



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

MICHELLE TELES BARBOSA LINO

Análise de Componentes Hematológicos e Bioquímicos em
Pacientes com Leishmaniose Visceral Grave

ARACAJU

2013

MICHELLE TELES BARBOSA LINO

**Análise de Componentes Hematológicos e Bioquímicos em
Pacientes com Leishmaniose Visceral Grave**

Monografia apresentada ao Departamento de Medicina da Universidade Federal de Sergipe como pré-requisito obrigatório para conclusão do curso de graduação em Medicina

Orientador: PROF. DR. ROQUE
PACHECO DE ALMEIDA

ARACAJU

2013

MICHELLE TELES BARBOSA LINO

**Análise de Componentes Hematológicos e Bioquímicos em
Pacientes com Leishmaniose Visceral Grave**

Monografia apresentada ao Departamento de
Medicina como requisito parcial para a
obtenção de título de graduado em Medicina
pela Universidade Federal de Sergipe.

Orientador: PROF. DR. ROQUE
PACHECO DE ALMEIDA

Michelle Teles Barbosa Lino
Doutoranda

Prof. Dr. Roque Pacheco de Almeida
Orientador

Aprovada em: ____/____/____

Prof. Dra. Ângela Maria Silva
Examinadora

“O conhecimento nos faz responsáveis”

Che Guevara

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sabedoria, perseverança e humildade presentes em todas as minhas conquistas. Sem a benção Dele, não conseguiria chegar tão longe!

Aos meus pais que tanto amo e que foram os responsáveis por eu estar realizando este sonho. Sempre acreditando em mim, sem vocês eu teria desistido na primeira tentativa frustrada, certamente eu não teria forças pra insistir durante anos até passar no vestibular. Não foi fácil, mas vocês me fizeram forte o suficiente para seguir em frente. Obrigada por fazerem do meu sonho o sonho de vocês. Amo profundamente!

Ao meu irmão, meu melhor amigo, agradeço por sempre estar ao meu lado. Seu amor, bondade e paciência complementam o alicerce de nossa família. Aos meus amores Clara, Gabriel e Bia. A chegada de vocês modificou as nossas vidas.

Ao meu amigo e orientador, Roque Pacheco, pela paciência em me ensinar, e pela confiança depositada em mim, acreditando que eu era capaz de chegar até esse momento. Agradeço a Priscila Lima e Michelle Fontes por toda a atenção dispensada na elaboração desse trabalho. À professora Ângela por sua dedicação e atenção que sempre teve por mim, pelo aprendizado que levarei pelo resto da vida.

Obrigada a todos àqueles que, de uma forma ou de outra, influenciaram na minha vida acadêmica, em especial aos pacientes, que permitiram tamanho aprendizado.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO CIENTÍFICO

Tabela 1 –Caracterização dos pacientes com diagnóstico de leishmaniose visceral segundo as dados epidemiológicos e clínicos antes do tratamento

Tabela 2 – Distribuição dos valores hematológicos e bioquímicos em pacientes assintomáticos, com LV clássico e LV grave

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1 – Ciclo de vida da Leishmania em hospedeiro vertebrado e invertebrado

ARTIGO CIENTÍFICO

Figura 1 – Contagem de plaquetas em indivíduos assintomáticos, pacientes com LV clássico e LV grave, em D0 de tratamento.

Figura 2– Contagem de Neutrófilos em indivíduos assintomáticos, pacientes com LV clássico e LV grave, em D0 de tratamento.

Figura 3– Níveis de bilirrubina total em indivíduos assintomáticos, pacientes com LV clássico e LV grave, em D0 de tratamento.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

LV - Leishmaniose Visceral

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

IL - Interleucina

INF- γ - Interferongamma

TGF- β - Fator de crescimento tumoral beta

Th1 - Linfócito T helper 1

Th2 - Linfócito T helper 2

TNF - Fator de necrose tumoral

TNF- α - Fator de necrose tumoral alfa

L. chagasi - Leishmaniachagasi

L. donovani - Leishmaniadonovani

L. longipalpis - Lutzomia longipalpis

WHO - World Health Organization

SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação

MS - Ministério da Saúde

CDC - Centers for Disease Control and Prevention

FUNASA - Fundação Nacional de Saúde

NNN - Meio de cultura Neal, Novy, Nicolle

LIT - Meio de cultura LiverInfusionTryptose

PCR - Reação em cadeia de polimerase

rK39 - Antígeno rK39

DAT - Testes de aglutinação direta

ELISA - Ensaio imunoenzimático

RIFI - Reação de imunofluorescência indireta

MIP-1 β - Macrophageinflammatory protein-1 β

Sb - Antimoniato de N-metil glucamina

mg - Miligrama

Kg - Quilograma

EV - Endovenoso

DM - *Diabetes mellitus*

IRC - Insuficiência Renal Crônica

HAS - Hipertensão Arterial Sistêmica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	Aspectos Epidemiológicos da Leishmaniose Visceral.....	14
2.2	Ciclo Evolutivo e Transmissão da Leishmaniose Visceral.....	18
2.3	Resposta Imunológica na Leishmaniose Visceral.....	24
2.4	Aspectos Clínicos da Leishmaniose Visceral.....	26
2.5	Diagnóstico da Leishmaniose Visceral.....	30
2.6	Tratamento da Leishmaniose Visceral.....	36
3	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
4	NORMAS PARA PUBLICAÇÃO	50
4.1	Escopo.....	50
4.2	Política de avaliação.....	50
4.3	Tipos de manuscritos.....	51
4.3.1	Artigos Originais	51
4.3.2	Artigos de Revisão	51
4.3.3	Cartas	51
4.3.4	Editoriais	52
4.3.5	Comunicações Breves	52
4.3.6	Relatos de Casos	52
4.3.7	Relatórios Técnicos	53
4.3.8	Imagens em Doenças Infecciosas	53
4.3.9	Suplementos	53
4.3.10	Obituários	53
4.4	Preparação do manuscrito.....	53
4.4.1	Edição da Pré-Submissão	54

4.4.2	Formatação do Artigo Original.....	55
4.4.2.1	Página de Título.....	55
4.4.2.2	Título.....	56
4.4.2.3	Título Corrente.....	56
4.4.2.4	Resumo Estruturado.....	56
4.4.2.5	Palavras-chaves.....	56
4.4.2.6	Introdução.....	56
4.4.2.7	Métodos.....	56
4.4.2.8	Ética.....	57
4.4.2.9	Resultados.....	57
4.4.2.10	Discussão.....	57
4.4.2.11	Agradecimentos.....	57
4.4.2.12	Conflito de Interesse.....	57
4.4.2.13	Suporte financeiro.....	57
4.4.2.14	Referências.....	58
4.4.2.15	Figuras.....	58
4.4.2.16	Legendas.....	59
4.4.2.17	Ilustrações coloridas.....	59
4.4.2.18	Tabelas.....	59
4.4.2.19	Processo de envio.....	60
4.4.2.20	Sobre reenvio e revisões.....	60
4.4.2.21	Reenvio.....	60
4.4.2.22	Revisão.....	60
4.4.2.23	Após a aceitação.....	60
4.4.2.24	Re-impressões.....	61
4.4.2.25	Custos de publicação.....	61

4.5 Workflow do processo de submissão da revista da sociedade brasileira de medicina tropical.....	61
5 Artigo Original.....	65
RESUMO.....	66
ABSTRACT.....	67
INTRODUÇÃO.....	68
MATERIAS E MÉTODOS.....	70
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
CONCLUSÃO.....	77
REFERÊNCIAS.....	78

1 INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral (LV) é amplamente distribuída pelo mundo, afeta principalmente a população mais pobre dos países em desenvolvimento, ocorrendo na Ásia, Oriente Médio, África e América Latina, apresentando diferenças em aspectos epidemiológicos, clínicos e imunológicos, decorrentes dos diversos ecossistemas (AMATO, 2009) A maioria dos casos (90%) ocorre em seis países: Bangladesh, Índia, Nepal, Sudão, Etiópia e Brasil (CHAPPUIS 2007).

A LV, também chamada de calazar, é uma protozoose que pode ser caracterizada do ponto de vista clínico e anatomopatológico como uma doença grave e crônica, consequente a disseminação do parasito em órgãos do sistema fagocítico mononuclear, como o fígado e o baço (AMATO, 2009). É causada pelo protozoário do gênero *Leishmania*. A família do *Leishmania* tem três principais espécies: *L. donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi* – esse último, o responsável pelo calazar no Brasil. E tem como seu principal vetor no Brasil o flebótomo *Lutzomyia longipalpis* (WERNECK, 2010).

É uma doença negligenciada, que acomete todas as faixas etárias, com cerca de 2 milhões de novos casos por ano. Possui ampla distribuição mundial, sendo mais frequente na Ásia, Oriente Médio, África e América Latina – 90% dos casos estão na Índia, Bangladesh, Brasil, Nepal e Sudão. No Brasil, é um problema de saúde pública por conta da sua ascendente disseminação. A LV é considerada uma endemia principalmente rural, embora nas duas últimas décadas, a doença tenha apresentado uma mudança no perfil epidemiológico

(AMATO, 2009). A grande maioria dos casos se encontra na região Nordeste (WHO, 2010; BRASIL, 2006; ROBERTS, 2006; MURRAY 2001).

Os sintomas mais prevalentes são febre alta, perda de peso significativa, esplenomegalia e hepatomegalia. Se não for tratada a taxa de mortalidade é de 100% em dois anos (WHO, 2006). A marca da doença é uma resposta celular imune anérgica contra o parasita e aos níveis altos de IL-10 (CALDAS *et al.*, 2005). Elevada mortalidade está geralmente associada à co-infecção com o vírus HIV (ALVAR *et al.*, 2008) e/ou bacteriana e hemorragia (ABDELMOULA *et al.*, 2003; SAMPAIO *et al.*, 2010). Contudo poucos estudos têm abordado preditores específicos de resultados indesejáveis da doença e da morte. Um recente estudo tem proposto um escore de prognóstico para LV, que foi composto por um número de preditores independentes de risco de morrer em paciente com LV, como mucosas hipocoradas, dispnéia, icterícia, suspeita ou confirmação de infecção bacteriana, neutropenia e trombocitopenia (SAMPALIO *et al.*, 2010). Possíveis mecanismos ligados ao aumento da severidade da doença ainda estão desconhecidos, mas aparentemente a inflamação sistêmica desempenha um papel importante (COSTA *et al.*, 2005). A identificação de específicos fatores chaves ligados a imunopatogenicidade da LV pode levar a descrição de um potencial biomarcador de gravidade da doença. Por sua vez o uso de um real marcador pode favorecer o desenvolvimento de terapia alvo e um melhor manejo clínico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos Epidemiológicos da Leishmaniose Visceral

Considerada uma doença endêmica, a Leishmaniose Visceral é amplamente distribuída pelo mundo, ocorrendo na Ásia, Oriente Médio, África e América Latina, apresentando diferenças em aspectos epidemiológicos, clínicos e imunológicos, decorrentes dos diversos ecossistemas (AMATO, 2009). Apresenta-se em 62 países, sendo que aproximadamente 90% dos casos ocorrem em cinco países: Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão e Brasil. Em um total estimado 200 milhões de pessoas, sob o risco de adquirirem a infecção (GONTIJO; MELO, 2004). São estimados 500.000 novos casos por ano e 50.000 mortes pela doença por ano em todo o mundo (DESJEUX, 2004). A doença atinge principalmente as populações mais pobres desses países (WHO, 2006).

A doença já foi descrita em pelo menos 12 países da América Latina, sendo só o Brasil responsável por 90% dos casos (GRIMALDI et al., 1989). Entre 1990 e 2010, foram notificados aproximadamente 65.000 casos clínicos de calazar, os quais representaram 90% de todos os casos relatados nas Américas (BRASIL, 2005). No entanto devemos levar em consideração a ineficiência dos sistemas de vigilância epidemiológica de grande número de países que compõem o continente, já que não se tem conhecimento do número exato de casos da doença (BERN et al., 2008).

Em 1934, tivemos o primeiro relato de LV no território brasileiro por Henrique Penna, que ao analisar amostras de fígado de pacientes supostamente falecidos com febre amarela, encontrou 41 casos positivos para

Leishmania em indivíduos das regiões norte e nordeste (LAINSON; RANGEL, 2005;). Embora o Nordeste reúna o maior número de casos, atualmente, a LV está presente em todas as regiões do país (BRASIL, 2005).

Atinge pessoas de todas as faixas etárias, entretanto nas áreas onde a doença é endêmica as principais vítimas, cerca de 80% dos casos registrados, são crianças menores de 10 anos e a maior prevalência ocorre em classes econômicas menos favorecidas. (GONTIJO; MELO, 2004; BADARÓ *et al.*, 1986).

Entre os anos 1984-2002 o Ministério da Saúde registrou um total de 48.455 casos no país, sendo 66% deles ocorridos nos estados da Bahia, Ceará, Maranhão e Piauí, confirmando que o maior número de casos está na região Nordeste do país (COSTA, 2005). Entretanto, a partir desse ano, outras regiões geográficas mostraram significativo aumento do número de novos casos. Em 2004, foram 3.267 notificações, 53,2% corresponderam ao nordeste, 16,1% ao norte, 8,0% ao centro-oeste e 22,6% ao sudeste do Brasil (BRASIL, 2006).

O número de casos de LV no Brasil vem aumentando e isso pode ser visto ao compará-los às médias de casos notificados na década de 80 (aproximadamente 1500 casos/ano) e no período compreendido entre 2000-2006 (cerca de 3600 casos/ano) (ROMERO; BOELAERT, 2010). Em 2009, o SINAN notificou 3.894 casos no país, sendo 91% desse total composto por novos casos (PELISSARI *et al.*, 2011).

Segundo dados do DATASUS, a taxa de incidência da LV no Brasil no ano de 2010 foi de 1,8 casos para cada 100.000 habitantes, sendo a maior taxa

de incidência presente no Estado do Tocantins (25,15 casos para cada 100.000 habitantes).

Em Sergipe, a incidência de LV foi mais alta que a média nacional, no mesmo ano foi de 3,68 casos para cada 100.000 habitantes, com 75 novos casos e 4 óbitos, sendo o décimo primeiro Estado em mortalidade por LV no Brasil, que contou com um total de 219 óbitos neste ano (MS, 2011).

Em Sergipe, registram-se casos humanos de leishmaniose visceral desde 1934, data da primeira descrição por Evandro Chagas (TAVARES; TAVARES., 1999). Desde então, foram descritos casos em 67 dos 75 municípios, com diversidade de aspectos ambientais (BRASIL, 2005)

De 1932 a 1957, dos 330 casos notificados no país, 26 eram provenientes de Sergipe. De 1972 a 1998, foram notificados 1874 casos. O aumento da incidência se deu em todas as regiões do Estado, mais acentuado na região Leste, com clima úmido (TAVARES; TAVARES., 1999). O maior número de casos encontra-se, com exceção do município de Areia Branca – região Agreste, na região litorânea do Estado - região Leste, área de clima úmido, com índices pluviométricos acima de 1.400mm (TELES *et al.*, 2013).

A partir de dados fornecidos pela Vigilância Epidemiológica de Sergipe analisou-se a distribuição dos casos de LV entre as três mesorregiões geográficas, observa-se que, em Sergipe, a mesorregião Leste, que compreende principalmente os municípios do litoral sergipano, destaca-se das demais regiões em número de casos da doença, tendo sido responsável por 74,2% (597) dos casos de todo o Estado, no período de 1999 a 2008. Houve

125 casos (15,5%) na região do Agreste do Estado e 83 casos (10,3%) na região do Sertão segipano no mesmo período.

No período de 2001 a 2008, dos 355 casos de LV registrados pelo SINAN em Sergipe, 37 evoluíram para o óbito, equivalendo a uma taxa de letalidade geral de 10,4%. O ano de 2001 foi o que apresentou o maior número de óbitos pela doença (8); os anos de 2004 e 2008 foram responsáveis pelas menores taxas, cerca de 5,4% dos casos.

Em Aracaju-Sergipe, 20 a 25% dos cães que são levados ao Serviço de Zoonoses do município, apresentam sorologia positiva para LV. Dentre as medidas de controle da leishmaniose no Brasil, a eutanásia de cães infectados é uma medida oficial. Contudo, não é universalmente aceita, pois mesmo com sua aplicação ainda não obtiveram uma redução significativa de incidência da doença em humanos e cães.

O número de casos de co-infecção da LV com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) também tem crescido. Atribui-se a junção do processo de interiorização do HIV com a urbanização da LV (SOUSA-GOMES et al., 2010). Em 2007 e 2008, Segundo o SINAN, 3,7% (278/7556) dos acometidos pela LV eram infectados pelo HIV; as taxas de coinfeção sofreram aumento de um ano para o outro e foram maiores em São Paulo e Minas Gerais. A coinfeção LV-HIV torna pior prognóstico vivenciado por tais pacientes, aumentando o número de óbitos pelo calazar, provavelmente por fatores relacionados ao HIV. (SOUSA-GOMES et al, 2010).

2.2 Ciclo evolutivo e transmissão

AGENTE ETIOLÓGICO

A leishmaniose visceral é causada por uma das três espécies de protozoários pertencentes ao complexo *Leishmania donovani*, de acordo com a sua distribuição geográfica. São as espécies: *Leishmania (Leishmania) donovani*, *Leishmania (Leishmania) infantum* e *Leishmania (Leishmania) chagasi* (LAINSON e SHAW, 1987). O agente etiológico brasileiro e outros países do continente americano é a *L. (L.) i. chagasi*, inicialmente denominada *Leishmania chagasi* por Chagas e Cunha (1938). Mais recentemente, os nomes *L. (L.) infantum infantum* e *L. (L.) infantum chagasi* têm sido usados separando taxonomicamente os dois organismos em subespécies em função das análises feitas por diversos pesquisadores (LAINSON; RANGEL, 2005). *Leishmania (L.) infantum chagasi* pertence ao sub-reino Protozoa, filo Sarcomastigophora, ordem Kinetoplastida e família Trypanosomatidae.

Seu ciclo de vida é do tipo heteroxeno, ou seja, compreende o desenvolvimento em dois hospedeiros diferentes, sob duas formas evolutivas distintas quando presentes em seus diferentes hospedeiros, um invertebrado e outro vertebrado. A forma promastigota é extracelular, flagelada e móvel, de aparência fusiforme, medindo cerca de 20 µm de comprimento, sendo encontradas no sistema digestivo do inseto transmissor. A forma amastigota é intracelular, sem flagelo livre aparente e imóvel. Possui aspecto arredondado ou oval, medindo de 2 a 4 µm de diâmetro e é encontrada no interior das células do sistema fagocítico mononuclear, principalmente no baço, fígado, gânglios linfáticos e medula óssea. Ambas as formas multiplicam-se pelo processo de divisão binária (LAINSON; SHAW, 1992).

RESERVATÓRIOS

O papel do cão como reservatório doméstico da LV é bem estabelecido. A infecção canina precede o aparecimento dos casos humanos. A maioria dos cães que tem sorologia reagente não apresenta sintomas da doença, mas atuam como ótimos reservatórios, com grande poder infectante para os vetores (GÓES; JERALDO; MELO, 2012). Nas Américas, a principal fonte de infecção da doença em ambiente urbano está representada pelo cão doméstico, *Canis familiaris*, responsável pela manutenção do ciclo no ambiente domiciliar e peridomiciliar. As raposas, *Lycalopex velutus* e *Cerdocyon thous* correspondem aos reservatórios em áreas rurais e silvestres. Em área urbana a enzootia canina tem se manifestado com maior prevalência do que no homem. No ambiente silvestre, os reservatórios preferenciais são as raposas e os marsupiais (GÓES; JERALDO; MELO, 2012). Diante de sua importância no ciclo de transmissão da LV, a principal medida de controle, no Brasil, tem sido sua eliminação quando infectado e/ou soropositivo (WHO, 2006).

O papel do cão como reservatório de *Leishmania* foi sugerido inicialmente por Nicolle, em 1908, na Tunísia, quando experimentalmente foi comprovada a infecção deste animal. Posteriormente, em inquérito realizado naquele país, foi comprovada a transmissão natural em cães e assim registrado o primeiro foco de LV canina no mundo. No Brasil, as primeiras evidências de transmissão da LV canina foram em Abaeté no Pará. E em 1955, Deane e Deane estabeleceram o papel do cão como reservatório quando constataram a transmissão em cães residentes em zona urbana do município de Sobral, Ceará, verificando-se frequentemente intenso parasitismo cutâneo.

Na Índia e em parte da África os seres humanos atuam como reservatórios do protozoário. Embora no Brasil a doença seja inicialmente

zoonótica e o homem participe do ciclo da doença como um hospedeiro acidental, foi demonstrado que seres humanos infectados, e em particular os sintomáticos, podem funcionar como reservatórios e infectar flebotomíneos, aumentando as possibilidades de infecção se houver alta densidade vetorial (LAINSON; SHAW, 1992).

Diversos mamíferos podem se infectar por *Leishmania*, entretanto, não são usualmente responsáveis pela transmissão ao homem. Na Europa, a doença já foi descrita em lobos (*Canis lupus*) e raposa vermelha (*Vulpes vulpes*), inclusive em regiões tradicionalmente não-endêmicas (DIPINETO et al., 2007; SASTRE et al., 2008; SOBRINO et al., 2008). No Brasil, somente a raposa ou guaraxaim (*Cerdocyon thous*) é considerada reservatório natural da LV (SILVA et al., 2000). Todavia, diversas espécies já foram relatadas com infecção como lobo guará (*Chrysocyon brachyurus*), raposa-do-campo (*Lycalopex vetulus*) e cachorro-vinagre (*Speotus venaticus*), podendo ser reservatórios potenciais de *Leishmania* (CURI et al., 2006). Com o processo de urbanização da leishmaniose visceral, o cão detém maior importância como reservatório do parasita. Os animais silvestres provavelmente são a ligação entre os ciclos doméstico e silvestre (BRASIL, 1996).

VETORES

Evandro Chagas, em 1936, já havia observado a presença de *Lutzomyia longipalpis* onde há transmissão da doença em os principais focos de calazar do nordeste brasileiro. Concluiu que este inseto sempre presente era sem dúvida a espécie mais importante na epidemiologia da leishmaniose visceral no Brasil (LAINSON; RANGEL, 2005). Entretanto outras espécies foram também

incriminadas como *Lutzomyia cruzi* no Estado de Mato Grosso do Sul e *Lutzomyia evansi* na Colômbia e Venezuela (SANTOS *et al.*, 1998).

Os flebotomíneos são dípteros da família Psychodidae, subfamília Phlebotominae, apresentando ampla distribuição geográfica, sendo encontrado nos climas quentes e temperados e em ambientes silvestres, rurais e urbanos. No Brasil, são popularmente conhecidos como mosquito palha, birigui, tatuquira, asa branca, cangalhinha e flebótomo. Estes insetos medem de 2 a 4mm de comprimento, possuem o corpo densamente coberto de pêlos finos e são de coloração clara com vasta distribuição nos Somente as fêmeas são hematófagas. São dípteros geralmente de pequeno porte que apresentam o corpo e as patas cobertos de cerdas longas e muito numerosas, frequentemente misturadas com escamas. Pertencem ao tipo dos dípteros de atividade crepuscular e pós-crepuscular, abrigando-se durante o dia em lugares úmidos, sombrios e bem protegidos dos ventos. São comumente encontrados em tocas de animais silvestres (LAINSON; RANGEL, 2005). A *L. longipalpis* adapta-se facilmente ao peridomicílio e a variadas temperaturas, podendo ser encontrada no interior dos domicílios e em abrigos de animais domésticos. Há indício de que o período de maior transmissão da leishmaniose visceral ocorra durante e logo após a estação chuvosa, quando há aumento da densidade populacional do inseto (MS, 2012).

Na fase adulta estão adaptados a diversos ambientes e na fase de larva desenvolvem-se em ambientes úmidos, sombrios e ricos em matéria orgânica (MICHALICK; GENARO, 2005).

Na Amazônia, *L. longipalpis* é uma espécie basicamente silvestre, mas com a entrada do homem na mata houve a migração desses insetos para o

entorno das habitações onde eles encontraram um vasto número de hospedeiros podendo ainda ser encontrados em áreas de mata primária longe de habitações humanas (LAINSON; RANGEL, 2005).

Recentemente, verificou-se a adaptação deste vetor ao ambiente urbano principalmente na região Sudeste, podendo ser encontrado tanto no peridomicílio – galinheiros, chiqueiros, canil, paiol, e outros – como também no intradomicílio. Existem indícios de que o período de maior transmissão da LV ocorra durante e logo após o período de chuva, quando há um aumento da densidade populacional do inseto (BRASIL, 2006).

TRANSMISSÃO

A infecção de *Lutzomyia longipalpis* por *L. chagasi* ocorre através da picada de um mosquito flebotomíneo (subfamília *Phlebotominae*, família *Psychodidae*, ordem *Diptera*). No Brasil a principal espécie transmissora é o *Lutzomyia longipalpis*. Este mosquito é encontrado em várias regiões do Brasil, sendo conhecido popularmente como mosquito palha, birigui, tatuquira, asa branca, cangalhinha ou flebótomo mosquito. As fêmeas do flebotomíneo têm hábito hematófago, alimentando-se no crepúsculo ou durante a noite. Abrigam-se em tocas de animais silvestres, buracos de árvores e invadem o domicílio concentrando-se nas fendas de paredes. Esta espécie é antropozofílica, ou seja, alimenta-se tanto de sangue humano como de outros mamíferos. Em nosso meio, os cães são os principais reservatórios da leishmaniose, seguido pela raposa (*Lucalopex Ventulus*) (WERNECK, 2008). Infectados pela *Leishmania chagasi*, estes animais podem permanecer assintomáticos ou desenvolver a doença. O mosquito transmissor contém as formas promatigotas infectantes (metacíclicas) da *L. chagasi* em seu aparelho digestivo. Durante o

repasto sanguíneo este material é regurgitado, permitindo a inoculação dos parasitas na derme do hospedeiro. Neste local são internalizados por macrófagos locais, após se ligarem a receptores específicos. No interior do vacúolo fagocítico, as formas promastigotas perdem o flagelo, transformando-se em amastigotas. Estas se proliferam por divisão binária, gerando múltiplos protozoários que se acumulam no citoplasma do macrófago provocando o rompimento da célula. Ao serem liberados no meio extracelular, infectam novos macrófagos ou monócitos. No interior destas células, o protozoário percorre a corrente sanguínea alcançando órgãos do sistema reticuloendotelial, como fígado, baço, gânglios linfáticos e medula óssea, onde encontram novos macrófagos, mantendo o ciclo proliferativo celular (LAINSON; SHAW, 1987). Estes órgãos são exatamente os locais onde há maior atividade imune por apresentar em maior quantidade linfócitos que reagem à presença de antígenos. O processo de disseminação, por sua vez, está diretamente ligado à resposta imunológica do indivíduo (HERWALDT, 1999; GOTO; LINDOSO, 2009).

Ao picar o homem ou animal infectado, o flebotomíneo ingere monócitos contendo as formas ativas, que são liberadas no intestino do inseto. Então encontram um meio propício para evoluírem até a forma promastigota metacíclica, invadindo retrogradamente o aparelho digestivo proximal (estômago, esôfago e faringe) do mosquito (MICHALICK; GENARO, 2005). Neste momento, cerca de cinco dias após ter adquirido o parasita, o mosquito já começa a transmiti-lo para um novo hospedeiro (CDC, 2012).

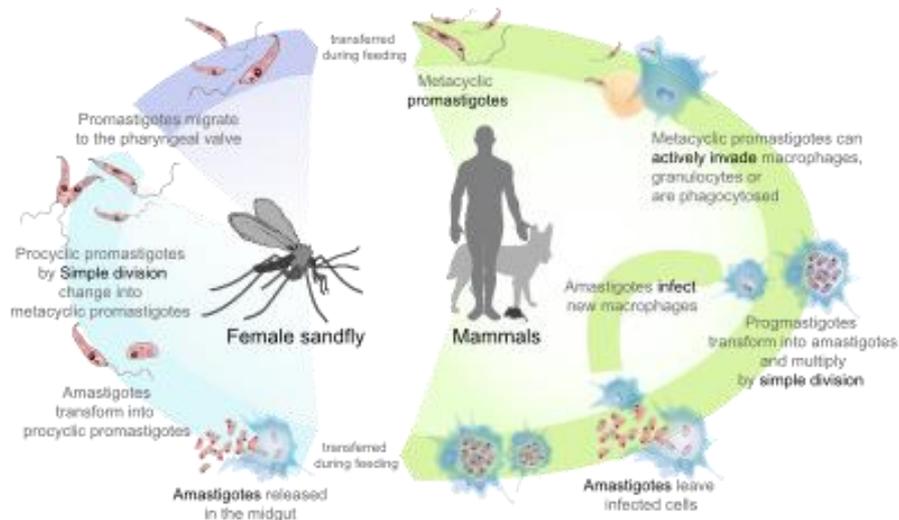


Figura 1. Ciclo de vida da *Leishmania* em hospedeiro vertebrado e invertebrado

2.3 Resposta Imunológica na Leishmaniose Visceral

Apenas a minoria dos pacientes que se infecta pela *Leishmania* adoece. Estudos realizados na Bahia e Ceará mostram que a cada 11-18 pessoas infectadas pela *L. chagasi* apenas uma tem as manifestações da doença.

A infecção assintomática pode ser diagnosticada através do Teste intradérmico de Montenegro que mede a memória imunológica desenvolvida após a exposição ao protozoário.

Em algumas localidades brasileiras até 30% da população adulta possui positividade para o teste, mesmo sem ter tido história de sintomas compatíveis com o calazar.

O tipo de resposta imune montada contra o parasito irá determinar as conseqüências da infecção. A resposta imunológica à doença tende a seguir predominantemente um de seus dois padrões: Th1, através de interleucinas IL-12 e IFN-gama, com maior chance de cura ou Th2, através de interleucinas IL-

4 e IL-10, com menor chance de evolução favorável (MURRAY, 2001; ROBERTS, 2006). O surgimento de uma resposta dependente de linfócitos Th1 (imunidade celular) geralmente é capaz de conter o processo infeccioso, determinando formas assintomáticas ou oligossintomáticas. O INF- γ com a IL-12 estimulam monócitos e macrófagos a matar os parasitas que estão infectando as células, aumentando sobremaneira o seu poder microbicida (MURRAY *et al.*, 2003). Os macrófagos têm um papel importante na defesa contra infecções por parasitas intracelulares. A resposta imune contra *Leishmania* é altamente dependente de macrófagos.

O sistema imune está bastante ativo nessa infecção, resultando na produção de substâncias ativadoras de macrófagos – como INF- γ e TNF- α – ou substâncias desativadoras de macrófagos, como IL-10 e TGF- β ; as primeiras ajudam no combate contra o *leishmania*, e as últimas dificultam a eliminação do parasita. A IL-10 e o TGF- β , junto dos anticorpos anti-*Leishmania*, também ajudam na opsonização das formas amastigotas do protozoário para burlar o complexo de histocompatibilidade, o que facilita então a proliferação do parasita no organismo (GOTO; LINDOSO, 2009).

Por outro lado, em alguns pacientes a resposta Th1 é frustrada, permitindo a multiplicação desenfreada do parasito no interior dos macrófagos do sistema reticuloendotelial de órgãos como baço, fígado, e medula óssea. Como resultado, teremos uma hiperplasia reativa destes tecidos, provocando acentuada hepatoesplenomegalia e ocupação medular com pancitopenia. A liberação de TNF-alfa pelos macrófagos parasitados pode explicar a febre e a síndrome consuptiva, compondo o quadro clínico do calazar.

Outra consequência da proliferação parasitária é a exposição de uma grande quantidade de antígenos da *leishmania* ao “braço” humoral do sistema

imune dependentes de linfócitos de Th2. Estes linfócitos liberam IL-4 e IL-10 que ativam linfócitos B. No calazar esta resposta costuma ser exagerada, determinando plasmocitose medular e hipergamaglobulinemia policlonal, dois importantes marcos laboratoriais da doença.

2.4 Aspectos Clínicos da Leishmaniose Visceral

O tipo de resposta imune ativa contra o parasita irá determinar a apresentação da infecção. A leishmaniose visceral pode se manifestar de diferentes formas, sendo elas: assintomática, oligossintomática, aguda e crônica.

Forma assintomática, em que o indivíduo possui sorologia positiva, mas não apresenta sintomas e oligossintomática, com sorologia positiva e sintomas inespecíficos como febre, tosse, adinamia e discreta visceromegalia, são mais comuns em áreas endêmicas. Esta forma, oligossintomática, apesar de ser a mais comum apresentação clínica da LV, é pouco diagnosticada, dada a dificuldade de suspeição clínica por inespecificidade dos sintomas. Em 60 a 70% dos pacientes acometidos há resolução espontânea do quadro em 3 – 6 meses, os demais evoluem para a forma clássica.

Forma aguda, apresentação que pode ser facilmente confundida com outras síndromes febris agudas que cursam com esplenomegalia (febre tifóide, malária, febre de katayama da esquistossomose, doença de Chagas aguda, etc). Febre alta, calafrios, tosse não produtiva, diarreia e dor abdominal são queixas frequentes nesta infecção. Na evolução da doença, o paciente pode apresentar hemorragia gengival e digestiva, edema, icterícia, ascite, anorexia e

desnutrição. Nestes pacientes, o óbito é geralmente determinado pelas hemorragias e infecções intercorrentes (MICHALICK; GENARO, 2005).

A forma clínica mais marcante da LV – crônica ou clássica cursa principalmente com febre, perda de peso, palidez cutâneo mucosa, anemia, queda do estado geral, hepatomegalia, esplenomegalia, pancitopenia e hipergamaglobulinemia (PASTORINO *et al.*, 2002; NASCIMENTO; MEDEIROS, 2007; WHO, 2010). Predomina em crianças e em imunodeprimidos.

A hepatomegalia geralmente é menos acentuada do que esplenomegalia, quando presente. Linfadenopatia pode ser observada em casos de LV no Leste Africano, sendo rara fora desta região.

Esta forma, se não tratada, pode evoluir para óbito em um período médio de dois anos, devido às complicações que surgem no curso da doença. Entre elas, hemorragias, decorrentes principalmente da plaquetopenia, e as infecções secundárias, já que a defesa do organismo está debilitada pela desnutrição, leucopenia e anemia (PASTORINO *et. al*, 2002; COSTA, 2005). Parasitas replicam-se no sistema reticuloendotelial, cargas muito elevadas do parasita acumulam-se no baço, no fígado e na medula óssea. Anemia grave pode ocorrer devido à supressão da medula óssea, hemólise, e seqüestro esplênico. Imunossupressão aumenta o risco de infecções bacterianas secundárias (COSTA *et al.*, 2010). As complicações infecciosas mais frequentes da LV são de natureza bacteriana, dentre elas, destacam-se: otite média aguda, piodermites, infecções dos tratos urinário e respiratório (MARTHUR *et al.*, 2004). Sendo a pneumonia a complicação infecciosa mais frequente apresentada nos pacientes estudados por Werneck *et al.* (2003).

Caso essas infecções não sejam tratadas com antimicrobianos, o paciente poderá desenvolver um quadro séptico com evolução fatal (MS, 2012).

Em pacientes com coinfeção pelo HIV a sintomatologia é semelhante. As manifestações clínicas mais comuns são febre, emagrecimento, esplenomegalia e hepatomegalia (SOUSA-GOMES et al., 2010). Linfadenomegalia está presente em 60% dos casos, e não é incomum o envolvimento pulmonar, pleural, gastrointestinal, cutâneo e medular.

A tríade HIV, LV e tuberculose é cada vez mais relatada na Índia e Etiópia, evidenciando-se que a coinfeção LV/tuberculose também aumenta a mortalidade destes pacientes, mesmo na ausência de infecção por HIV (BERN, 2009).

Leishmaniose dérmica pós-calazaré uma síndrome clínica que ocorre em 5-10% dos pacientes na Índia durante os 2 – 4 anos que seguem após o tratamento da LV causada pela *L. Donovanii* e em mais de 50% dos casos no Sudão nos primeiros 6 meses pós tratamento, sendo rara na América Latina e no Mediterrâneo, locais onde predominam a *L. Infantum* e *L. Chagasi*. Caracteriza-se pelo aparecimento de máculas hiper e hipopigmentadas que progridem para pápulas, nódulos e verrugas, encontradas no tronco, face, extremidades, mucosa oral e ocasionalmente na região genital. A LDPC é mais comumente vista após o tratamento com os antimonialis pentavalente do que com a Anfotericina B. O diagnóstico é basicamente clínico, mas as formas amastigotas podem ser encontradas na pele em mais de 80% dos casos. Na Índia, as lesões tornam-se crônicas persistindo por mais de 20 anos, sendo instituído tratamento antileishmania. Já no Sudão, observa-se regressão espontânea das lesões em alguns meses após o seu aparecimento.

Em cães o quadro clínico é variável e depende da resposta imune do cão e da cepa do parasita inoculado pela picada do inseto vetor (MICHALICK; GENARO, 2005). Podem ser classificados em assintomáticos, oligossintomáticos e sintomáticos. Os cães assintomáticos podem ser responsáveis por 40 a 80% dos casos sororreagentes e não desenvolvem a doença ou então apresentam cura espontânea (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007). Nestes cães, citocinas como a interleucina 2 (IL-2) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) podem desempenhar um papel protetor contra o desenvolvimento da doença clínica (PINELLI *et al.*, 1994). Além disso, esse estado de resistência tem sido associado com o desenvolvimento de uma resposta imune mediada por células T específica para *Leishmania*, enquanto que a doença ativa tem sido associada com altos níveis de anticorpos e uma resposta imune suprimida (PINELLI *et al.*, 1994; CORTÉS *et al.*, 2007).

A infecção em cães por espécies de *Leishmania* é clinicamente semelhante à infecção humana, embora no cão, além do acometimento das vísceras, são frequentemente encontradas lesões de pele nos animais infectados e sintomáticos (KRAUSPENHAR *et al.*, 2007). O cão desenvolve lesões cutâneas, principalmente descamações e eczema, em particular no espelho nasal e orelha, ulcerações na pele localizadas frequentemente na orelha, focinho, cauda e articulações, e pêlo opaco (SILVA, 2007). O período de 2 a 12 meses é necessário para que um cão infectado desenvolva sinais clínicos e o período de incubação, observado em condições experimentais, pode alcançar 25 meses (OLIVEIRA *et al.*, 1993).

2.5 Diagnóstico da Leishmaniose Visceral

Detecção do Parasito

Diferentes técnicas podem ser utilizadas para o diagnóstico de leishmaniose visceral humana e canina. Avanços têm ocorrido nos últimos anos, no entanto nenhum dos testes disponíveis para o diagnóstico da LV, apresenta 100% de sensibilidade (GONTIJO; MELO, 2004). Segundo orientações do Ministério da Saúde, o diagnóstico laboratorial da LV deve basear-se em exames parasitológicos e imunológicos.

O diagnóstico do calazar é confirmado pela visualização microscópica de formas amastigotas de *Leishmania*, no interior de macrófagos ou monócitos. A visualização do parasito pode ser feita em material de biópsia ou punção aspirativa do baço, fígado, medula óssea ou linfonodos. No entanto apesar da especificidade ser elevada, a sensibilidade varia, sendo maior para o baço (93-99%) do que para medula óssea (53-86%) ou linfonodo (53-65%) (BABIKER et al., 2007).

As punções esplênicas e de medula óssea são consideradas procedimentos invasivos e exigem ambientes apropriados para a coleta, não sendo procedimentos adequados para estudos epidemiológicos em larga escala, e muitas vezes são também inadequados para diagnósticos individuais. Como foi dito, a punção aspirativa esplênica é o método que oferece maior sensibilidade para demonstração do parasito, porém apresenta restrições quanto ao procedimento, a aspiração esplênica está associada a risco de hemorragia do baço ou perfuração intestinal. Estes riscos são relativamente baixos em mãos experientes, mas as complicações podem ser letais. O procedimento deve ser realizado apenas se a contagem de plaquetas e o tempo de protrombina estiverem com valores dentro da faixa de normalidade

(BERN, 2009). A pesquisa de parasitas no sangue periférico pode ser utilizada, sobretudo em pacientes infectados com HIV (GONTIJO; MELO, 2004).

No exame direto, as formas amastigotas do parasito podem ser visualizadas pelas colorações de Giemsa ou Wright, Leishman, Panóptico. O encontro de parasitos no material examinado depende do número de campos observados (200 campos devem ser examinados antes de se considerar uma lâmina como negativa).

Outra forma de se buscar o diagnóstico é pela cultura de *Leishmania* em meios apropriados. O aspirado de medula óssea e o esplênico são os mais usados para cultura. No isolamento em meio de cultura (*in vitro*), as formas amastigotas do parasito, inoculadas em meios de cultura especiais contendo ágar e sangue de coelho, transformam-se em formas promastigotas. O clássico meio de NNN é o mais comumente empregado. A utilização de meio líquido sobre o NNN, como o meio LIT ou de Schneider, aumenta e acelera a positividade da cultura.

O método PCR (amplificação do DNA do parasito) constitui uma nova perspectiva para o diagnóstico da Leishmaniose visceral.

Nos estudos com LV, a PCR tem sido utilizada com várias finalidades além do diagnóstico, tais como o monitoramento do tratamento e estudos epidemiológicos. Esta técnica tem sido descrita como um método sensível para a detecção do parasita, independente da imunocompetência ou da história clínica do paciente. Muitos centros de pesquisas têm avaliado o uso da PCR para o diagnóstico de LV utilizando o sangue periférico, considerando que a biópsia esplênica e a punção de medula óssea não são técnicas adequadas para uso fora de ambiente hospitalar. Apesar de ser um método sensível para a

detecção de *Leishmania* em uma variedade de materiais clínicos de humanos e cães, a PCR é mais usada em estudos epidemiológicos do que no diagnóstico de rotina. Para utilização em larga escala, a PCR necessita de ajustes para se tornar mais simples e com custo operacional mais baixo. O teste de PCR feito com o aspirado tem ótimos resultados (CDC, 2010; WHO, 2010; SRIVASTAVA *et al.*, 2011).

Exames Sorológicos

Os testes sorológicos têm sido muito utilizados (ROMERO; BOELAERT, 2010; KHAN *et al.*, 2011) e podem ser citados o teste de Montenegro, a imunofluorescência indireta, o teste de aglutinação direta (DAT), os testes imunoenzimáticos, como o ELISA, e o teste imunocromatográfico baseado no antígeno rK39 – sensibilidade quase 100% e especificidade 96%. (GOTO e LINDOSO, 2009; NASCIMENTO, MEDEIROS, 2007; SRISVASTAVA *et al.*, 2011). Estudos recentes buscam outras opções de diagnósticos que sejam menos caras e eficientes, e um dos exemplos é o teste de amplificação isotérmica mediada por “loop” (LAMP), que tem apresentado bons resultados, mas ainda necessita de mais pesquisas (KHAN *et al.*, 2012).

O diagnóstico através de testes sorológicos, evitando os métodos parasitológicos, que são invasivos é de fácil aplicabilidade devido a grande produção de anticorpos durante a LV (ROSARIO *et al.*, 2005;CORTES *et al.*, 2007).

O teste imunocromatográfico baseado no antígeno rK39 é um teste sorológicos rápido, barato e de fácil execução, baseados na detecção de anticorpos contra o antígeno rK39. Esta proteína está localizada no ácido desoxirribonucleico do cinetoplasto. Estudos realizados tanto com cães quanto

com humanos, demonstraram que a sensibilidade deste teste varia entre 82 a 100% enquanto que a especificidade varia de 95 a 100%, dependendo da região estudada (CARVALHO et.al., 2003; CHAPPUIS et al., 2005; BISUGO et al., 2007).

São também usados os testes de aglutinação direta (DAT), reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e ensaio imunoenzimático (ELISA), que utilizam antígenos brutos e são limitados em termos de especificidade e reprodutibilidade. Na última década, o DAT tem mostrado em vários estudos sensibilidade de 91 a 100% e especificidade de 72 a 100%. A técnica combina altos níveis de validade intrínseca e facilidade de execução, embora apresente problemas na padronização e controle de qualidade do antígeno e não tenha valor no prognóstico da doença.

No Brasil, os testes mais utilizados no diagnóstico de LV humana e canina são a RIFI e ELISA, sendo considerados, sobretudo este último, testes de escolha para inquéritos populacionais. A RIFI apresenta baixa especificidade, exige na sua execução pessoal treinado, é uma reação dispendiosa e não está adaptada para estudos epidemiológicos em larga escala. Uma das principais limitações da técnica é a ocorrência de reações cruzadas com leishmaniose tegumentar, doença de Chagas, malária, esquistossomose e tuberculose pulmonar. O teste de ELISA é o mais utilizado para imunodiagnóstico de leishmaniose visceral. É um teste rápido, de fácil execução e leitura, sendo um pouco mais sensível e um pouco menos específico que a RIFI. O teste é sensível, permitindo a detecção de baixos títulos de anticorpos, mas é pouco preciso na detecção de casos subclínicos ou assintomáticos. Funciona igualmente bem para o diagnóstico da LV canina (GONTIJO; MELO, 2004).

O teste cutâneo de Montenegro (também chamado de teste de Montenegro) é uma ferramenta para avaliar o grau de exposição e de imunidade na população. Na LV ativa, o teste é quase uniformemente negativo; uma resposta positiva se desenvolve normalmente 2 a 24 meses após a recuperação clínica. Portanto, o teste não tem nenhum papel no diagnóstico de LV (BERN, 2009).

Diagnóstico Canino

O diagnóstico clínico da LV canina é muitas vezes um problema para o veterinário. Há um amplo espectro de sinais clínicos, desde animais aparentemente saudáveis, passando por oligossintomáticos, até estágios severos da doença. Uma característica importante é a permanência da doença clinicamente inaparente por longos períodos. Nos cães, a doença é sistêmica crônica e pode levar o animal à morte. Dependendo da fase da doença e das condições imunológicas, muitos cães infectados se apresentam assintomáticos. Entretanto, já foi demonstrado que cães infectados, mesmo assintomáticos, são fonte de infecção para os flebotomíneos e, conseqüentemente, têm papel ativo na transmissão de Leishmania.

Laboratório

Achados laboratoriais de LV são inespecíficos, incluem anemia do tipo normocítica e normocrômica, neutropenia, eosinopenia, e trombocitopenia. A etiologia da anemia é multifatorial, decorre da supressão da medula óssea, hemólise e hiperesplenismo. Neutrofilia presente não é característica de LV e deve ser investigada infecção bacteriana secundária. Elevação das enzimas hepáticas e da bilirrubina também pode estar presente. Hipergamaglobulinemia

surge devido à ativação policlonal de linfócitos B. Geralmente, há inversão das frações de proteína, com aumento da globulina e queda da albumina (PASTORINO *et al.*, 2002; BADARÓ *et al.*, 1986).

Fatores Associados à gravidade

A definição de gravidade na LV é muito ampla e complexa. A necessidade de restringir os critérios de gravidade levou alguns autores a adotarem novas estratégias para definir gravidade, utilizando sistemas de escores para predizer risco de morte. Os escores de Sampaio *et al.*, 2010 e Costa, 2009 são alguns exemplos, porém por serem recentes necessitam de estudos complementares para sua validação.

O Ministério da Saúde publicou em 2005 um manual para abordagem dos pacientes com LV grave e em 2006 uma atualização, nestes foram apresentados sinais de alerta, critérios de gravidade e indicações de internação. Os sinais de alerta são: idade entre 6 e 12 meses e entre 50 e 65 anos, suspeição de infecção bacteriana, recidiva do LV, diarreia ou vômito, edema localizado e febre por mais de 60 dias. Sinais de gravidade: idade inferior a 6 meses ou maior que 65 anos, icterícia, fenômenos hemorrágicos, edema generalizado, sinais de toxemia, desnutrição grave, infecção bacteriana concomitante e presença de qualquer comorbidade. A recomendação de indicar internação é a presença de algum sinal de alerta ou gravidade. Também recomenda-se a internação de todos pacientes que apresentem leucometria < 1.000 céls/mm³, neutropenia < 500 céls/mm³, plaquetas < 50.000 céls/mm³, hemoglobina < 7,0 g/dl, creatinina sérica acima de duas vezes o maior valor de referência, atividade de protrombina < 70%, bilirrubina total maior que o valor de referência, aminotransferases cinco vezes maior que o valor de referência e

albumina < 2,5 g/dl. Também ressalta que em crianças é mais prudente indicar internação quando leucometria < 2.000 céls/mm³ e neutrófilos < 1.000 céls/mm³.

2.6 Tratamento da Leishmaniose Visceral

No Brasil, os medicamentos utilizados para o tratamento da LV são o antimônio pentavalente e a anfotericina B, sendo que a escolha de cada um deles deverá considerar a faixa etária, presença de gravidez e co-morbidades. A droga de escolha é o antimoníato de N- metilglucamina, o Glucantime®, que é distribuído gratuitamente na rede de saúde pública. Visando padronizar o esquema terapêutico, a Organização Mundial da Saúde recomenda e o Ministério da Saúde segue a recomendação que a dose de antimônio seja calculada em mg/Sb+5/kg/dia (Sb+5 significando antimônio pentavalente). A dose recomendada para o tratamento da LV é de 20mg/Kg/dia de antimônio pentavalente, via endovenosa (EV) ou intramuscular (IM), durante 20 dias, podendo chegar a 30 dias e, no máximo, 40 dias, utilizando o limite máximo de 3 ampolas por dia. (MICHALICK; GENARO, 2005).

É uma droga considerada leishmanicida, seu mecanismo de ação ainda não está elucidado, mas sabe-se que atua nas formas amastigotas do parasita, inibindo sua atividade glicolítica e a via oxidativa de ácidos graxos. Esta droga é extremamente tóxica, e o seu principal efeito colateral é sobre o aparelho cardiovascular, causando arritmias cardíacas e outras manifestações de cardiotoxicidade (BRASIL, 2006).

Esta droga está contraindicada em pacientes com insuficiência renal, pacientes que foram submetidos a transplante renal e em gestantes. O principal efeito adverso do Sb+5 é decorrente de sua ação sobre o aparelho

cardiovascular. Esse efeito é dose e tempo dependente, traduzindo-se por distúrbio de repolarização (inversão e achatamento da onda T e aumento do espaço QT). Deve-se realizar eletrocardiograma semanal e uma cuidadosa ausculta cardíaca diária, até o término da medicação, sempre antes de cada infusão, com o objetivo de detectar arritmias.

A segunda linha de tratamento compreende a anfotericina B, o isotiocianato de pentamidina e o alopurinol, que são drogas mais tóxicas que os antimoniais pentavalentes (REY, 2002). A Anfotericina B é a droga leishmanicida mais potente disponível comercialmente, com ação em formas promastigotas e amastigotas, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. É a única opção no tratamento de gestantes e de pacientes que tenham contra-indicações ou que tenham apresentado toxicidade ou refratariedade relacionada ao uso dos antimoniais pentavalentes. A anfotericina B convencional tem substituído os antimoniais como tratamento de primeira escolha da LV em algumas áreas da Índia onde a taxa de falha do tratamento com os antimoniais é maior que 60%, enquanto que a anfotericina B lipossomal é a droga de primeira escolha na Europa e nos Estados Unidos (CHAPPUIS *et al.*, 2007).

O Desoxicolato de Anfotericina B possui dose preconizada de 1mg/kg/dia, por via EV, durante 14 a 20 dias consecutivos, não devendo ultrapassar a dose máxima diária de 50mg. Durante a sua utilização, deve-se sempre monitorar a função renal do paciente devido ao seu efeito nefrotóxico. É contra-indicada nos pacientes com insuficiência renal ou que apresentaram alguma reação de hipersensibilidade à droga.

A anfotericina B lipossomal, além do alto custo, é reservada para casos mais graves e como alternativa terapêutica (PELLISSARI *et al.* 2011). Essa mesma sequência de raciocínio é aplicada aos casos de pacientes

coinfetados pelo HIV (SOUSA-GOMES et al., 2011). Está recomendada para o tratamento dos casos de LV daqueles pacientes com insuficiência renal e, conforme protocolo de recomendações clínicas para a redução da letalidade da LV, seu uso é sugerido no tratamento de pacientes com mais de 50 anos de idade, transplantados renais, cardíacos e hepáticos, embora não existam evidências para essa escolha. A dose preconizada é de 3 mg/kg/dia, durante 7 dias, ou 4 mg/kg/dia, durante 5 dias, por infusão venosa, em 1 dose diária.

Outras drogas têm sido avaliadas para o tratamento da LV, como paramomicina (aminosidina), quimioterapia com paramomicina e antimonial pentavalente, imunoterapia com INF- γ e antimonial e miltefosina, mas nenhuma delas ainda é padrão de tratamento em nosso país (MURRAY, 2001; WHO, 2010). A miltefosina, tem-se mostrado efetiva no tratamento da LV na Índia, sendo tratamento de primeira escolha em algumas áreas deste país (DESJEUX, 2004).

Os critérios de cura são essencialmente clínicos. O desaparecimento da febre é precoce e acontece por volta do 5º dia de medicação, a redução da hepatoesplenomegalia ocorre logo nas primeiras semanas. Ao final do tratamento, o baço geralmente apresenta redução de 40% ou mais, em relação à medida inicial. A melhora dos parâmetros hematológicos (hemoglobina e leucócitos) surge a partir da segunda semana. As alterações vistas na eletroforese de proteínas se normalizam lentamente, podendo levar meses. O ganho ponderal do paciente é visível, com retorno do apetite e melhora do estado geral. Nessa situação, o controle através de exame parasitológico ao término do tratamento é dispensável. O seguimento do paciente tratado deve ser feito aos 3, 6 e 12 meses após o tratamento e na última avaliação se permanecer estável, o paciente é considerado curado. O aparecimento de

eosinofilia ao final do tratamento ou ao longo dos seguimentos é sinal de bom prognóstico. As provas sorológicas não são indicadas para seguimento do paciente (MS, 2012).

Segundo o Ministério da Saúde, falha terapêutica é definida como aqueles casos em que não ocorreu cura clínica após a segunda série regular de tratamento com antimonial pentavalente. O abandono de tratamento ocorre quando não se completou 20 doses de tratamento com antimonial pentavalente no tempo preestabelecido, ou pacientes que, não tendo recebido alta, não compareceram até 30 dias após o agendamento, para avaliação clínica. Já a recidiva consiste no recrudescimento da sintomatologia, em até 12 meses após cura clínica. É considerado caso novo o reaparecimento de sintomatologia após 12 meses de cura clínica, desde que não haja evidência de imunodeficiência.

O prognóstico dos pacientes com calazar depende da presença ou não de comorbidades, e de reações adversas ao tratamento. A mortalidade está diretamente relacionada à presença de fatores como insuficiência renal aguda, insuficiência hepática, alterações cardíacas e de consciência, pancreatite e hepatite medicamentosa, assim como comorbidades prévias, dentre as mais relevantes, a desnutrição, o etilismo, o Diabetes *mellitus* (DM), a Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), a Insuficiência Renal Crônica (IRC) e a infecção por HIV/AIDS (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELMOULA, M. S. et al. Visceral leishmaniasis in children: prognostic factors. **Tunis Med**, v. 81, n. 8, p. 535-9. Aug. 2003.

ALBUQUERQUE, A. R. et al. Aspectos clínicos de cães naturalmente infectados por *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* na região metropolitana do Recife. **Rev Clín Veteri**, n. 71, p. 78-80, 2007.

ALVAR, J. et al. The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. **Clin Microbiol Ver**, n. 21, p. 334-59, 2008.

AMATO, V. S.; TUON, F. F.; NICODEMO, E. L. **Leishmaniose visceral**. Clínica Médica, volume 7: alergia e imunologia clínica, doenças da pele, doenças infecciosas – Barueri, SP: Manole, 2009.

BABIKER Z, O. E. et al. Utility of lymph node aspiration in the diagnosis of visceral leishmaniasis in Sudan. **Am J Trop Med Hyg**, n. 76, p. 689–93, 2007.

BADARÓ, R. et al. A prospective study of visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. **J Infect Dis**, v. 154, n.4, p. 639-49, Oct. 1986.

BERN, C.; MAGUIRE, J. H.; ALVAR, J. Complexities of assessing the disease burden attributable to leishmaniasis. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 2, n. 10, e313, oct. 2008.

BISUGO, M. C. et al. Avaliação do diagnóstico da leishmaniose visceral canina com a utilização de teste rápido com antígeno recombinante K39 em regiões endêmicas do estado de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 66: 185-193, 2007.

BRASIL. **Leishmaniose Visceral Grave: Normas e Condutas**. Brasília-DF. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Editora do Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília-DF. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Editora do Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. **Sistema Nacional de Vigilância em Saúde: relatório de situação: Sergipe**. Brasília-DF. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Editora do Ministério da Saúde, 2005.

CALDAS, A. et al. Balance of IL-10 and interferon-gamma plasma levels in human visceral leishmaniasis implications in the pathogenesis. **BMC Infect Dis**, v. 5, n.13, 2005.

CARVALHO, S. F. G.; LEMOS, E. M.; COREY, R.; DIETZE, R. Performance of recombinant K39 antigen in the diagnosis of brazilian visceral leishmaniasis. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 68: 321-324, 2003.

CDC – Centers of Disease Control and Prevention. 2010. Leishmaniasis. Disponível em: <http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/> Acessado em 16/mar/2013

CHAPPUIS, F. et al. Visceral leishmaniasis: What are the needs for diagnosis, treatment and control? **Nat Rev Micro**, v. 5, p. 873-82, 2007.

CORTÉS, A. R. et al. A long term experimental study of canine visceral leishmaniasis. **International Journal for Parasitology**, 37: 683-693, 2007.

COSTA, C. H. N., et al. Is severe visceral leishmaniasis a systemic inflammatory response syndrome? – A case control study. **Rev Soc Bras Med Trop**, v.43, n.4, p. 386-92, 2010.

COSTA, J. M. L. Epidemiologia das Leishmanioses no Brasil. **Gazeta da Bahia**, 2005. 75: 3-17.

COSTA, L. D. **Fatores de prognóstico na Leishmaniose Visceral:** alterações clínicas e laboratoriais associadas à resposta imune, aos

distúrbios de coagulação e à morte. 2009. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde). Programa de Pós graduação em ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

CURI, N. H. A.; MIRANDA, I.; TALAMONI, A. S. Serologic evidence of Leishmania infection in free-ranging wild and domestic canids around a Brazilian National Park. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 1, p. 99–101, fev. 2006.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comp Immunol Micro Infect Dis**, v. 27, p. 305-18, 2004.

FIOCRUZ.

http://www.dbbm.fiocruz.br/tropical/leishman/leishext/html/reservat_rios.htm, acessado em 17 de maio de 2013.

FIOCRUZ.

<http://www.dbbm.fiocruz.br/tropical/leishman/leishext/html/vetores.htm>, acessado em 17 de maio de 2013.

GÓES, M. A. O.; JERALDO, V. L. S.; MELO, C. M. Série temporal da leishmaniose visceral em Aracaju, estado de Sergipe, Brasil (1999 a 2008): aspectos humanos e caninos. **Rev Bras Epidemiol**, v. 15, n. 2, p. 298-307, 2002.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Rev Bras Epidemiol**, 2004

GOTO, H.; LINDOSO, J. A. L. **Leishmaniose visceral**. In: **Lopes, AC (organizador)**. Tratado de clínica médica. 2. ed. São Paulo: Roca, 2009, v. 3, 4107-14 p.

HERWALDT, B. L. Leishmaniasis. **Lancet**, 1999. 354:1191-9

KHAN, G.; BHASKAR, K. R.; SALAM A, AKTHER, T.; PLUSCHKE, G.; MONDAL, D. Diagnostic accuracy of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for detection of Leishmania DNA in buffy coat from visceral leishmaniasis patients. **Parasites and Vectors**, 2012. 5:280, 2012 December 3.

KHAN, M. G. et al. Short communication: evaluation of a new rapid diagnostic test for quality assurance by kala azar elimination programme in Bangladesh. **J Parasitol Res**,v. 2011, nov. 2011.

KRAUSPENHAR, C. et al. Leishmaniose visceral em um canino de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciên Rur**, v. 37, n. 3, p. 907-10 maio./jun. 2007.

LAINSON, R.; RANGEL, E. F. Lutzomyia longipalpis and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular

reference to Brazil: a review. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** 100, p. 811-27, 2005

LAINSON, R. et al. Further observations on *Lutzomyia ubiquitalis* (Psychodidae: Phlebotominae), the sandfly vector of *Leishmania* (*Viannia*) *lainsoni*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 87:437-439, 1992

LAINSON, R.; SHAW, J. J. Evolution, classification and geographical distribution In *The Leishmaniasis in Biology and Medicine*, Vol.1 W Peters, R Killick-Kendrick (eds), Academic Press, London, p. 1-120, 1987

MARQUES, A. R.; MASUR, H. História natural da infecção pelo HIV. In Veronesi R, Focaccia R (eds) **Tratado de infectologia**. Atheneu, São Paulo, pp. 143-147, 2007.

MARTHUR, R. K. et al. Reciprocal CD40 signals through p38MAPK and ERK-1/2 induce counteracting immune responses. **Nat Med**, v. 10, p. 540-44, 2004.

MICHALICK, M. S. M.; GENARO, O. Leishmaniose Visceral Americana. **Parasitologia humana**. 11. ed. Ed. Atheneu. São Paulo, 2005. 56-72 p.

MURRAY, H. W. Clinical and experimental advances in treatment of visceral leishmaniasis. **Antimi Agent and Chemorth**, v. 45, p. 2185-97, 2001.

MURRAY, H. W. et al. Modulation of T-cell costimulation as immunotherapy or immunochemotherapy in experimental visceral leishmaniasis. **Infect Immu**, v. 71, p. 6453-62, 2003.

NASCIMENTO, E. L. T.; MEDEIROS, I. M. **Leishmaniose visceral (Calazar)**. In: **Tavares W, Marinho LAC (eds) Rotina de diagnóstico e tratamento das doenças infecciosas e parasitárias**. 2.ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2007, v.1, 666-73 p.

OLIVEIRA, J. M. et al. Mortalidade por leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 43, n. 2, p. 188-93, mar./abr. 2010.

PASTORINO, A. C. et al. Leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. **J. Pediatr.**, v. 78, p. 120-27, 2002.

PELISSARI, D. M. et al. Tratamento de leishmaniose visceral e leishmaniose tegumentar no Brasil. **Epidemiol Serv Saúde**, v. 20, n. 1, p. 107-10, 2011

REY, L. **Bases da parasitologia médica**. 2. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2002. Capítulo 6: Leishmaníase visceral, p. 63-70.

ROMERO, G. A. S.; BOELAERT, M. Control of Leishmaniasis in Latin America – A systematic review. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 4, n. 1, p. 1-17. Jan. 2010

ROSÁRIO, E. Y.; GENARO, O.; SILVA, J. C. F.; COSTA, R. T.; MAYRINK, W.; REIS, A. B.; CARNEIRO, M. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay using crude *Leishmania* and recombinant antigens as a diagnostic marker for canine visceral leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 100: 197-203, 2005.

SAMPAIO, M. J. et al. Risk factors for Death in children with visceral leishmaniasis. **Plos Negl Trop Dis**, v. 4, n. 11, Nov. 2010.

SANTOS, S. O.; ARIAS, J., RIBEIRO, A. A.; DE PAIVA HOFFMANN, M., DE FREITAS, R. A.; MALACCO, M. A. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American visceral leishmaniasis. **Med Vet Entomol**; v. 12, n. 3, p. 315-317, 1998.

SILVA, E. S. et al. Primeiro relato de leishmaniose visceral canina em área urbana do município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 33, p. 318 - 19, 2000

SILVA, J. G. D. et al. Infecção natural de *Lutzomyia longipalpis* por *Leishmania* sp. em Teresina, Piauí, Brasil. **Cad Saude Public**, v. 23, p. 1715-20, 2007.

SOUSA-GOMES, M. L.; et al. Coinfecção *Leishmania*-HIV no Brasil: aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. **Epidemiol Serv Saúde**, v. 20, n. 4, p. 519-26, 2011.

SRIVASTAVA, P.; et al. Diagnosis of visceral leishmaniasis. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 105, n. 1, p. 1-6, 2011.

TAVARES, L. M. S. A.; TAVARES, E. D. Incidência, distribuição geográfica e aspectos ambientais das áreas endêmicas de leishmaniose visceral em Sergipe. **Informe Epidemiológico do SUS**, v. 8, n. 1, p. 47-52, jan./mar. 1999.

TELES, E. B. T.; et al. Manifestações Hemorrágicas e Leishmaniose Visceral. **Infectologia. Prática Hospitalar**. Ano XV, no 85, Jan-Fev/2013

WERNECK, G. L. **Fórum: expansão geográfica e urbanização da leishmaniose visceral no Brasil. Introdução.** Cad. Saúde Pública v.24 no.12 Rio de Janeiro Dec. 2008

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Control of leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the control of Leishmaniasis.** Geneva, mar. 2006.

4 NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

4.1 ESCOPO

A **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** é um periódico oficial da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, multidisciplinar, com acesso aberto, que publica pesquisas originais relacionadas a doenças tropicais, medicina preventiva, saúde pública, doenças infecciosas e assuntos relacionados. A preferência para publicação será dada a artigos que relatem pesquisas e observações originais. A revista possui um sistema de revisão por pares, para a aceitação de artigos, e sua periodicidade é bimestral. A Revista de Sociedade Brasileira de Medicina Tropical é publicada em Inglês, com o título dos artigos, resumo e palavras-chaves em Inglês e Português.

4.2 POLÍTICA DE AVALIAÇÃO

Os manuscritos submetidos com vistas à publicação na **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** são avaliados inicialmente pelos profissionais da secretaria quanto à adequação às normas. Em seguida, serão encaminhados para, no mínimo, dois revisores para avaliação e emissão de parecer fundamentado (revisão por pares), os quais serão utilizados pelos editores para decidir sobre a aceitação, ou não, do mesmo. Em caso de divergência de opinião entre os revisores, o manuscrito será enviado para um terceiro relator para fundamentar a decisão editorial final, de acordo com o [workflow](#) do processo de submissão da Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (disponível online em <http://www.scielo.br/revistas/rsbmt/iinstruc.htm#005>).

4.3 TIPOS DE MANUSCRITOS

A revista convida à publicação Artigos Originais, Editoriais, Artigos de Revisão, Comunicações Breves, Relatos de Casos, Relatórios Técnicos, Imagens em Doenças Infecciosas, Cartas, Suplementos, Obituários.

4.3.1 Artigos Originais: devem relatar pesquisas originais que não tenham sido publicadas ou consideradas para publicação em outros periódicos. No caso de Ensaio Clínicos, o manuscrito deve ser acompanhado pelo número e órgão de registro do ensaio clínico. Estes requisitos estão de acordo com BIREME/OPAS/OMS e o Comitê Internacional dos Editores de Revistas Médicas (www.icmje.org) e do Workshop ICTPR. O limite de palavras é de 3.500 (excluindo resumo e referências); resumo com até 250 palavras, estruturado com os tópicos Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões, contendo também em Português título, resumo e palavras-chaves. Um total de cinco ilustrações (tabelas e figuras) é permitido.

4.3.2 Artigos de Revisão: devem ser uma análise crítica de avanços recentes e não apenas revisão da literatura, geralmente a convite do editor. Devem ter resumo com até 250 palavras, máximo de 3.500 palavras, cinco ilustrações (tabelas e figuras), com a mesma formatação do artigo original. São publicados também mini-revisões com resumo com até 250 palavras, três ilustrações (tabelas e figuras) e máximo de 3.000 palavras.

4.3.3 Cartas: leitores são encorajados a escrever sobre qualquer tópico relacionado a doenças infecciosas e medicina tropical de acordo com o escopo da revista. Não devem exceder 1.200 palavras, sem resumo e

palavras-chaves, com apenas uma inserção (figura ou tabela) e pode tratar de material anteriormente publicado na revista, com até 12 referências.

4.3.4 Editoriais: usualmente, escritos a convite, considerando os tópicos da área de enfoque da revista, não excedendo a 1.500 palavras, com título em português, sem resumo e palavras-chaves e no máximo uma figura ou tabela e dez referências.

4.3.5 Comunicações Breves: devem ser relatos sobre novos resultados interessantes dentro da área de abrangência da revista. Não deve exceder quatro páginas impressas, com no máximo 2.000 palavras, mesma formatação do artigo original, incluindo o resumo e abstract estruturados com os subitens introdução, métodos, resultados e conclusões, e com até 15 referências. Um máximo de três ilustrações (tabelas e figuras) é permitido. Um resumo com não mais que 100 palavras e até três palavras-chaves abaixo do resumo devem ser fornecidos. Não colocar no corpo do manuscrito os tópicos introdução, métodos, resultados, discussão e conclusões.

4.3.6 Relatos de Casos: devem ser relatos breves com extensão máxima de 1.500 palavras, com máximo de três ilustrações (tabelas e figuras), até 12 referências, resumo e abstract não estruturados e com no máximo 100 palavras, e de três palavras-chaves, contendo também título resumo e palavras-chaves em Português. Colocar no corpo do manuscrito os tópicos Introdução, Relato do Caso, Discussão e Referências.

4.3.7 Relatórios Técnicos: devem ser precisos e relatar os resultados e recomendações de uma reunião de *experts*. Será considerado, se formatado como um editorial.

4.3.8 Imagens em Doenças Infecciosas: até três figuras com a melhor qualidade possível. Apenas três autores e três referências (não citadas no texto) sem agradecimentos são permitidos. O tamanho máximo é de 250 palavras com ênfase na descrição da figura. Os temas devem envolver alguma lição clínica, contendo título e a descrição das figuras também em português.

4.3.9 Suplementos: podem ser anais de um simpósio ou um congresso. Propostas relacionadas com a adequação do tema, organização do programa e a produção devem ser feitas por escrito para o Editor e / ou Editor Convidado.

4.3.10 Obituários: devem ser escritos por um colega de profissão, e destacar o perfil científico e a contribuição do profissional falecido.

4.4 PREPARAÇÃO DO MANUSCRITO

Os editores se reservam o direito de devolver manuscritos que não estejam em conformidade com estas instruções. Todos os manuscritos a serem considerados para publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical devem ser submetidos por via eletrônica através do sistema de submissão on-line nos endereços <http://mc04.manuscriptcentral.com/rsbmt-scielo> ou <http://www.scielo.br/rsbmt>. A carta de apresentação deve conter

uma declaração assegurando que o material não foi publicado ou está sob consideração por outro periódico científico. O autor deve escolher dentro do item "*Tipos de Manuscrito*" uma categoria para o manuscrito (Artigos Originais, Editoriais, Artigos de Revisão, Comunicações Breves, Relatos de Casos, Relatórios Técnicos, Imagens em Doenças Infecciosas, Obituários e Cartas ao Editor, ou outros quando não se encaixar em nenhuma das categorias listadas). A responsabilidade pelo conteúdo do manuscrito é inteiramente do autor e seus co-autores.

4.4.1 Edição da Pré-Submissão

Se a sua primeira língua não é o Inglês, para garantir que o conteúdo científico de seu manuscrito será compreendido pelos editores da revista e revisores, todos os manuscritos submetidos à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical devem ser em Inglês. A escrita e os custos de edição de texto serão de responsabilidade dos autores. Para tornar o processo mais fácil e rápido, é altamente recomendável que os autores utilizem os serviços de uma empresa de edição semelhante ao American Journal Experts (AJE - www.journalexperts.com), Oxford JournalsLanguage (www.prof-edição.com) ou Editage (www.editage.com.br) para a tradução para o idioma Inglês e / ou edição de texto. É solicitado que os autores enviem, juntamente com sua submissão online, o certificado emitido pela empresa ou por um revisor nativo da língua inglesa com proficiência reconhecida como tradutor. É de escolha dos autores utilizar esses ou outros serviços, desde que quando da apresentação do manuscrito, enviem um certificado indicando que eles

usaram os serviços de um tradutor oficial e / ou empresa de edição de texto da língua inglesa.

A revisão / edição da Língua Inglesa, não garante que o manuscrito será aceito para publicação.

A partir de 30 de setembro de 2011 a Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical aceitará apenas manuscritos acompanhados pelo certificado de revisão / edição da língua inglesa.

4.4.2 Formatação de Artigo Original

O manuscrito deve ser preparado usando *software* padrão de processamento de textos e deve ser impresso (fonte *times new Roman* tamanho 12) com espaço duplo em todo o texto, legendas para as figuras e referências, margens com pelos menos 3cm. O limite de palavras é de 3.500 com até cinco inserções (figuras e tabelas). O manuscrito deve ser dividido nas seguintes seções: Carta de envio, endereçada ao editor chefe, resumo estruturado, palavras-chaves, introdução, métodos, resultados, discussão, conclusões, agradecimentos e referências. Abreviações devem ser usadas com moderação.

4.4.2.1 Página de Título: deve incluir o nome dos autores na ordem direta e sem abreviações, graduações mais elevadas possuídas, afiliações com informação de contato (telefone, endereço e números de fax e e-mail para o autor correspondente e todos os co-autores e apoio financeiro. A quantidade de autores por manuscrito é limitada a seis, exceto para estudos multicêntricos. Os autores são convidados a fornecer os nomes e

informações de contato (e-mail e telefone) por três potenciais revisores imparciais. Favor informar revisores de região diferente da dos autores.

4.4.2.2 Título: deve ser conciso, claro e o mais informativo possível, não deve conter abreviações e não deve exceder a 200 caracteres, incluindo espaços.

4.4.2.3 Título Corrente: com no máximo 70 caracteres.

4.4.2.4 Resumo Estruturado: deve condensar os resultados obtidos e as principais conclusões de tal forma que um leitor, não familiarizado com o assunto tratado no texto, consiga entender as implicações do artigo. O resumo não deve exceder 250 palavras (100 palavras no caso de comunicações breves) e abreviações devem ser evitadas. Deve ser subdividido em: Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões.

4.4.2.5 Palavras-chaves: 3 a 6 itens devem ser listados em Inglês e Português, imediatamente abaixo do resumo estruturado.

4.4.2.6 Introdução: deve ser curta e destacar os propósitos para o qual o estudo foi realizado. Apenas quando necessário citar estudos anteriores de relevância.

4.4.2.7 Métodos: devem ser suficientemente detalhados para que os leitores e revisores possam compreender precisamente o que foi feito e permitir que seja repetido por outros. Técnicas-padrões precisam apenas ser citadas.

4.4.2.8Ética: em caso de experimentos em seres humanos, indicar se os procedimentos realizados estão em acordo com os padrões éticos do comitê de experimentação humana responsável (institucional, regional ou nacional) e com a Declaração de Helsinki de 1964, revisada em 1975, 1983, 1989, 1996 e 2000. Quando do relato de experimentos em animais, indicar se seguiu um guia do conselho nacional de pesquisa, ou qualquer lei sobre o cuidado e uso de animais em laboratório foram seguidas.

4.4.2.9Resultados: devem ser um relato conciso e impessoal da nova informação. Evitar repetir no texto os dados apresentados em tabelas e ilustrações.

4.4.2.10Discussão: deve relacionar-se diretamente com o estudo que está sendo relatado. Não incluir uma revisão geral sobre o assunto, evitando que se torne excessivamente longa.

4.4.2.11Agradecimentos: devem ser curtos, concisos e restritos aqueles realmente necessários, e, no caso de órgãos de fomento não usar siglas.

4.4.2.12Conflito de Interesse: todos os autores devem revelar qualquer tipo de conflito de interesse existente durante o desenvolvimento do estudo.

4.4.2.13Suporte Financeiro: informar todos os tipos de fomento recebidos de agências de fomento ou demais órgãos ou instituições financiadoras da pesquisa.

4.4.2.14 Referências: devem ser numeradas consecutivamente, na medida em que aparecem no texto. Listar todos os autores quando houver até seis. Para sete ou mais, listar os seis primeiros, seguido por "et al". Digitar a lista de referências com espaçamento duplo em folha separada e no final do manuscrito. Referências de comunicações pessoais, dados não publicados ou manuscritos "em preparação" ou "submetidos para publicação" não devem constar da lista de referência. Se essenciais, podem ser incorporados em local apropriado no texto, entre parênteses da seguinte forma: (AB Figueiredo: Comunicação Pessoal, 1980); (CD Dias, EF Oliveira: dados não publicados). Citações no texto devem ser feitas pelo respectivo número das referências, acima da palavra correspondente, separado por vírgula (Ex.: Mundo^{1,2,3}; Vida^{30,42,44-50}). As referências no fim do manuscrito devem estar de acordo com o sistema de requisitos uniformes utilizado para manuscritos enviados para periódicos biomédicos (Consulte: <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine>). Os títulos dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no "Index Medicus" (Consulte: <http://ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=journals&TabCmd=limits>)

4.4.2.15 Figuras: devem preferencialmente ser submetidas em alta resolução no formato *TIFF*. As figuras devem ser colocadas em arquivos separados, nomeados apenas com o número das figuras (ex.: Figura 1; Figura 2). Certifique-se que as mesmas têm uma resolução mínima de 300dpi.

Fotografias: devem ser enviadas com boa resolução (mínimo de 300dpi) no formato **TIFF**, preferencialmente, preparadas utilizando o *Adobe Photoshop*.

Gráficos: criados usando *Microsoft Word* ou *Excel*, devem ser salvos com a extensão original (**.doc** ou **.xls**). **Eles não devem ser copiados ou colados** de um programa para o outro.

Mapas e Ilustrações: devem ser vetorizadas (desenhados) profissionalmente utilizando os *softwares CorelDraw* ou *Illustrator* em alta resolução, e suas dimensões não devem ter mais que 21,5 x 28,0cm.

Imagens: produzidas em *software* estatístico devem ser convertidas para o formato *Excel* ou *PowerPoint*. Caso não seja possível, converter o arquivo para o formato **TIFF** com resolução de 300dpi, e enviar juntamente com o arquivo no formato original.

4.4.2.16 Legendas: nas figuras, as legendas devem ser digitadas juntas com espaçamento duplo em uma folha separada e no final do manuscrito.

4.4.2.17 Ilustrações Coloridas: devem ser aprovadas pelos editores e as despesas extras para confecção de fotolitos coloridos serão de responsabilidade dos autores.

4.4.2.18 Tabelas: devem ser digitadas com espaçamento duplo, com um título curto e descritivo e submetido *online* em um arquivo separado. Legendas para cada tabela devem aparecer no rodapé da mesma página que a tabela. Todas as tabelas devem ter numeração arábica, citadas no texto, consecutivamente. Tabelas não devem ter linhas verticais, e linhas

horizontais devem ser limitadas ao mínimo, com notas de rodapé logo abaixo. Tabelas devem ter no máximo 17cm de largura.

4.4.2.10 Processo de Envio: a partir de 21 de Outubro de 2009, os artigos submetidos à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical deverão utilizar apenas a via eletrônica. Todos os manuscritos deverão ser enviados via internet para <http://submission.scielo.br/index.php/rsbmt/login>, seguindo as instruções no topo de cada tela. A partir desta data o processo de revisão pelos pares também será totalmente pela via eletrônica.

4.4.2.20 Sobre Reenvio e revisões: a revista diferencia entre: a) manuscritos que foram rejeitados e b) manuscritos que serão re-avaliados após a realização das correções que foram solicitadas aos autores.

4.4.2.21 Reenvio: caso o autor receba uma carta informando que seu trabalho foi rejeitado e queira que os editores reconsiderem tal decisão, o autor poderá re-enviá-lo. Neste caso será gerado um novo número para o manuscrito.

4.4.2.22 Revisão: caso seja necessário refazer seu manuscrito com base nas recomendações e sugestões dos revisores, ao devolvê-lo, para uma segunda análise, por favor, encaminhe o manuscrito revisado e informe o mesmo número do manuscrito.

4.4.2.23 Após a aceitação: quando o trabalho for aceito para publicação, os autores devem fornecer:

a) Formulário de concessão de direitos autorais, fornecido pela secretaria da revista, assinado pelo autor correspondente.

b) Provas: serão enviadas ao autor correspondente para que o texto seja cuidadosamente conferido. Mudanças ou edições ao manuscrito editado não serão permitidas nesta etapa do processo de edição. Os autores deverão devolver as provas corrigidas dentro de quatro dias após serem recebidas.

c) Os artigos aceitos comporão os números impressos obedecendo o cronograma em que foram submetidos, revisados e aceitos.

d) Os artigos aceitos remanescentes a cada número da revista serão disponibilizados *online* enquanto aguardam a prioridade para publicação na versão impressa.

4.4.2.24 Re-impressões: a revista fornece ao autor, gratuitamente, excertos do artigo em formato PDF, via e-mail.

4.4.2.25 Custos de Publicação: Não haverá custos de publicação.

A tradução de todo manuscrito deve ser realizada antes da submissão do mesmo. A contratação e o pagamento dos serviços de tradução, são de responsabilidade dos autores. A Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical não fornece qualquer tipo de serviço de tradução. Custos de publicação de imagens coloridas são de responsabilidade dos autores.

4.5 WORKFLOW DO PROCESSO DE SUBMISSÃO DA REVISTA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL

A **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** é um periódico oficial da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical com acesso

aberto. É uma revista multidisciplinar que publica pesquisas originais relacionadas a doenças tropicais, medicina preventiva, saúde pública, doenças infecciosas e assuntos relacionados. A revista possui um sistema de revisão por pares para a aceitação de artigos, e sua periodicidade é bimestral. Todos os manuscritos a serem considerados para publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical devem ser submetidos por via eletrônica através do sistema de submissão *online* no endereço <http://mc04.manuscriptcentral.com/rsbmt-scielo>.

Política de revisão do periódico (*workflow*):

1. Os manuscritos submetidos para publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical são inicialmente avaliados pela Secretaria quanto à adequação do texto às normas do periódico.
2. Após esta etapa, os manuscritos adequados às normas da revista serão avaliados pelo Editor ou Editores Associados quanto ao escopo e a política editorial do periódico. A Secretaria envia o manuscrito para o Editor-Chefe.
3. O Editor Chefe designa um Editor Associado ou designa revisores.
4. O *paper* será enviado a pelo menos dois revisores num sistema duplo-cego para avaliação e emissão de um relatório fundamentado (*peerreview*), que será usado pelos Editores para decidir se o manuscrito será aceito ou não. No caso de conflito de pareceres dos revisores, o manuscrito será enviado a um terceiro parecerista para validar uma decisão final.

5. Comentários dos Revisores (*FreeFormReview*) serão encaminhados ao autor correspondente (autor principal para correspondência editorial) para responder aos questionamentos feitos.
6. Os autores enviam suas respostas aos questionamentos e reenviam a versão revisada do manuscrito. A versão revisada será enviada aos revisores que emitirão um relatório final fundamentado.
7. Depois da análise final dos revisores, a versão corrigida do manuscrito será enviada aos Revisores de Métodos Quantitativos para análise. Sugestões serão enviadas aos autores para correções e resubmetida aos Revisores de Métodos Quantitativos para reavaliação.
8. Os apontamentos dos Revisores e as respostas dos autores serão analisadas pelos Editores Associados e/ou Editor Chefe.
9. O Editor Chefe emite uma decisão final.
10. A decisão editorial final (aceitação ou rejeição) é enviada aos autores.
11. Após esta etapa inicia-se o processo de edição. O manuscrito aceito é enviado à edição quanto à qualidade linguística do inglês.
12. A revisão de inglês é enviada aos autores para análise e declaração de aceitação da revisão.
13. Após esta etapa, inicia-se o processo de diagramação, com contato com o autor correspondente no que diz respeito às figuras, tabelas, fotografias, mapas, ilustrações e formatação em geral.
14. Após esta etapa, é requerido aos autores declarar formalmente qualquer conflito de interesse, suporte financeiro e cessão de direitos autorais.

15. Provas são enviadas ao autor correspondente para cuidadosa correção e acuidade tipográfica.
16. A versão final de cada manuscrito é selecionada para compor o próximo número e será enviada ao *Ahead of Print* na plataforma SciELO.
17. A versão impressa é publicada e será disponibilizada em acesso aberto em <http://www.scielo.br/rsbmt>

5 ARTIGO ORIGINAL

Análise de Componentes Hematológicos e Bioquímicos em Pacientes com Leishmaniose Visceral Grave

Analysis of Hematological and Biochemical Components in Patients with Severe Visceral Leishmaniasis

Michelle Teles Barbosa Lino¹, Priscila Lima², Juliana Silva³, Michelle Fontes Sobral de Oliveira¹, Roque Pacheco de Almeida⁴

¹ Acadêmica de Medicina da Universidade Federal de Sergipe – Aracaju (SE) – Brasil

² Professora do Departamento de Morfologia da Universidade Federal de Sergipe – Aracaju (SE) – Brasil

³ Enfermeira mestranda da pediatria do Hospital Universitário – Aracaju (SE) - Brasil

⁴ Professor do Departamento de Medicina da Universidade Federal de Sergipe – Aracaju (SE) – Brasil

Correspondência:

Roque Pacheco Almeida

Rua Cláudio Batista S/N, HU, Bairro Sanatório CEP: 49060-100 Telefone de contato: (79) 88237244; E-mail: roquepacheco@uol.com.br

Instituição: Hospital Universitário

Conflito de interesses: Nada a declarar / Fonte financiadora: CNPq, PRONEX, CAPES, FAPITEC

RESUMO

Introdução: Avaliar a associação entre os componentes hematológicos e bioquímicos em pacientes com Leishmaniose Visceral (LV) Grave. Para identificar fatores específicos da imunopatogênese da LV grave.

Método: Estudo transversal. Revisão de prontuários entre 2008 – 2013, no centro de referência de LV no Estado de Sergipe – Hospital Universitário. Foram estudados 34 indivíduos, incluindo 11 indivíduos assintomáticos com sorologia positiva para LV, 10 pacientes com calazar clássico e 13 pacientes com LV grave. Os pacientes graves foram classificados de acordo com o escore de risco de morte.

Resultados: O sexo masculino foi mais freqüente nos grupos calazar clássico (60%, n=6) e calazar grave (77%, n=10). Indivíduos com calazar grave tiveram alta frequência de dispnéia, sangramentos espontâneos e infecção bacteriana, diferente dos pacientes com calazar clássico e indivíduos assintomáticos. Os valores hematológicos dos indivíduos assintomáticos foram significativamente diferentes daqueles pacientes com LV clássico e grave, com exceção do número de monócitos, que não foi significante entre os 3 grupos. Aminotransferases e bilirrubinas, apesar de estarem aumentadas, não foram estatisticamente diferentes.

Conclusões: Diminuição dos parâmetros hematológicos, principalmente leucopenia e neutropenia estão associados à gravidade da doença. Houve tendência de aumento nos valores de bilirrubina com a gravidade da doença.

Palavras-chave: Leishmaniose Visceral, assintomáticos, clássico, grave.

ABSTRACT

Background: To evaluate the association between haematological and biochemical components in patients with severe visceral leishmaniasis (VL). To identify specific factors of the immunopathogenesis of severe VL.

Methods: Cross-sectional data collection from medical records between 2008 – 2013 in the center of reference of VL in the State of Sergipe – University Hospital. We studied 34 individuals, including 11 asymptomatic individuals with positive serology for VL, 10 patients with classic VL and 13 patients with severe VL. Patients with severe disease were classified according with risk score of death.

Results: the male was more frequent in groups classic VL (60%, n = 6) and severe VL (77%, n = 10). Individuals with severe disease had high frequency of dyspnea, spontaneous bleeding and bacterial infections, unlike patients with asymptomatic leishmaniasis and classic VL. Hematologic levels of asymptomatic individuals were significantly different from those patients with severe VL and classic form, with the exception of the number of monocytes, which was not significant among the 3 groups. Aminotransferase and bilirubin, although they increase, were not statistically different.

Conclusion: Decrease in haematological parameters, mainly leucopenia and neutropenia are associated with disease severity.

Keywords: Visceral Leishmaniasis, asymptomatic, classic, severe.

INTRODUÇÃO

A LV, também chamada de calazar, é uma protozoose que pode ser caracterizada do ponto de vista clínico e anatomopatológico como uma doença grave e crônica, conseqüente a disseminação do parasito em órgãos do sistema fagocítico mononuclear, como o fígado e o baço². É causada pelo protozoário do gênero *Leishmania*. A família do *Leishmania* tem três principais espécies: *L. donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi* – esse último, o responsável pelo calazar no Brasil. E tem como seu principal vetor no Brasil o flebótomo *Lutzomyia longipalpis*³.

É uma doença negligenciada, que acomete todas as faixas etárias, com cerca de 2 milhões de novos casos por ano. Possui ampla distribuição mundial, sendo mais frequente na Ásia, Oriente Médio, África e América Latina – 90% dos casos estão na Índia, Bangladesh, Brasil, Nepal e Sudão. No Brasil, é um problema de saúde pública por conta da sua ascendente disseminação. Considerada uma endemia principalmente rural, embora nas duas últimas décadas, a doença tenha apresentado uma mudança no perfil epidemiológico². A grande maioria dos casos se encontra na região Nordeste^{4,5,6}.

Os sintomas mais prevalentes são febre alta, perda de peso significativa, esplenomegalia e hepatomegalia. No entanto, a apresentação clínica é decisivamente influenciada pela atuação da resposta imunológica do hospedeiro. Pacientes com predomínio da resposta imune tipo Th1, representada especialmente pela maior indução de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interferon-gama (IFN- γ), interleucinas 2 (IL-2) e 12 (IL-12) e de resposta imune celular adaptada, mostram-se resistentes ao desenvolvimento da doença. Do contrário, após um período de incubação que pode variar de 1 mês a 2 anos, se houver a sobreposição da resposta Th2, principalmente pela elevação das interleucinas 4 (IL-4) e 10 (IL-10), o resultado será a disseminação

sistêmica do parasita e a elevação dos anticorpos circulantes, estabelecendo-se assim a doença^{6,7,8}. Em regiões endêmicas, infecções assintomáticas são comuns, sendo observada nesses indivíduos uma proteção imunológica com predominância da resposta Th1⁸. Se não for tratada a taxa de mortalidade é de 100% em dois anos⁹. Elevada mortalidade está geralmente associada à co-infecção com o vírus HIV e/ou bacteriana e hemorragia^{1,10,11}.

A definição de gravidade na LV é muito ampla e complexa. Poucos estudos têm abordado preditores específicos de resultados indesejáveis da doença e da morte. Um recente estudo tem proposto um escore de prognóstico para LV, que foi composto por um número de preditores independentes de risco de morrer em paciente com LV, como mucosas hipocoradas, dispnéia, icterícia, suspeita ou confirmação de infecção bacteriana, neutropenia e trombocitopenia¹.

Um manual para abordagem dos pacientes com LV grave foi publicado em 2005 e atualizado em 2006 pelo Ministério da Saúde. Neste manual foram apresentados sinais de alerta, critérios de gravidade e indicações de internação. Os sinais de alerta são: idade entre 6 e 12 meses e entre 50 e 65 anos, suspeição de infecção bacteriana, recidiva do LV, diarreia, vômito, edema localizado e febre por mais de 60 dias. Sinais de gravidade: idade inferior a 6 meses ou superior a 65 anos, icterícia, fenômenos hemorrágicos, edema generalizado, sinais de toxemia, desnutrição grave, infecção bacteriana concomitante e presença de qualquer comorbidade. Por fim, a recomendação de indicar internação é a presença de algum sinal de alerta ou gravidade. Também se recomenda a internação de todos pacientes que apresentarem leucometria < 1.000 céls/mm³, neutropenia < 500 céls/mm³, plaquetas < 50.000 céls/mm³, hemoglobina < 7,0 g/dl, creatinina sérica duas vezes acima do valor de referência, atividade de protrombina < 70%, bilirrubina total maior que o valor de referência, aminotransferases cinco vezes acima do valor de referência e albumina < 2,5 g/dl. Ressalta que em

crianças é mais prudente indicar internação quando leucometria < 2.000 céls/mm³ e neutropenia < 1.000 céls/mm³.

Possíveis mecanismos ligados ao aumento da severidade da doença ainda são desconhecidas, mas aparentemente inflamação sistêmica desempenha um papel importante¹². Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar a associação entre os parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos com a presença de leishmaniose visceral grave. Assim identificar fatores chave específicos ligados ao comportamento da LV.

No presente estudo é descrito perfis clínico laboratoriais de pacientes com LV com alto e baixo risco de morte para entender quais mediadores estão envolvidos com a doença grave. Além disso, comparou-se a força do preditor de mortalidade dos diferentes candidatos à biomarcadores de severidade propostos pelo estudo de Sampaio, 2010.

METODOLOGIA

Aspectos Éticos

O projeto do estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFS e sua aprovação aconteceu em 2012.

Delineamento do Estudo

Estudo transversal entre 2008 – 2013, no centro de referência de LV no Estado de Sergipe – Hospital Universitário. Foram estudados 34 pacientes com Leishmaniose visceral, incluindo 11 indivíduos assintomáticos com sorologia positiva para LV, 10 pacientes com calazar clássico e 13 pacientes com alto risco de morte, classificados como calazar grave. Os pacientes foram tratados seguindo o protocolo do Ministério da

Saúde. As características dos pacientes do banco de dados estão sumarizadas na tabela 1.

Seleção dos Pacientes

Pacientes com LV diagnosticados a partir de dados clínicos e exames laboratoriais, que apresentaram além da sorologia positiva para rK-39, cultura e/ou mielograma com positividade na pesquisa do parasito.

Os indivíduos que possuíam rK39 positivo mas não desenvolveram a doença foram classificados como Assintomáticos. Os pacientes com Calazar Clássico apresentaram os sintomas, porém não se enquadravam no escore de gravidade. O diagnóstico de LV grave foi dado a partir de critérios clínicos e laboratoriais. As variáveis independentes incluíram: dispnéia (1 ponto), infecções associadas (1 ponto), neutropenia $< 500/\text{mm}^3$ (1 ponto), icterícia (2 pontos), hemorragia(2 pontos) e contagem de plaquetas $< 50.000/\text{mm}^3$ (3 pontos). Aqueles pacientes com um total de pontos maior ou igual a 3 pontos serão considerados com alto risco de morte (SAMPAIO, 2010).

Variáveis Estudadas

Dados hematimétricos (Hemoglobina, Plaquetas, Leucócitos, Neutrófilos e Monócitos) e dados bioquímicos (Creatinina, TGO, TGP, Albumina, Globulina, Amilase, Fosfatase Alcalina, Bilirrubina).

Análise Estatística

Foram realizadas análises exploratórias (descritivas) dos dados, a partir da apuração de frequências simples absolutas e percentuais para as variáveis categóricas. Para comparação entre grupos independentes e não paramétricos foi utilizado o teste de Mann-Whitney com intervalo de confiança de 95% (IC95%). Os dados foram gerenciados no software EXCEL e analisados no GRAPHPAD PRISMA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os perfis epidemiológico, clínico e laboratorial dos pacientes portadores de LV estão descritas nas tabelas 1 e 2, respectivamente. A distribuição quanto ao gênero mostrou predomínio do sexo masculino nos grupos calazar clássico (60%, n=6) e calazar grave (77%, n=10), como apontado na literatura^{13,14}. A distribuição de idade variou de 1 a 65 anos. No Brasil, a LV acomete pessoas de todas as idades, mas na maior parte das áreas endêmicas, 80% dos casos registrados, ocorrem em crianças com menos de 10 anos¹⁵. O grupo formado por pacientes assintomáticos foi composto por 11 indivíduos, 5 do gênero masculino e 6 do gênero feminino, com média de idade de 25,18 anos. O grupo dos pacientes com calazar clássico foi composto por 10 pacientes, 6 do gênero masculino e 5 do gênero feminino, média de idade de 11 anos. O grupo dos pacientes com calazar grave composto por 13 pacientes, 10 do gênero masculino e 3 do gênero feminino, com média de idade de 28,85 anos.

Indivíduos com calazar grave tiveram alta frequência de dispneia, sangramentos espontâneos e infecção bacteriana, diferente dos pacientes com calazar clássico e indivíduos assintomáticos. Quando os pacientes foram classificados adotando o sistema de escore de risco de óbito, considerando a soma de pontos ≥ 3 como alto risco para óbito foi observado que 3 (23%) dos pacientes LV grave foram a óbito. Os pacientes que faleceram apresentavam dispnéia, neutropenia e infecção bacteriana

concomitante, 2 deles também apresentaram icterícia, plaquetopenia e manifestações hemorrágicas. Eles foram pontuados pelo escore de risco com 3, 10 e 10 pontos, respectivamente. A evolução para óbito ocorre devido às complicações que surgem no curso da doença, entre elas, hemorragias, decorrentes principalmente da plaquetopenia, e as infecções secundárias, já que a defesa do organismo está debilitada pela desnutrição, leucopenia e anemia¹⁶. As complicações infecciosas mais frequentes da LV são de natureza bacteriana, dentre elas, destacam-se: otite média aguda, piodermites, infecções dos tratos urinário e respiratório¹⁷. Sendo a pneumonia a complicação infecciosa mais frequente apresentada nos pacientes estudados por Werneck *et al.* (2003). Caso essas infecções não sejam tratadas com antimicrobianos, o paciente poderá desenvolver um quadro séptico com evolução fatal⁴.

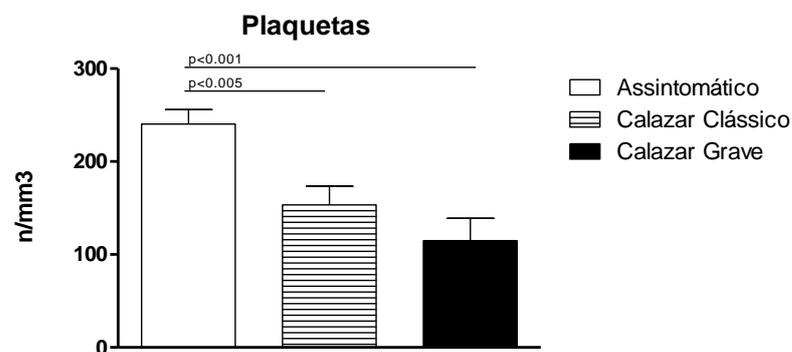
Nenhum dos indivíduos assintomáticos, calazar clássico e calazar grave eram HIV positivo. Marques *et al.* (2007) relata um aumento da LV como coinfeção em pessoas com HIV nos últimos anos.

Tabela 1: Caracterização dos pacientes com diagnóstico de leishmaniose visceral segundo os dados epidemiológicos e clínicos antes do tratamento

Variáveis	Assintomáticos (n=11)	Calazar Clássico (n=10)	Calazar Grave (n=13)
Dados Epidemiológicos			
Idade (anos)	25,18 ± 15,18	11±7,25	28,85±24,73
Gênero (masculino)	5 (45,4%)	6 (60%)	10 (77%)
Óbitos	0	0	3 (23%)
Apresentação Clínica			
Dispneia	0	0	7 (53,8)
Infecção associada	0	3 (30%)	12 (92%)
Neutropenia (<500/mm ³)	0	2 (20%)	8 (61,5%)
Icterícia	0	0	3 (23%)
Manifestações Hemorrágicas	0	1 (10%)	10 (76,9%)
Plaquetopenia (<50.000/mm ³)	0	1 (10%)	5 (38,45%)

Os valores médios e desvios padrões de níveis de hemoglobina, assim como os de plaquetas, leucócitos, neutrófilos e monócitos dos 34 pacientes, no pré-tratamento, estão descritos na tabela 2. Quando comparado os valores hematológicos dos indivíduos assintomáticos com os pacientes com LV clássico e grave se mostraram estatisticamente significante, com exceção do número de monócitos, que não foi significante entre os 3 grupos. As médias e desvios padrões dos níveis de hemoglobina dos indivíduos assintomáticos foi $13,19 \pm 1,376$, dos pacientes sintomáticos foi $8,274 \pm 1,414$ e dos pacientes graves $7,892 \pm 1,674$, com diferença estatística não significante comparando-se o grupo LV clássico e grave. Foram necessárias transfusões de hemácias em 4 (30,7%) pacientes graves e em 1 (10%) paciente com calazar clássico em D0 do tratamento.

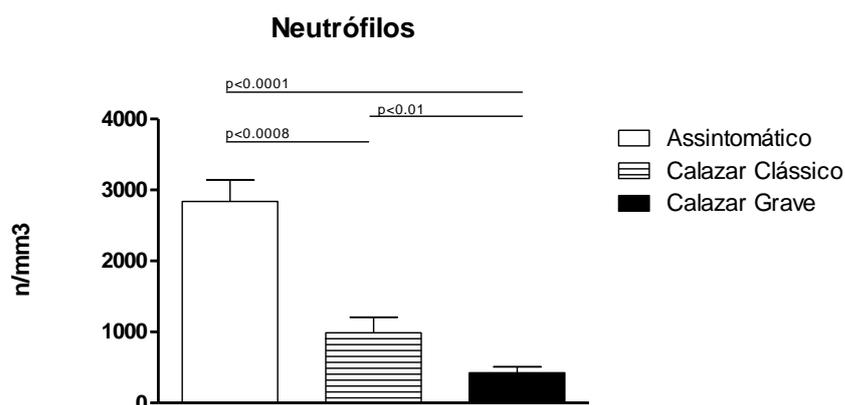
A contagem do número de plaquetas no período pré-tratamento foi menor ou igual a $50.000/mm^3$ em 3/13 pacientes graves e em 1/10 pacientes com calazar clássico. A tabela 2 demonstra que há diminuição da contagem de plaquetas com a gravidade da doença, porém estatisticamente não é significativa ao relacionar LV clássico com grave. Na figura 2 verifica-se que entre indivíduos assintomáticos com calazar clássico e calazar grave há diferença estatística significante como já era esperado. Pacientes com alto risco de morte apresentaram intensa anemia e trombocitopenia com maior probabilidade de haver sangramento espontâneo neste grupo.



Teste Mann-Whitney

O valor médio de leucócitos dos indivíduos assintomáticos foi de 6706 ± 1297 , dos pacientes com calazar clássico foi de 3210 ± 1552 , e dos pacientes graves foi $485,5 \pm 942,7$, com diferença estatística significativa entre os 3 grupos.

A contagem de neutrófilos mostrou valores inferiores a $500/\text{mm}^3$ em 6(46,15%) casos nos pacientes com calazar grave, e em 2(20%) casos com calazar clássico. Os valores das médias e desvios padrões nos indivíduos assintomáticos 2840 ± 992 , nos pacientes com calazar clássico foi 9882 ± 693 , e nos pacientes com calazar grave 425 ± 291 . Houve diferença estatística significativa entre os 3 grupos, como ilustrado no gráfico 2.



Teste Mann-Whitney

Em relação aos exames bioquímicos foram observados hipoalbuminemia mais hipergamaglobulinemia, discreta elevação das aminotransferases e bilirrubinas, em consonância com a literatura^{16,18}. Dentre os 8 parâmetros bioquímicos (albumina, globulina, amilase, fosfatase alcalina, TGO/AST, TGP/ALT, creatinina e bilirrubina total) avaliados nenhum deles foi estatisticamente significativo quando comparou-se pacientes com LV clássico e grave (tab.2).

A variação da dosagem de albumina no período pré-tratamento dos indivíduos assintomáticos foi de 4,0 g/dl a 5,2 g/dl (Média e Desvio Padrão: $4,545 \pm 0,329$), nos pacientes com calazar clássico foi de 0,80 g/dl a 3,5 g/dl (Média e Desvio Padrão: $2,211 \pm 0,840$), e nos pacientes grave foi 0,80 g/dl a 3,4 g/dl (Média e Desvio Padrão: $1,945 \pm 0,709$). Os níveis séricos de gamaglobulina nos indivíduos assintomáticos variaram de 3,1 a 4,8 g/dl (Média e Desvio Padrão: $3,655 \pm 0,456$), nos pacientes com calazar clássico foram 4 a 7,7g/dl (Média e Desvio Padrão: $5,6 \pm 1,205$), e nos pacientes grave foram 1,91 a 10,2 g/dl (Média e Desvio Padrão: $6,003 \pm 2,530$). Evidenciando inversão das frações de proteína, com aumento da globulina e queda da albumina, como frequentemente relatado na literatura.

A média e desvio padrão de amilase nos assintomáticos foi 111,8 ($\pm 52,53$), nos pacientes com calazar clássico foi 75,88 ($\pm 89,30$), e nos pacientes com calazar grave 62,45 ($\pm 36,50$).

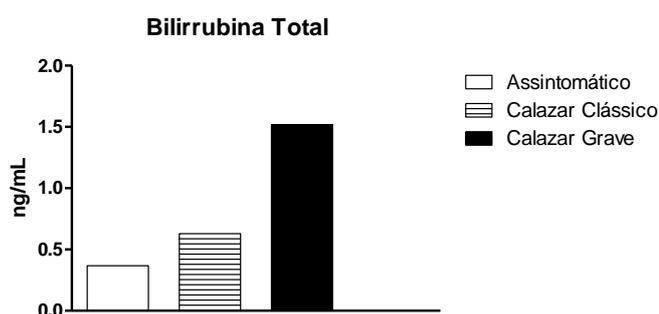
O nível médio de creatinina dos indivíduos assintomáticos foi 0,52 ($\pm 0,168$), dos pacientes sintomáticos foi 0,53 ($\pm 0,141$) e dos pacientes graves 0,75 ($\pm 0,305$), não havendo diferença estatística significativa entre os grupos.

O nível médio de TGO dos indivíduos assintomáticos foi 24,64 ($\pm 12,8$), dos pacientes sintomáticos foi 75,33 ($\pm 57,76$) e dos pacientes graves 97,85 ($\pm 80,68$), com diferença estatística significativa apenas ao correlacionar o grupo assintomático com os demais grupos ($p < 0.0001$).

O nível médio de TGP dos indivíduos assintomáticos foi 18,36 ($\pm 12,44$), dos pacientes sintomáticos foi 86,30 ($\pm 90,33$) e dos pacientes graves 79,58 ($\pm 106,3$).

A média e desvio padrão de Fosfatase Alcalina nos assintomáticos foi 137,6 ($\pm 91,39$), nos pacientes com calazar clássico foi 198 ($\pm 104,9$), e nos pacientes com calazar grave 279,9 ($\pm 169,1$).

A medida de bilirrubina total nos assintomáticos variou de 0,10 a 0,98, com média e desvio padrão de $0,367 \pm 0,312$, nos pacientes com calazar clássico variou de 0,1 a 1,1, média e desvio padrão de $0,63 \pm 0,359$, e nos pacientes com calazar grave variou de 0,07 a 5,18, média e desvio padrão de $1,52 \pm 1,35$. Houve diferença estatística significativa apenas entre os indivíduos assintomáticos e pacientes com calazar grave. ($p=0,0042$).



Teste Mann-Whitney

Tabela 2 – Distribuição dos valores hematológicos e bioquímicos em pacientes assintomáticos, com LV clássico e LV grave

Variáveis	Assintomáticos (n=11)	Calazar Clássico (n=10)	Calazar Grave (n=13)	<i>p</i>
Dados Hematológicos				
Hemoglobina (g/dl)	13,19 ± 1,376	8,274 ± 1,414	7,892 ± 1,674	ns
Plaquetas (n/mm ³)	240,3 ± 51,45	153,3 ± 63,81	114,9 ± 83,34	ns
Leucócitos (n/mm ³)	6706 ± 1297	3210 ± 1552	485,5 ± 942,7	0,0004
Neutrófilos (n/mm ³)	2840 ± 992,1	988,2 ± 693,5	425,5±291,6	0,01
Monócitos (n/mm ³)	789,9 ±987,0	413,9±214,8	277,2±258,3	ns
Dados Bioquímicos				
Creatinina (mg/dl)	0,5273± 0,1618	0,53±0,1418	0,75±0,3503	ns
TGO/AST(U/L)	24,64±12,08	75,33±57,76	97,85±80,68	ns
TGP/ALT(U/L)	18,36±12,44	86,3±90,33	79,58±106,3	ns
Albumina(g/dl)	4,545±0,3297	2,211±0,8403	1,945±0,7096	ns

Globulina(g/dl)	3,655±0,4569	5,6±1,205	6,003±2,530	ns
Amilase (g/dl)	111,8±52,53	75,88±89,30	62,45±36,50	ns
Fosf. Alcalina (U/L)	137,6±91,39	198±104,9	279,9±169,1	ns
Bilir. Total (mg/dl)	0,3673±0,3126	0,630±0,359	1,52±1,352	ns

p= diferença estatística entre calazar clássico e calazar grave; ns= não significativo;

CONCLUSÕES

Diminuição dos parâmetros hematológicos, principalmente leucopenia e neutropenia estão associados à gravidade da doença. Houve tendência de aumento nos valores de bilirrubina com a gravidade da doença.

REFERÊNCIAS

1. SAMPAIO, M. J. et al. Risk factors for Death in children with visceral leishmaniasis. *Plos Negl Trop Dis*; 4:e877 Nov. 2010.
2. AMATO, V. S.; TUON, F. F.; NICODEMO, E. L. **Leishmaniose visceral**. Clínica Médica, volume 7: alergia e imunologia clínica, doenças da pele, doenças infecciosas – Barueri, SP: Manole, 2009.
3. WERNECK, G. L.; et al. Prognostic factors for death from visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. **Infection**, V. 31, n. 3, p. 174-177, 2003.

4. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Leishmaniose Visceral Grave: Normas e Condutas**. Brasília, 2006.
5. ROBERTS, M. T. M. Current understandings on the immunology of leishmaniasis and recent developments in prevention and treatment. **British Medical Bulletin**, 2006. 75 e 76: 115-130.
6. MURRAY, H. W. Clinical and experimental advances in treatment of visceral leishmaniasis. *Antimicrobail agents and chemortherapy*, 2001. 45: 2185-2197.
7. PERUHYPE-MAGALHÃES, V. et al. Immune response in human visceral leishmaniasis: analysis of the correlation between innate immunity cytokine profile and disease outcome. **Scandinavian Journal of Immunology**, v.62, p.487-495, 2005.
8. SAHA, S. et al. Immune responses in kala-azar. **Indian J Med Res**, v.123, p.245-266, 2006.
9. World Health Organization. Health topics: Leishmaniasis. Available at: <http://www.who.int/topics/leishmaniasis/en/> accessed 07 june 2013.
10. ALVAR, J. et al. The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. **Clin Microbiol Ver**, n. 21, p. 334-59, 2008.
11. ABDELMOULA, M. S. et al. Visceral leishmaniasis in children: prognostic factors. **Tunis Med**, v.81, n.8, Aug, p.535-9. 2003.

12. COSTA, C. H. N. et al. Is severe visceral leishmaniasis a systemic inflammatory response syndrome? – A case control study. **Rev Soc Bras Med Trop**, 2010. 43(4): 386-392.
13. OLIVEIRA, A. L. L. et al. Foco emergente de leishmaniose visceral em Mato Grosso do Sul. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.39, n. 5, p. 446 – 450, 2006.
14. SILVA, E. S. et al. Visceral Leishmaniasis in the Metropolitan region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 3, p. 285-291, 2001.
15. GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Rev. Bras. Epidemiol.**, 2004.
16. PASTORINO, A. C. et al. Leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. **J. Pediatr.**, v. 78, p. 120-27, 2002.
17. MARTUR R. K. et al. Reciprocal CD40 signals through p38MAPK and ERK-1/2 induce counteracting immune responses. **Nat Med**, v. 10, p. 540-44, 2004.
18. BADARÓ, R. et al. A prospective study of visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. **J Infect Dis**, v. 154, n.4, p. 639-49, Oct. 1986.
19. WERNECK, G. L.; et al. Prognostic factors for death from visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. **Infection**, V. 31, n. 3, p. 174-177, 2003.

