

ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE
VITÓRIA – EMESCAM

BIBLIOTECA - EMESCAM

BÁRBARA MOREIRA DAZZI
CAIO FRANCO DA SILVEIRA
GUILHERME MACEDO QUINTÃO

LEISHMANIOSE VISCERAL EM CRIANÇAS: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

VITÓRIA
2013



LEISHMANIOSE VISCERAL EM CRIANÇAS: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória – EMESCAM, como requisito parcial para obtenção do grau de médico.

Aprovado em 27 de novembro de 2013.

COMISSÃO EXAMINADORA

Thais Vassalo Rocha

Prof. Dra. Thais Vassalo Rocha
Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia
de Vitória – EMESCAM
Orientadora

Joyce Mara Pironi Silva

Dra. Joyce Mara Pironi Silva
Hospital Santa Casa de Misericórdia de Vitória – HSCMV

Heitor Spagnol dos Santos

Dr. Heitor Spagnol dos Santos
Hospital Santa Casa de Misericórdia de Vitória – HSCMV

RESUMO

A leishmaniose visceral (LV) é uma infecção sistêmica causada por protozoários da espécie *Leishmania chagasi* e *Leishmania donovani* e transmitida pela picada de insetos fêmea da ordem Diptera, gêneros *Lutzomyia* e *Phlebotomus*.

No Brasil o cão doméstico é o reservatório mais importante e o homem o hospedeiro final. A maioria dos casos é de infecção assintomática ou desenvolvem sintomas moderados ou transitórios como diarreia, tosse seca, adinamia, febre baixa, sudorese e discreto aumento do fígado e baço, que podem evoluir ou não para a forma clássica da doença.

A doença é endêmica em 62 países com cerca de 500.000 novos casos por ano gerando aproximadamente 70.000 óbitos. Noventa por cento dos casos registrados ocorrem em cinco países: Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão e Brasil. No Brasil, atualmente a LV é endêmica em quatro regiões do país permanecendo como área indene apenas o Sul. Atinge principalmente a população infantil, predominantemente nos seis primeiros anos de vida.

Sua distribuição geográfica vem se modificando desde a década de 80, quando se observou sua expansão para outras regiões rurais indenas e para a periferia de centros urbanos. Essa mudança da epidemiologia relaciona-se aos movimentos migratórios, especialmente, do campo para a periferia de grandes cidades ocasionando condições muito favoráveis para a transmissão da parasitose.

A importância da LV em nosso país reside na sua alta incidência, na ampla distribuição e no seu potencial de assumir formas graves e letais quando associada aos quadros de desnutrição e infecções concomitantes.

Nos países endêmicos, a LV continua negligenciada pelo setor privado da economia e tem cabido ao setor público, apesar dos recursos escassos e infraestrutura

inadequada, investir no desenvolvimento de novas drogas e métodos de diagnóstico mais eficientes.

Neste estudo foi realizada uma revisão bibliográfica, baseada na literatura internacional e nacional recente, referente a epidemiologia, diagnóstico e tratamento da doença, com o objetivo de ampliar nossos conhecimento sobre essa doença prevalente em algumas regiões do Brasil.

Palavras-Chave: Leishmaniose visceral; Parasitose; Endemia; Leishmaniose visceral em crianças.

LISTA DE ABREVIÇÕES

DAT: Teste de Aglutinação Direta

ELISA: Ensaio Imunoenzimático

EMESCAM: Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória

FAST: Fast Agglutination Screening Test

HSCMV: Hospital Santa Casa de Misericórdia de Vitória

IFN: Interferon

IL: Interleucina

kDNA: DNA de cinetoplasto

LV: Leishmaniose Visceral

LVA: Leishmaniose Visceral Americana

NK: Células Natural Killer

OMS: Organização Mundial de Saúde

PCR: Proteína C Reativa

RIFI: Reação de Imunofluorescência

TGO: Transaminase Glutâmico Oxalacética

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	8
2 OBJETIVOS:	9
2.1 OBJETIVO GERAL:	9
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO:.....	9
3. JUSTIFICATIVA	10
4. METODOLOGIA.....	11
5 REVISÃO BIBLIOGRAFICA	12
5.1 EPIDEMIOLOGIA E PATOGENIA.....	12
5.1.1 Situação Epidemiológica	12
5.1.2 Agente Etiológico	14
5.1.3 Reservatórios	14
5.1.4 Vetores.....	14
5.1.5 Modo De Transmissão.....	17
5.1.6 Período De Incubação	17
5.1.7 Susceptibilidade e Imunidade	18
5.1.8 Patogenia.....	18
5.2 QUADRO CLÍNICO	20
5.3 DIAGNÓSTICO	22
5.3.1 Diagnóstico laboratorial complementar	23
5.3.2 Diagnóstico imunológico	23
5.3.3 Diagnóstico parasitológico	25
5.3.4 Diagnóstico Diferencial	26
5.4 TRATAMENTO.....	26

5.4.1 Os antimoniais	27
5.4.2 A anfotericina B	28
5.4.3 Formulações lipídicas da anfotericina B	29
5 PREVENÇÃO	30
6 DISCUSSÃO.....	32
7 CONCLUSÃO	35
8 REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

É uma doença sistêmica causada por um protozoário do gênero *Leishmania*, que se reproduz dentro do sistema fagocítico mononuclear de hospedeiros mamíferos suscetíveis. No Brasil, o principal vetor é o *Lutzomyia longipalpis*. No ambiente domiciliar, o cão doméstico é o reservatório mais importante, e o homem é o hospedeiro final¹.

As leishmanioses são consideradas primariamente como uma zoonose podendo acometer o homem, quando este entra em contato com o ciclo de transmissão do parasito, transformando-se em uma antropozoonose. Atualmente, encontra-se entre as seis endemias consideradas prioritárias no mundo¹.

Tem ampla distribuição ocorrendo na Ásia, na Europa, no Oriente Médio, na África e nas Américas, onde também é denominada leishmaniose visceral americana (LVA) ou calazar neo-tropical².

Com a expansão da área de abrangência da doença e o aumento significativo no número de casos, a LV passou a ser considerada pela Organização Mundial da Saúde uma das prioridades dentre as doenças tropicais. Atualmente, a LV é endêmica em 62 países, com cerca de 200 milhões de pessoas sob risco de adquirirem a infecção. Aproximadamente 90% dos casos ocorrem em 5 países: Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão e Brasil. A doença atinge principalmente as populações pobres desses países. Embora existam métodos de diagnóstico e tratamento específicos, grande parte da população não tem acesso a estes procedimentos, elevando os índices de mortalidade³.

2 OBJETIVOS:

2.1 OBJETIVO GERAL:

Realizar uma revisão bibliográfica, referente a Leishmaniose visceral em crianças no Brasil.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO:

- I. Ampliar nossos conhecimentos relacionados a Leishmaniose visceral na faixa etária pediátrica
- II. Estruturar revisão de literatura e atualização científica, com ênfase na apresentação clínica e no perfil epidemiológico da doença.
- III. Orientar os profissionais de saúde quanto à expansão da doença, à importância do diagnóstico precoce, bem como da instituição terapêutica adequada.

3. JUSTIFICATIVA

LV é endêmica em 62 países com cerca de 500.000 novos casos por ano gerando aproximadamente 70.000 óbitos. No Brasil, é endêmica em quatro das cinco regiões brasileiras permanecendo como área indene apenas o Sul do país. Porém sua distribuição geográfica vem se modificando desde a década de 80. Quando se observou a migração de áreas para periferias urbanas.

Com essa revisão bibliográfica, pretende-se discutir, aprofundar e orientar profissionais de saúde quanto a epidemiologia e distribuição atual da doença, medidas atuais de prevenção e enfatizar o valor de um diagnóstico precoce bom como o tratamento adequado.

4. METODOLOGIA

Esta revisão bibliográfica foi realizada no segundo semestre de 2013, por meio da busca ativa de publicações na literatura internacional e nacional, através de relatos de casos, artigos de revisão, artigos originais e metanálises publicados sobre o assunto nos últimos treze anos (2000-2013) e disponíveis nos seguintes bancos de dados: MEDLINE, LILACS e publicações de instituições de saúde.

Foram selecionados textos de relevância, publicados em revistas reconhecidas e conceituadas.

5 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

5.1 EPIDEMIOLOGIA E PATOGENIA

5.1.1 Situação Epidemiológica

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), as Leishmanioses afetam cerca de 2 milhões de pessoas por ano, com 500 mil casos da forma Leishmaniose Visceral (LV)⁴. A mortalidade anual é de cerca de 10%⁵. Atualmente, encontra-se entre as seis endemias consideradas prioritárias no mundo (TDR/WHO)⁶. Estima-se que 350 milhões de pessoas estão expostas ao risco de infecção, com uma prevalência de 12 milhões de infectados globalmente⁴. Tem ampla distribuição, ocorrendo na Ásia, Europa, Oriente Médio, África e nas Américas, onde também é denominada Leishmaniose Visceral Americana (LVA) ou calazar neotropical⁶. Aproximadamente 90% dos casos ocorrem em 5 países: Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão e Brasil⁷.

Na América Latina, a doença já foi descrita em pelo menos 12 países, sendo que 90% dos casos ocorrem no Brasil, especialmente na Região Nordeste¹.

Em 1934 foi feito o primeiro relato de Leishmaniose Visceral no Brasil, quando foram encontradas amastigotas de *Leishmania* em cortes histológicos de fígado de pessoas que morreram com suspeita de febre amarela⁵. Apenas 20 anos depois é que se registrou um primeiro surto da doença em Sobral, no Ceará⁵. Em meados dos anos 80, constatou-se uma transformação drástica na distribuição geográfica da LV: A doença, antes restrita às áreas rurais do nordeste brasileiro, o qual ainda concentra cerca de 90% das notificações⁴ avançou aos poucos para outras regiões idênticas alcançando inclusive a periferia de grandes centros urbanos^{1,2,4,5,16,19}. A partir dos anos 90, os estados do Pará e Tocantins (região Norte), Mato Grosso do Sul (região Centro Oeste), Minas Gerais e São Paulo (região Sudeste) passaram a influir de maneira significativa nas estatísticas da LV no Brasil^{5,6}. Hoje, há registro de

casos autóctones notificados em pelo menos 19 estados da federação, distribuídos em quatro das cinco regiões brasileiras, permanecendo indene apenas o Sul^{1,2,4}.

A susceptibilidade é universal, atingindo pessoas de todas as idades e sexo. Entretanto, no Brasil, a doença atinge principalmente a população infantil, predominantemente nos seis primeiros anos de vida^{2,8}. Na maior parte das áreas endêmicas, 80% dos casos registrados ocorrem em crianças com menos de 10 anos⁵. O sexo masculino é proporcionalmente o mais afetado (60%)⁶. O motivo pelo qual crianças são mais susceptíveis é explicado pelo estado de relativa imaturidade imunológica celular agravada pela desnutrição, tão comum nas áreas endêmicas, além de uma maior exposição ao vetor no peridomicílio^{5, 6,9}. É válido ressaltar que o envolvimento do adulto também possui repercussão significativa na epidemiologia da Leishmaniose Visceral, devido sobretudo às formas oligossintomáticas ou assintomáticas, além das formas em que há expressão clínica⁶.

A importância da LV em nosso país reside na sua alta incidência, na ampla distribuição e no seu potencial de assumir formas graves e letais quando associada aos quadros de desnutrição e infecções concomitantes^{1,3}.

É conhecida comumente como doença própria de área de clima seco com precipitação pluviométrica anual inferior a 800 mm e de ambiente composto por vales e montanhas, onde se encontram os chamados "boqueirões" e "pés-de-serra"⁶. Entretanto, com a urbanização da LV, principalmente nas periferias dos grandes centros urbanos, há áreas conhecidas de terra firme nas diferentes regiões e em faixas litorâneas do nordeste^{1, 4,5,8,10}.

O ambiente característico e propício à ocorrência da LV é aquele de baixo nível socioeconômico, pobreza, promiscuidade, prevalente em grande medida no meio rural e na periferia das grandes cidades. Entretanto, estas características vem se modificando, principalmente, nos estados das regiões Sudeste e Centro-Oeste, onde a LV se encontra urbanizada⁶.



5.1.2 Agente Etiológico

Os agentes etiológicos da leishmaniose visceral são protozoários tripanosomatídeos do gênero *Leishmania*, parasita intracelular obrigatório das células do sistema fagocítico mononuclear, com uma forma flagelada ou promastigota, encontrada no tubo digestivo do inseto vetor e outra, aflagelada ou amastigota, nos tecidos dos vertebrados⁴. No Novo Mundo, a *Leishmania chagasi* é a espécie comumente isolada em pacientes com LV^{4,6}.



5.1.3 Reservatórios

Na área urbana, o cão (*Canis familiaris*) é a principal fonte de infecção^{4,6}. A enzootia canina tem precedido a ocorrência de casos humanos e a infecção em cães tem sido mais prevalente do que no homem^{6,9}. No ambiente silvestre, os reservatórios são as raposas (*Dusicyon vetulus* e *Cerdocyon thous*) e os marsupiais (*Didelphis albiventris*)⁶. No Brasil, as raposas foram encontradas infectadas nas regiões Nordeste, Sudeste e Amazônica⁶. Os marsupiais didelfídeos foram encontrados infectados no Brasil e na Colômbia⁶.

5.1.4 Vetores

Os vetores da leishmaniose visceral são insetos denominados flebotomíneos, conhecidos popularmente como mosquito palha, tatuquiras, birigui, entre outros^{4,6}. No Brasil, duas espécies, até o momento, estão relacionadas com a transmissão da doença: *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*^{4,6,11}. A primeira espécie é considerada a principal espécie transmissora da *L. chagasi* no Brasil e, recentemente, *L. cruzi* foi incriminada como vetora no Estado de Mato Grosso do Sul⁶.

Ao final da década de 80, observou-se a adaptação de *L. longipalpis* aos ambientes urbanos, em periferias de grandes centros, principalmente na Região Sudeste, podendo ser encontrados no peridomicílio, em galinheiros, chiqueiro, canil, paiol, entre outros ambientes e também no intradomicílio^{4,16}.

Esses insetos são pequenos, medindo de 1 a 3 mm de comprimento. Possuem o corpo revestido por pêlos e apresentam coloração clara (cor de palha ou castanho claro)^{4,6}. São reconhecidos facilmente pelo seu comportamento, ao voar em pequenos saltos e pousar com as asas entreabertas⁶. Na fase adulta, estes insetos estão adaptados a diversos ambientes, porém na fase larvária desenvolvem-se em ambientes terrestres úmidos e ricos em matéria orgânica com baixa incidência luminosa⁶. Ambos os sexos necessitam de carboidratos como fonte energética e as fêmeas alimentam-se também de sangue para o desenvolvimento dos ovos^{5,6,9}.

O ciclo biológico da *L. longipalpis* dá-se no ambiente terrestre e abrange quatro fases de desenvolvimento: ovo, larva (com quatro estágios), pupa e adulto⁶. Após a cópula, as fêmeas colocam seus ovos sobre um substrato úmido no solo que tenha alto teor de matéria orgânica, para garantir a alimentação das larvas⁶. Os ovos eclodem geralmente de 7 a 10 dias após a postura⁶. As larvas alimentam-se vorazmente e desenvolvem-se em média entre 20 a 30 dias, de acordo com as condições do meio ambiente e, em condições adversas, as larvas de quarto estadió podem entrar em diapausa, que é a parada do desenvolvimento, possibilitando dessa forma a resistência até um período favorável ao seu desenvolvimento⁶. Após esse período as larvas de quarto estadió transformam-se em pupas, que são mais resistentes às variações de umidade do que os ovos e as larvas⁶. Normalmente, permanecem imóveis e fixas ao substrato pela extremidade posterior⁶. As pupas não

se alimentam e têm respiração aérea e o período pupal em condições favoráveis tem duração média de uma a duas semanas^{6,9}.

O desenvolvimento do ovo ao inseto adulto decorre um período de aproximadamente 30 a 40 dias, variando de acordo com a temperatura. As fêmeas são hematófagas obrigatórias e tem a capacidade de realizar o repasto sanguíneo em várias espécies de animais vertebrados, inclusive em humanos⁶. Em áreas urbanas, o cão parece ser a principal fonte de alimentação no ambiente doméstico^{4,5,6}. A longevidade das fêmeas é estimada em média de 20 dias⁶.

A atividade dos flebotomíneos é crepuscular e noturna^{4,6}. No intra e peridomicílio, a *L. longipalpis* é encontrada, principalmente, próxima a uma fonte de alimento⁶. Durante o dia, estes insetos ficam em repouso, em lugares sombreados e úmidos, protegidos do vento e de predadores naturais⁶.

A infecção do vetor ocorre quando as fêmeas, ao sugarem o sangue de mamíferos infectados, ingerem macrófagos parasitados por formas amastigotas da *Leishmania sp.*^{6,9}. No trato digestivo anterior ocorre o rompimento dos macrófagos liberando essas formas⁶. Reproduzem-se por divisão binária e diferenciam-se rapidamente em formas flageladas denominadas de promastigotas, que também se reproduzem por processos sucessivos de divisão binária^{5,6,9}. As formas promastigotas transformam-se em paramastigotas as quais colonizam o esôfago e a faringe do vetor, onde permanecem aderidas ao epitélio pelo flagelo, quando se diferenciam em formas infectantes - promastigotas metacíclicas^{6,9}. O ciclo do parasito no inseto se completa em torno de 72 horas⁶.

Após este período, as fêmeas infectantes, ao realizarem um novo repasto sanguíneo em um hospedeiro vertebrado, liberam as formas promastigotas metacíclicas juntamente com a saliva do inseto^{6,9}. Na epiderme do hospedeiro, estas formas são fagocitadas por células do sistema fagocitário mononuclear⁶. No interior dos macrófagos, no vacúolo parasitóforo, diferenciam-se em amastigotas e multiplicam-se intensamente até o rompimento dos mesmos, ocorrendo a liberação destas formas que serão fagocitadas por novos macrófagos num processo contínuo, ocorrendo então a disseminação hematogênica para outros tecidos ricos em células

do sistema mononuclear fagocitário, como linfonodos, fígado, baço e medula óssea⁶.

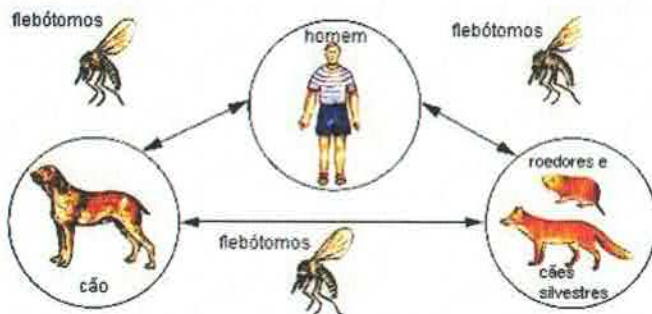


5.1.5 Modo De Transmissão

No Brasil, a forma de transmissão é através da picada dos vetores - *L. longipalpis* ou *L. cruzi* – infectados pela *Leishmania chagasi*^{4,5,6,9}.

Alguns autores admitem a hipótese da transmissão entre a população canina através da ingestão de carrapatos infectados e mesmo através de mordeduras, cópula, ingestão de vísceras contaminadas, porém não existem evidências sobre a importância epidemiológica destes mecanismos de transmissão para humanos ou na manutenção da enzootia⁶.

Não ocorre transmissão direta da LV de pessoa a pessoa^{4,5,6,9}. A transmissão ocorre enquanto houver o parasitismo na pele ou no sangue periférico do hospedeiro⁶.



5.1.6 Período De Incubação

O período de incubação é bastante variável tanto para o homem como para o cão:
 No homem: 10 dias a 24 meses, com média entre 2 a 6 meses^{6,9}. No cão: de 3 meses a vários anos com média de 3 a 7 meses⁶.

5.1.7 Susceptibilidade e Imunidade

Segundo a literatura utilizada no presente estudo, não existe diferença de susceptibilidade entre raças distintas. Foi evidenciado que crianças e idosos são mais susceptíveis^{4,6,9}. A maioria dos estudos aponta indivíduos do sexo masculino como mais susceptíveis ao adoecimento^{10,12,13}. A *Leishmania sp.* é um parasita intracelular obrigatório de células do sistema fagocitário mononuclear e sua presença determina uma supressão reversível e específica da imunidade mediada por células, o que permite a disseminação e multiplicação incontrolada do parasita^{4,5,6,9}. Existe também resposta humoral detectada através de anticorpos circulantes, que parecem ter pouca importância como defesa⁶. Apenas uma pequena parcela de indivíduos infectados desenvolve sinais e sintomas da doença⁶.

5.1.8 Patogenia

A transmissão da Leishmaniose dá-se a partir da picada da fêmea do flebotomíneo que, ao sugar o sangue de um mamífero, regurgita formas promastigotas metacíclicas no tecido lesado^{4,5,6,9}. Há diversos peptídeos na saliva do inseto com diferentes ações farmacológicas que vão atuar nos mecanismos de coagulação, na vasodilatação e no recrutamento de células, sobretudo nos macrófagos teciduais^{6,9}. No hospedeiro, o mecanismo natural de defesa será ativado pela presença, no local da inoculação, de agentes como sistema complemento, trombina, cininas, plaquetas, anticorpos, fagócitos, etc^{6,9}. Este cenário determinará o curso da relação parasita-hospedeiro e o curso da infecção⁹.

Inicialmente, moléculas de superfície da *Leishmania sp.* são responsáveis pela ativação da cascata do sistema complemento, gerando o componente lítico C5b – C9, com potencial de destruição de parasitas extracelulares⁹. No entanto, a própria ativação do sistema complemento facilita a fagocitose das formas promastigotas pelos macrófagos^{6,9}. O hospedeiro imunocompetente responde através dos mecanismos da imunidade inata e adquirida, as quais mediam a expressão da doença e definem o resultado clínico da mesma⁹. Citocinas e fatores quimiotáticos produzidos por leucócitos e células tissulares controlam o processo de recrutamento de células para o local da infecção^{6,9}. Os polimorfonucleares são as primeiras

células a chegar ao local de infecção e quando invadidos pelo parasito exercem uma papel leishmanicida e passam a secretar quimiocinas, as quais são essenciais para a migração de polimorfonucleares para o local da infecção^{6,9}. Posteriormente, os macrófagos também desempenham múltiplas funções: são hospedeiros para replicação do parasito, mas também têm atividade leishmanicida, comportam-se como células apresentadoras de antígeno e liberam citocinas moduladoras da resposta imune mediada por célula T^{6,9}.

Como a migração e as ações celulares são determinadas pelo efeito das citocinas, estas moléculas comportam-se como elementos chave na resposta do hospedeiro contra *Leishmania sp.*^{5,9}. Algumas delas atuam de forma a favorecer a eliminação do parasito, enquanto outras são capazes de imprimir ao hospedeiro suscetibilidade à infecção e permitir o desenvolvimento da doença clínica⁹.

Enquanto os macrófagos são responsáveis pela produção de interleucina (IL)-1 β , fator de necrose tumoral (TNF- α) e IL-12 implicados na resposta inflamatória, as células Th1 produzem interferon (IFN- γ) e as células Th2, IL-4⁹. Além dessas, as células dendríticas produzem IL-12 e as células natural killer (NK) IFN- γ ⁹.

O IFN- γ possui importante atividade microbicida contra as formas promastigotas e amastigotas, portanto a proliferação dos parasitos em paciente com Leishmaniose visceral pode estar associada à deficiência de IFN- γ na vigência da doença⁹.

A IL-10 que é secretada por diferentes células, inclusive por macrófagos, tem ação supressora sobre a atividade leishmanicida do macrófago promovida pelo IFN- γ ⁹. Assim a supressão da resposta Th1 específica para leishmania é responsável pela suscetibilidade no quadro de Leishmaniose Visceral e tal supressão é causada pelo aumento de IL-10⁹. Por outro lado, a IL-12, fator estimulador de células NK, fator de maturação dos linfócitos citotóxicos e imunorregulador da resposta Th1, tem uma importante função na indução da produção de IFN- γ pelas células T e NK⁹. Dessa forma, ela estabelece uma contra-regulação contra a IL-10 na infecção por *Leishmania sp.*⁹. A inibição da produção de IFN- γ ocorre pela supressão da síntese de IL-12 que é determinada pela IL-10⁹.

A LV é caracterizada pela supressão da resposta mediada por célula, de tal maneira que se observa negatividade do teste cutâneo de *Leishmania* em pacientes que estão na vigência da infecção⁹. Existe também uma mistura dos padrões de resposta Th1 e Th2 com padrões distintos de produção de citocinas (IFN- γ / IL-2 associada com resistência; IL-4 / IL-10 associada com suscetibilidade)⁹. Nessa mistura, padrões distintos podem se estabelecer e uma resposta Th1 suprimida com uma resposta Th2 elevada é “o marco” da doença em atividade enquanto que o predomínio da resposta Th1 surge após um tratamento de sucesso⁹.

Na LV é marcante a elevada titulação de anticorpos anti-*Leishmania*⁹. No entanto, é desconhecido se esse fator leva à proteção do hospedeiro ou desencadeia a patogênese embora se saiba que IFN- γ (citocina Th1) provavelmente eleva os isotipos IgG1 e IgG3 enquanto as citocinas Th2 (IL-4 e IL-5) estimulam a produção de IgG 4⁹.

5.2 QUADRO CLÍNICO

A leishmaniose visceral apresenta uma grande variedade de sintomas e é classificada de três formas distintas: forma assintomática, forma subclínica ou clássica, sendo que a forma clássica desenvolve-se em períodos inicial, de estado e final¹⁴.

As infecções assintomáticas são aquelas em que não é possível detectar manifestações clínicas e o diagnóstico é feito através da sorologia positiva ou da reação de Montenegro positiva^{8,15}. Além disso, também pode ser possível a detecção de DNA de *leishmania* no sangue de alguns indivíduos¹².

Em área endêmica, poucos indivíduos, geralmente crianças, podem apresentar um quadro clínico discreto, de curta duração, aproximadamente 15 dias, que frequentemente evolui para cura espontânea (forma oligossintomática ou forma subclínica)².

Esses pacientes apresentam sintomas mais discretos, com febre baixa, palidez cutâneo-mucosa leve, diarreia e/ou tosse não produtiva e pequena hepatoesplenomegalia. Esta apresentação clínica pode ser confundida com outros processos infecciosos de natureza benigna. A combinação de manifestações clínicas e alterações laboratoriais, que parece caracterizar melhor a forma oligossintomática, são constituídas pelos seguintes achados: febre, hepatomegalia, hiperglobulinemia e velocidade de hemossedimentação alta².

A fase inicial da fase clássica, ou fase "aguda", caracteriza o início da sintomatologia que pode variar de paciente para paciente, mas na maioria dos casos inclui febre com duração inferior a quatro semanas, palidez cutâneo-mucosa e hepatoesplenomegalia. O estado geral do paciente está preservado, o baço geralmente não ultrapassa a 5 cm do rebordo costal esquerdo³.

O período de estado é caracterizado por febre irregular, geralmente associada a emagrecimento progressivo, palidez cutâneo-mucosa e aumento da hepatoesplenomegalia. Apresenta um quadro clínico arrastado geralmente com mais de dois meses de evolução, na maioria das vezes associado a queda do estado geral².

Caso não seja feito o diagnóstico e tratamento, a doença evolui rapidamente para o período final, com febre contínua e comprometimento mais intenso do estado geral. Instala-se a desnutrição (cabelos quebradiços, cílios alongados e pele seca), edema dos membros inferiores que pode evoluir para anasarca. Outras manifestações importantes incluem hemorragias (epistaxe, gengivorragia e petéquias), icterícia e ascite².

No estudo realizado com crianças internadas no instituto materno infantil de Pernambuco, em Recife, no período compreendido entre 1996 e 2001, fenômenos hemorrágicos estiveram presentes em 12,3% dos pacientes no momento da admissão e aproximadamente 60% dos pacientes foram a óbito, sendo um importante sinal de alerta de gravidade da doença¹⁶.

Diferentes técnicas podem ser utilizadas para o diagnóstico de leishmaniose visceral. Grandes avanços têm ocorrido nos últimos anos, mas em relação ao grande número de testes disponíveis para o diagnóstico da LV, nenhum apresenta 100% de sensibilidade e especificidade. Nos casos humanos, o diagnóstico é rotineiramente realizado com base em parâmetros clínicos e epidemiológicos. Entretanto, um diagnóstico definitivo pode ser feito através de testes parasitológicos e imunológicos²⁴.

BIBLIOTECA - ZOOLOGIA

5.3.1 Diagnóstico laboratorial complementar

O hemograma revela anemia, geralmente pouco expressiva, com hemoglobina acima de 9g/dl. A contagem de leucócitos apresenta-se sem alterações significativas, com predominância de células linfomonocitárias, contagem de plaquetas ainda pode estar normal, velocidade de hemossedimentação encontra-se elevada (>50mm) e as proteínas totais e frações podem estar discretamente alteradas. Na forma oligossintomática, os exames laboratoriais não se alteram à exceção da velocidade de hemossedimentação, que está elevada e hiperglobulinemia²⁵.

5.3.2 Diagnóstico imunológico

A LV é caracterizada por uma estimulação policlonal de linfócitos B, que resulta em hipergamaglobulinemia e grande produção de anticorpos, o que facilita o diagnóstico através de testes sorológicos, evitando os métodos parasitológicos como a biópsia, que são invasivos²⁴.

Diferentes técnicas sorológicas têm sido utilizadas no diagnóstico da LV humana e canina. Os testes diferem em sua sensibilidade e especificidade, na sua aplicação prática nas condições de campo e na disponibilidade de reagentes. Os testes têm limitações, podem permanecer positivos durante longo tempo após o tratamento, não permitindo avaliação do efeito da terapia e podendo ocorrer reações cruzadas com outras doenças. Como há infecções sub-clínicas, um teste positivo necessariamente não indica doença ativa¹⁵.

Atualmente são 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 reprodutibilidade¹⁸.

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 doença¹. Uma variação da DAT, o FAST (Fast Agglutination Screening Test), vem sendo testada para aplicabilidade em situações epidêmicas e para inquéritos populacionais¹⁹.

No Brasil, os testes mais utilizados no diagnóstico de LV humana e canina são a RIFI e ELISA, sendo considerado, sobretudo este último, testes de escolha para inquéritos populacionais²⁴.

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 pulmonar¹⁸. Isto dificulta a interpretação dos dados epidemiológicos, pois no Brasil ocorre superposição da LV, sobretudo com leishmaniose tegumentar e doença de Chagas²⁴.

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 assintomáticos⁸. Funciona igualmente bem para o diagnóstico da LV canina⁹.

Os antígenos utilizados nos testes diagnósticos são quase sempre derivados de promastigotas de cultura, parasitas intactos ou moléculas solúveis. Estes antígenos apresentam reações cruzadas com outras espécies da família Trypanosomatidae, e

- Cultura

A *Leishmania* pode ser cultivada em diferentes meios de cultura, mas os resultados são mais satisfatórios em meio bifásico. A positividade deste método varia entre 50 e 80% e em geral requer uma a duas semanas para dar o resultado positivo. Em virtude dos elevados riscos de contaminação e a demora nos resultados esta metodologia é pouco utilizada na prática para o diagnóstico da doença²².

- PCR

A reação em cadeia da polimerase, PCR, é uma técnica molecular altamente sensível que pode ser utilizada no diagnóstico da LV. Parte do material coletado do aspirado deve ser congelado ou preservado em etanol a 70% e submetido a extração de DNA. Para o diagnóstico são utilizados iniciadores dirigidos para regiões repetitivas do DNA de cinetoplasto kDNA²³. A sensibilidade desta metodologia é superior a pesquisa do parasito por microscopia, e é especialmente útil no diagnóstico de pacientes com carga parasitária baixa. Entretanto o diagnóstico por PCR apresenta ainda restrições para seu uso na prática diária, em razão de sua complexidade e falta de padronização do método²².

5.3.4 Diagnóstico Diferencial

Muitas doenças podem ser confundidas com a LV, dentre elas a enterobacteriose de curso prolongado (associação de esquistossomose com salmonela ou outra enterobactéria), onde suas manifestações clínicas se superpõem, perfeitamente, ao quadro da Leishmaniose Visceral. Em muitas situações, esse diagnóstico diferencial só pode ser concluído por meio de testes laboratoriais, já que as áreas endêmicas se superpõem em grandes faixas do território brasileiro. Soma-se a essa doença outras patologias, tais como malária, brucelose, febre tifoide, esquistossomose hepatoesplênica, forma aguda da doença de Chagas, linfoma, mieloma múltiplo, anemia falciforme¹⁷.

5.4 TRATAMENTO

5.4.1 Os antimoniais

O antimônio é conhecido desde a antiguidade pelos egípcios e seus derivados pentavalentes (Sb+5) são utilizados com sucesso no tratamento da LV há mais de 50 anos devido a comprovada eficácia e custo acessível. Desde então, os mesmos têm sido considerados como drogas de primeira escolha no tratamento dessa protozoose, com uma exceção: o estado indiano de Bihar, onde a resistência a esse composto atinge níveis alarmantes de 50 a 65%, obrigando a adoção de outras alternativas que não os antimoniais^{2,6}.

No Brasil, a única formulação disponível do composto antimoniais, droga de primeira escolha no tratamento da LV, é o antimoniato N-metil glucamina, que vem sendo distribuída pelo Ministério da Saúde em ampolas de 5 ml, contendo 405mg de Sb+5 (1 ml = 81mg de Sb+5). As ampolas devem ser armazenadas em local fresco e ao abrigo da luz, para evitar problemas na estabilidade do medicamento².

Seu mecanismo de ação ainda não está totalmente elucidado, mas sabe-se que atua nas formas amastigotas do parasita, inibindo sua atividade glicolítica e a via oxidativa de ácidos graxos. Os estudos sobre farmacocinética dos Sb+5 mostram que esses compostos são rapidamente eliminados da circulação através dos rins (vida média de ± 2 horas)².

Nos últimos anos, doses progressivamente maiores dos antimoniais têm sido recomendadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pelo Centro de Controle de Doenças (CDC) dos Estados Unidos da América devido ao aparecimento de resistência primária do parasita a essas drogas, principalmente em países como Sudão, Quênia e Índia^{2,6}. No Brasil, não existe documentação da presença de cepas de *L. chagasi* resistentes *in vitro* aos antimoniais. Assim como descrito pela Dra. Daniela Velozo, no caso clínico de Leishmaniose mucosa fatal em criança^{2,24}.

Atualmente recomenda-se o tratamento da leishmaniose visceral com a dose de 20mg de Sb+5/kg/dia, com aplicação endovenosa - E.V ou intramuscular - I.M, por

no mínimo 20 e no máximo 40 dias, utilizando-se o limite máximo de 2 a 3 ampolas/dia do produto com bons índices de cura³.

Nos casos mais avançados da doença, onde a resposta clínica nos primeiros 20 dias não é evidente, o tempo mínimo de tratamento deverá ser estendido para 30 dias. Tal recomendação baseia-se no fato de que tratamentos por tempo mais prolongado têm sido necessários para lograr índices de cura satisfatórios^{2,4,6}.

Embora eficaz, os antimoniais apresentam efeitos tóxicos inconvenientes, porém quase sempre reversíveis. São conhecidos: sinais de intolerância (alérgico) que geralmente não justifica a interrupção do tratamento⁴.

Os sinais de intoxicação geralmente aparecem no final do tratamento, por volta da terceira semana de tratamento, e traduzem uma superdosagem com sinais de intoxicação cardíaca, hepática, renal pancreática e hematológica^{2,6}.

Todas as reações adversas graves ou potencialmente graves descritas a seguir devem ser notificadas às Secretarias Municipais de Saúde, Secretaria de Estado de Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Arritmias cardíacas e/ou outras manifestações de cardiotoxicidade; insuficiência renal aguda ou elevação dos níveis séricos de uréia e creatinina e/ou outras manifestações de nefrotoxicidade; icterícia e/ou elevação de enzimas hepáticas e/ou outras manifestações de hepatotoxicidade; pancreatite aguda e/ou hiperamilasemia; outras não citadas acima e que não tenham sido descritas anteriormente³.

5.4.2 A anfotericina B

Essa droga altera a permeabilidade da membrana celular causando poros que provocam extravasamento dos componentes intracelulares, alterando o balanço iônico da *Leishmania*, causando morte celular^{3,4}.

São utilizados nos casos de resposta insatisfatória aos antimoniais. A anfotericina B deve ser utilizada na dose de 1mg/kg/dia, em dias alternados(máximo de 3g de dose total). Em crianças, a anfotericina B deve ser ministrada na dose total de 15 a 25

mg/kg de peso, administrada em dias alternados. Tal droga foi considerada medicamento de segunda linha para o tratamento, porém, hoje, é a primeira opção nos casos de refratariedade sendo usada também em gestantes e pacientes graves. Doses acima das recomendadas podem ser usadas em casos especiais⁶.

A resolução completa do quadro só é considerada após 06 meses de acompanhamento sem intercorrências².

5.4.3 Formulações lipídicas da anfotericina B

São compostos menos tóxicos do que a anfotericina convencional (desoxicolato). Foram formulados 3 compostos: anfotericina B lipossolúvel, anfotericina dispersão coloidal e anfotericina B complexo lipídico. Todas testadas e com sucesso no tratamento da LV^{2,6}.

Ambiosome (anfotericina lipossolúvel) é a mais testada das apresentações e a única aprovada pela Food and Drug Administration e apresenta a melhor relação eficácia/inocuidade. É indicada a dose de 3/mg/kg/dia por 7 dias ou 4mg/kg/dia por 5 dias. É distribuído gratuitamente pelo Ministério da Saúde em casos de falha terapêutica ou toxicidade ao desoxalato de anfotericina B, em pacientes que fizeram transplantes renais ou com insuficiência renal^{2,6}.

5 PREVENÇÃO

A LV tem se mostrado uma endemia de difícil controle no país devido à falta de medidas simples e eficazes de proteção e prevenção. Essas medidas visam interferir nos diferentes elos do ciclo de transmissão (vetor, reservatório e homem), porém o controle eficaz esbarra em dificuldades operacionais, técnicas e principalmente financeiras^{3,4,12}.

A vigilância epidemiológica da leishmaniose visceral compreende a vigilância entomológica, de casos humanos e casos caninos. A análise da situação epidemiológica indicará as ações de prevenção e controle a serem adotadas. Dentre os objetivos da vigilância, destacam-se: identificar áreas vulneráveis e/ou receptiva para transmissão, investigar local de provável infecção, conhecer a presença e distribuição do vetor, dar condições de trabalho para que seja feito o diagnóstico e que seja feito o tratamento adequado, investigar supostos óbitos de malária, controle do reservatório canino e monitorar as possíveis endemias³.

Como medidas de baixo impacto para controle vetorial recomendam-se inseticida de ação residual (cipermetrina e deltametrina) nas casas e abrigos de animais. Devem ser aplicadas em situações endêmicas³. Pois atinge apenas a forma alada do vetor e não os criadouros⁶.

Para os reservatórios caninos, o baixo impacto das ações como remoção e eliminação de cães esta sendo questionados devido à demora entre o diagnóstico e a eliminação dos mesmos, elevado índice de infecção canina e substituição de cães eliminados por infectados³⁰. O tratamento medicamentoso em cães é contra indicado devido à baixa resposta terapêutica, frequente resistência e risco de seleção de parasitas. Estudos demonstram a eficácia do uso de coleira com detametrina para proteção dos animais porém ainda não é recomendado pelo Ministério da Saúde devido a dificuldades de aplicação do programa²².

O Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento avaliou uma vacina desenvolvida no Rio de Janeiro, que de acordo um estudos demonstrou que induz anticorpos capazes de bloquear L. (donovani) L.(chagasi). Porém o Ministério da Saúde ainda não a autorizou devido à falta de estudos mais amplos²².

Tem-se estimulado a capacitação de profissionais de saúde para realização de diagnósticos precoce e tratamento adequado. O tratamento é garantido por meio de distribuição de antimônio e anfotericina B ou anfotericina lipossomal em casos mais específicos³.

Devido ao fato da recuperação pós-infecção por leishmania conferir proteção à reinfeção, sugere-se que o controle da doença por meio de vacinação é possível, porém até o momento não há uma vacina recomendada para o controle^{2,6}.



6 DISCUSSÃO

A frequência da Leishmaniose Visceral, sobretudo em indivíduos menores de 5 anos verificada em algumas pesquisas, foi também descrita nos estudos de Cardoso^{8,26}, em que 78% das crianças com LV tinham menos que 6 anos de idade, e de Brustolini^{8,10}, em que a doença predominou em 69,9% nos primeiros cinco anos de vida⁸.

Outros estudos mostraram que a doença ocorre mais especificamente nos dois primeiros anos de vida, sendo rara após os cinco anos de idade. Foi evidenciado que sua incidência é maior nos meses de Primavera e Verão, época em que as crianças geralmente brincam mais ao ar livre e existe maior densidade do mosquito vetor no ambiente^{1,3,11}.

Uma considerável parcela dos estudos utilizados no presente estudo aponta o sexo masculino como mais susceptível ao adoecimento^{10,12,13}, razão ainda não totalmente esclarecida, postulando-se a existência de um fator hormonal ligado ao sexo ou à exposição²⁰. Outros trabalhos indicam que a doença atinge ambos os sexos de igual modo^{11,25,27}.

Ainda existe uma forte polêmica relativa à origem da LV no Novo Mundo – se ela foi introduzida recentemente, na época da colonização européia e causada pela espécie *L. infantum*, ou há vários milhões de anos, no mesmo período em que houve a introdução dos canídeos, devendo a espécie ser classificada como *L. Chagasi*. Os achados de altas taxas de infecção em canídeos originários da Amazônia sugerem a origem autóctone^{16,17}. Entretanto, estudos que utilizaram técnicas bioquímicas e moleculares consideram a *L. chagasi* e a *L. infantum* uma única espécie e acatam a hipótese de origem recente nas Américas^{5,21}.

Dentre as manifestações clínicas mais encontradas no momento da admissão dos pacientes, destacaram-se a hepatomegalia, esplenomegalia, febre e palidez. É neste

estágio que a maioria dos pacientes chega ao hospital e que surge a oportunidade de confirmar o diagnóstico^{5,16}.

Estudos realizados indicam que fenômenos hemorrágicos estavam presentes em 12,3% dos pacientes no momento da admissão e em cerca de 60% dos pacientes que foram a óbito, portanto um importante sinal de alerta de gravidade da doença¹⁶. O quadro de edema pode ser consequência da hipoalbuminemia, enquanto a hemorragia está associada à trombocitopenia. As dosagens de TGO e gama-GT também caracterizam gravidade e mau prognóstico⁵.

Quanto às alterações laboratoriais, especialmente, de hemograma, a anemia ocorreu em 99,5% dos casos com Hb <5g/dl em 25% dos casos. Verificou-se presença de leucopenia em 85% dos casos e 73% deles cursaram com neutropenia, enquanto 64,8% das crianças internadas tinham contagem de plaquetas inferior a 150.000/mm³¹⁶.

O método utilizando a imunofluorescência indireta é o método sorológico mais utilizado no Brasil³. Em virtude das possibilidades de reação cruzada, o diagnóstico deve ser confirmado pelo método parasitológico como, por exemplo, a pesquisa de *Leishmania* por PCR em aspirado de medula óssea e a visualização direta. Embora a sensibilidade do método parasitológico seja mais elevada em material obtido de aspirado esplênico²³. O Ministério da Saúde recomenda que seja realizado o aspirado de medula óssea por tratar-se de procedimento mais seguro com menor chance de sangramento⁸.

Com a proposta de tratamento adequada a maioria dos pacientes apresentam melhora clínica em 7 a 10 dias. Por volta do quinto dia a febre cessa e por volta da segunda semana os parâmetros hematológicos melhoram e o baço diminui cerca de 40% ao final do tratamento. 5 a 10% não respondem ou evoluem para óbito durante o tratamento quando diagnosticados tardiamente, intolerância ao tratamento ou toxicidade. O índice de recidiva após o tratamento pode chegar 10% em 6 meses, após o final do tratamento. Portanto considera-se o paciente curado apenas após 6 meses do final do tratamento sem que haja recidiva².

Atualmente discute-se a implantação de associação medicamentosa para o tratamento. Sugere-se antimonial e anfotericina B, atualmente os que possuem maior eficácia¹⁷.

A maior dificuldade na condução da leishmaniose, atualmente é o diagnóstico precoce, devido à grande gama de diagnóstico diferencial de hepatoesplenomegalias febris. De acordo com a epidemiologia de cada região, deve-se incluir a leishmaniose nos possíveis diagnósticos¹⁷.

Tem-se estimulado a pesquisa para formulação de novas drogas, novas formulações para anfotericina B, porém acredita-se que não antes de 2015⁶.

7 CONCLUSÃO

Através dessa revisão bibliográfica pode se concluir que a LV é uma doença de evolução rápida na faixa etária pediátrica, que predomina nos primeiros 5 anos de vida, faixa etária de 68,2% dos doentes.

O risco para as crianças mais jovens é maior. A maior incidência de doença e de óbito no grupo de menor idade provavelmente deve se a maior suscetibilidade à infecção e da depressão da imunidade observada nesta faixa etária.

Febre, palidez, hepatomegalia e esplenomegalia foram os principais achados clínicos dos pacientes no momento da admissão, fenômenos hemorrágicos e edema generalizado foram os principais critérios de gravidade.

A infecção bacteriana confirmada ou suspeita foi a co-morbidade mais frequente e também a principal causa de admissão na unidade de terapia intensiva. A insuficiência hepática estava presente na maioria dos pacientes que evoluíram para o óbito.

Os achados laboratoriais mais comuns foram anemia, plaquetopenia e leucopenia.

Os métodos convencionais de diagnóstico permitem a comprovação da doença na maioria dos casos. A PCR é um método altamente sensível e específico para o diagnóstico da LV.

Em relação ao tratamento os antimoniais pentavalente continuam sendo o medicamento mais utilizado em crianças por serem eficazes e causarem poucos efeitos adversos. O tratamento deve ser individualizado e sua duração deve ser em relação a extensão da doença.

O atual quadro da LV requer a definição de políticas de saúde visando ao controle da endemia, a capacitação de profissionais de saúde elaborando suspeitas

diagnosticas precoces, confirmação da doença e tratamento adequado do paciente para então melhorar a perspectiva da doença no país.

8 REFERÊNCIAS

- 1) EVANS, T. G. et al. Canine visceral leishmaniasis in northeast Brazil: assessment of serodiagnosis methods. *Am J Trop Med Hyg* 1990; 42: 118-23
- 2) BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em saúde. Departamento de vigilância epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
- 3) GOMES, L. M. et al. Características clínicas e epidemiológicas da leishmaniose visceral em crianças internadas em um hospital universitário de referência no norte de Minas Gerais, Brasil. *Rev. Bras. Epidemiol.* vol.12 nº.4 São Paulo Dec. 2009
- 4) BOELAERT, M. et al. Multicenter evaluation of repeatability and reproducibility of the direct agglutination test for visceral leishmaniasis. *Trop Med Int Health* 1999; 4: 31-7.
- 5) GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. In.: *Rev. Bras. Epidemiol.* v. 7, 2004. p. 333-347.
- 6) BRUSTOLONI, YM. Leishmaniose visceral em crianças no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil: contribuição ao diagnóstico e ao tratamento. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2006.
- 7) DIONÍSIO, M.T. et al. Leishmaniose Visceral: Experiência de um Centro Pediátrico de Referência 1990 – 2009. *Acta Med Port* 2011; 24: 399-404.
- 8) BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em saúde. Departamento de vigilância epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília: Ministério da Saúde, 2003. 120p.
- 9) LEISHMANIOSE VISCERAL: Situação atual e perspectivas futuras. *Boletim Epidemiológico Paulista*, Fev. 2006, ano 3, número 26.
- 10) BRASIL. Ministério Nacional de Saúde. Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). Controle, diagnóstico e tratamento da leishmaniose visceral (calazar). Normas Técnicas. Brasília: Ministério Nacional da Saúde; 1999.

- 11) CARDOSO, V.V. Manifestações clínicas, laboratoriais, e a função dos fagócitos em crianças com leishmaniose visceral tratadas com glucantime. Universidade de Brasília, Brasília, 2007.
- 12) COSTA, C. H. et al. Asymptomatic human carries of *Leishmania chagasi*. Am J Trop Med Hyg 2002; 66 (4):334-7
- 13) COSTA, H. N. C, PEREIRA, H. F.; ARAÚJO, M. V. Epidemia de leishmaniose visceral no estado do Piauí, Brasil 1980-1986. Rev Saúde Pública 1990; 24(5): 361-72.
- 14) PEDROSA, C. M. S; ROCHA, E. M. M. DA. Aspectos clínicos e epidemiológicos da leishmaniose visceral em menores de 15 anos procedentes de Alagoas, Brasil. In.: Revista Brasileira de Medicina Tropical. v. 37, nº 4, jul- ago, 2004. p. 300-304.
- 15) MURRAY, H. W. et al. Advances in Leishmaniasis. Department of Medicine, Weill Medical College of Cornell University, New York, USA. Disponível em <www.thelancet.com> v.366, october 29,2005. P.1561-1577
- 16) PRATA, A.; SILVA, L. A. CALAZAR. In COURA, J. R. editor. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. Rio de janeiro: Guanabara koogan; 2005. P.713-737.
- 17) BRASIL. Doenças Infecciosas E Parasitárias. Guia de bolso, 8a edição. Revista Ministério da Saúde, 2010
- 18) SCHOONE, G. J. et al. A fast agglutination screening test (FAST) for detection of anti-*Leishmania* antibodies. Trans R S Trop Med Hyg 2001; 95: 400-1.
- 19) QUEIROZ, M. J. A.; ALVES, J. G. B; CORREIA, J. B. Leishmaniose visceral: características clínicoepidemiológicas em crianças de área endêmica. In: Jornal de Pediatria. v. 80, nº 2, 2004. p.141-146.
- 20) CRUZ I, CHICHARRO C, NIETO J et al: Comparison of new diagnostic tools for management of pediatric mediterranean vis- ceral leishmaniasis. J Clin Microbiol 2006; 44(7):2343-7.
- 21) LAINSON, R. et al. American visceral leishmaniasis: on the origin of *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1987; 81: 517.

- 22) SARAIVA, E. M. et al. The FML-vaccine (Leishmune) against 913):2423-31 canine visceral leishmaniasis: a transmission blocking vaccine. *Vaccine* 2006; 24(13):2423-31.
- 23) MIRANDA, G.; MORAIS, D.. Leishmaniose visceral em Pernambuco: a influência da urbanização e da desigualdade social. Fundação Oswaldo Cruz, Recife;; 2008.
- 24) SUNDAR, S.; RAI, M. Laboratory diagnosis of visceral Leishmaniasis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 951-8.
- 25) KAFETZIS, D. A. An Overview of Paediatric Leishmaniasis. In.: *Journal of Postgraduate Medicine*. v. 49, 2003. p. 31-38.
- 26) DAVID, J. R. et al. Deltamethrin-impregnated dog collars have a potent anti-feeding and insecticidal effect on *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2001; 96(6):839-47
- 27) CORREA, J.B. Epidemiology of Visceral Leishmaniasis in Pernambuco, Northeast of Brazil and the use of a Latex Agglutination Test in Urine for its Diagnosis. Thesis (Degree of Master of Tropical Pediatrics) - Liverpool School of Tropical Medicine, Liverpool, 1998.
- 28) EL-AMIN, E. R. et al. Serodiagnosis of Sudanese visceral and mucosal leishmaniasis: comparison of ELISA-immunofluorescence and indirect haemagglutination. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1986; 80: 271-4.
- 29) MAURICIO, I. L.; STOHARD, J.R; MILES, M.A. The strange case of *Leishmania chagasi*. *Parasitol Today*. 2000; 16: 188-9.
- 30) MOREIRA, E.D. et al. Assessment of an optimized dog-culling program in the dynamics of canine *Leishmania* transmission. *Vet Parasitol* 2004; 122 (4): 245-52