

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Laboratório de Educação Profissional em
Técnicas Laboratoriais em Saúde
• LATEC •



DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA EM HUMANOS

Gabryella Cristhine Ferreira da Silva

Orientadora: Flávia Coelho Ribeiro Mendonça

Co-orientadora: Fernanda Nunes Santos

Janeiro 2016

DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA EM HUMANOS

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio
como requisito parcial para aprovação no
Curso Técnico de Nível médio em Saúde
com habilitação em Análises Clínicas

Gabryella Cristhine Ferreira da Silva

Orientadora: Flávia Coelho Ribeiro Mendonça

Co-orientadora: Fernanda Nunes Santos

Janeiro 2016

DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA EM HUMANOS

Gabryella Cristhine Ferreira da Silva

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio
como requisito parcial para aprovação no
Curso Técnico de Nível médio em Saúde
com habilitação em Análises Clínicas

Aprovado em ____ / ____ / _____

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª Dra Flávia Coelho Ribeiro Mendonça (orientadora) – EPSJV/FIOCRUZ

Dra Fernanda Nunes Santos (co-orientadora) – DCB-ENSP/FIOCRUZ

Prof.^a Simone Goulart Ribeiro - EPSJV/FIOCRUZ

Prof. Msc. Flávio Henrique Marcolino da Paixão - EPSJV/FIOCRUZ

*Dedico este trabalho ao meu Grupo Escoteiro
111° GeAr Santos Dumont, que foi minha fonte de inspiração.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me iluminar e me dar forças para trilhar mais esta jornada. Aos meus pais, Marcos e Elinete, pelo amor, incentivo e apoio incondicional. Aos meus irmãos e sobrinhos, que nos momentos de minha ausência dedicados ao estudo, sempre fizeram entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente. Aos primos e tias pela contribuição valiosa. Aos meus amigos, representados por Thiago e Lilian, irmãos na amizade, que fizeram parte da minha formação e que vão continuar, certamente, presentes em minha vida. À minha orientadora Flávia Mendonça e co-orientadora Fernanda Santos, pelo suporte no pouco tempo que lhe coube, pelas suas correções e incentivos.

À Instituição, seu corpo docente, direção e administração pelo ambiente criativo e amigável que proporcionam. E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

*“Aprendi que vai demorar muito para
me transformar na pessoa que quero ser,
e devo ter paciência.
Mas, aprendi também, que posso ir
além dos limites que eu próprio coloquei.”
(Charles Chaplin)*

RESUMO

A Leishmaniose Visceral Americana (LVA) é causada pelo protozoário *Leishmania Infantum* (*sin.chagasi*), presente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Considerada uma zoonose de grande importância, no Brasil é transmitida, principalmente, por Flebotomos da espécie *Lutzomia longipalpis*. O parasito desenvolve-se em duas fases evolutivas, o amastigota no hospedeiro vertebrado e o promastigota no hospedeiro invertebrado. Os sinais clínicos comumente associados são: febre, emagrecimento, hepatomegalia e esplenomegalia. O diagnóstico para LVA é feito através de dados epidemiológicos, sinais clínicos e exames laboratoriais. Podendo este último ser: exame parasitológico, exame direto ou cultivo de material retirado de tecidos infectados, ou ainda testes sorológicos, que avaliarão a resposta do sistema imune e a presença de anticorpos anti-Leishmania, como os ensaios imunoenzimáticos (ELISA), a reação de imunofluorescência indireta (RIFI). O tratamento é efetuado por antimoniais pentavalentes, empregado para o controle do protozoário no organismo. Este projeto visa estudar os métodos de diagnóstico e tratamentos para a LVA em humanos, estabelecendo como metodologia levantamentos bibliográfico sobre o tema proposto.

Palavras – chaves:

Leishmaniose visceral humana; Tratamento; Diagnóstico.

LISTA DE SIGLAS

LVA – Leishmaniose Visceral Americana
LTA – Leishmaniose Tegumentar Americana
ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
RIFI – Reação de Imunofluorescência Indireta
OMS – Organização Mundial de Saúde
NNN - Neal, Novy, Nicolle
PCR - Polymerase Chain Reaction
DNA - deoxyribonucleic acid
ECG – Exame de Eletrocardiograma

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática do ciclo do parasito causador da Leishmaniose Visceral Americana.....	15
---	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Comparação entre os medicamentos empregados no tratamento da Leishmaniose Visceral Americana.....	23
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 METODOLOGIA	13
3 ASPECTOS GERAIS DA LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA	14
3.1 CICLO.....	14
3.2 SINTOMAS.....	15
3.3 EPIDEMIOLOGIA.....	15
3.4 RESERVATÓRIOS.....	16
3.5 PROGRAMAS DE PREVENÇÃO E CONTROLE.....	16
4 DIAGNÓSTICO HUMANO.....	18
5 TRATAMENTO HUMANO.....	22
5.1 CRITÉRIOS DE CURA.....	26
5.2 TRATAMENTO DE SUPORTE.....	26
5.2.1 Uso de antibióticos.....	26
5.2.2 Suporte hemoterápico.....	27
5.2.3 Suporte nutricional.....	27
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
7 REFERÊNCIAS.....	29

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, as leishmanioses diferenciam-se principalmente como duas doenças: a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) e a Leishmaniose Visceral Americana (LVA). A primeira pode ser causada por diferentes espécies de *Leishmania*, sendo as mais importantes, *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Viannia) guyanensis* e *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. Essas possuem como vetor/transmissor pequenos insetos dípteros denominados Flebotomíneos, com hábitos crepusculares, que nesse caso pertence às seguintes espécies: *L. intermedia*, *L. whitmani*, *L. flaviscutellata*, entre outros. E a segunda, também conhecida como Calazar, é causada por um protozoário chamado *Leishmania Infantum (sin. chagasi)*, espécie transmitida pelo Flebótomo *Lutzomyia longipalpis* (AGUIAR, et al. 2003).

O ciclo do parasita é heteroxênico, ou seja, necessita de mais de um hospedeiro para completá-lo. Nesse caso, no hospedeiro vertebrado (homem/animal), o parasita se desenvolve no interior de macrófagos na forma amastigota (aflagelada). No flebotomíneo, hospedeiro invertebrado, o parasita passará da forma amastigota para a forma promastigota (flagelada), e se desenvolverá no interior do tubo digestório do inseto. Assim, no próximo repasto sanguíneo, essas formas promastigotas serão regurgitadas e inoculadas no hospedeiro vertebrado, seguindo-se o ciclo. (OLIVEIRA, et al. 2010).

A LVA afeta as vísceras, órgãos internos, principalmente fígado, baço, gânglios linfáticos e medula óssea. Possui como sinais clínicos febre, emagrecimento, anemia, fraqueza, esplenomegalia (aumento do baço) e hepatomegalia (aumento do fígado), podendo evoluir para óbito, caso o paciente não seja tratado (OLIVEIRA, et al. 2010).

A alta prevalência do vetor na zona rural e sua rápida adaptação à zona urbana têm sido fatores determinantes para o aumento da epidemiologia da LVA. Outro fator que contribui para esse aumento é o acúmulo de matérias orgânicas, a relação de afetividade com animais domésticos e o contato com animais silvestres tanto no meio urbano como no meio rural, pois esses animais acabam se tornando principais reservatórios do parasito, aumentando assim, a probabilidade de infecção do humano através do inseto vetor (NEVES, 2007).

A prevenção e o controle devem alcançar as diferentes etapas da cadeia de transmissão da doença. Há fatores de riscos que precisam ser levados em consideração: como a exposição ao inseto vetor, à permanência de cães que estejam infectados, principalmente, se não estiverem apresentando sintomas e os aspectos físicos do espaço habitado. Concentrar o controle, somente, na eliminação do inseto vetor ou dos reservatórios limitaria os programas de prevenção e controle ao foco da doença (MELO, 2004; COSTA, et al. 2007).

O diagnóstico para a LVA humana é baseado em dados epidemiológicos, clínicos e laboratoriais, podendo este último ser obtido por meio de exame parasitológico, exame direto ou cultivo de material retirado de tecidos infectados. Outros métodos também utilizados são os testes imunológicos, que avaliarão a resposta do sistema imune e a presença de anticorpos anti-Leishmania (ALVARENGA, et al. 2010; PIRMEZ, 2014).

O tratamento para a LVA é feito exclusivamente pelo SUS, por meio do antimoniato de meglumina (Glucantime). Outras drogas utilizadas como segunda alternativa, são a anfotericina B, pentamidina e o Alopurinol, porém, todas essas drogas utilizadas possuem um alto teor de toxicidade, podendo gerar efeitos colaterais consideráveis, principalmente, em cardiopatas e pessoas que possuam doença renal ou hepática (ALVARENGA, et al. 2010; PIRMEZ, 2014).

A LVA é uma doença infecciosa fatal em expansão, considerada emergente como uma das mais importantes zoonoses pela Organização Mundial de Saúde (OMS), obtendo nos últimos dez anos, uma média anual de 3.156 casos, e a incidência de dois casos/100.000 hab no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

É de grande importância que seu diagnóstico seja realizado precocemente e de forma acurada, com um alto nível de sensibilidade e especificidade, para que não haja resultados falsos negativos ou falsos positivos, uma vez que é necessária exposição do paciente a um tratamento altamente tóxico.

Apesar de ser considerada importante pela OMS, a Leishmaniose Visceral Americana, é uma doença negligenciada em vários de seus aspectos, principalmente no tratamento. Este possui como principal base o Glucantime, que vem a ser uma droga bastante tóxica (NEVES, et al. 2004). Outro fator que também estaria interligado com a negligência da doença seria a escassez de pesquisas sobre novos métodos de diagnóstico da LVA (NEVES, et al. 2004).

Sendo assim, esse estudo busca uma maior compreensão do tema na atualidade, em especial das técnicas de diagnósticos e de tratamentos empregados na rotina.

O objetivo deste trabalho é estudar os métodos de diagnóstico e tratamentos empregados na Leishmaniose Visceral Americana em humanos, compreendendo seus aspectos gerais, descrevendo os métodos de diagnóstico e as diferentes formas de tratamento junto a seus efeitos colaterais.

2. METODOLOGIA

A metodologia desta monografia fundamenta-se em levantamentos bibliográficos sobre o tema proposto, isto é, sobre o diagnóstico e tratamento da leishmaniose visceral americana. Nesta perspectiva, serão realizadas pesquisas de dados em livros, dissertações e teses sobre esta temática e, principalmente, busca de artigos científicos. Portanto, com a escolha dessa metodologia pretende-se desenvolver conhecimentos que permitam descrever, comparar e compreender as formas de diagnósticos diferenciais, seguido das formas de tratamentos indicadas e, conseqüentemente, dos efeitos colaterais obtidos por meio de cada um deles, entre os pacientes com LVA.

3. ASPECTOS GERAIS DA LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA

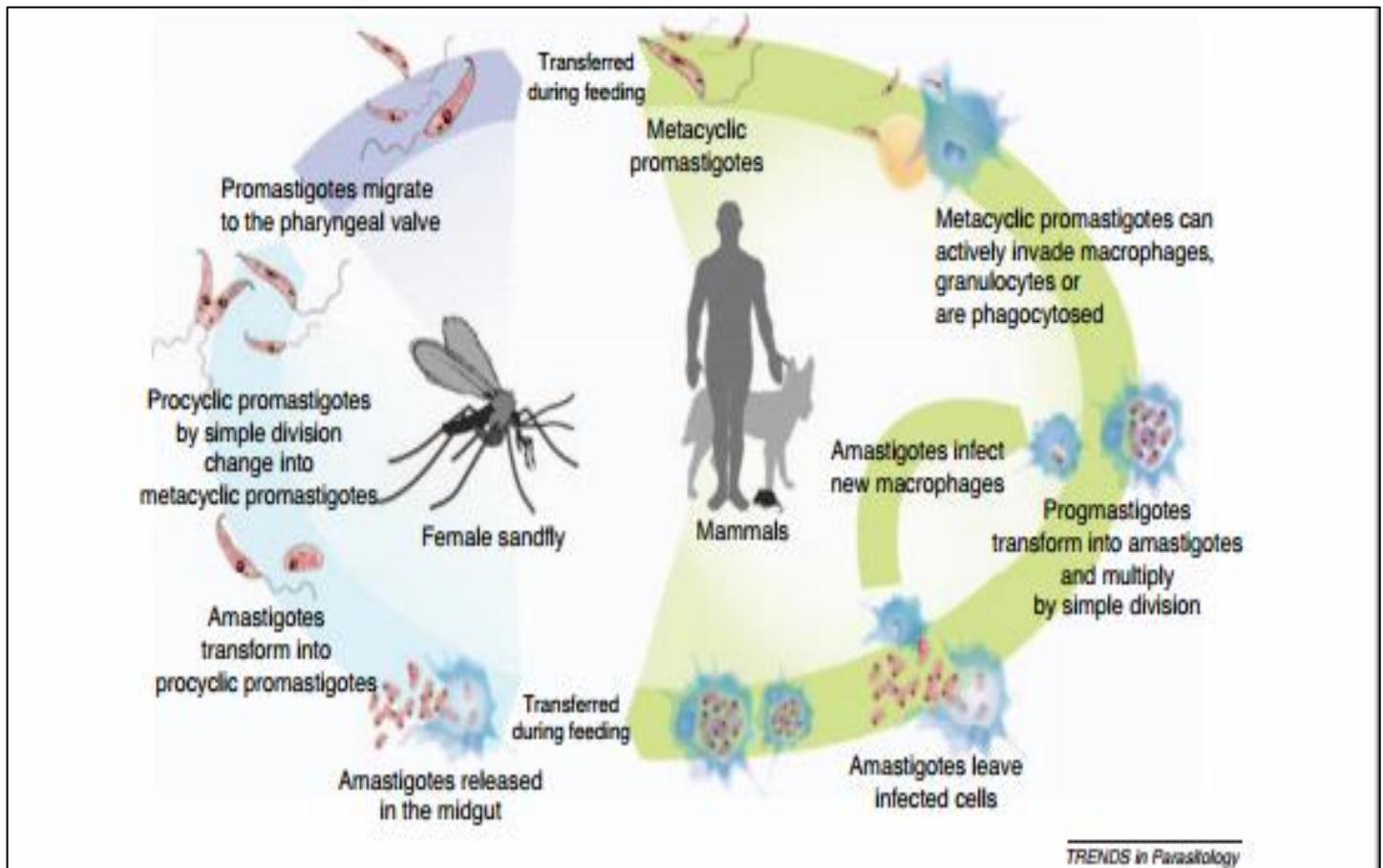
3.1 CICLO

A Leishmaniose visceral americana é causada por um protozoário da espécie *Leishmania infantum* (sin. *Leishmania chagasi*), e transmitida pelo vetor flebotomíneo da espécie *Lutzomia longipalpis*. Esse inseto vetor é conhecido popularmente no Brasil como “Mosquito-Palha” por possuir uma cor amarelada (AGUIAR, et al. 2003). A figura 1 demonstra o ciclo do parasito, que é heteroxênico, ou seja, necessita de mais de um hospedeiro (REY, 2001). No hospedeiro vertebrado (homem/animal) se desenvolve no interior de vacúolos digestivos de macrófagos na forma amastigota. O acúmulo do parasito no interior dessa célula pode culminar em seu rompimento e conseqüentemente, com liberação dos parasitos no meio extracelular. Ao realizar o repasto sanguíneo em um indivíduo infectado, o flebotomíneo ingere, juntamente com o sangue, as formas amastigotas, que no interior de seu tubo digestório evoluem para as formas promastigotas. Nesse ambiente, as formas promastigotas se tornam infectivas (metacíclicas) e se acumulam na porção anterior do aparelho digestório. Assim, no próximo repasto sanguíneo, as formas promastigotas metacíclicas serão regurgitadas e inoculadas no hospedeiro vertebrado, juntamente com a saliva (OLIVEIRA, et al. 2010).

A saliva, por sua vez, tem importante papel na penetração do parasito e atua como modulador da resposta imunológica, facilitando o sucesso da infecção e a sobrevivência do parasito no sangue do hospedeiro vertebrado (CASTELLANO, 2005). Sendo assim, o sistema imune do hospedeiro é ativado quando infectado e passa a responder na tentativa de eliminar o parasito. No entanto, a *Leishmania* consegue evadir aos eventos microbicidas do organismo hospedeiro, utilizando-se de mecanismos como (1) inativação do sistema complemento, (2) modulação da produção de citocinas e quimiocinas, (3) interferência nos processos de migração e apoptose celulares e (4) modificação do micro-ambiente intracelular (CASTELLANO, 2005). Com isso, percebe-se que o parasito evoluiu de maneira a explorar o sistema imune do próprio hospedeiro, modulando-o e proporcionando um ambiente favorável para o estabelecimento da infecção. O desequilíbrio da relação parasito-hospedeiro seria a causa tanto da eliminação da infecção, quanto do processo patogênico nas leishmanioses (CASTELLANO, 2005).

Representação esquemática do ciclo do parasito causador da Leishmaniose Visceral Americana

Figura 1: Representação esquemática do ciclo do parasito causador da Leishmaniose Visceral Americana.



FONTE: Michael O. et. al, 2011.

3.2 SINTOMAS

A LVA pode se apresentar de duas formas: assintomática ou sintomática. Esta, por sua vez, em estágio inicial, costuma apresentar sintomas que podem ser facilmente confundidos com infecções bacterianas ou virais, como: febre, fraqueza, emagrecimento, entre outros. Dessa forma, o diagnóstico precoce fica prejudicado, causando sintomas mais sérios: como a hepatomegalia e esplenomegalia e o acometimento de gânglios linfáticos e medula óssea (OLIVEIRA, et al. 2010).

3.3 EPIDEMIOLOGIA

O número de casos da LVA tem aumentado ao decorrer dos anos, devido à alta prevalência do inseto vetor nas zonas rurais e, sua rápida adaptação nas zonas urbanas. Principalmente no ambiente peridomiciliar, no qual, destaca-se como o local onde o vetor é encontrado em maior densidade. Estão relacionados à presença de animais, que

servem como reservatório, e de acúmulo de matéria orgânica, locais importantes de criação e de abrigo de *L. longipalpis*. Seu alto nível de letalidade está associado ao período de incubação da doença, tanto no reservatório doméstico quanto no hospedeiro humano. Esse longo período dificulta o diagnóstico e o tratamento precoce da doença, elevando a taxa de mortalidade dos indivíduos (NEVES, 2007).

3.4 RESERVATÓRIOS

O principal reservatório da *L. infantum* (sin *L. chagasi*) no ambiente urbano é o cão doméstico, uma importante fonte de infecção para o inseto-vetor. A estreita relação do cão com o homem, tanto nas zonas urbanas quanto rurais, pode colaborar para a transmissão da doença. A riqueza de parasitos na pele íntegra do animal infectado é um dos fatores que justificam a importância do cão como reservatório, pois mesmo após o desaparecimento do parasito das vísceras, o parasitismo cutâneo persiste. Fato comumente observado nos cães assintomáticos e oligossintomáticos (os cães apresentam de 1 a 2 sintomas) em que as técnicas de diagnóstico normalmente não conseguem detectar precocemente a infecção, levando a maior permanência do animal no ambiente (OLIVEIRA, 2011). No ambiente silvestre, os animais considerados reservatórios do parasito são: duas espécies de raposas (*Lycalopex vetulus* e *Cerdocyus thous*) e duas de marsupiais (*Didelphis albiventris* e *Didelphis marsupialis*) podendo ser encontradas naturalmente infectadas no Brasil (OLIVEIRA, 2011).

3.5 PROGRAMAS DE PREVENÇÃO E CONTROLE

Os programas de prevenção e controle no Brasil se iniciaram na década de 50 e tinham como objetivos quebrar os elos epidemiológicos da cadeia de transmissão da doença (MELO, 2004; COSTA, et al. 2007). Esses programas visavam às áreas consideradas de risco a serem trabalhadas. Dentre essas áreas, estavam os aglomerados urbanos e rurais, delimitados por meio de dados epidemiológicos, ambientais e sociais, utilizando como indicador a ocorrência de casos humanos (MELO, 2004; COSTA, et al. 2007).

A prevenção da doença tem sido baseada em identificação e tratamento precoce dos casos humanos, controle do vetor, identificação através de métodos sorológicos e posterior eutanásia dos cães infectados e medidas de educação e saúde (MINISTERIO DA SAUDE, 2006). Sendo assim é recomendado evitar a exposição nos horários de atividade do vetor (crepúsculo e noite), o uso de telas mosquiteiras de malha fina e repelentes para uma melhor proteção individual. Além de realizar frequentes inspeções em áreas que sejam sombreadas e possam acumular matérias orgânicas, ambiente propicio a multiplicação do vetor. Existem

ainda, experiências baseadas no controle do vetor, centradas no reservatório canino, como o uso de coleiras impregnadas com deltametrina, que têm mostrado resultados promissores na proteção dos animais, com consequências na transmissão. Com essas medidas sendo aplicadas, o contato direto entre os humanos e os flebotomíneos ficam minimizados, dificultando futuras infecções (MELO 2004; MINISTERIO DA SAUDE, 2014; PIRMEZ, 2014).

Relacionando a esses aspectos, deve-se realizar um controle integrado, com ênfase à atenção ao homem, incluindo a capacitação de técnicos e profissionais de saúde para diagnóstico e tratamento do mesmo (MELO, 2004; COSTA, et al. 2007). A contenção de doenças transmitidas por vetores dificulta-se quando associada à existência de reservatórios domésticos, silvestres e aos aspectos ambientais, incluindo aspectos físicos de utilização do espaço habitado. Um fator de risco bastante considerado da LVA é a exposição ao inseto vetor *Lutzomyia longipalpis*, uma espécie que possui fácil adaptação em diferentes locais (MELO, 2004; COSTA, et al. 2007). O controle do vetor tem sido baseado no uso de inseticidas intradomiciliares, direcionado para as formas adultas, uma vez que os criadouros da espécie são pouco conhecidos. Porém, realizar o controle dos flebotomíneos e dos reservatórios, somente, restringe-se ao foco da doença (MELO, 2004; COSTA, et al. 2007).

Quanto ao controle dos reservatórios, este é utilizado somente para os que são domésticos. Nesse caso, há inquéritos soropidemiológicos que visam à detecção e eutanásia de animais soropositivos. O mesmo não se aplica aos reservatórios silvestres (MARZOCHI, et al.1985). O impacto do controle canino através da remoção e eutanásia dos cães soropositivos tem sido discutido por se mostrar trabalhoso e de eficácia duvidosa (MELO, 2004; COSTA, et al. 2007).

4. DIAGNÓSTICO HUMANO

O diagnóstico para LVA consiste na avaliação dos sinais clínicos, dados epidemiológicos e exames laboratoriais, nos quais estão incluídos especialmente, métodos parasitológicos, sorológicos e moleculares. Os métodos parasitológicos, por serem 100% específicos, são considerados Padrão Ouro da reação, entretanto, quando este não for possível ser realizado, outros métodos, como os sorológicos, se tornam peça chave (REY, 2001; GONTIJOL, MELO 2008).

O método parasitológico consiste em exame direto e exame indireto. O exame direto pode ser feito através do material aspirado de alguns órgãos como baço, medula óssea ou linfonodos aumentados de volume, através da punção. Outra forma de realização desse exame é com pesquisa do parasito no sangue ou na pele. É realizado o esfregaço sanguíneo ou, no caso de biopsia, uma impressão sobre a lâmina de microscopia (IMPRINT), corando-a pelo método de Giemsa e levando-a ao microscópio. Assim espera-se encontrar possíveis formas amastigotas no interior de células fagocitárias, fixas ou livres, reconhecendo-a por sua morfologia. Quanto ao exame indireto, este é feito por meio da semeadura do material suspeito em meio de cultura NNN. Essa cultura é incubada a 24-26°C e deve ser analisada após 5,7 ou 10 dias. Caso negativo realiza-se um novo repique após 15 dias, do mesmo material para um novo meio de cultura NNN (REY, 2001; GOMES, 2006).

Existem vantagens e desvantagens em relação aos métodos parasitológicos. O exame direto é uma técnica 100% específica e fácil de ser realizada quando se refere à pesquisa de parasitos no sangue ou pelo IMPRINT. Quando relacionada à punção das vísceras, ela não é uma técnica tão simples, pois, por ser invasiva pode requerer internação do paciente, além de exigir um profissional altamente qualificado para a realização do exame. Enquanto o exame indireto, se comparado ao direto, deixa a desejar pelo longo período de espera pelo resultado, pois isso acarreta o atraso do diagnóstico final e, conseqüentemente, a um agravamento da doença (REY, 2001; OLIVEIRA 2010).

Quanto aos testes sorológicos, os mais comuns são os ensaios imunoenzimáticos (ELISA), a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), reação intradérmica de Montenegro e o teste Imunocromatográfico (teste rápido) (ASSIS, SANTANA, 2012), descritos abaixo:

- **Método ELISA:** O teste ELISA tem o seu resultado expresso em unidades de absorvância a um raio de luz, em uma reação com diluições fixas ou mais comumente, apenas

como reagente ou não. Na presença de dados clínicos e laboratoriais, um teste sorológico reagente, reforça o diagnóstico de leishmaniose visceral. Entretanto, um teste reagente, na ausência de manifestações clínicas sugestivas de leishmaniose visceral, não autoriza o início do tratamento. Esse teste alcança sensibilidade de 98%, permitindo a detecção de baixos títulos de anticorpos, mas é pouco preciso na detecção de casos subclínicos ou assintomáticos. A vantagem desse método está relacionada à sua alta sensibilidade, ao baixo custo e, principalmente, a metodologia moderna que permite a realização de um grande número de exames em um curto espaço de tempo, devido a possibilidade de automação. Mas, por outro lado, sua especificidade está relacionada à família dos Tripanossomatídeos, ou seja, pode reagir cruzadamente para leishmaniose tegumentar e tripanossomíase americana (Doença de Chagas), ainda que os títulos sejam muito mais altos no calazar (FUNASA, 2000; REY, 2001; GOMES, 2006; SOUZA, et. al 2012).

- **Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI):** Realizada em lâmina, usando-se como antígenos as formas promastigotas de cultura. O resultado da imunofluorescência indireta é normalmente expresso em diluições. Aceita-se como positivas diluições a partir de 1:80. Nos títulos iguais a 1:40, recomenda-se a solicitação de uma nova amostra em 30 dias. Essa técnica possui sensibilidade e especificidade superiores a 90%. Na fase clínica da doença é positiva, com títulos elevados, na totalidade dos casos. Esses títulos se mantêm elevados durante seis a nove meses após a cura dos sintomas. Esse exame possui como pontos negativos as reações cruzadas com tripanossomíases, malária, esquistossomose, oncocercose, lepra, sífilis e algumas micoses sistêmicas, mas particularmente com a leishmaniose tegumentar. Ainda que não sejam frequentes, as reações cruzadas podem acontecer. E a necessidade do microscópio de fluorescência para análise do resultado do exame é mais um inconveniente (REY, 2001; SOUZA, et. al 2012).

- **Reação Intradérmica de Montenegro:** Conhecida também como teste de leishmanina, sendo este antígeno constituído por uma suspensão de promastigotas de cultura, lavadas e resuspensas em salina com 5% de fenol (concentração final de 10 milhões de promastigotas por mililitro). Injeta-se intradermicamente 0,1 ml da suspensão. O resultado é lido 48 a 72 horas depois, medindo-se o diâmetro da reação, utilizando um paquímetro. O resultado encontrado pode indicar o contato com antígenos e frequentemente é negativa na fase ativa da doença; podendo tornar-se positiva depois de decorridos 6 meses a 3 anos da cura. O uso desse teste é indicado

em inquéritos epidemiológicos e em crianças menores de 12 anos, quando é sugestiva de infecção. Além de não ser recomendado para diagnóstico de LVA, pode ocorrer reação cruzada na lepra, tuberculose e algumas infecções fúngicas (REY, 2001; MAGALHÃES, 2009; MINISTERIO DA SAUDE, 2014).

- **Teste imunocromatográfico (TESTE RÁPIDO IT-LEISH):** é feito com base em imunocromatografia, onde se utiliza o antígeno recombinante (rK39), fixado em membrana de nitrocelulose. Este antígeno reconhece os anticorpos específicos anti-leishmania do complexo donovani. Trata-se de um método sensível, específico e de rápida execução (5-10 minutos) que pode ser usado nas condições de campo (SOUZA, et. al 2012). Segundo ASSIS, et. al. (2008), o teste imunocromatográfico rápido foi validado para o diagnóstico de leishmaniose visceral e o desempenho do IT-LEISH foi comparado ao da reação de imunofluorescência indireta; e ao da reação imunoenzimática, empregando-se antígeno solúvel de *Leishmania infantum* e recombinante k39 (rk39). O teste apresentou sensibilidade de 93% e especificidade de 97%. As técnicas RIFI (imunofluorescência indireta), ELISA *L.infantum* e ELISA rk39 apresentaram sensibilidade 88%, 92% e 97% e especificidade de 81%, 77% e 84%, respectivamente. Os resultados confirmam a validade do teste IT-LEISH para o diagnóstico da LVA no Brasil.

Outra técnica que tem surgido recentemente, a reação de PCR (amplificação do DNA do parasita), constitui uma nova perspectiva para o diagnóstico da LVA, pois apresenta alta sensibilidade para detectar casos iniciais da doença. Entretanto, os seus resultados dependem de algumas variáveis envolvidas, entre elas temos: área endêmica; o tipo de amostra; o alvo do DNA utilizado para amplificação; o método de extração do DNA, etc. Além de todas essas limitações para a sua realização, está é uma técnica cara por depender de aparelhos e laboratórios especializados e pessoas altamente qualificadas. E isso faz com que seu emprego na rotina médica seja limitado (REY, 2001; MELO 2004; GOMES, 2006).

O diagnóstico da LVA é facilitado quando há histórico epidemiológico e, principalmente, presença de reservatórios no caso de humanos suspeitos. E a problematização do diagnóstico precoce é quando isso não acontece, pois pode significar a presença de cães que estejam assintomáticos ou oligossintomáticos transmitindo a doença sem que sejam identificados. A leishmaniose visceral canina pode apresentar semelhança com outras enfermidades infecto-contagiosas que acometem os cães. E quando estes se originam de áreas cujo padrão socioeconômico é baixo, outros fatores podem estar associados dificultando o

diagnóstico clínico. As dermatoses e a desnutrição são alguns desses fatores que podem estar mascarando ou modificando o quadro clínico da doença. Por isso, é importante que o diagnóstico canino seja rápido e capaz de detectar precocemente uma infecção, a fim de reduzir o tempo do reservatório na área endêmica e, conseqüentemente, futuras transmissões (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

O diagnóstico humano, assim como o canino, deve ser feito de forma precisa e o mais precocemente possível por ser uma doença de notificação compulsória e com características clínicas de evolução grave. As rotinas de diagnóstico necessitam ser implantadas e/ou implementadas obrigatoriamente em todas as áreas com ou em risco de transmissão. Sempre que possível à confirmação parasitológica da doença deve preceder o tratamento. Em situações onde o diagnóstico sorológico e/ou parasitológico não estiver disponível ou na demora da liberação dos mesmos, o início do tratamento não deve ser postergado. Pois, a infecção pela *Leishmania infantum* caracteriza-se por um amplo espectro clínico, que pode variar desde as manifestações clínicas discretas (oligossintomáticas), moderadas e graves e que se não tratadas podem levar o paciente à morte. E quanto antes for feito o diagnóstico, menor será a taxa de mortalidade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006; OLIVEIRA, 2010).

5. TRATAMENTO HUMANO

Após a confirmação do diagnóstico, como vimos no capítulo anterior, o tratamento do paciente deve ser iniciado de forma imediata, para que as chances de letalidade possam ser reduzidas ao máximo (PELISSARI, et al.,2011). Porém, antes do início do tratamento dos pacientes, alguns cuidados devem ser observados, como: avaliação e estabilização das condições clínicas e co-morbidades presentes no diagnóstico da LVA. E ainda, é necessária a realização do exame de Eletrocardiograma (ECG) em todos os casos da doença, sendo obrigatório nos pacientes acima de 50 anos (AIVARENGA, 2010; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Os tipos de tratamentos existentes para LVA são altamente tóxicos, mas ainda sim, é de grande importância que sejam realizados precocemente, pois, em pacientes não tratados, a doença progride e pode atingir altos níveis de mortalidade: cerca de 90% (SOUZA, et. al. 2012). Outro fator, além da alta taxa de mortalidade em indivíduos não tratados, é que esses se tornam foco da doença, facilitando a infecção do flebotômico e futuras transmissões em seu entorno. A doença, em sua forma crônica, é marcada pelo progressivo emagrecimento e enfraquecimento geral, com aumento da suscetibilidade às infecções secundárias. A evolução da doença pode ser rápida, levando o paciente à caquexia e à morte, dentro de algumas semanas ou alguns meses, podendo assumir caráter crônico (SOUZA, et. al. 2012).

No Brasil, os medicamentos utilizados para o tratamento da LVA são o Glucantime (antimoniato de meglumina), anfotericina B, anfotericina B Lipossomal, Pentamidina e, o Alopurinol, o qual tem recebido certa visibilidade quando se fala de tratamento para LVA (ver quadro 1). Embora, o Glucantime seja a droga de primeira escolha, o uso de cada medicamento deverá considerar a faixa etária, presença de gravidez e co-morbidades, principalmente, como: cardiopatas e/ou portadores de doença renal ou hepática (REY, 2001; QUEIROZ, et.al. 2004; ALVARENGA, 2010; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Quadro 1- Comparação entre os medicamentos empregados no tratamento da LVA.

Medicamentos	Glucantime	Anfotericina B lipossomal	Anfotericina B	Pentamidina	Alopurinol
Via de administração	Endovenosa ou Intramuscular	Infusão Venosa	Infusão Venosa	Endovenosa ou Intramuscular	Oral
Efeitos colaterais imediatos	Cardio, hepato e nefrotoxicidade e pancreatite.	Febre, cefaléia, náuseas, calarios e dor lombar.	Idem A.B lipossomal mais hiporexia, cianose, flebite e alteração da função renal.	Vômito, hipotensão, astenia, dispnéia, sudorese e cefaleia.	Febre, leucopenia, hepatite e exantema.
Necessidade de internação	Não	Sim	Sim	Sim	Não
Mecanismo de ação	Sugere-se que interfira no processo de β -oxidação de ácidos graxos e glicólise do parasito.	Seu diferencial está nos lipossomas carregadores, que absorvem a anfotericina pelo sistema retículo-endotelial, evitando a absorção pelos rins.	Ligação com ésteres da membrana plasmática do parasito.	Encontra-se em pesquisa.	Encontra-se em pesquisa.
Custo-benefício	Baixo	Alto	Alto	---	---

FONTE: Elaborado pelo autor.

O glucantime tem permanecido como droga de eleição nas leishmanioses, a dose recomendada pela Organização Mundial da Saúde é de 20mg/kg/dia, por via endovenosa ou intramuscular, uma vez ao dia, por um tempo de 20 a 30 dias (BORGES et al., 1999; PELISSARI, et al.,2011). As aplicações de injeções do glucantime por via intramuscular

devem ser feitas em locais onde a massa muscular permita (por exemplo, região glútea). Deve-se dar preferência à via endovenosa nos pacientes desnutridos, com pouca massa muscular, e naqueles com trombocitopenia. Vale a pena ressaltar que não existe diferença nos níveis séricos da droga, em relação à sua via de administração. Nos casos de administração endovenosa, a infusão deve ser feita de forma lenta ao longo de 5 a 7 minutos. A dose pode ser diluída em solução glicosada a 5% para facilitar a infusão (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). O mecanismo de ação do glucantime ainda não foi esclarecido, sugere-se que ele possa ser uma pró-droga, sendo convertido a antimônio trivalente após sua administração, e que assim possa interferir no processo de β -oxidação de ácidos graxos e glicólise do parasito, levando a uma depleção dos níveis de ATP intracelular (RATH et al., 2003).

Entretanto, efeitos colaterais têm sido relatados, e o principal deles é decorrente da ação do glucantime no aparelho cardiovascular (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). O acompanhamento cardiológico deve ser realizado periodicamente até o término do tratamento. Em caso de arritmias o medicamento deve ser imediatamente suspenso e o paciente tratado com drogas alternativas. Outros efeitos colaterais como artralgias, anorexia, dor no local da aplicação, caso seja intramuscular, e aumento da diurese por perda transitória da capacidade de concentração urinária, devem ser observados pelo médico responsável (BORGES, 1999; SOUZA et. al., 2012; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Apesar de o glucantime ser eficiente para o tratamento das Leishmanioses, em determinadas situações, ele é contra indicado, por agravar o quadro clínico, colocando o paciente em uma zona de risco mais elevada. Dentre os casos mais comuns estão, a insuficiência renal, hepática e cardíaca, a gravidez, a idade acima de 50 anos e hipersensibilidade aos componentes da formulação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

A anfotericina B é alternativa menos tóxica para o tratamento da LVA, pois é a droga leishmanicida mais potente disponível comercialmente, atuando nas formas promastigotas e amastigotas do parasito, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Seu mecanismo de ação se dá através da ligação preferencial com ésteres (ergosterol ou episterol) presentes na membrana plasmática da *Leishmania* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Porém, esse tratamento também possui contraindicações para insuficiência renal e hipersensibilidade aos componentes da formulação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). Essa droga é utilizada em doses de 15 a 20 mg/kg de peso corporal, e administrada por via endovenosa durante um período de 30 a 40 dias. No entanto, é de custo elevado e pode requerer semanas de hospitalização, exigindo uma rotina

de monitorização clínica e laboratorial (SOUZA, et. al., 2012). Seus efeitos colaterais, tais como; febre, calafrios, dores musculares e articulares, vômitos e hipotensão, podem ocorrer durante a infusão. Embora esses efeitos sejam menos graves quando comparado ao uso do glucantime, por ser dose dependente, há possibilidade de recaídas, caso o tratamento seja suspenso (BORGES et al., 1999).

Esse medicamento também pode ser encontrado na forma Lipossomal, sendo consideravelmente menos tóxico que a anfotericina B convencional, essa diferença está associada aos lipossomas carregadores, onde absorvem a anfotericina pelo sistema reticulo-endotelial, local que o parasito reside, sendo assim pouco absorvido pelos rins, o maior órgão alvo para a toxicidade da anfotericina B (RATH, et al., 2003). Sua administração é em doses de 5 mg/kg por via endovenosa durante 5 dias, apresentando-se como uma modalidade de tratamento mais curta e menos incidências de reações adversas (SOUZA, et al., 2012). Embora não haja evidências para a escolha deste medicamento, o comitê assessor sugere que ele seja empregado em casos de pacientes acima de 50 anos e em transplantados renais, cardíacos e hepáticos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). Assim como as outras drogas utilizadas para o tratamento da LVA, a Anfotericina B lipossomal possui efeitos adversos, sendo estes nefrotoxicidade, podendo levar a depleção dos níveis de potássio e magnésio no organismo (RATH, et al., 2003).

Quanto a Pentamidina, esta deve ser empregada em pacientes hospitalizados que obtiveram resistência ou restrição ao uso do glucantime e da anfotericina B. Sua dosagem é de 4mg/kg de peso do paciente, três vezes por semana, durante 5 a 25 semanas, dependendo da resposta. Se a via for intramuscular, utiliza-se a solução a 1%, no local da injeção forma-se uma induração dolorosa que pode evoluir para abscesso asséptico. Caso a via seja endovenosa, a solução utilizada é a 10% (REY, 2001; GOMES, 2006). Os efeitos colaterais que ocorrem de imediato são hipotensão, astenia, dispnéia, cefaléia, sudorese, sensação de formigamento, vômitos e dores epigástricas. Mas, a tratamento de longo prazo, pode haver lesões hepáticas, pancreáticas, renais e do sistema nervoso (BORGES, 1999; REY, 2001).

Por fim, tem-se o Alopurinol, sua administração é feita por via oral em uma dosagem de 6,7 a 10 mg/kg de peso, três vezes ao dia, durante seis semanas. Pode-se dizer que ainda é uma droga razoavelmente nova para o tratamento da LVA e que ainda vem sendo estudada. Mas, existem algumas questões sobre esta droga que trazem benefícios: sua vida média no sangue dura cerca de 40 minutos, onde é metabolizada e transformada para oxipurinol que é

bem menos ativo. Com isso, seus efeitos colaterais são poucos, sendo estes: exantema, febre, leucopenia e hepatite. Mas quanto aos seus resultados, estes são variáveis (BORGES et al., 1999; REY, 2001; RATH et al., 2003).

5.1 CRITÉRIOS DE CURA

Os critérios de cura são essencialmente clínicos e os primeiros sinais de resposta costumam ser inespecíficos como a melhora do apetite e do estado geral. O desaparecimento da febre é precoce e acontece por volta do 5.º dia de medicação, a redução da hepatoesplenomegalia ocorre logo nas primeiras semanas e os parâmetros hematológicos melhoram a partir da segunda semana. Ao final do tratamento o baço geralmente apresenta redução de 40% ou mais, em relação à medida inicial. Nesta 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 (GOMES, 2003; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

5.2 TRATAMENTOS DE SUPORTE

5.2.1 Uso de antibióticos

As infecções bacterianas no paciente com LV podem ser graves e a apresentação clínica, inespecífica. Assim, na suspeita dessas infecções, a terapia antibiótica empírica deve ser prontamente iniciada após os procedimentos diagnósticos adequados. Dentre esses são: radiografia de tórax, bacterioscopia de secreções suspeitas de infecção, hemocultura, urinocultura e cultura de outras secreções e líquidos. A prescrição de antibióticos deve seguir as recomendações da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar – CCIH local ou as normas preconizadas na literatura. A antibioticoterapia está indicada para os pacientes com quadro infeccioso definido, como pneumonia, impetigo, celulite, otite e infecção do trato urinário, e para pacientes que apresentem sinais de toxemia, mesmo que o sítio da infecção não esteja identificado. Recomenda-se ainda, o uso de antibióticos em pacientes com LVA com menos de 500 neutrófilos/mm³. Essa recomendação se baseia nas normas de tratamento para o paciente neutropênico febril submetido à quimioterapia. Nessa situação, o antibiótico poderá ser suspenso de três a cinco dias, depois que os neutrófilos ultrapassarem o número de

500 células/mm³ no sangue periférico, desde que as culturas tenham sido negativas e o paciente esteja clinicamente estável (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

5.2.2 Suporte hemoterápico

O suporte hemoterápico constitui importante medida no tratamento da LVA e deve ser indicado de forma individualizada, levando-se em consideração características como a idade do paciente, a compensação hemodinâmica, o tempo de instalação da anemia e a presença de complicações como septicemia, sangramentos e coagulação intravascular disseminada. Entretanto, a contaminação bacteriana de produtos hemoderivados, apesar de constituir evento raro, pode ser fator de agravamento no paciente com LVA. O risco residual de infecção transfusional por HIV, vírus da hepatite B e *Trypanosoma cruzi* deve ser avaliado em relação aos benefícios que podem ser alcançados. As publicações científicas sobre o uso de hemoderivados e seus efeitos adversos na LVA são escassas e suas indicações têm sido baseadas nas recomendações de hemoterapia em outras situações clínicas, tais como plaquetopenia e anemias relacionadas à quimioterapia, doenças neoplásicas ou mielodisplasia (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Ainda, para o suporte hemoterápico, outra substância utilizada é a Vitamina K, mas não há evidências científicas da utilidade da vitamina K na LVA, seu uso está restrito aos pacientes com icterícia, quando o tempo de atividade de protrombina – TAP estiver abaixo de 70%. Se não for observada melhora durante, a continuidade do tratamento é desnecessária (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

5.2.3 Suporte nutricional

É importante que a nutrição do paciente com LVA seja feita o mais precocemente possível, na tentativa de minimizar o hipercatabolismo (aumento dos processos de transformação metabólica). A via enteral é a utilizada, preferencialmente, para evitar a atrofia intestinal e a translocação bacteriana. Porém, em casos de contraindicação dessa via, a nutrição pode ser realizada pela via parenteral (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Assim, a partir do conhecimento dos efeitos colaterais e benefícios de todo tratamento, é importante chamarmos a atenção dos médicos e outros profissionais de saúde, particularmente daqueles que trabalham em áreas endêmicas de leishmaniose, para que saibam a melhor forma de tratar um portador da LVA, considerando o melhor tipo de tratamento para cada tipo de paciente (BORGES et al. 1999; GONTIJOL, MELO, 2008). E ainda, deve-se avaliar a necessidade da utilização de tratamentos de suporte, a fim de melhorar a qualidade vida do paciente.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A LVA é uma doença crônica grave e, que inicialmente era associada ao meio rural. Entretanto, com as desordenadas mudanças no meio, rápida urbanização, e desmatamento das áreas peri-urbanas, houve uma expansão da doença e um significativo aumento dos números de casos. É considerada uma doença negligenciada, ainda que seja reconhecida pela OMS, corroborando com a escassez de estudos para melhores técnicas de diagnósticos, e novas drogas para o tratamento.

Após pesquisas realizadas, com enfoque nos objetivos deste trabalho, pode-se concluir a necessidade da realização do diagnóstico de forma precoce e mais específica, para que não haja evolução da doença e, conseqüentemente, aumento do risco de óbito.

Quanto ao tratamento, às drogas, preferencialmente, empregadas são utilizadas por conseguirem manter o controle do parasita no organismo. Porém, são tóxicas e geram efeitos colaterais consideráveis, chegando a serem contraindicadas, em determinadas situações, por agravar o quadro clínico do paciente.

Por fim, o conhecimento científico desenvolvido ainda não condiz com a verdadeira importância da doença. Há muitos desafios a serem superados no combate a LVA, principalmente, relacionados ao diagnóstico e tratamento. Sendo assim, faz-se necessários novos estudos para melhorar as técnicas de diagnósticos, torná-las mais sensíveis e específicas, e para o desenvolvimento de novas drogas que contenham maior efeito leishmanicida e baixo teor de toxicidade.

7. REFERÊNCIAS

- AGUIAR, Valdenilson; GONÇALVES, Glaciene Mary da S; FARIAS, Francisco Duarte. **Distribuição dos casos de Leishmaniose Visceral Humana (Calazar) em Pernambuco no ano 2002.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop.; 362; 39-40; 2003.
- ALVARENGA, Daniel Gomes de; et Al. **Leishmaniose visceral: estudo retrospectivo de fatores associados à letalidade.** Rev Soc Bras Med Trop; 43(2):194-197,mar-abr,2010.
- ASSIS, Tália Santana Machado de. et. al. **Validação do teste imunocromatográfico rápido IT-LEISH para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral humana.** Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília, 17(2):107-116, abr-jun, 2008.
- ASSIS, Tália Santana Machado de. **Avaliação de diferentes abordagens para o diagnóstico da leishmaniose visceral humana.** Belo Horizonte; Rev Soc Bras Med Trop s.n; 115 p. 2012.
- BORGES, Aercio Sebastião et. al. **Concomitância de leishmanioses e infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV): estudo de quatro casos.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop. vol.32 n.6 Uberaba Nov./Dec. 1999.
- CASTELLANO, Lúcio Roberto Cançado. **Resposta imune anti-Leishmania e mecanismos de evasão.** VITAE Academia Biomédica Digital, Número 25, Outubro - Diciembre 2005.
- COSTA, Carlos Henrique Nery; TAPETY, Conceição Maria M.; WERNECK, Guilherme L. **Controle da leishmaniose visceral em meio urbano: estudo de intervenção randomizado fatorial.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop. vol.40 no.4 Uberaba July/Aug. 2007
- GOMES, Izabelle Teixeira. **Desempenho da pesquisa de anticorpos AntiLeishmania (Leishmania) chagasi, por citometria de fluxo, na monitoração de cura na Leishmaniose Visceral Humana.** Centro de Pesquisas René Rachou Pós-Graduação em Ciência da Saúde – Fiocruz, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2006.
- GONTIJOL, Célia Maria Ferreira, MELO, Maria Norma. **Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas.** Rev. bras. epidemiol. Set 2004;7(3):338-49. Artigo por Colunista Portal - Educação - terça-feira, 12 de agosto de 2008.
- MARZOCHI, Mauro Célio de A.; et Al. **Leishmaniose visceral na cidade do Rio de Janeiro- Brasil.** Cadernos de saúde pública, R.J., 1(1) : 5-17, jan/mar, 1985.

MAGALHÃES, Priscila Brito. **Ocorrência de Leishmaniose Visceral Humana num Ecossistema de manguezal: primeiro relato de surto e fatores de risco associados.** 2009. 106 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) - Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2009.

MELO, Maria Norma. **Leishmaniose visceral no Brasil: Desafios e perspectivas.** XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & I Simpósio Latino-Americano de Ricketisioses, Ouro Preto, MG, 2004. Rev. Bras. Parasitol.Vet., v.23, suplemento 1, 2004.

MICHAEL O., et. al. **Urban parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil.** Trends in Parasitology, Vol. 27, No. 9. September 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de vigilância e controle da Leishmaniose visceral.** Brasília-DF; 1º edição – 3ª reimpressão. P.19-26, 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Leishmaniose Visceral: Recomendações clínicas para redução da letalidade.** Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília- DF, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de vigilância e controle da Leishmaniose visceral.** Brasília-DF; 1º edição – 5ª reimpressão. P.11, 2014

NEVES, Veras Camargo. **A Leishmaniose Visceral Americana no Estado de São Paulo: situação atual.** BEPA, Bol. epidemiol. paul. (Online) vol.4 nº.48 São Paulo dez. 2007.

NEVES,Vera Lúcia Fonseca de Camargo; SPINOLA, Roberta; LAGE, Lisete.**A leishmaniose Visceral Americana no Estado de São Paulo: Situação Epidemiológica em 2001-2002.** Rev Soc Bras Med Trop; 36(Supl.II): 27-29, nov.2004.

OLIVEIRA, Janaina Michelle de; et al. **Mortalidade por leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais.** Rev Soc Bras Med Trop; 43(2): 188-193, mar-abr. 2010.

OLIVEIRA, Simone Souza de. **Avaliação de estratégia otimizada para triagem e eliminação de cães no controle da leishmaniose visceral humana,** Salvador, 2011. 112p. Tese (Doutorado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Bahia.

PELLISSARI, Daniele Maria. et. al. **Tratamento da Leishmaniose Visceral e Leishmaniose Tegumentar Americana no Brasil.** Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília, 20(1):107-110, jan-mar 2011.

PIRMEZ, Cláudia. **Complexidade Crescente.** Leishmanioses. Revista Radis. Rio de Janeiro, n. 143, p. 10-12, 2014.

QUEIROZ, Márcia J. A. et.al. **Leishmaniose visceral: características clínico-epidemiológicas em crianças de área endêmica.** J. Pediatr. (Rio J.) vol.80 no.2 Porto Alegre Mar./Apr. 2004

RATH, Susanne et. al. **Antimoniais empregados no tratamento da Leishmaniose: Estado da arte.** Quim. Nova. Vol. 26, No. 4. 550-555 Campinas- SP Janeiro 2003.

REY, Luís. **Parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África.** 3° ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 400- 403, 2001.

SOUZA, Marcos Antônio et. al. **Leishmaniose Visceral Humana: do Diagnóstico ao Tratamento.** Rev. Cien. Saúde Nov. Esp. v. 10, n. 2. 2012.