbá, Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8:17-21, 1988.
30. Oliveira AC. Um caso de leishmaniose visceral americana. *O Hospital* 13:465-470, 1938.
31. Pastorino AC, Jacob CMA, Oselka GW, Carneiro-Sampaio MMS. Leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. *Jornal de Pediatria* 78:121-127, 2002.
32. Pedrosa CMS, Rocha EMM. Aspectos clínicos e epidemiológicos da leishmaniose visceral em menores de 15 anos procedentes de Alagoas, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 37:300-304, 2004.
33. Pessoa SB, Silva LHP, Figueiredo J. Calazar endêmico em Jacobina – Estado da Bahia. *Boletim Fundação Gonçalo Muniz* 7:1-13, 1956.
34. Ponde R, Mangabeira O, Jansen G. Alguns dados sobre a leishmaniose visceral americana e doença de Chagas no Nordeste Brasileiro. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 37:333-350, 1942.

35. Queiroz MJA, Alves JGB, Correia JB. Leishmaniose visceral: características clínico-epidemiológicas em crianças de área endêmica. *Jornal de Pediatria* 80:141-146, 2004.
36. Rego Jr FA, Nunes VLB, Pereira MJS, Cavalheiros MEM, Silva RP, Barros E. Ocorrência de casos de leishmaniose em cães no município de Corumbá-MS. *In: Resumos do VIII Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, São Paulo p.2, 1983.*
37. Sherlock IA. Observações sobre calazar em Jacobina - I- Histórico e dados preliminares. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais* 21:523-534, 1969.
38. Silva AR, Viana GMC, Varonil C, Pires B, Nascimento MDSD, Costa JML. Leishmaniose visceral (calazar) na Ilha de São Luís, Maranhão, Brasil: evolução e perspectivas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 30:359-368, 1997.
39. Silva ES, Gontijo CMF, Pacheco RS, Fiuza VOP, Brazil RP. Visceral leishmaniasis in the metropolitan region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 96:285-291, 2001.
40. Tavares LMSA, Tavares ED. Incidência, distribuição geográfica e aspectos ambientais das áreas endêmicas da leishmaniose visceral do Sergipe. *Informe Epidemiológico do Sistema Único de Saúde* 8:47-52, 1999.
41. World Health Organization. Programme for the surveillance and control of leishmaniasis. <http://www.who.int/emc/diseases/leish/index.html>, 2001.

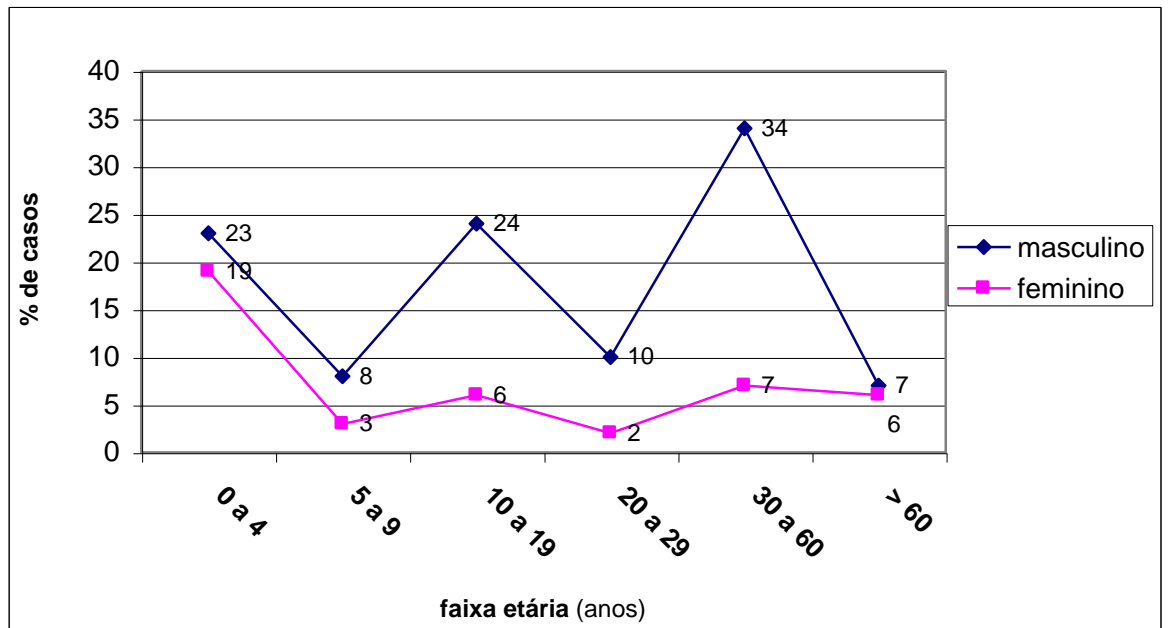
*Tabela 1 - Distribuição por faixa etária e sexo dos casos de leishmaniose visceral confirmados no município de Três Lagoas - MS, de outubro de 2000 a janeiro de 2003.*

Faixa etária (anos)	Fem		Masc		Total		% acumulada	Incidência	p
	n	%	n	%	n	%			
0-4	19	6,5	23	21,7	42	28,2	28,2	5,9/1000	P<0,0001
5-9	3	7,0	8	7,5	11	07,4	35,6	1,5/1000	
10-19	6	7,0	24	8,5	30	08,1	43,7	1,8/1000	OR=4,21
20-29	2	11,6	10	23,6	12	20,1	63,8	0,8/1000	
30-60	7	16,3	34	32,1	41	27,5	91,3	1,4/1000	OR=3,99
>60	6	14,0	7	6,6	13	08,7	100,0	1,8/1000	OR=3,21
<b>Total</b>	<b>43</b>	<b>28,9</b>	<b>106</b>	<b>71,1</b>	<b>149</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>1,83/1000</b>	

Fem: feminino; Masc: masculino; n: número de casos;

OR: *odds ratio*





*Figura 1 - Distribuição por faixa etária e sexo dos casos de leishmaniose visceral confirmados no município de Três Lagoas - MS, de outubro de 2000 a janeiro de 2003.*

*Tabela 2 - Frequência de manifestações clínicas em 149 pacientes confirmados com leishmaniose visceral no município de Três Lagoas - MS, de outubro de 2000 a janeiro de 2003.*

	<b>Manifes tações clínicas</b>	<b>Casos</b>	
		<b>Nº.</b>	<b>%</b>
Febre		145	97,3
Esplenomegalia		128	85,9
Anemia		113	75,8
Hepatomegalia		110	73,8
Adinamia		101	67,8
Dor abdominal		92	61,7
Hiporexia		85	57,0
Emagrecimento		85	57,0
Tosse		50	33,5
Mialgia		45	30,2
Náusea/vômito		43	28,9
Cefaléia		41	27,5
Diarréia		23	15,4
Hemorragia		17	11,4
Edema		15	10,0

*Tabela 3 - Resultados dos exames hematológicos em 71 pacientes confirmados com leishmaniose visceral no município de Três Lagoas - MS, 2000 a 2003.*

<b>Exames</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Mediana</b>
<b>laboratoriais</b>			
Hemoglobina	5mg/dl	13 mg/dl	8 mg/dl
Hematócrito	16 mg/dl	41 mg/dl	26 mg/dl
Leucócitos	1.000 cél/mm <sup>3</sup>	29.000 cél/mm <sup>3</sup>	3.100 cél/mm <sup>3</sup>
Plaquetas	27.000	351.000	140.000

## **TRABALHO N° 3**

**“Infecção assintomática por *Leishmania chagasi* em  
área de instalação recente da doença, Mato Grosso do  
Sul.”**

A ser submetido à publicação.

**INFECÇÃO ASSINTOMÁTICA POR *LEISHMANIA CHAGASI* EM ÁREA DE  
INSTALAÇÃO RECENTE DA DOENÇA, MATO GROSSO DO SUL**

**ASYMPTOMATIC INFECTION FOR LEISHMANIA CHAGASI IN RECENT  
INSTALLATION'S AREA OF THE ILLNESS, MATO GROSSO DO SUL.**

Ana Lúcia Lyrio de Oliveira<sup>1 6</sup>, Anamaria Mello Miranda Paniago<sup>2</sup>, Marcos Antônio Sanches<sup>2</sup>, Maria Elizabeth Cavalheiros Dorval<sup>3</sup>, Elisa Teruya Oshiro<sup>3</sup>, Cássia Rejane Brito Leal<sup>4</sup>, Fernando Henrique de Paula<sup>5</sup>, Luís Gustavo Pereira<sup>5</sup>, Rivaldo Venâncio da Cunha<sup>2</sup> e Márcio Neves Bóia<sup>6 7</sup>

1. Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina Dr. Hélio Mandetta da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.
2. Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Dr. Hélio Mandetta da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.
3. Departamento de Patologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.
4. Departamento de Parasitologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.
5. Acadêmicos da Faculdade de Medicina Dr. Hélio Mandetta da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.
6. Departamento de Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ.
7. Departamento de Medicina Interna da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

Apoio financeiro: Departamento de Ciências e Tecnologia do Ministério da Saúde do Brasil (DECIT – MS).

**Endereço para correspondência**

Dra. Ana Lúcia Lyrio de Oliveira.

Rua Rui Barbosa 4273.

79002-368 Campo Grande, MS

Tel: (67) 3345-3200. e-mail: [allyrio@nin.ufms.br](mailto:allyrio@nin.ufms.br)

**Resumo**

O município de Três Lagoas - MS foi alvo de uma epidemia de leishmaniose visceral a partir de 2000. Devido a este incremento de casos estudou-se 46 famílias que apresentavam um caso de doença, para se verificar a prevalência de infecção assintomática, no período de janeiro a julho de 2002. Encontrou-se 34,1% de

positividade na Reação de Imunofluorescência Indireta e 35,3% no teste imunoenzimático ELISA. Nenhum caso apresentou doença manifesta. A mediana de idade foi de 21 anos, com 52 casos positivos do sexo feminino e 48 do sexo masculino. A faixa etária mais acometida foi de 10 a 19 anos (23%). Quanto às características familiares o nível de instrução do chefe da casa mais freqüente foi o ensino fundamental incompleto (60%) e renda familiar de até dois salários mínimos (52,3%). A moradia, em sua maioria, era própria (58,7%), em alvenaria (97,8%), com infra-estrutura adequada. A presença de crianças fora do domicílio ao entardecer foi encontrada em 82,2% dos casos. O cão esteve presente em 56% das moradias. Todas as famílias relataram a presença de provável flebotomíneo no peridomicílio. Conclui-se que a infecção assintomática é freqüente, ocorrendo em homens e mulheres, independente de faixa etária.

*Palavras-chave:* infecção assintomática, leishmaniose visceral, epidemiologia.

## **Abstract**

The Brazilian city of Três Lagoas – MS, has been a site of an urban outbreak of Visceral Leishmaniasis (VL) since 2000. Due to the rise in the number of cases, 46 families that presented a case of VL were studied to check for prevalence of asymptomatic infection between January and July 2002. A positive result of 34,1% was found by the Immunofluorescence Indirect Reaction (RIFI) and 35,3% by the immunoenzymatic test ELISA. There was no case of symptomatic illness. The studied average age was of 21 years old where there were 52 positive cases in females and 48 in males. The 10-19 age group was the most affected one with 23% of positive results. As far as the family aspects are concerned, the most frequent house holder's level of schooling was incomplete, 60% of them with primary education only; low family income up to \$300,00 USD showed in 52,3% and most of the houses were family – owned brick houses with adequate infrastructure. Children out of home after nightfall, was a common fact in 82,2% cases. Dogs were present in 56% of the households evaluated. All families have related the presence of probable sand flies in households. It was conclude that the asymptomatic infection is frequent and it occurs in both men and women, independently of the age group.

*Key words:* asymptomatic infection, visceral leishmaniasis, epidemiology

## **Introdução**

A leishmaniose visceral americana (LV) é distribuída mundialmente, abrangendo cerca de 65 países (16). Nas Américas é uma doença causada por *Leishmania (Leishmania) chagasi*, um protozoário intracelular obrigatório. A doença é endêmica no Brasil em mais de 19 Estados, representando um problema de saúde pública, destacando-se Ceará, Bahia, Piauí, Maranhão, Rio Grande do Norte, Minas Gerais e, mais recentemente, Mato Grosso do Sul e Tocantins (13, 24, 32).

Várias medidas de controle têm sido empregadas, como o combate aos vetores, a eliminação dos cães infectados, com ou sem manifestação clínica da doença, o diagnóstico e tratamento precoce dos doentes para minimizar a morbidade e reduzir a letalidade. Porém, estes cuidados não têm sido eficazes e novos estudos estão sendo feitos com a finalidade de reduzir o número de pessoas com risco de adoecer (12, 24).

Do ponto de vista clínico, a LV pode ser dividida, conforme as características clínicas e laboratoriais apresentadas pelos hospedeiros, em três formas: a assintomática ou infecção sem manifestações clínicas da doença, a oligossintomática ou subclínica e a clássica. A forma clássica da doença manifesta-se por febre, emagrecimento, hepatoesplenomegalia e pancitopenia, que quando não tratada adequadamente pode evoluir para o óbito (6, 26).

Não se sabe exatamente o porquê de alguns casos evoluírem como infecção assintomática e outros para doença. Fatores do hospedeiro podem determinar essa susceptibilidade, tais como: estado nutricional, entre eles a deficiência de vitamina A, resposta imune do hospedeiro, idade, migrações e co-infecções como HIV (2, 10, 19, 22, 26).

Em estudos realizados no Brasil, observou-se uma relação de 18:1 e 11:1 de casos de infecção sem manifestação clínica para cada caso de doença clássica (4, 23).

A infecção assintomática é a forma clínica mais frequente e normalmente está associada à presença de um caso de LV na família ou vizinhança, sugerindo exposição aos mesmos fatores de risco, entre eles o risco de infecção dos familiares a partir dos indivíduos doentes (8, 10).

Mediante o exposto, realizou-se o presente estudo para se estimar a prevalência de infecção assintomática em familiares de pacientes com LV e seus condicionantes epidemiológicos para adquirirem a infecção em Três Lagoas, um município de instalação recente da doença.

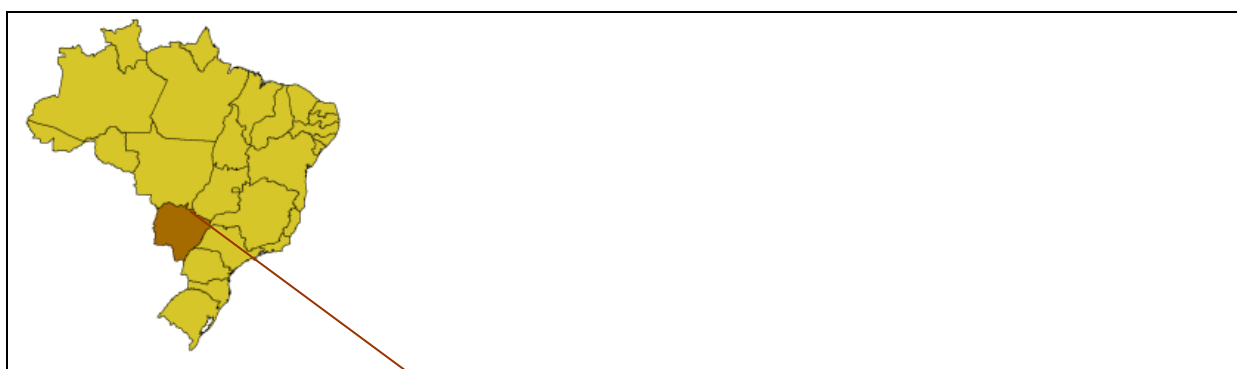
## **Casuística e Métodos**

Foi realizado um estudo epidemiológico transversal em uma área epidêmica para LV, na cidade de Três Lagoas, no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, no período de 01 de janeiro a 30 de julho de 2002.

### **Descrição da área de estudo**

A cidade de Três Lagoas, com uma área territorial de 10207 km<sup>2</sup>, localiza-se em uma planície na região leste do Estado de Mato Grosso do Sul, faz divisa com o Estado de São Paulo e dista 324 km da capital, Campo Grande. Suas coordenadas geográficas são latitude 20,75° e longitude de 51,67°. Possui 79.059 habitantes e densidade demográfica de 7,73 hab/km<sup>2</sup>. Sua fonte de renda principal é a pecuária, e a implantação de indústrias na região, promoveu o crescimento demográfico na localidade (20).

O clima do município é tropical quente e úmido, com estação chuvosa no verão e seca no inverno. O total anual de precipitações está compreendido entre 900 e 1400 mm. O trimestre mais chuvoso corresponde a novembro, dezembro e janeiro. A cobertura vegetal predominante é uniforme com campo limpo, cerrado e floresta perenifolia (20).





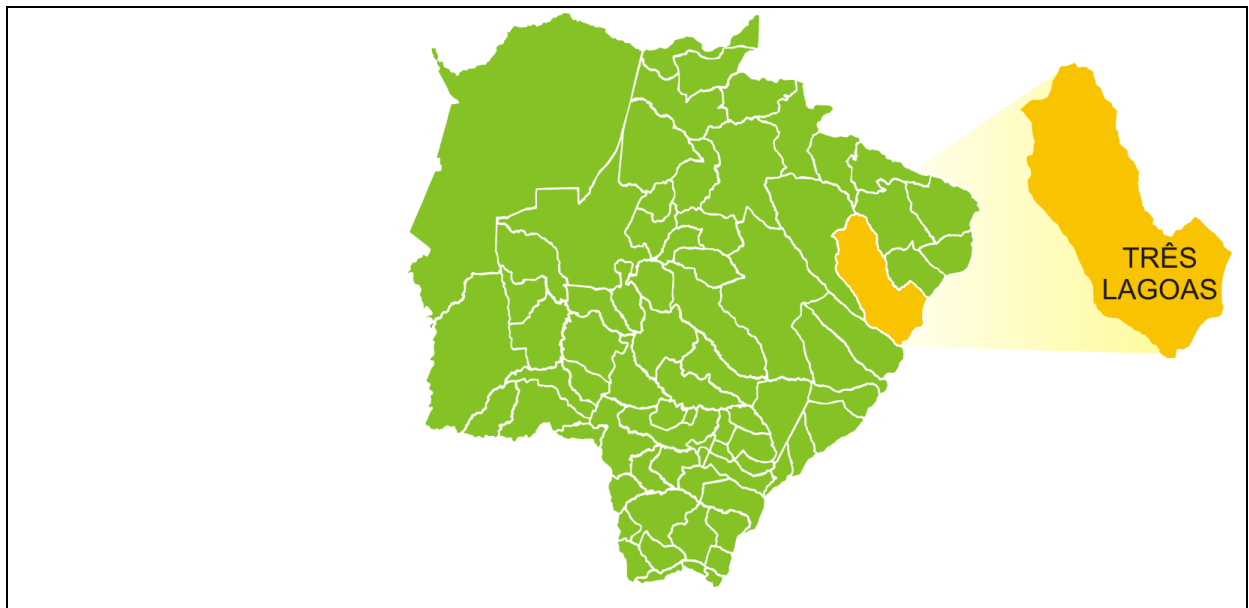


Fig 1. Três Lagoas, Mato Grosso do Sul, 2006.

## População de estudo

Foi realizado um estudo em 46 famílias dentre 60 famílias com pacientes com manifestação clássica de LV ocorridos no período de janeiro a julho de 2002, confirmados à Secretaria Municipal de Saúde de Três Lagoas.

Foi aplicado um questionário aos familiares de pacientes acometidos de LV, no qual constava os dados pessoais de identificação, a sintomatologia e características epidemiológicas como: tipo de moradia, condições de ocupação, aspectos gerais do domicílio, proximidade com matas, presença de animais e prováveis flebotomíneos no domicílio e peridomicílio, destino dos dejetos e lixo, renda familiar, grau de escolaridade e a frequência das crianças fora da casa. Quanto ao questionamento sobre a presença do flebotomíneo no domicílio ou peridomicílio foi perguntada a descrição do inseto e somente aceita a resposta como positiva quando a descrição estava correta.

Considerou-se casos confirmados de LV os pacientes que apresentavam manifestações clínicas da parasitose, associadas à observação de formas amastigotas em esfregaços de aspirado medular corados pelo método de Giemsa ou sorologia pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) com título  $\geq 1:80$ .

Foram excluídas as famílias que recusaram a assinar o termo de consentimento, mudaram de endereço ou não foram localizadas.

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

### **Estudo soro-epidemiológico**

Foram coletadas amostras de sangue de 220 familiares, todas submetidas à RIFI, e 181 amostras também foram examinadas pelo teste imunoenzimático *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

A RIFI foi realizada com o *kit* Biomanguinhos, segundo as instruções do fabricante, com os soros controle e teste em diluições de 1:40 e 1:80 sendo adicionado o conjugado, anti-IgG/fluoresceína em diluição 1:100. O teste ELISA foi realizado no Laboratório de Ultraestrutura e Biologia Celular do Instituto Oswaldo Cruz da Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ.

Como casos assintomáticos considerou-se aqueles com sorologia pela RIFI com título  $\geq 1:80$  ou o teste ELISA com título acima de 0,305 (*cut off* de 0,278).

Os dados foram armazenados e analisados no programa Epi Info versão 3.2.2.

### **Resultados**

Todos os entrevistados eram assintomáticos e contactantes dos casos de LV, tendo sido encontrado 34,1% e 35,3% de positividade, pela RIFI e ELISA, respectivamente (Tabela 1). Estes indivíduos assintomáticos foram acompanhados por seis meses, permanecendo sem sintomatologia.

O número de contactantes por casa variou de dois a 12 pessoas com mediana de cinco indivíduos por domicílio. A mediana de idade foi 21 anos.

Não houve diferença significativa dos casos positivos quanto à distribuição por sexo e faixa etária (Tabela 2). Encontrou-se 44 casos positivos (59%) do sexo feminino e 31 (41%) do sexo masculino.

Quanto às características sociais e epidemiológicas das famílias observou-se que em relação ao nível de instrução do chefe da casa, 60% tinham o ensino

fundamental incompleto, e 52,3% apresentavam renda familiar de até dois salários mínimos (Quadro 1).

A moradia, em sua maioria, era própria (58,7%), em alvenaria (97,8%), com telhas, água encanada e coleta pública do lixo (97,8%), 95,7% tinham fossa séptica e todas tinham luz elétrica. Algumas residências possuíam vegetação no domicílio (34,8%) e 26% eram próximas de mata.

A história de crianças fora do domicílio, ao entardecer, foi encontrada em 82,2% dos casos. Havia cão em 56,0% das moradias e outros animais também relatados foram gatos (19,5%), cavalos (13%) e galinhas (13%).

A presença de inseto semelhante ao flebotomíneo no peridomicílio foi relatada em todos os domicílios (Quadro 1).

## Discussão

O processo de urbanização da LV tem sido objeto de discussão e programação de ações para o seu controle em todo o país, porém ainda apresenta poucas respostas e baixa eficácia (11). A doença encontra-se em franca expansão, principalmente em áreas urbanas da região Sudeste e Centro-Oeste (18).

No presente estudo não houve diferença significativa entre os resultados obtidos pela RIFI e ELISA nas amostras examinadas. Observou-se uma discordância nos resultados das amostras estudadas na faixa etária abaixo de 4 anos, porém sem significado estatístico. Moreno *et al* encontraram divergências significativas entre os dois métodos sorológicos na região de Sabará (25).

Não ocorreu diferença com significado estatístico na prevalência de amostras positivas em relação ao sexo e faixas etárias, enquanto a prevalência da doença no mesmo período foi duas vezes mais freqüente no sexo masculino e na faixa etária de 0 a 4 anos de idade na mesma localidade (27). Resultados similares foram encontrados no Estado da Bahia e Minas Gerais (14, 25).

O que poderia justificar esta divergência entre indivíduos portadores de LV nas formas clássica ou assintomática, seria o tipo de resposta imune celular do hospedeiro (1). Outra hipótese seriam fatores genéticos envolvidos no

desenvolvimento da doença. Estudos recentes em modelo murino mostram que estes fatores poderiam influenciar no desenvolvimento das formas clínicas da LV, apesar de ainda não estarem bem explicados (5, 21).

Os índices de positividade encontrados neste trabalho são expressivos e preocupantes e sugerem que as pessoas expostas à infecção ou infectadas podem ser tão importantes quanto as que adoecem pelo risco destas atuarem como reservatórios responsáveis pela transmissão do parasito (11, 15, 28, 29).

Quanto às características sociais e epidemiológicas nos domicílios estudados em Três Lagoas, apesar de se encontrar residências com infra-estrutura adequada, em alvenaria, distribuídas em todo município, observou-se baixa renda salarial familiar e baixo nível de instrução. Em diversos estudos, encontrou-se similaridade quanto à renda familiar e grau de instrução, porém discordantes quanto a infra-estrutura da moradia (4, 7, 14).

Pelos relatos o inseto semelhante ao flebotomíneo esteve presente no peridomicílio de todas as residências, mostrando a importância do vetor na cadeia de transmissão da parasitose, assim como visto em Teresina-PI, Sabará-MG e no Sudão (6, 25, 33). Corrobora ainda, a observação de Costa *et al* e Tesh, de que o controle do vetor não tem sido eficaz na redução da transmissão do parasito e também não evitou novas áreas epidêmicas (12, 31).

Uma das prováveis causas da dificuldade do controle da *Lutzomyia longipalpis*, vetor comprovado de LV, é que ela freqüentemente é encontrada em ambiente antrópico e em abrigos de animais, os quais podem lhe servir como fonte de alimento e proteção (3, 17, 30). A presença de crianças ao entardecer fora do domicílio, o cão e outros animais domésticos, a cobertura vegetal presente no domicílio ou nas proximidades como visto na localidade estudada, podem ter importância no elo de transmissão da LV, como já constatado em áreas de ocorrência da doença (7, 9, 33).

Conclui-se no presente estudo que a infecção assintomática é freqüente, ocorrendo indistintamente entre homens e mulheres, independente da faixa etária, o que não sugere exposição ocupacional. Fatores interferentes precisam ser mais bem estudados, para justificar a maior incidência da doença em homens e crianças jovens, assim como, o papel destes indivíduos portadores de infecção assintomática no elo de transmissão da LV.

**Agradecimentos:** Ao Departamento de Ultraestrutura e Biologia Celular da FIOCRUZ do Instituto Oswaldo Cruz pela realização do teste imunoenzimático ELISA. Às Secretarias Municipais de Saúde e de Controle de Vetores de Três Lagoas e à Coordenadoria de Controle de Vetores da Secretaria Estadual de Saúde pelo apoio logístico e fornecimento de dados.

## Referências Bibliográficas

1. Alexander J, Bryson K. T helper (h)1/Th2 and *Leishmania*: paradox rather than paradigm. Immunol Letters 2005;9:17-23.
2. Alvar J, Canavate C, Gutierrez-Solar B, Jimenez M, Laguna F, Lopez-Velez R, Molina R, Moreno J, et al. *Leishmania* and human immunodeficiency virus coinfection: the first 10 years. Clin Microbiol Rev 1997;10:298-319.
3. Azevedo ACR, Monteiro FA, Cabello PH, Souza NA, Rosa-Freitas MG, Rangel EF. Studies on populations of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2000;95:305-322.
4. Badaró R, Jones TC, Carvalho EM, Sampaio D, Reed SG, Barral A, Teixeira R, Johnson Jr. WD. New perspectives on a subclinical form of visceral leishmaniasis. J Infect Dis 1986;154(6):1003-1011.
5. Blackwell JM. Genetic susceptibility to leishmanial infections: studies in mice and man. Parasitol 1996;112:S67-S74.
6. Bucheton B, Kheir MM, El-Safi SH, Hammad A, Mergani A, Mary C, Abel L, Dessein A. The interplay between environmental and host factors during an outbreak of visceral leishmaniasis in eastern Sudan. Microb Infect 2002;4:1449-1457.
7. Caldas AJM, Costa JML, Silva AAM, Vinhas V, Barral A. Risk factors associated with asymptomatic infection by *Leishmania chagasi* in north-east Brazil. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 2002;96:21-28.
8. Caldas AJM, Silva DRC, Pereira CCR, Nunes PMS, Silva BP, Silva AAM, Barral A, Costa JML. Infecção por *Leishmania (Leishmania) chagasi* em crianças de uma área endêmica de leishmaniose visceral americana na Ilha de São Luis-MA, Brasil. Rev Soc Bras Med Trop 2001;34(5):445-451.
9. Cerbino Neto J. Fatores associados à incidência de leishmaniose visceral em Teresina – PI na década de 90. Rio de Janeiro; 2003. Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro.

10. Costa CHN, Pereira HF, Araujo MV. Epidemia de leishmaniose visceral no Estado do Piauí, Brasil (1980-1986). *Rev Saúde Pública* 1990;24:361-372.
11. Costa CHN, Stewart JM, Gomes RB, Garcez LM, Ramos PK, Bozza M, Satoskar A, Dissanayake S, Santos RS, Silva MR, Shaw JJ, David JR, Maguire JH. Asymptomatic human carriers of *Leishmania chagasi*. *Am J Trop Med Hyg* 2002;66(4):334-337.
12. Costa CHN, Vieira JBF. Mudanças no controle da leishmaniose visceral no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2001;34(2):223-228.
13. Costa JML, Viana GMC, Saldanha ACR, Nascimento MDSB, Alvim AC, Burattini MN, Silva AR. Leishmaniose visceral no estado do Maranhão, Brasil: a evolução de uma epidemia. *Cad Saúde Pública* 1995;11(2):321-4.
14. D'Oliveira Jr A, Costa SRM, Barbosa AB, Orge MGO, Carvalho EM. Asymptomatic *Leishmania chagasi* infection in relatives and neighbors of patients with visceral leishmaniasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1997;92(1):15-20.
15. Desjeux P. Leishmaniasis. Public health aspects and control. *Clin Dermatol* 1996;14:417-423.
16. Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *CIMID* 2004;27(5):305-318.
17. Galati EAB, Nunes VLB, Cristaldo G, Da Rocha HC. Aspectos do comportamento da fauna flebotômica (Díptera: Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral e tegumentar na Serra de Bodoquena e área adjacente, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev Patol Trop* 2003;32(2):235-261.
18. Gontijo CMF & Melo MN. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro clínico, desafios e perspectivas. *Rev Bras Epidemiol* 2004;7(3):338-349.
19. Guerin PJ, Oliaro P, Shyam S, Boelaert M, Croft S, Desjeux P, Wasunna MK, Bryceson ADM. Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. *Lancet Infect Dis* 2002;2:494-500.
20. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. [on line]. Brasil; 2000. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/default.php>.
21. Lipoldova M, Svobodova M, Kruvova M, Havelkova H, Badalova J, Nohynkova E, Holan V, Hart AA, Volf P, Demant P. Susceptibility to *Leishmania major* infection in mice: multiple loci and heterogeneity of immunopathological phenotypes. *Genes Immunol* 2000;1:200-206.
22. Luz KG, Succi RCM, Torres E. Nível sérico da vitamina A em crianças portadoras de leishmaniose visceral. *Rev Soc Bras Med Trop* 2001;34(4):381-384.
23. Marzochi MCA & Marzochi KBF. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil - Emerging antropozoonosis and possibilities for their control. *Cad Saúde Pública* 1994;10(2):359-375.

24. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Série A, Normas e Manuais Técnicos. Brasília: SVS/MS; 2003.
25. Moreno EC, Melo MN, Genaro O, Lambertucci JR, Serufo JC, Andrade ASR, Antunes CMF, Carneiro M. Risk factors for *Leishmania chagasi* infection in a urban área of Minas Gerais State. Rev Soc Bras Med Trop 2005;38(6):456-463.
26. Murray HW, Berman JD, Davies CR, Saravia NG. Advances in leishmaniasis. Lancet 2005;366:1561-1577.
27. Oliveira ALL, Paniago AMM, Dorval MEC, Oshiro ET, Leal CRB, Sanches M, Cunha RV, Bóia MN. Foco emergente de leishmaniose visceral em Mato Grosso do Sul, Brasil. (No prelo) Rev Soc Bras Med Trop 2006.
28. Otero AC, da Silva VO, Luz KG, Palatnik M, Pirmez C, Fernandes O, Palatnik de Souza CB. Short report: occurrence of *Leishmania donovani* DNA in donated blood from seroreactive Brazilian blood donors. Am J Trop Hyg 2000;62:128-131.
29. Sharma MC, Gupta AK, Das VNR, Verma N, Kumar N, Saran R, Kar SK. *Leishmania donovani* in blood smears of asymptomatic persons. Acta Trop 2000;76(2):195-196.
30. Sherlock IA. Ecological Interactions of visceral leishmaniasis in the State of Bahia, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 1996;91(6):671-683.
31. Tesh RB. Control of zoonotic visceral is it time to change strategies? Am J Trop Med Hyg 1995;52:287-292.
32. Werneck GL, Rodrigues Jr. L, Santos MV, Araújo IB, Moura LS, Lima SS, Gomes RBB, Maguire JH, Costa CHN. The burden of *Leishmania chagasi* infection during an urban outbreak of visceral leishmaniasis in Brazil. Acta Trop 2002;83:13-18.
33. Werneck GL. Spatial approaches to study the epidemiology of visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. Boston, USA; 2000. Tese de Doutorado. Harvard School of Public Health.

Tabela 1 - Distribuição por faixa etária e positividade sorológica em contactantes de leishmaniose visceral no município de Três Lagoas, MS, 2002.

Idade (em anos)	Detecção de anticorpos anti-leishmania						p
	RIFI			ELISA			
	n	pos	%	n	pos	%	
< 4	27	10	37	23	5	21,7	0,23
5 a 9	23	7	30,4	18	5	27,8	0,85
10 a 19	51	23	45,1	41	20	48,8	0,73
20 a 29	38	15	39,5	30	10	33,3	0,60
30 a 59	65	18	27,7	57	21	36,8	0,28
≥ 60	16	2	12,5	12	3	25,0	0,72
<b>Total</b>	220	75	34,1	181	64	35,3	0,79

RIFI: Reação de Imunofluorescência Indireta      ELISA: *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

n: n°. de casos

pos: positivos

p: Teste exato de Fischer

Tabela 2 - Distribuição dos casos positivos por sexo dos contactantes de leishmaniose visceral no município de Três Lagoas, MS, 2002.

Sorologia	Detecção de anticorpos anti-leishmania					
	RIFI			ELISA		
	n	pos	%	n	pos	%
<b>feminino</b>	115	44	59	91	34	53



masculino 105 31 41 90 30 47

RIFI: Reação de Imunofluorescência Indireta ELISA: *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

n: n°. de casos pos: positivos

Características sociais e epidemiológicas		n	%
Grau de instrução (n= 35)	Fundamental incompleto	21	60,0
	Fundamental	04	11,4
	Médio incompleto	02	5,7
	Médio	06	17,2
	Superior	02	5,7
Renda mensal (salário) (n= 44)	1	10	22,7
	2	13	29,6
	3 a 5	11	25,0
	> 5	10	22,7
Imóvel	Próprio	27	58,7
	Alugado	11	23,9
	Cedido	08	17,4
Paredes	Tijolo	45	97,8
	Madeira	01	2,2
Piso	Cimento	22	47,8
	Cerâmica	24	52,2
Cômodos	2 a 3	04	8,7
	4 a 6	28	60,8
	7 a 9	12	26,0
	> 9	02	4,4
Quartos	1 a 2	27	58,7
	3 a 4	18	39,1
	> 4	01	2,2
Telhado	Telhas	37	80,4
	Laje	03	6,5
	Amianto	06	13,0
Iluminação	Eletricidade	46	100,0
Água	Encanada	45	97,8
	Poço	01	2,2
Destino do lixo	Peridomicílio	01	2,2
	Coleta pública	45	97,8
Destino dos dejetos	Fossa séptica	44	95,7
	Fossa rudimentar	02	4,3
Bens	Fogão, geladeira	03	6,5
	Fogão,TV	04	15,2
	Fogão, TV, geladeira	36	78,3
	Fogão,TV, geladeira, som	03	6,5
Peridomicílio	Vegetação presente (árvores ornamentais e frutíferas, mata)	28	61,0
Presença de provável flebotômico	Domicílio	16	34,8
	Peridomicílio	46	100,0
Animais no domicílio e peridomicílio	Cão	26	56,5
	Galinha	06	13,0
Local da criança brincar - fim da tarde	Dentro de casa	04	8,7
	Fora de casa	33	71,7

\* As famílias que responderam "ignorado" não entraram no total de casos quanto ao grau de instrução e renda salarial.

Quadro 1 - Características epidemiológicas e sociais de 46 familiares contactantes de leishmaniose visceral no município de Três Lagoas – MS, 2002.

## **TRABALHO N ° 4**

**“Severe adverse reactions to meglumine antimoniate in the treatment of visceral leishmaniasis: report of 14 cases, Brazil”.**

**A ser submetido à publicação**

# SEVERE ADVERSE REACTIONS TO MEGLUMINE ANTIMONIATE IN THE TREATMENT OF VISCERAL LEISHMANIASIS: REPORT OF 14 CASES, BRAZIL.

Ana Lúcia Lyrio de Oliveira<sup>1 5</sup>, Thiago Dias Fernandes<sup>4</sup>, Maria Elizabeth Cavalheiros Dorval<sup>2</sup>, Elisa Teruya Oshiro<sup>2</sup>, Patrícia Moreira Uehara<sup>3</sup>, Yvone Maia Brustoloni<sup>1</sup>, Perla Dominga Arguello Vera<sup>4</sup>, Rivaldo Venâncio da Cunha<sup>3</sup> and Márcio Neves Bóia<sup>5</sup>  
6

1. Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.
2. Departamento de Patologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.
3. Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.
4. Acadêmicos da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.
5. Departamento de Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ.
6. Departamento de Medicina Interna da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

Financial support: Department of Sciences and Technology of the Ministry Health of Brazil (DECIT – MS).

## ***Correspondence address***

Dra. Ana Lúcia Lyrio de Oliveira.

Rua Rui Barbosa 4273.

79002-368 Campo Grande, MS

Tel: (67) 3345-3200.

E-mail: [allyrio@nin.ufms.br](mailto:allyrio@nin.ufms.br)

## Abstract

It is known that pentavalent antimonials can present several adverse reactions, including cardiotoxicity, myalgia, arthralgia and lipase and amylase increase. The clinical, epidemiological and laboratorial aspects of patients who presented severe adverse reactions to antimonials in the University Hospital of the Federal University of Mato Grosso do Sul Faculty of Medicine (HU/UFMS) were analyzed. Fourteen patients were found in the period 2003 to 2004. The age group which most suffered was 51 to 60 years old (28.6%), with a predominance for males. The predominant side effects presented were renal (57.1%) and hepatic insufficiency (35.7%) and pancreatitis (35.7%). The appearance of adverse reactions mostly presented between one and ten days after the onset of treatment (50%), with half the cases evolving to death (50%). High lethality demonstrates that this drug should be used with rigorous laboratorial and clinical control, principally in adult patients, and reveals the need for studies with less toxic drugs.

Key words: visceral leishmaniasis, adverse reactions, meglumine antimoniate, pancreatitis.

## Introduction

Visceral leishmaniasis (VL) is a disease in clear expansion in Brazil, occurring in almost all regions, with exception of the Southern Region.<sup>1</sup> It constitutes an important public health problem due to the gravity of its clinical manifestations and high lethality when left untreated. It is considered to be a disease neglected by the large pharmaceutical industries due to the low socioeconomic conditions of those who are effected.<sup>2</sup> Thus, medications based on antimony continue to be the drug of choice for the treatment of this pathology in the majority of countries up to the present time.<sup>3, 4</sup> This drug was first introduced as an effective leishmaniasis treatment in 1912, by Vianna. The antimony used in Brazil is meglumine antimoniate, which contains 81 mg/Sb<sup>5</sup> per ml. The recognized dose is 20 mg/kg/day up to a maximum of three vials, by intramuscular or endovenous application.<sup>1</sup> Comparative studies in Brazil showed the meglumine antimoniate is less toxic and more efficient than the sodium estibogluconate BP 88.<sup>6, 7</sup>

The principal known adverse reactions of antimonials are myalgia, arthralgia, asthenia, nausea, vomiting, inappetence, febrile syndrome, anemia, leukopenia, renal insufficiency, hepatotoxicity, cardiotoxicity and pancreatitis.<sup>8-10</sup> Side effects occur frequently, with the recommendation of kidney, liver and pancreas function monitoring and monitoring of the heart, without indication for treatment interruption in the majority of cases.<sup>11</sup>

It is known that kidney involvement in VL has been the object of numerous studies and that inappropriate glomerular filtration elevates the systemic level of antimony, increasing its toxicity, often without the possibility of reversal even after suspension of the drug.<sup>12,13</sup>

Cardiac alterations are found in the electrocardiogram (ECG), where repolarization alterations can be observed, like a prolonged QT interval and T wave flattening or inversion, which can lead to potentially fatal arrhythmias, independent of subjacent cardiovascular disease.<sup>14</sup>

Reports of pancreatitis have been described, mainly in transplant and chronic renal patients.<sup>12,15,16</sup>

Mato Grosso do Sul State has been an endemic area for VL since 1990, with clear expansion from 1998 onwards. Numerous cases of adverse reactions have

occurred, with some presenting severe forms, including evolution to death. The objective of the present research was to study the cases of patients who presented severe adverse reactions to meglumine antimoniate in the HU/UFMS.

## **Patients and Methods**

Among 107 VL cases, 64 were children up to twelve years old and 43 adults, 14 patients who presented severe adverse reactions to meglumine antimoniate in the HU/UFMS were studied between January 2003 and December 2004. Meglumine antimoniate are administered parenterally at a dose of 20mg/kg/day for 20 or 40 days, with no upper limit on the total daily dose (1215mg) in 101 patients.

Assessment of causality was determined by the Naranjo Algorithm, which is recommended by the World Health Organization and the internationally recognized by research centers. It is a reliable instrument when verifying an adverse reaction to the drug.<sup>17,18</sup> It is considered as severe adverse reaction events that directly threaten the life of the patient. The medical records were reviewed and clinical, epidemiological and laboratorial data were collected.

Confirmation of VL was realized by observation of the amastigote forms in medullary blood smears stained by the Giemsa method in 11 patients. Two patients were conclusively diagnosed by myeloculture and one by Indirect Immunofluorescence Reaction (RIFI) with 1/160 titers.

The study was approved by the UFMS Ethical Committee for Research on Humans.

## **Results**

During the study period, 14 patients presented severe adverse reactions to meglumine antimoniate. The adverse reactions occurred mainly in adults ( $p=0.0005$ ), without a predominance statistics between the adults patients (Table I).

In relation to distribution by gender, a predominance for males occurred, with eight cases, in a proportion of 57.1% to 42.9%, with no statistical significance. Regarding the appearance of severe reactions, the greatest percentage was concentrated between days 0 and 10 of treatment (64.3 %), followed by the period from days 21 to 30 (21.5%), one case spotted during the 11 to 20 days period (7.1%) and another one over 30 days period (7.1%).

The principal severe adverse reactions presented by these patients were renal (57.1%) and hepatic insufficiency (35.7%) and pancreatitis (35.7%), as shown in Table II.

Two patients presented right congestive cardiac insufficiency due to cardiomyopathy developed during the drug treatment. One patient presented a generalized tonic clonic convulsive crisis during antimonial infusion; another presented a cutaneous rash with vascular purpura and a third presented with severe cardiac arrhythmia which led to death.

The initial levels of creatinine in the patients varied from 0.3 mg/dl to 1.6mg/dl and the final levels reached 8.4 mg/dl. Urea varied from 18 mg/dl to 127 mg/dl reaching a final level of 222 mg/dl. In pancreatitis patients, initial amylase varied from 78 U/L to 96 U/L, reaching 254 U/L to 4459 U/L, and lipase varied from 969 U/L to 22389 U/L (Table II).

In relation to the evolution of the cases presented, seven patients (50%) evolved to death (Table II).

## **Discussion**

In the present work, a predominance of severe adverse reactions was observed in adult patients, coinciding with the findings of Brustoloni *et al* (data in publication) who observed a low mortality in children in the same health institution (HU/UFMS). Kafetzis & Maltezou also observed no adverse reactions in children in a Greek hospital.<sup>19, 20</sup>

In relation to gender, no statistically significant differences were observed, though other works report a predominance for males.<sup>21</sup>

Regarding the reactions presented by these patients, renal and hepatic insufficiency and pancreatitis were the most frequent. In the literature, the most severe adverse effects reported are pancreatitis and renal insufficiency, findings in agreement with this study.<sup>8, 22</sup>

In the present casuistic of patients with pancreatitis, only one had AIDS, the others were immunocompetent and presented clinical manifestations like nausea, vomiting and classic abdominal pain, corroborating other recent studies.<sup>10, 16</sup> According to Gasser *et al*, 70% of patients with elevated amylase and lipase presented symptoms of acute pancreatitis.<sup>23</sup>

Numerous cases of pancreatitis have been described in the literature, mainly in patients submitted to kidney transplants and HIV carriers, with the majority asymptomatic.<sup>15, 24-28</sup>

Cardiotoxicity, a frequently reported adverse reaction, principally after the second week of treatment, does not present any hemodynamic repercussions in the majority of cases.<sup>29</sup> Fatal arrhythmias can appear at the end of treatment,<sup>21, 30, 31</sup> as observed in the present casuistic, where one patient presented a severe arrhythmia with cardiorespiratory arrest on the 25<sup>th</sup> day of treatment, evolving to death.

Two patients presented myocardopathy followed by congestive cardiac insufficiency, although one case could have been aggravated by severe energetic proteic denutrition. Morais *et al*, in a study of 16 necropsies on VL patients, observed one case of focal myocarditis and others that presented moderate compromise denominated “reactional myocardium” considered to be a consequence of VL, wherein they questioned the action of the antimonial, though without confirmation of the causes of their observations. In India, six cases of severe cardiac insufficiency were reported, with three deaths directly correlated to the toxicity of the drug.<sup>32</sup>



As a consequence of the adverse reactions found with the use of antimonials, the Brazilian Health Ministry created a treatment protocol for severe VL, which determines criteria for the use of this drug, for amphotericin B deoxycholate and liposomal amphotericin B, with the free supply of these medications.<sup>33</sup>

The observation of these cases suggests that renal, hepatic and pancreatic function monitoring, as well as attendance to patient electrocardiograms while using antimonials should be obligatory, even for outcare patients. These findings also show that studies on less toxic drugs, with the aim of improved treatment for patients with visceral leishmaniasis, are indispensable.

## References

1. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Série A, Normas e Manuais Técnicos. Brasília: SVS/MS; 2003.
2. Yamey G. The world's most neglected diseases. Ignored by the pharmaceutical industry and by public-private partnerships. *BMJ* 2002;**325**(27):176-177.
3. Herwaldt BL. Leishmaniasis. *Lancet* 1999;**354**:1191-1199.
4. Murray HW, Berman JD, Davies CR, Saravia NG. Advances in leishmaniasis. *Lancet* 2005;**366**:1561-1577.
5. Vianna G. Tratamento da leishmaniose tegumentar por injeções intravenosas de tártaro emético. *Anais do 7º. Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia* 1912;**4**: 426-428.
6. Saldanha ACR, Romero GAS, Merchan-Hamann E, Magalhães AV, Macedo VO. Estudo comparativo entre estibogluconato de sódio BP 88<sup>R</sup> no tratamento da leishmaniose cutânea: I. Eficácia e Segurança. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999; **32**(4):383-387.
7. Deps P, Viana MC, Falqueto A, Dietze R. Avaliação comparativa da eficácia e toxicidade do antimoniato de N-metil glucamina e do Estibogluconato de Sódio BP 88<sup>R</sup> no tratamento da leishmaniose cutânea localizada. *Rev Soc Bras Med Trop* 2000;**33**(6): 535-543.
8. Prata A. Estudo clínico do Calazar. Salvador, 1957. Tese. Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia.

9. Salgado Filho N, Ferreira TMAF, Costa JML. Envolvimento da função renal em pacientes com leishmaniose visceral (calazar). *Rev Soc Bras Med Trop* 2003; 36(2):217-221.
10. Mattos M, Friedman RK, Silva Filho IL, Oliveira Neto MP. Pancreatite: um dos efeitos adversos da terapia antimonial na leishmaniose/ Pancreatitis: one of the adverse effects of antimonial therapy in leishmaniasis. *An Bras Dermatol* 2000;75 (1):45-50.
11. Berman JD. Human leishmaniasis: clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. *Clin Infect Dis* 1997;24: 684-703.
12. Laguna F, Soriano V, Gonzáles-Lahoz JM. Misdiagnosis of pancreatitis in patients receiving treatment with pentavalent antimonial agents. *Clin Infect Dis* 1994; 19:978-979.
13. Choi CM, Lerner EA. Leishmaniasis as an Emerging Infection. *JID Symposium proceedings* 2001;6(3):175-182.
14. Ribeiro ALP, Drummond JB, Volpini AC, Andrade AC, Passos VMA. Electrocardiographic changes during low-dose, short-term therapy of cutaneous leishmaniasis with the pentavalent antimonial meglumine. *Braz J Med Biol Res* 1999;32(3)297-301.
15. Donovan KL, White AD, Cooke DA, Fisher DJ. Pancreatitis and palindromic arthropathy with effusions associated with sodium stibogluconate treatment in a renal transplant recipient. *J Infect* 1990;21:107-110.
16. Kuyucu N, Kara C, Bakirtaş A, Teziç T. Successful treatment of visceral leishmaniasis with allopurinol plus ketoconazole in na infant who developed pancreatitis caused by meglumine antimoniate. *Ped Infect Dis J* 2001;20(4):455-457.
17. Farmacia Hospitalaria. Madrid: Emisa; 1992.
18. Ministério da Saúde do Brasil. Coordenação de controle de infecção hospitalar. Guia básico para a farmácia hospitalar. Brasília:1994.
19. Brustoloni YM, Cunha RV, Oliveira ALL, Dorval MEC, Oshiro ET, Pontes ERJC. Leishmaniose visceral em crianças da região Centro-Oeste do Brasil: uma doença de evolução rápida. 2006. (Inédito).
20. Kafetzis DA, Maltezou HC. Visceral leishmaniasis in paediatrics. *Curr Opin Infect Dis* 2002;15:289-294.
21. Lawn SD, Armstrong M, Chilton D, Whitty CJM. Eletrocardiographic and biochemical adverse effects of sodium stibogluconate during treatment of cutaneous

and mucosal leishmaniasis among returned travellers. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 2006;**100**:264-268.

22. Neves J. Formas clínicas do calazar. *Hospital* (Rio de Janeiro) 1962;**61**:191.

23. Gasser RA, Maggil AJ, Oster CN. Pancreatitis induced by pentavalent antimonial agents during treatment of leishmaniasis. *Clin Infect Dis* 1994;**18**:83-90.

24. Domingo P, Ferrer S, Kolle L, Muñoz C, Rodriguez P. Acute pancreatitis associated with sodium stibogluconate treatment in a patient with human immunodeficiency virus. *Arch Intern Med* 1996;**156**(9):1029-1032.

25. Santos J, Rivero A, Márquez M. Acute pancreatitis with a fatal evolution due to antimonials in patients with visceral leishmaniasis and HIV infection. *An Med Interna* 2000;**17**(10):562-563.

26. Llorente S, Gimeno L, Navarro MJ, Moreno S, Rodriguez-Gironés M. Therapy of visceral leishmaniasis in renal transplant recipients intolerant to pentavalent antimonials. *Transplantation* 2000;**70**(5):800-801.

27. Lambertucci JR, França BM, Queiroz EM. Acute pancreatitis caused by meglumine antimoniate given for the treatment of visceral leishmaniasis. Pancreatite aguda causada pelo antimoniato de meglumina durante o tratamento de leishmaniose visceral. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004;**37**:74-75.

28. Herwaldt BL & Berman JS. Recommendations for treating leishmaniasis with sodium stibogluconate (Pentostam) and review of pertinent clinical studies. *Am J Trop Med Hyg* 1992;**46**:296-306.

29. Sampaio RNR, Martins Netto E, Faria EA, Sampaio JHD, Freitas LCF, Marsden PD. Morte súbita causada por glucantime/Sudden death caused by glucantine. *An Bras Dermatol* 1988;**63**:135-137.

30. Oliveira MC, Amorim RFB, Freitas RA, Costa ALL. Óbito em caso de leishmaniose cutaneomucosa após uso de antimonial pentavalente. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005;**38**(3):258-260.

31. Morais CF, Duarte MIS, Corbett CEP, Reis MM. Alterações morfológicas cardíacas no curso da leishmaniose visceral humana. Estudo baseado em 16 casos de necropsia. *Arq Bras Cardiol* 1988;**51**(6):441-445.

32. Sundar S, Sinha PR, Agrawai NK, Srivastava R, Rainey PM, Berman JD, Murray HW, Singh VP. A cluster of cases of severe cardiotoxicity among kala-azar patients

treated with a high-osmolarity lot of sodium antimony gluconate. *Am J Trop Med Hyg* 1998;**59**(1):139-143.

33. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Leishmaniose Visceral Grave. Normas e Condutas. Brasília:SVS/MS; 2005.

**Table I – Distribution according to age group of 14 cases of severe adverse reaction during visceral leishmaniasis with meglumine antimoniate treatment.**

**HU-UFMS, 2003 – 2004.**

Age group (years)	Patients treatment (n)	Severe adverse reaction (n)	%
0 - 10	62	02	3,22
11 - 20	07	03	42,85
21 - 50	25	05	20,00
Over 50	07	04	57,14
Total	101	14	100.0

**p: 0,0005**

Case	Age	Gender	Co-morbidities	Initial laboratorial exams	Onset of adverse reactions	Adverse reactions	Final laboratorial exams	Evolution
ERS	35	F	HIV	Cr: 1.0mg/dl,	32	Acute pancreatitis	Cr: 1,2 mg/dl, Urea: 23	Cured

				Urea: 20mg/dl, Amylase: 96U/L, Lipase: 91U/L			mg/dl, Amylase: 347U/L, Lipase: 969U/L	
SCR	27	F		Cr: 0,7 mg/dl, Urea: 18 mg/dl	22	Right cardiac insufficiency, cor pulmonale, pericardial effusion	Cr: 0,7 mg/dl, Urea: 36 mg/dl	Cured
DVS	31	F		Cr: 0,5 mg/dl Urea: 26mg/dl	18	Right cardiac insufficiency, cor pulmonale, acute myocardiopathy	Cr: 0,8 mg/dl, Urea: 38mg/dl	Cured
JJCS	18	M		Amylase: 84U/L, Lipase 195U/L	04	Acute pancreatitis	Amylase: 254U/L, Lipase: 1436U/L	Cured
LM	59	M		Cr: 1,4mg/dl, Urea: 59 mg/dl	09	Acute renal insufficiency, extensive cutaneous rash	Cr: 5,1 mg/dl, Urea: 138 mg/dl	Cured
JMS	51	M		Cr: 1,6mg/dl, Urea: 44mg/dl	10	Hepatic and acute renal insufficiency and pancreatitis	Cr: 7,0mg/dl, Urea: 146mg/dl, AST: 2927U/L, ALT: 1038U/L, Amylase: 1036 U/L	Death
MAM	14	M	pneumonia	Cr: 1,2mg/dl, Urea: 37mg/dl	03	Gingivorrhagia, epistaxis, renal and hepatic insufficiency	Cr: 2,5mg/dl, Urea: 96mg/dl, AST: 1332U/L, ALT: 216U/L	Death
AMFF	02	F	pneumonia	Cr: 0,6mg/dl, Urea: 72mg/dl	05	Hepatic and acute renal insufficiency	Cr: 3,4mg/dl, Urea: 222mg/dl, AST: 458U/L, ALT: 336U/L	Death
ER	50	M		Cr: 1,1mg/dl, Urea: 46mg/dl	04	Acute renal insufficiency, MMII edema, oliguria, hepatitis and pancreatitis	Cr:8,4 mg/dl, Urea: 205 mg/dl Amylase:4450U/L Lipase: 22389 U/L AST:684 U/L, ALT:107U/L	Death
MBAC	45	F	pneumonia	Cr: 0,9mg/dl, Urea: 08mg/dl ECG normal	25	Cardiac arrhythmia followed by cardiorespiratory arrest	Cr: 2,0mg/dl, Urea: 88mg/dl	Death
GR	02	M		Cr: 0,3 mg/dl, Urea: 18 mg/dl	28	Tonic clonic convulsive crisis during antimoniate infusion	Cr: 0,5 mg/dl, Urea: 25 mg/dl	Cured
ESL	14	F		Cr: 0,7 mg/dl, Urea: 29, AST: 280U/L, ALT: 157 U/L	02	Renal and hepatic insufficiency	Cr: 4,4 mg/dl, Urea: 104 mg/dl, AST: 581U/L, ALT: 212U/L, Bt: 15,3 mg/dl, BD: 11,6 mg/dl, BD: 3,7 mg/dl	Death
BJG	55	M		Cr: 1,5mg/dl, Urea: 127mg/dl	05	Renal and hepatic insufficiency, coagulation disorder	Cr: 2,6mg/dl, Urea: 196mg/dl, AST: 174U/L, ALT:92U/L,	Death
JAS	33	M		Cr: 1,2mg/dl, Urea: 37mg/dl, AST: 74, ALT: 51, Amylase: 78U/L, Lipase: 115U/L	03	Transaminases increase, pancreatitis, acute renal insufficiency	Cr: 2,7mg/dl, Urea: 116mg/dl, Amylase: 427U/L, Lipase: 924U/L, AST:288U/L, ALT:178U /L	Cured

Amylase (VR = 25 to 115 U/L) Lipase (VR = 114 to 286 U/L)

Figure I – Clinical, laboratorial and epidemiological characteristics of 14 cases of adverse reaction to meglumine antimoniate at the HU/UFMS, from January 2003 to December 2004.

## 7. DISCUSSÃO

O Estado de Mato Grosso do Sul possui uma área territorial de 358.158 km<sup>2</sup>, com uma população de 2.198.640 habitantes, sendo 84% em área urbana, situando-se na rota de mercados potenciais de toda zona ocidental da América do Sul, fazendo fronteira com as Repúblicas da Bolívia e do Paraguai. A principal atividade econômica está representada pelo comércio e serviços, porém o setor agropecuário tem maior peso no processo de desenvolvimento da economia estadual (158).

Até a década de 50, o calazar foi caracterizado epidemiologicamente como sendo uma doença esporádica, exclusivamente rural ou silvestre, atingindo o homem ou o cão quando em contato com ambientes florestais (46). A partir da década de 80 observa-se a ocorrência da LV em áreas urbanas, e na década de 90 a mesma já encontra-se em franco processo de expansão e urbanização no País (5).

A LV no Mato Grosso do Sul apresenta duas formas de ocorrência: foco antigo, desde 1980, em Corumbá, com características clássicas, como descritas por Deane e outro, recente, com aspecto epidemiológico de urbanização, iniciando no ano de 2000 em Três Lagoas e expandindo-se rapidamente, até chegar à capital do Estado, Campo Grande. Atualmente, a LV continua em franco processo de expansão e urbanização no Estado permanecendo como grave problema de Saúde Pública.

As cidades de Três Lagoas e Campo Grande, as quais vêm apresentando o maior coeficiente de incidência no Estado, são aquelas com alta densidade populacional, arborizadas (com árvores frutíferas nas ruas e avenidas principais), constituindo ambiente epidemiológico favorável para o desenvolvimento e manutenção dos flebótomos, contribuindo, portanto para a ocorrência da doença.

A zona urbana de Três Lagoas apresenta áreas com características rurais, com imensos terrenos baldios, animais pelas ruas (vacas, cavalos) e uma imensa reserva florestal no centro da cidade de onde, saem gambás que à noite visitam o peridomicílio das residências. Tal fato assume importância tendo em vista que o gambá é comprovadamente reservatório silvestre da LV em outras regiões (35, 106).

Outro fator de risco para LV que tem sido discutido é o crescimento desordenado das cidades vizinhas às matas remanescentes. Possivelmente em Três Lagoas, região agropastoril, a instalação recente de indústrias e o intenso processo migratório aliados ao desmatamento influenciaram a expansão da doença.

O artigo “**Leishmaniose visceral em Mato Grosso do Sul, Brasil: uma doença em expansão**” (Trabalho nº 1) descreve a introdução da LV no Estado, coincidindo com o relato do primeiro caso da doença nas Américas (104). A partir daí, foram esporádicas as menções sobre a existência da parasitose em zona rural de outras áreas do Estado, ressaltando a avaliação de Evandro Chagas que, após examinar toda a região a qualificou como não propícia ao desenvolvimento da LV (31).

A partir de 1980 surgiram os primeiros casos autóctones de LV na região de Corumbá tornando-se uma área endêmica, com as características semelhantes a outras regiões do País, na periferia da cidade, em pés de serra e bouqueirões, acometendo uma população de baixo padrão socioeconômico.

A diversidade encontrada nesta região foi a presença de *Lutzomyia cruzi* incriminada como vetora de *L. chagasi*, fato discutível pela similaridade das fêmeas de *Lu. cruzi* e *Lu. longipalpis*, mas no período não foi encontrado *Lu. longipalpis* na região (153).

Outro fato interessante foi o isolamento de *L.chagasi* em reservatório silvestre, a raposa *Cerdocyon thous*, no ano de 1988, como visto em outros trabalhos brasileiros (102, 165, 167).

A partir de 1995 a doença começou a se expandir para municípios adjacentes. Em 2000, na divisa com o Estado de São Paulo, surge a epidemia em um novo município, Três Lagoas, com características de urbanização da doença, expandindo-se rapidamente para outras regiões. A doença chegou em 2002 a Campo Grande, capital do Estado, onde, provavelmente devido ao adensamento de pessoas, ocorreu grande número de casos. Os pacientes apresentavam manifestações precoces da doença e, laboratorialmente, baixo número de parasitos ao mielograma, dificultando o diagnóstico e aumentando o índice de letalidade da doença.

Com as medidas de controle implantadas os profissionais de saúde foram alertados e, conseguiu-se uma redução na letalidade.

O artigo “**Foco emergente de leishmaniose visceral em Mato Grosso do Sul**” (Trabalho nº 2) trata-se do primeiro estudo no Estado que descreve as características clínico-epidemiológicas da LV em humanos e foi realizado no município de Três Lagoas, área de introdução recente da doença.



O estudo demonstrou que a doença ocorreu predominantemente no sexo masculino, não diferindo do já relatado na literatura (71, 163). Ao observar a figura de distribuição por faixa etária e sexo (Fig. 1), verifica-se que nos extremos de idade existiu uma semelhança quanto ao sexo, que foi se distanciando com o aumento da idade e volta a se aproximar após os 60 anos. Estudos relacionados com a atividade laborativa do indivíduo deveriam ser desenvolvidos, assim como com a interferência hormonal, dentre outros, para investigar a possibilidade de proteção ligada a hormônios femininos como ocorre em outras doenças infecciosas (137).

Houve maior incidência na faixa etária de 0 a 4 anos de idade, porém, do número total de casos (n=149) 66 eram adultos, com idade variando de 20 a 87 anos, fato encontrado em municípios recentemente autóctones para LV.

Em relação às manifestações clínicas, embora não tenha sido observada diferença daquelas classicamente descritas para a doença, chamou atenção o curto período de surgimento dos sintomas, que variou de 11 a 20 dias, com exuberância das manifestações. Este fato permitiria o diagnóstico e tratamento precoces, não fosse o fato do desconhecimento da doença pelos profissionais de saúde, aliado à susceptibilidade dos indivíduos à doença, despreparados imunologicamente pela exposição recente à *L. chagasi*.

Analisando os resultados laboratoriais encontrados e comparando com outras investigações, observou-se que poucos pacientes (n=48) apresentavam dosagem de proteínas totais e frações, que muito auxiliam no diagnóstico clínico, refletindo a dificuldade de acesso que os profissionais de saúde de pequenos municípios têm em relação aos métodos laboratoriais que subsidiam a suspeita clínica. Os exames laboratoriais encontrados demonstraram pancitopenia, com diagnóstico pela observação da leishmania em esfregaços de medula óssea como descrito em outras áreas (4, 133).

Por ser medicamento de escolha para LV, o antimoniato de meglumina foi a droga mais utilizada. Os pacientes apresentaram boa resposta ao medicamento quando tratados na posologia e duração recomendadas pelo Ministério da Saúde, com evolução para cura em 88% dos casos. Um aspecto relevante observado foi o tratamento em subdose devido ao erro de interpretação da bula do medicamento, desencadeando recidivas freqüentes (43%). Tal fato foi comunicado à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que, juntamente com o Ministério da Saúde, procedeu à revisão da bula desencadeando o correto processo de

prescrição. O abandono de tratamento não foi observado devido à efetividade da busca ativa realizada pela Secretaria de Saúde Municipal.

Quanto à mortalidade, como no restante do País, a maioria dos casos de óbito ocorreu em adultos do sexo masculino, porém, a taxa de letalidade (7,5%) foi maior em indivíduos acima de 60 anos. Isto se deve provavelmente à presença de doença de base, que foi determinante para o êxito letal na LV, assim como a falta de diagnóstico na introdução da doença, não permitindo tratamento precoce como visto em Minas Gerais (163).

O Bairro Santa Rita, área desmatada, onde foi encontrada maior prevalência da doença, apresenta condições semelhantes às descritas em Teresina ressaltando limite da cidade com a mata, habitado por moradores de baixa renda, permitindo supor a transição entre o ciclo silvestre e doméstico, o que aumenta o contato entre o reservatório doméstico-vetor e o homem (86).

Foi nesta perspectiva que o próximo estudo investigou a presença de transmissão ativa de LV em área urbana, a partir de fatores e processos relacionados aos condicionantes epidemiológicos em contactantes domiciliares dos casos de doença, que contribuem para essa morbidade.

O artigo **“Infecção assintomática por *Leishmania chagasi* em área de instalação recente da doença, Três Lagoas, Mato Grosso do Sul”** (Trabalho n° 3) teve o intuito de verificar a ocorrência desta infecção entre contactantes moradores do mesmo domicílio de casos de LV, nos quais constatou-se alta prevalência sorológica, pelas reações de IFI e ELISA.

Um fato interessante foi a similaridade entre os sexos dentre os infectados, não havendo predomínio entre eles, como já visto em outros estudos (9). Sabe-se que as pessoas infectam-se de forma igual, porém os homens (71,1%) adoecem mais que as mulheres, como visto no artigo anterior. Alguns trabalhos têm tentado correlacionar com marcadores genéticos, em modelo animal, mas este mecanismo permanece inexplicado, necessitando de estudos mais complexos (16, 92).

Não houve predomínio quanto à faixa etária, com as pessoas se infectando de forma semelhante. Quando se observa a distribuição da doença por faixa etária no artigo anterior (Tabela 1), nota-se um coeficiente de incidência maior entre as crianças. Diferentes fatores têm sido estudados para tentar explicar. Sabe-se que,

numa área de instalação recente todos os indivíduos encontram-se expostos, porém, a distribuição da doença é heterogênea nas localidades (29).

A população apresenta-se susceptível à *L. chagasi*, sem estar apta a uma resposta imunológica efetiva, contribuindo para o adoecimento das pessoas em diferentes faixas etárias. No entanto, no decorrer de processos adaptativos, existe uma tendência de adoecerem somente as crianças, associando-se então a doença ao estado imunológico e às condições socioeconômicas do paciente (41, 77, 143).

Diversos artigos têm sido publicados correlacionando a LV com estado nutricional comprometido, ausência de infra-estrutura, tendo sido caracterizados como fatores de risco para o adoecimento, porém, não para a infecção (23, 41, 186).

Na presente casuística as residências possuíam infra-estrutura adequada, exceto pela rede de esgoto inexistente. No entanto, a julgar pela literatura consultada, os dados obtidos são discordantes quanto à coleta pública de lixo e condições de moradia (23, 41, 113).

Apesar da informação de coleta pública do lixo, 100% da população disseram conhecer o vetor e relataram a presença do mesmo no domicílio e ou peridomicílio. Vale ressaltar que a abundância de vegetação (Quadro 1) nos arredores das residências pode ser responsável por condições favoráveis ao desenvolvimento do vetor e também por criar microambientes para suas larvas (113).

A presença de crianças no peridomicílio no final da tarde, outro fator de risco observado em Sabará-MG e Teresina-PI (29, 113) foi referida por 72% dos entrevistados.

O cão doméstico tem sido considerado um importante reservatório de *L. chagasi* em ambiente urbano e periurbano. Desta forma, menciona-se que 56,5% dos contactantes relataram a propriedade ou a permanência desse animal dentro ou nas imediações das moradias, permitindo sugerir, assim como em outras áreas de ocorrência da doença, a importância desse animal como fonte de alimento e de infecção para as espécies de flebotomíneos adaptadas às áreas urbanizadas (10, 163).

Embora os fatores de risco para a infecção não tenham sido estudados, o conhecimento de condicionantes epidemiológicos presentes nesta população é importante, uma vez que, estudos dessa natureza realizados no Brasil e Turquia sugerem o risco de infecção dos familiares a partir dos indivíduos doentes (39, 146).

O artigo “**Reações adversas graves do antimoniato de meglumina no tratamento da leishmaniose visceral: relato de 14 casos em Campo Grande (MS), Brasil**” (trabalho n° 4) refere-se ao tratamento para LV no HU/UFMS, onde foram observados diversos casos de reações adversas ao antimoniato de meglumina, medicamento de escolha para a doença. Entre estas se destacaram aquelas que expuseram os pacientes ao risco de morte, resultando em óbito de sete pacientes.

Devido ao fato da população mundial com risco de adoecer por LV ser de baixo poder aquisitivo, a indústria farmacêutica negligencia esta doença, e mais uma vez, os resultados demonstram a necessidade de novas opções terapêuticas, com baixa toxicidade e de fácil administração (188).

Os casos descritos no presente trabalho constataram que a pancreatite é uma reação adversa freqüente, que deve ser pensada e investigada durante o tratamento e que pode ser causa de aumento da mortalidade na doença. Estudos realizados na Etiópia demonstram que, em casos de co-infecção HIV/ *L. donovani*, a mortalidade por pancreatite decorrente do uso do antimonial pentavalente (Stibogluconato de Sódio), chegou a um terço dos pacientes submetidos ao tratamento (3).

Embora a cardiotoxicidade seja freqüentemente observada durante o tratamento com antimoniais e monitorada através do ECG semanal que permite detectar precocemente arritmias cardíacas, durante o estudo um paciente foi a óbito em decorrência desta complicação. Ainda que a miocardiopatia relacionada à LV ou à droga seja pouco descrita, o comprometimento do miocárdio foi encontrado em dois pacientes no presente estudo. Estes pacientes eram adultos, com mais de 30 anos, sem história prévia de cardiopatia ou hipertensão arterial e desenvolveram a miocardiopatia após o vigésimo dia de tratamento, necessitando de terapêutica específica para insuficiência cardíaca. Estes achados coincidem com os relatos da literatura sobre o efeito cumulativo da droga (89, 140).

O comprometimento renal foi observado associado à pancreatite ou isoladamente. O funcionamento insuficiente dos rins altera o metabolismo do antimonial, aumentando mais ainda a sua toxicidade, conseqüentemente podendo cursar com insuficiência hepática e pancreatite (148).

Estas complicações demonstram que a monitorização dos pacientes em tratamento para LV deve ser rigorosa, com acompanhamento da função renal, pancreática, hepática e cardíaca, seqüencialmente, pois, no início do tratamento as

alterações predominantes são as insuficiências renal, hepática e pancreática e, posteriormente, no final do tratamento observa-se a cardiotoxicidade.

No transcorrer deste estudo observou-se um caso de crise convulsiva tônico-clônica generalizada durante a infusão do antimoniato, sugerindo discussões sobre o assunto, uma vez que não foi encontrada descrição anterior na literatura estudada.

Concluindo, os dados aqui apresentados permitiram delinear um perfil clínico e epidemiológico da LV em áreas de instalação recente no Mato Grosso do Sul, reforçando sua importância em termos de Saúde Pública e subsidiando os órgãos responsáveis pela saúde no Estado a fim de definir ações efetivas para o diagnóstico, tratamento e controle, contribuindo para minimizar o impacto desta parasitose.

Assim, reconhecendo a necessidade de buscar novos conhecimentos sobre a doença e seus fatores determinantes nesta região, e considerando o contexto da criação da Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias, na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, implementa-se, a partir deste trabalho, a linha de pesquisa em Leishmanioses no nosso Estado.

## **8. CONCLUSÕES**

A leishmaniose visceral é uma doença em franca expansão no Mato Grosso do Sul, com características de urbanização, representando importante agravo à saúde pública no Estado, com Campo Grande e Três Lagoas apresentando os maiores coeficientes de incidência.

Durante o estudo da leishmaniose visceral (LV) no município de Três Lagoas observou-se que as manifestações clínicas foram precoces, tendo ocorrido com frequência infecção associada, principalmente a pneumonia. Houve predomínio da doença no sexo masculino, com maior incidência em crianças, porém, com maior número de casos entre os adultos. Os pacientes obtiveram boa resposta ao tratamento com antimoniato de meglumina, demonstrando sensibilidade ao medicamento.

A taxa de letalidade foi semelhante à encontrada no restante do País.

Ao estudar a prevalência de infecção assintomática em contactantes no município de Três Lagoas, esta foi elevada demonstrando que as pessoas estão expostas à infecção por *L. chagasi*, não havendo diferença quanto ao sexo ou idade.

Quanto às características socioeconômicas e epidemiológicas, foram encontradas diferenças quanto ao tipo de moradia, que apresentavam boa infraestrutura, porém, os indivíduos apresentavam ensino fundamental incompleto, com renda familiar de até dois salários mínimos. A permanência de crianças no peridomicílio ao entardecer, cães presentes do domicílio ou no peridomicílio e o relato da presença do flebótomo também foi constatado, evidenciando os mesmos fatores de risco encontrados em outras regiões do País.

Quando do estudo do antimonioato de meglumina em tratamentos ocorridos no HU/UFMS concluiu-se que as reações adversas graves ocorreram mais em adultos acima de 50 anos, com predomínio do sexo masculino, ressaltando as mais freqüentemente encontradas: insuficiências renal e hepática e pancreatite. O surgimento destas, em sua maioria, foi precoce, com alta mortalidade, demonstrando que o antimonioato de meglumina deve ser utilizado com controle laboratorial e clínico rigorosos, principalmente em pacientes adultos.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alexander J, Bryson K. T helper (h)1/Th2 and *Leishmania*: paradox rather than paradigm. Immunol Letters 2005;99:17-23.
2. Almeida MAO, Jesus EEV, Souza-Atta MLB, Alves LC, Berne MEA, Atta AM. Clinical and serological aspects of visceral leishmaniasis in Northeast Brazilian dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. Vet Parasitol 2004;1-6.
3. Anema A, Ritmeijer K. Treating HIV/AIDS and leishmaniasis coinfection in Ethiopia. JAMC 2005;172(11):1434-1435.
4. Araújo Sobrinho J, Rodrigues MLC, Gonzaga AA, Celino ACBL. Aspectos epidemiológicos, laboratoriais e terapêuticos da leishmaniose visceral no Hospital Universitário Alcides Carneiro-PB. Rev IMIP 1999;13(1):13-16.
5. Arias JR, Monteiro P, Zicker F. The re-emergence of visceral leishmaniasis in Brasil. Emerg Infect Dis 1996;2:145-146.
6. Ashford WA, David JR, Freire M, David R, Sherlock I, Da Conceição EM, et al. Studies on control of visceral leishmaniasis: impact of dog control on canine and human visceral leishmaniasis in Jacobina, Bahia, Brazil. Am J Trop Med Hyg 1998;59:53-57.

7. Ashford WA. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. Clin Dermatol 1996;14:523-532.
8. Badaró R & Duarte MIS. Leishmaniose visceral. In: Veronesi R, Focaccia R, editores. Tratado de Infectologia. São Paulo: Atheneu; 2002. p.1254-1279.
9. Badaró R, Jones TC, Carvalho EM, Sampaio D, Reed SG, Barral A, et al. New perspectives on a subclinical form of visceral leishmaniasis. J Infect Dis 1986;154(6):1003-1011.
10. Barbosa-de-Deus R, Mares-Guia ML, Nunes AZ, Costa KM, Junqueira RG, Mayrink W, et al. *Leishmania major*-like antigen for specific and sensitive serodiagnosis of human and canine visceral leishmaniasis. Clin Diagn Lab Immunol 2002;9(6):1361-1363.
11. **Barral A, Badaró R, Barral-Neto M, Grimaldi Jr G, Momen H, Carvalho EM. Isolation of *Leishmania mexicana amazonensis* from the bone marrow in a case of American visceral leishmaniasis. J Trop Med Hyg 1986;35:732-734.**

**Nota de rodapé:** Foram adotadas as Normas de Vancouver segundo recomendação do IOC/FIOCRUZ. [capturado em 20.02.2006]. **Disponível em:** <http://ensino.ioc.fiocruz.br/ensino/cgi/public/cgillua.exe/web/templates/htm/user/frameaset.htm?user=reader> .

12. Barral A, Guerreiro J, Bomfim G, Correia D, Barral-Neto M, Carvalho EM. Lymphadenopathy as the first sign of human cutaneous infection by *Leishmania braziliensis*. Am J Trop Med Hyg 1995;53:256-259.
13. Basset D, Faraut F, Marty P, Dereure J, Rosenthal E, Mary C, et al. Visceral leishmaniasis in organ transplant recipients: 11 new cases and a review of the literature. Microbes Infect 2005;7:1370-1375.
14. Berman JD. Human leishmaniasis: clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. Clin Infect Dis 1997;24:684-703.
15. Bevilacqua PD, Paixão HH, Modena CM, Castro MCPS. Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte. Arq Bras Med Vet Zootec 2001; 53:1-8.
16. Blackwell JM. Genetic susceptibility to leishmanial infections: studies in mice and man. Parasitology 1996;112:S67-S74.
17. Boehme CC, Hain U, Novosel A, Eichenlaub S, Fleischmann E, Löscher T. Congenital visceral leishmaniasis. Emerg Infect Dis. [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid). 2006; 12(2):359-360.
18. Brahmajari UN. A treatise on Kala-azar. London: John Bale, Sons and Danielsson; 1928. p.252.
19. Burton A. Miltefosine – oral victory over visceral leishmaniasis. Lancet 2003;3:6.

20. Cabrera MAA, De Paula AA, Camacho LAB, Marzochi CA, Aguiar GM, Xavier SC, et al. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of some risk factors. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2003;45 (supl 2):79-83.
21. Caldas AJM, Costa JML, Gama MEA, Ramos EAG, Barral A. Visceral leishmaniasis in pregnancy: a case report. *Acta Trop* 2003;1-5.
22. Caldas AJM, Costa JML, Silva AAM, Vinhas V, Barral A. Risk factors associated with asymptomatic infection by *Leishmania chagasi* in north-east Brazil. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 2002; 96:21-28.
23. Caldas AJM, Silva DRC, Pereira CCR, Nunes PMS, Silva BP, Silva AAM, et al. Infecção por *Leishmania (Leishmania) chagasi* em crianças de uma área endêmica de leishmaniose visceral americana na Ilha de São Luis-MA, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2001;34(5):445-451.
24. Camargo-Neves VLF, Katz G, Rodas LAC, Poletta DW, Lage LC, Spínola RMF, et al. Utilização de ferramentas de análise espacial na vigilância epidemiológica de leishmaniose visceral americana – Araçatuba, São Paulo, Brasil, 1998-1999. *Cad Saúde Pública* 2001;17(5):1263-1267.
25. Carvalho EM, Barral A, Costa JLM, Bittencourt A, Marsden P. Clinical and immunopathological aspects of disseminated cutaneous leishmaniasis. *Acta Trop* 1994;56:315-325.
26. Carvalho EM, Barral A, Pedral-Sampaio D, Barral-Neto M, Badaró R, Rocha H, et al. Immunologic markers of clinical evolution in children recently infected with *Leishmania donovani chagasi*. *J Infect Dis* 1992;165:535-540.
27. Carvalho SFG. Utilização de baixas dosagens de Desoxicolato de Anfotericina B no tratamento da leishmaniose visceral em crianças e adolescentes. Belo Horizonte; 2000. Mestrado [Pediatria]. Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais.
28. Cascio A, Colomba C, Antinori S, Orobello M, Paterson D, Titone L. Pediatric Visceral leishmaniasis in Western Sicily, Italy: a retrospective analysis of 111 cases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002;21:277-282.
29. Cerbino Neto J. Fatores associados à incidência de leishmaniose visceral em Teresina – PI na década de 90. Rio de Janeiro; 2003. Mestrado [Doenças Infecciosas e Parasitárias]. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
30. Cesse, Eduarda Ângela Pessoa. Expansão e urbanização da leishmaniose visceral: Estudo epidemiológico do processo de transmissão ativa em área urbana – Petrolina/PE, 1992-1997. Recife; 1999. Mestrado [Saúde Pública]-Instituto Aggeu Magalhães – Fundação Oswaldo Cruz.
31. Chagas E, Chagas AW. Notas sobre epidemiologia da leishmaniose visceral americana no Mato Grosso. *O Hospital* 1938;13:471-480.
32. Chiari CA, Magalhães P, Mayrink W. Pesquisa de anticorpos, por imunofluorescência, em soros de pacientes com leishmaniose tegumentar americana apresentando lesões cutâneas recentes. [Rev Inst Med Trop Sao Paulo](#) 1973;15(5):304-309.



33. Choi CM, Lerner EA. Leishmaniasis as an Emerging Infection. JID Symposium Proceedings 2001;6(3):175-182.
34. Collin S, Davidson R, Ritmeyer K, Keus K, Melaku Y, Kipngetich S, et al. Conflict and kala-azar. Determinants of adverse outcomes of kala-azar among > 3000 patients treated by Médecins Sans Frontières-Holland in Southern Sudan (1999-2002). Clin Infect Dis 2004;38:612-619.
35. Corredor A, Gallego JF, Tesh RB, Morales A, De Carrasquilla CF, Young DG, et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis in Colômbia. Am J Trop Med Hyg 1989;40(5):480-486.
36. Cortada VMCL, Dorval MEC, Souza-Lima MAA, Oshiro ET, Meneses CRV, Abreu-Silva AL, et al. Canine visceral leishmaniosis in Anastácio, Mato Grosso do Sul State, Brazil. Vet Res Commun 2004;28:365-374.
37. Costa CHN, Gomes RBB, Silva MRB, Garcez LM, Ramos PKS, Santos RS, et al. Competence of the human host as a reservoir for *Leishmania chagasi*. J Infect Dis 2000;182:997-1000.
38. Costa CHN, Pereira HF, Araujo MV. Epidemia de leishmaniose visceral no Estado do Piauí, Brasil (1980-1986). Rev Saúde Pública 1990;24:361-372.
39. Costa CHN, Stewart JM, Gomes RB, Garcez LM, Ramos PK, Bozza M, et al. Asymptomatic human carriers of *Leishmania chagasi*. Am J Trop Med Hyg 2002;66(4):334-337.
40. Costa CHN, Vieira JBF. Mudanças no controle da leishmaniose visceral no Brasil. Rev Soc Bras Med Trop 2001;34(2):223-228.
41. Costa CHN, Werneck GL, Rodrigues L, Santos MV, Araújo IB, Moura LS, et al. Household structure and urban services: neglected targets in the control of visceral leishmaniasis. Ann Trop Med Parasitol 2005;99(3):229-236.
42. Costa JML, Viana GMC, Saldanha ACR, Nascimento MDSB, Alvim AC, Burattini MN, et al. Leishmaniose visceral no estado do Maranhão, Brasil: a evolução de uma epidemia. Cad Saúde Pública 1995;11(2):321-324.
43. Cox FEG. Cell biology and immunology of leishmaniasis In: Hart DT, editor. Leishmaniasis: the current status and new strategies for control. New York: Plenum Press; 1989. p. 255-257.
44. Croft SL, Coombs GH. Leishmaniasis – current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. TRENDS in Parasitol 2003;19(11):502-508.
45. Deane LM & Deane MP. Observações preliminares sobre a importância comparativa do homem, do cão e da raposa *Lycalopex vetulus* como reservatórios da *L. donovani* em área endêmica de calazar no Ceará. Hospital 1955;48:61-70.
46. Deane LM. Leishmaniose Visceral no Brasil. Estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará, Serviço Nacional de Educação Sanitária, Rio de Janeiro; 1956. 162p.

47. Deps P, Viana MC, Falqueto A, Dietze R. Avaliação comparativa da eficácia e toxicidade do antimoniato de N-metil glucamina e do Estibogluconato de Sódio BP 88<sup>R</sup> no tratamento da leishmaniose cutânea localizada. *Rev Bras Med Trop* 2000;33(6) 535-543.
48. Desjeux P. Human leishmaniasis: epidemiology and public health aspects. *World Health Stat Q* 1992;45:267-275.
49. Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2004;27:305-318.
50. Desjeux P. Options thérapeutiques pour la leishmaniose viscérale. *Med Mal Infect* 2005;35:S74-S76.
51. Dietze R, Barros GB, Teixeira L, Harris J, Michelson K, Falqueto A, Corey R. Effect of eliminating seropositive canines on the transmission of visceral leishmaniasis in Brazil. *Clin Infect Dis* 1997;25:1240-1242.
52. Dietze R, Carvalho SFG, Valli LC, Berman J, Brewer T, Milhous W, et al. Phase 2 trial of WR6026, an orally administered 8-aminoquinoline, in the treatment of visceral leishmaniasis caused by *Leishmania chagasi*. *Am J Trop Med Hyg* 2001;65(6):685-689.
53. Donovan A. On the possibility of the occurrence of Trypanosomiasis in India. *Brit Med J* 1903;2:79.
54. El Hag IA, Hashim FA, El Tourn IA, Homeida H, El Khalifa M, El Hassan AM. Liver morphology and function in visceral leishmaniasis (Kala-azar). *J Clin Pathol* 1994;47:547-551.
55. El Hassan AM, Ahmed MAM, Abdul Rahim AG, Abdul Satir A, Wasfi A, Kordofani AAY, et al. Visceral leishmaniasis in the Sudan: clinical and hematological features. *An Saudi Med* 1990;10:51-56.
56. Evans TG, Teixeira MJ, McAuliffe IT, Vasconcelos I, Vasconcelos AW, Sousa A, et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis in Northeast Brazil. *J Infect Dis* 1992;166:1124-1132.
57. Ferreira GMOG, Moura NFO, Elkhoury ANM, Alves WA, Souza M, Costa WA, et al. Aspectos sobre o diagnóstico laboratorial da leishmaniose visceral a partir do banco do SINAN – Brasil, 2004. *Rev Soc Bras Med Trop* 2006;39(Suppl 1) P. 417.
58. Ferrer LM. Clinical aspects of canine leishmaniasis. In: *Canine leishmaniasis: an Update. Proceedings of a Canine Leishmaniasis Forum*. Barcelona. Wiesbadaen: Hoeschst Roussel Veterinary; 1999. p. 6-10.
59. Ferro C, Morrison AC, Torres M, et al. Species composition and relative abundance of sand flies of the genus *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colômbia. *J Med Entomol* 1995;32(4):527-537.

60. Figueiró Filho EA, Uehara SNO, Senefonte FRA, Lopes AHA, Duarte G, El Beitune P. Leishmaniose visceral e gestação: relato de caso. Rev Bras Ginecol Obstet 2005;27(2):92-97.
61. Fundação Nacional de Saúde. Leishmaniose visceral (LV). In: Ministério da Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica. v. II, 4ª. ed. Brasília: FUNASA; 1998. p.36-49.
62. Gagnaire MH, Galambrum C, Stéphan JL. Hemophagocytic syndrome: a misleading complication of visceral leishmaniasis in children. A series of 12 cases. Pediatrics 2000;106:E58.
63. Gangneux JP. Traitement de la leishmaniose viscérale: modalités recentes. Presse Med 1999;28(37):2057-2066.
64. Gasser RA, Maggil AJ, Oster CN. Pancreatitis induced by pentavalent antimonial agents during treatment of leishmaniasis. Clin Infect Dis 1994; 18:83-90.
65. Genaro O, Costa CA, Williams P, Silva JE, Rocha NM, Lima SL, et al. Ocorrência de calazar em área urbana da Grande Belo Horizonte, MG. Rev Soc Bras Med Trop 1990;23(2):121.
66. Ghosh M, Bandyopadhyay S. Present status of antileishmanial vaccines. Molecul Cell Biochem 2003;253:199-205.
67. Gontijo CMF, Melo MN. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro clínico, desafios e perspectivas. Rev Bras Epidemiol 2004;7(3):338-349.
68. Goto H, Lindoso JAL. Immunity and immunosuppression in visceral leishmaniasis. Braz J Med Biol Res 2004;37:615-623.
69. Grech V, Mizzi J, Mangion M, Vella C. Visceral leishmaniasis in Malta – an 18-year paediatric, population based study. Arch Dis Child 2000;82:381-385.
70. Guerin PJ, Oliaro P, Shyam S, Boelaert M, Croft S, Desjeux P, et al. Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. Lancet Infect Dis 2002;2:494-500.
71. Guerra JAO, Barros MLB, Fé NF, Guerra MVE, Castellon E, Paes MG, et al. Leishmaniose visceral entre índios no Estado de Roraima, Brasil. Aspectos clínicoepidemiológicos de casos observados no período de 1989 a 1993. Rev Soc Bras Med Trop 2004;37:305-311.
72. Haidar NA, Diab ABL, El-Sheikh AM. Visceral leishmaniasis in children in the Yemen. Saudi Med J 2001;22:516-519.
73. Hernandez D, Rodriguez N, Garcia L, Convit J. *Leishmania braziliensis* causing visceral leishmaniasis in a patient with human immunodeficiency virus infection, identified with the aid of polymerase chain reaction. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1993;87:627-628.
74. Herwaldt B. Leishmaniasis. Lancet 1999;354:1191-1199.

75. Kafetzis DA Maltezou HC. Visceral leishmaniasis in paediatrics. *Curr Opin Infect Dis* 2002;15:289-294.
76. Kean BH, Mott KE, Russel A. Calazar, tropical medicine and parasitology. *Classic Investigations*. Cornell University Press; 1978. p.254-270.
77. Kemp M, Theandeer TG, Kharazmi A. The contrasting roles of CD4 T cells in intracellular infections in humans: leishmaniasis as an example. *Immunol Today* 1996;17:13-17.
78. Killick-Kendrick R, Killick-Kendrick M, Focheux C, Dereure J, Puech MP, Cadièrgues MC. Protection of dogs from bites of phlebotomine sandflies by deltamethrin collars for control of canine leishmaniasis. *Med Vet Entomol* 1997;11:15-21.
79. Killick-Kendrick R. The biology and control of phlebotomine sand flies. *Clin Dermatol* 1999;17:279-289.
80. Kontopoulou T, Tsaousis G, Vaidakis E, Fanourgiakis P, Michalakeas E, Trigoni E, et al. Hemophagocytic syndrome in association with visceral leishmaniasis. *Am J Med* 2002;113:439-440.
81. Lachaud L, Chabbert E, Dubessay P, Dereure J, Lamothe J, Dedet JP, et al. Value of two PCR methods for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis and the detection of asymptomatic carriers. [Parasitology](#) 2002;125(3):197-207.
82. Laguna F, Lopéz-Vélez R, Pulido F, Salas A, Torre-Cisneiros J, Torres E, et al. Treatment of visceral leishmaniasis in HIV-infected patients: a randomized trial comparing meglumine antimoniate with amphotericin B. *AIDS* 1999;13:1063-1070.
83. Lainson R & Shaw JJ. Evolution, classification and geographical distribution. In: Peters W, Killick-Kendrick R editors. *The leishmaniasis in Biology and Medicine*. London: Academic Press; 1987. p.1-120.
84. Lainson R, Dye C, Shaw JJ, MacDonald DW, Courtney O, Souza AAA, et al. Amazonian visceral leishmaniasis-Distribution of the vector *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) in relation to the fox *Cerdocyon thous* and the efficiency of this reservoir host as a source of infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1990;85:135-137.
85. Lainson R, Ishikawa AY, Silveira FT. American visceral leishmaniasis: wild animal hosts. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 2002; 96:630-631.
86. Lainson R, Rangel EF. Ecologia das leishmanioses. *Lutzomyia longipalpis* e a Eco-Epidemiologia da leishmaniose visceral americana (LVA) no Brasil. In: Rangel EF, Lainson R editores. *Flebotomíneos no Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. p.311-336.
87. Lambertucci JR, França BM, Queiroz EM. Pancreatite aguda causada pelo antimoniato de meglumina durante o tratamento de leishmaniose visceral. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004;37:74-75.

88. Lanzaro G, Ostrovska K, Herrero M, Lawyer P, Warburg A. *Lutzomyia longipalpis* is a species complex: genetic divergence and interspecific hybrid sterility among three populations. *Am J Trop Med Hyg* 1993;48:839-847.
89. Lawn SD, Armstrong M, Chilton D, Whitty CJM. Eletrocardiographic and biochemical adverse effects of sodium stibogluconate during treatment of cutaneous and mucosal leishmaniasis among returned travellers. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 2006;100:264-268.
90. Leishman WB. On the possibility of the occurrence of Trypanosomiasis in India. *Brit Med J* 1903;1:1252-1254.
91. Lerner EA, Ribeiro JM, Nelson RJ, Lerner MR. Isolation of maxadilan, a potent vasodilatory peptide from the salivary glands of the sand fly *Lutzomyia longipalpis*. *J Biol Chem* 1991;266:11234-11236.
92. Lipoldova M, Svobodova M, Kruvova M, Havelkova H, Badalova J, Nohynkova E et al. Susceptibility to *Leishmania major* infection in mice: multiple loci and heterogeneity of immunopathological phenotypes. *Genes Immunol* 2000;1:200-206.
93. Lutz A & Neiva A. Contribuição para o conhecimento das espécies do gênero *Phlebotomus* existentes no Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1912;4:84-95.
94. Luz KG, Succi RCM, Torres E. Nível sérico da vitamina A em crianças portadoras de leishmaniose visceral. *Rev Soc Bras Med Trop* 2001;34(4):381-384.
95. Maltezou HC, Siafas C, Mavrikou P. Visceral Leishmaniasis during Childhood in Southern Greece. *Clin Infect Dis* 2000;31:1139-1143.
96. Maroli M, Mizzon V, Siragusa C. Evidence for an impact on the incidence of canine leishmaniasis by the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars in Southern Italy. *Med Vet Entomol* 2001;15:358-363.
97. Marty P. Épidémiologie et diagnostic des leishmanioses viscérales. *Med Mal infect* 2005; 35:S72-S73.
98. Marzochi MCA, Marzochi KBF, Carvalho RW. Visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro. *Parasitol Today* 1994;10:34-37.
99. Mauricio IL, Stohard JR, Miles MA. The strange case of *Leishmania chagasi*. *Parasitol Today* 2000;16:188-189.
100. Meinecke CK, Schottelius J, Oskam L, Fleischer B. Congenital transmission of visceral leishmaniasis (Kala-azar) from an asymptomatic mother to her child. *Pediatrics* 1999;104:65.
101. Meleney HE. Kala-azar in China with special reference to its histopathology in experimentally infected hamsters. *Proc R Soc Med* 1925;1:33.
102. Mello DDA, Rego Jr FA, Oshiro E, Nunes VLB. *Cerdocyon thous* (L.) Carnivora, Canidae) naturally infected with *Leishmania donovani chagasi* (Cunha & Chagas, 1937) in Corumbá (Mato Grosso do Sul State, Brazil). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1988;83:259.

103. Mendonça SCF, Souza WJS, Nunes MP, Marzochi MCA, Coutinho SG. Indirect Immunofluorescence test in New World leishmaniasis: serologic and clinical relationship. Mem Inst Oswaldo Cruz 1988;83:347-355.
104. Migone LE. Um cas de kala-azar à Assuncion (Paraguay). Bull Soc Pathol Exot 1913;6:118-120.
105. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Leishmaniose Visceral Grave. Normas e Condutas. Brasília: SVS/MS; 2005.
106. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Normas e Manuais Técnicos. Brasília: SVS/MS; 2003.
107. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. Manual de recomendações para Diagnóstico, Tratamento e Acompanhamento da Co-infecção Leishmania – HIV. Normas e Manuais Técnicos. Brasília: 2004.
108. Mishra M, Biswas UK, Jha DN, Khan AB. Amphotericin versus pentamidine in antimony-unresponsive kala-azar. Lancet 1992;340:1256-1257.
109. Montalban C, Martinez-Fernandez R, Calleja JL, Garcia-Diaz JD, Rubio R, Drona F, et al. Visceral leishmaniasis (Kala-azar) as an opportunistic infection in patients infected with the human immunodeficiency virus in Spain. Review Infect Dis 1989;11:655-660.
110. Monteiro EM, Silva JCF, Costa RT, Costa DC, Barata RA, Paula EV, et al. Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. Rev Soc Bras Med Trop. 2005;38(2):147-152.
111. Monteiro PS, Lacerda MM, Arias JR. Controle da leishmaniose visceral no Brasil. Rev Soc Bras Med Trop 1994;27(supl.3):67-72.
112. Morais CF, Duarte MIS, Corbett CEP, Reis MM. Alterações morfológicas cardíacas no curso da leishmaniose visceral humana. Estudo baseado em 16 casos de necropsia. Arq Bras Cardiol 1988;51(6):441-445.
113. Moreno EC, Melo MN, Genaro O, Lambertucci JR, Serufo JC, Andrade ASR, et al. Risk factors for *Leishmania chagasi* infection in a urban área of Minas Gerais State. Rev Soc Bras Med Trop 2005;38(6):456-463.
114. Murray HW, Berman JD, Davies CR, Saravia NG. Advances in leishmaniasis. Lancet 2005;366:1561-1577.
115. Murray HW. Clinical and experimental advances in treatment of visceral leishmaniasis. Antimicrob Agents Chemother 2001;45(8):2185-2197.
116. Murray HW. Treatment of visceral leishmaniasis (Kala-azar): a decade of progress and future approaches. Intern J Infect Dis 2000;4:158-177.
117. Nicolle C, Comte C. Origine du Kala-azar. CRL Acad Sci 1908;146:789.

118. Nocito I, Serra E, Montero A. Visceral involvement due to *Leishmania mexicana* in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Med* 2002;113:260-261.
119. Oliveira AG, Andrade Filho JD, Falcão AL, Brazil RP. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) na zona urbana da cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, 1999-2000. *Cad Saúde Pública* 2003;19:933-944.
120. Oliveira AG, Falcão AL, Brazil RP. Primeiro encontro de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) na área urbana de Campo Grande, MS, Brasil. *Rev Saúde Pública* 2000;34:654-655.
121. Oliveira MC, Amorim RFB, Freitas RA, Costa ALL. Óbito em caso de leishmaniose cutaneomucosa após uso de antimonial pentavalente. *Rev Bras Soc Med Trop* 2005;38(3):258-260.
122. Olliaro PL, Guerin PJ, Gerstl S, Haaskjold AA, Rottingen JA, Sundar S. Treatment options for visceral leishmaniasis: a systematic review of clinical studies done in India, 1980-2004. *Lancet Infect Dis* 2005;5:763-774.
123. Organização Mundial de Saúde. Programme for the surveillance and control of leishmaniasis. [on line]. Geneve, Suisse; 2001. [capturado 20 mar 2003]. Disponível em: <http://www.who.int/emc/diseases/leish/index.html>.
124. Osman OF, Pager PA, Oskam L. Leishmaniasis in the Sudan: a literature review with emphasis on clinical aspects. *Trop Med Int Health* 2000;5:553-562.
125. Palatnik-de-Souza CB, Santos WR, França-Silva JC, Costa RT, Reis AB, Palatinik M, et al. Impact of canine control on the epidemiology of canine and human visceral leishmaniasis in Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 2001;65(5):510-517.
126. Pasquau F, Ena J, Sanchez R, Cuadrado JM, Amador C, Flores J, et al. Leishmaniasis as an opportunistic infection in HIV-infected patients: determinants of relapse and mortality in a collaborative study of 228 episodes in a Mediterranean region. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005;24:411-418.
127. Paula AA, Silva AVM, Fernandes O, Jansen AM. The use of immunoblot analysis in the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in an endemic area of Rio de Janeiro. *J Parasitol* 2003;89(Suppl 4):832-836.
128. Pearson RD, Queiroz Souza A. Clinical spectrum of leishmaniasis. *Clin Infect Dis* 1996;22:1-13.
129. Penna H. – Leishmaniose Visceral no Brasil. *Brazil Med* 1934;48:949.
130. Pintado V, Martin-Rabadan P, Rivera ML, Moreno S, Bouza E. Visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus (HIV) – infected and non HIV-infected patients. A comparative study. *Medicine* 2001;80(1):54-73.
131. Prata A & Silva L. Calazar. In: Coura JR editor. *Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p.713-737.

132. Prata A. Estudo clínico do Calazar. Salvador, 1957. Tese. Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia. p.1-244.
133. Queiroz MJA, Alves JGB, Correia JB. Leishmaniose visceral: características clínico-epidemiológicas em crianças de área endêmica. J Ped 2004;80:141-146.
134. Ramos CCF, Duarte MIS, Ramos AMO. Leishmaniose visceral fatal associada a Síndrome de imunodeficiência adquirida: relato de caso com achados necroscópicos e estudo imuno-histoquímico. Rev Soc Bras Med Trop 1994;27(4):245-250.
135. Ramos-Santos C, Hernandez-Montes, Sanches-Tejeda G, Monroy-Ostria A. Visceral Leishmaniasis caused by *Leishmania* (L.) *mexicana* in a mexican patient with Human Immunodeficiency Virus Infection. Mem Inst Oswaldo Cruz 2000; 95(5):729-733.
136. Reithinger R, Coleman PG, Alexander B, Vieira EP, Assis G, Davies CR. Are insecticide-impregnated dog collars a feasible alternative to dog culling as a strategy for controlling canine visceral leishmaniasis in Brazil?. Int J Parasitol 2004;34:55-62.
137. Restrepo A, Salazar ME, Cano LE, Stover EP, Feldman D, Stevens DA. Estrogens inhibit mycelium-to-yeast transformation in the fungus *Paracoccidioides brasiliensis*: implications for resistance of females to paracoccidioidomycosis. Infect Immun 1984;46(2):346-353.
138. Rey LO. O complexo "*Leishmania donovani*" e a leishmaniose visceral. In: Rey LO editor. Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias no homem. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991.
139. Rhalem A, Sahibi H, Lasri S, Jaffe CL. Analysis of immune responses in dogs with canine visceral leishmaniasis before, and after, drug treatment. Vet Immunol Immunopathol 1999;71:69-76.
140. Ribeiro ALP, Drummond JB, Volpini AC, Andrade AC, Passos VMA. Electrocardiographic changes during low-dose, short-term therapy of cutaneous leishmaniasis with the pentavalent antimonial meglumine. Braz J Med Biol Res 1999;32(3):297-301.
141. Ribeiro JM. Blood-feeding arthropods: live syringes or invertebrate pharmacologists? Infect Agents Dis 1995;4:143-152.
142. Ribeiro JM. Role of saliva in blood-feeding by arthropods. Annu Rev Entomol 1987;32:463-78.
143. Roberts LJ, Handman E, Foote SJ. Leishmaniasis. Brit Med J 2000;321:801-804.
144. Rodrigues da Silva J. Leishmaniose Visceral (Calazar). Rio de Janeiro; 1957. Thesis. Faculdade Nacional de Medicina. 498p.
145. Sacks DL, Perkins PV. Identification of an infective stage of *Leishmania* promastigotes. Science 1984;223:1417-1419.



146. Sakru N, Toz SO, Korkmaz M, Kavakli T, Alkan MZ, Ozbel Y. The infection risk of visceral leishmaniasis among household members of active patients. *Parasitol Int* 2005;1-3.
147. Saldanha ACR, Romero GAS, Merchan-Hamann E, Magalhães AV, Macedo VO. Estudo comparativo entre estibogluconato de sódio BP 88<sup>R</sup> no tratamento da leishmaniose cutânea: I. Eficácia e Segurança. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999;32(4):383-387.
148. Salgado Filho N, Ferreira TMAF, Costa JML. Envolvimento da função renal em pacientes com leishmaniose visceral (calazar). *Rev Soc Bras Med Trop* 2003;36(2):217-221.
149. Sampaio RNR, Martins Netto E, Faria EA, Sampaio JHD, Freitas LCF, Marsden PD. Morte súbita causada por glucantime. *An Bras Dermatol* 1988;63(1):35-37.
150. Sampaio RNR, Pires JHD, Pires JA, Magalhães AV. Visceralização da leishmaniose cutaneomucosa disseminada causada pela *Leishmania Viannia braziliensis* em paciente imunocompetente. *An Bras Dermatol* 1997; 72(6):579-582.
151. Santos J, Rivero A, Márquez M. Acute pancreatitis with a fatal evolution due to antimonials in patients with visceral leishmaniasis and HIV infection. *An Med Interna* 2000;17(10):562-563.
152. Santos MA, Marques RC, Farias CA, Vasconcelos DM, Stewart JM, Costa DL, et al. Predictors of an unsatisfactory response to pentavalent antimony in the treatment of American visceral leishmaniasis. *Rev Soc Bras Med Trop* 2002;35(6):629-633.
153. Santos SO, Arias J, Ribeiro AA, Hoffmann MP, Freitas RA, Malacco MAF. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American Visceral Leishmaniasis. *Med Vet Entomol* 1998;12:315-317.
154. Saraiva EM, Barbosa AF, Santos FN, Borja-Cabrera GP, Nico D, Souza LOP, et al. The FML-vaccine (Leishmune<sup>®</sup>) against canine visceral leishmaniasis: A transmission blocking vaccine. *Vaccine* 2006;24:2423-2431.
155. Schalling HDFH, Canto-Cavalheiro M, Silva ES. Evaluation of the Direct Agglutination Test and the rK39 Dipstick Test for the Sero-diagnosis of Visceral Leishmaniasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002;97(7):1015-1018.
156. Seaman J, Mercer AJ, Sondorp HE, Herwaldt BL. Epidemic visceral leishmaniasis in southern Sudan: treatment of severely debilitated patients under wartime conditions and with limited resources. *Ann Intern Med* 1996; 124:664-672.
157. Secretaria de Estado de Saúde do Mato Grosso do Sul. Leishmaniose Visceral. [on line]. Campo Grande, Brasil; 2005. [capturado 11 abril 2005]. Disponível em: <http://www.saude.ms.gov.br/Saude/Destaques/LeishmaniosevisceralAmericana.htm>.

158. Secretaria de Planejamento de Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul. [on line]. Campo Grande, Brasil; 2000. [capturado em 13 ago 2003]. Disponível em: <http://www.secplant.ms.gov.br>.
159. Sherlock I, Miranda JC, Sadigurski M, Grimaldi G. Natural infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia: Didelphidae) with *Leishmania donovani*, in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 1984;79:511.
160. Sherlock IA. Ecological interactions of visceral leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 1996;91(6):671-83.
161. Silva AR, Viana GMC, Varonil C, Pires B, Nascimento MDSD, Costa JML. Leishmaniose visceral (calazar) na Ilha de São Luís, Maranhão, Brasil: evolução e perspectivas. Rev Soc Bras Med Trop 1997;30:359-368.
162. Silva AVM, Paula AA, Cabrera MAA, Carreira JCA. Leishmaniose em cães domésticos: aspectos epidemiológicos. Cad Saúde Pública 2005;21(1):324-328.
163. Silva ES, Gontijo CMF, Pacheco RS, Fiuza VOP, Brazil RP. Visceral leishmaniasis in the metropolitan region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2001;96:285-291.
164. Silva ES, Pacheco RS, Gontijo CMF, Carvalho IR, Brazil RP. Visceral leishmaniasis caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis* in a patient infected with human immunodeficiency virus. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2002; 44(3):145-149.
165. Silva ES, Pirmez C, Gontijo CMF, Fernandes O, Brazil RP. Visceral leishmaniasis in a crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in south-east Brazil. Vet Rec 2000;147:421-422.
166. Silva MRB, Stewart JM, Costa CH. Sensitivity of bone marrow aspirates in the diagnosis of visceral leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg 2005;72(6):811-814.
167. Silveira FT, Lainson R, Shaw JJ, Povoá MM. Leishmaniasis in Brazil: XVIII. Further evidence incriminating the fox *Cerdocyon thous*. as a reservoir of Amazonian visceral leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg 1982;76:6.
168. Singh SA, Gilman-Sachs A, Chang KP, Reed S. Diagnostic and prognostic value of k39 recombinant antigen in Indian leishmaniasis. J Parasitol 1995;81:1000-1003.
169. Soares RPP & Turco SJ. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): a review. An Acad Bras Cienc 2003;75(3):301-330.
170. Solano-Gallego L, Morell P, Arboix M, Alberola J, Ferrer L. Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. J Clin Microbiol 2001; 39:560-563.
171. **Souza AQ, Façanha MC, Pompeu ML. Visceral leishmaniasis in Ceará caused by *Leishmania braziliensis braziliensis*. Mem**

**Inst Oswaldo Cruz 1989; 84(Suppl II):35.**

172. Souza CBP, Gomes EM, Souza EP, Santos WR, Macedo SR, Medeiros LV, et al. The FML (fucose manose ligand) of *Leishmania donovani*. A new tool in diagnosis, prognosis, transfusional control and vaccination against human kala-zar. *Rev Soc Med Trop Hyg* 1996;29(2):153-163.
173. Sundar S, Makharia A, More DK, Agrawal G, Voss A, Fischer C, et al. Short-course of oral miltefosine for treatment of leishmaniasis. *Clin Infect Dis J* 2000;31:1110-1113.
174. Sundar S, Rai M. Advances in the treatment of leishmaniasis. *Curr Opin Infect Dis* 2002a;15:593-598.
175. Sundar S, Rai M. Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002b;9:951-958.
176. Sundar S, Reed SC, Sharma S, Mehrotra A, Murray HW. Circulating T helper 1 (TH1) cell- and TH2 cell associated cytokines in Indian patients with visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 1997;56:522-525.
177. Tesh RB. Control of zoonotic visceral is it time to change strategies? *Am J Trop Med Hyg* 1995;52:287-292.
178. Thakur CP, Singh RK, Hassan SM, Kumar R, Narain S, Kumar A. Amphotericin B deoxycholate treatment of visceral leishmaniasis with newer modes of administration and precautions: a study of 938 cases. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1999;93:319-323.
179. Titus RG, Ribeiro JM. The role of vector saliva in transmission of arthropod-borne diseases. *Parasitol Today* 1990;6:157-160.
180. Travi BL, Osório Y, Becerra MT, Adler G. Dynamics of *Leishmania (Leishmania) chagasi* infection in small mammals of the undisturbed and degraded tropical dry forests of northern Colombia. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1998;92:275-278.
181. Travi BL, Tabares CJ, Cadena H, Ferro C, Osório Y. Canine visceral leishmaniasis in Colombia: relationship between clinical and parasitologic status and infectivity for sand flies. *Am J Trop Med Hyg* 2001;64(3,4):119-124.
182. Uribe S. The status of the *Lutzomyia longipalpis* species complex and possible implications of *Leishmania* transmission. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999;94(6):729-734.
183. Vexenat JA, Fonseca de Castro JA, Cavalcante R, da Silva MR, Batista WH, Campos JH, et al. Preliminary observations on the diagnosis and transmissibility of canine visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. [Arch Inst Pasteur Tunis](#) 1993;70(3-4):467-72.
184. Vianna G. Tratamento da leishmaniose tegumentar por injeções intravenosas de tártaro emético. *Anais do 7º. Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia* 1912;4:426-428.

185. Werneck GL, Batista JRB, Gomes DL, Costa DL, Costa CHN. Prognostic factors for death from visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. *Infection* 2003;31(3):174-177.
186. Werneck GL, Rodrigues Jr L, Santos MV, Araújo IB, Moura LS, Lima SS, et al. The burden of *Leishmania chagasi* infection during an urban outbreak of visceral leishmaniasis in Brazil. *Acta Trop* 2002;83:13-18.
187. Werneck GL. Spatial approaches to study the epidemiology of visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. Boston, USA; 2000. Tese de Doutorado. Harvard School of Public Health.
188. Yamey G. The world's most neglected diseases. Ignored by the pharmaceutical industry and by public-private partnerships. *BMJ* 2002;325(27):176-177.
189. Zerpa O, Ulrich M, Negrón E, Rodríguez N, Centeno M, Rodríguez V, et al. Canine visceral leishmaniasis on Margarita Island (Nueva Esparta, Venezuela). *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 2000;94:484-487.
190. Zijlstra EE, El-Hassan AM. Leishmaniasis in Sudan. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg.* 2001;95(Suppl 1):S1/27-S2/58.
191. Zijlstra EE, Nur Y, Desjeux P, Khalil EAG, El-Hassan AM, Groen J. Diagnosing visceral leishmaniasis with the recombinant k39 strip test: experience from the Sudan. *Trop Med Inter Health* 2001;6:108-113.