

LEISHMANIOSE CUTÂNEA DIFUSA (LCD) NO BRASIL APÓS 60 ANOS DE SUA PRIMEIRA DESCRIÇÃO

DIFFUSE CUTANEOUS LEISHMANIASIS (DCL) IN BRAZIL AFTER 60 YEARS OF YOUR FIRST DESCRIPTION

Jackson M.L. Costa¹, Af Ali Uthant M.L. Costa², Ana Nilce Elkhoury³, Ana Célia R. Bezerril⁴, Aldina Barral¹, Ana Cristina R. Saldanha¹

¹Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz – Fundação Oswaldo Cruz/FIOCRUZ-Bahia, Brasil; ²Núcleo de Patologia Tropical e Medicina Social da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, Brasil; ³Secretaria de Vigilância Sanitária (SVS) do Ministério da Saúde do Brasil, Brasília, DF, Brasil; ⁴Secretaria de Saúde do Estado do Maranhão – SESMA, Maranhão, Brasil.

A leishmaniose cutânea difusa (LCD) é uma forma rara da leishmaniose tegumentar (LT), descrita em alguns países da América e África. No continente americano é causada pelo complexo *Leishmania* (*Leishmania mexicana*, *L. pifanoi*, *L. amazonensis*), transmitida no Brasil pelo *Lutzomyia flaviscutellata*. Realizou-se um estudo retrospectivo dos casos relatados de LCD no Brasil desde 1945 (1ª descrição), com o objetivo de avaliar a doença em nosso país. Foram estudados quarenta casos provenientes dos seguintes estados: Maranhão 16 (40%); Pará 8 (20%); Bahia 5 (12,5%); Mato Grosso 4 (10%); Tocantins 2 (5%); Acre 1 (2,5%); Amapá 1 (2,5%); Amazonas 1 (2,5%); Espírito Santo 1 (2,5%) e Pernambuco 1 (2,5%). A proporção entre masculino/feminino foi 2,4:1, média de idade 24 anos (6↔75 anos), a faixa etária de maior comprometimento foi de 11↔30 anos (47,5%). As apresentações clínicas mais prevalentes foram: nódulos (81%), placas infiltradas (67,6%), úlceras (40,6%), tubérculos (46%), havendo predomínio nos membros inferiores e face (67,7%), e membros superiores (61,3%). Em 14 (35%) pacientes houve comprometimento mucoso, (um caso da perfuração septal). Exames laboratoriais: esfregaço/*Leishmania* realizado e (+) em todos os casos, intradermoreação de Montenegro (IDRM) em 31 (77,5%) pacientes, 27 (87%) negativos, 1 (3,4%) falso positivo; 3 (9,6%) negativo/positivo. Cultivo em meios artificiais, sorologia (RIFI/ELISA), e inoculação de hamster (*Cricetus auratus*) em 23 (57,5%) pacientes (100% positividade). Em relação aos esquemas terapêuticos utilizados, tivemos: antimoniais trivalente (tártaro emético, fuadina, neostibosan, reprodal); anfotericina B, anfotericina B lipossomal, pentamidina (isotionato), aminosidina (sulfato), antimoniais pentavalentes (Glucantime®), imunoterapia, imunoterapia + antimonial pentavalente. Como conclusão: Observou-se refratariedade a todos os esquemas terapêuticos utilizados; a *L. amazonensis* é a responsável pela doença no Brasil; o tratamento permanece um desafio. Palavras-chave: leishmaniose cutânea difusa (LCD), *Leishmania amazonensis*, *Lutzomyia flaviscutellata*, Brasil.

Diffuse cutaneous leishmaniasis (DCL) is a rare form of cutaneous leishmaniasis (CL), being scattered in some countries in America and Africa. In our continent it is caused by the Leishmania complex (Leishmania mexicana, L. pifanoi, L. amazonensis) transmitted in Brazil by the bite of Lutzomyia flaviscutellata sandflies. We performed a retrospective review of all cases related in Brazil since 1945 with the aim to study the reality of DCL. Fourty cases described in our country were evaluated, proceeding from the following states: Maranhão 16 (40%); Pará 8 (20%); Bahia 5 (12.5%); Mato Grosso 4 (10%); Tocantins 2 (5%); Acre 1 (2.5%); Amapa 1 (2.5%); Amazonas 1 (2.5%); Espírito Santo 1 (2.5%) and Pernambuco 1 (2.5%). The male/female ratio was 2.4:1, mean of age 24 years (range 6-75 years) the age of most affected patients ranged from 11 to 30 years (47.5%). The most prevalent clinical presentations were nodes (81%), plaques (67.6%), ulcers (40.6%), tubercles (46%). The lesions were predominantly localized on anterior aspect of legs and face (67.7%) and upper limbs (61.3%). Fourteen mucosal lesions were related, with only one case of septal perforation. For laboratorial, scraping was performed in all cases, Montenegro skin test in 31 patients (77.5%), 27 (87%) negative, 1 (3.4%) false positive; 3 (9.6%) positive-negative. Culture, serology, hamster inoculation (Cricetus auratus) were also performed (23 patients each) with 100% positivity. The therapeutic approaches included trivalent antimonials (potassium tartarate, fuadina, neostibosan, reprodal) amphotericin B, lipossomal amphotericin B, pentamidine (isethionate), aminosidine (sulphate), pentavalent antimonials (Glucantime®), immunotherapy, immunotherapy+pentavalent antimonials. The follow up of the patients was refractory to all the therapeutic approaches. Thus, it was demonstrated that L. amazonensis is the responsible for the disease and the treatment remains a challenge. Key words. Diffuse cutaneous leishmaniasis, Leishmania amazonensis, Lutzomyia flaviscutellata, Brazil.

As primeiras descrições da leishmaniose cutânea difusa (LCD) foram feitas no Brasil, Venezuela e Bolívia. Os autores

Recebido em 16/05/2009

Aceito em 08/06/2009

Endereço para correspondência: Dr. Jackson M.L. Costa, Laboratório de Imunoparasitologia (LIP) do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz – Fundação Oswaldo Cruz/FIOCRUZ – Bahia, Rua Valdemar Falcão, 121(Candeal), Salvador/Bahia CEP: 40295-001. Endereço eletrônico: jcosta@bahia.fiocruz.br. Tel. (+5571) 31762351 fax: (+5571) 31762279.

Gazeta Médica da Bahia

2009;79 (Supl.3):16-24

© 2009 Gazeta Médica da Bahia. Todos os direitos reservados.

chamaram atenção para as manifestações clínicas do tipo maculopapulodulares, a disseminação da doença, sua cronicidade, riqueza parasitária, refratariedade aos tratamentos e sua semelhança com a hanseníase virchowiana^(7, 16, 65). Esta variante da leishmaniose tegumentar (LT) é considerada rara caracterizando-se por maciço comprometimento dérmico, de natureza crônica, com recidivas frequentes e anergia ao teste intradérmico de Montenegro (IDRM)^(11, 21).

A doença foi relatada em outros países da América Latina e África, recebendo algumas denominações, tais como:

leishmaniose dérmica não ulcerada em nódulos e placas infiltradas e hiperpigmentadas; leishmaniose disseminada; caso atípico de leishmaniose muco-cutânea; leishmaniose disseminada de aspecto lepromatoso; leishmaniose cutânea nódulo tumoral; leishmaniose americana anérgica disseminada; leishmaniose tegumentar queloidiana; leishmaniose lepromatosa; leishmaniose cutânea difusa; leishmaniose anérgica hansenoide; leishmaniose anérgica cutânea difusa entre outras. No entanto, a designação LCD, parece ser a mais utilizada na literatura^(11, 29, 45).

Apresenta aspecto clínico, imunológico, parasitológico, anatomopatológico e terapêutico diferente de outras formas de LT, existindo duas possibilidades para explicar esta diversidade: 1º – As diferenças se devem a uma deficiência imunológica específica do hospedeiro; 2º - Representam duas entidades diversas, causadas por subespécies diferentes de leishmanias capazes de induzir imunodepressão específica no hospedeiro infectado^(11, 16, 17, 21, 24, 67, 71).

A fonte de infecção e os mecanismos de transmissão na LCD são similares aos da leishmaniose cutânea (LC). No continente americano o vetor mais importante é o *Lutzomyia flacustellata*, inseto considerado pouco antropofílico. A ocorrência da doença é igual entre os gêneros e diferentes faixas etárias, havendo relatos de vários componentes da mesma família na República Dominicana. Sob o ponto de vista clínico, inicialmente apresenta-se como mácula, pápula ou nódulo no local da inoculação. Ao contrário da LC, não ocorre ulceração, evoluindo com o aparecimento de outras lesões semelhantes na vizinhança, ocorrendo disseminação hematogênica do parasito após meses ou anos, com aparecimento de lesões em várias partes do corpo, como: face (nariz, regiões malares, lábio superior, orelhas) e membros (braços, antebraços, pernas, pés). A doença poupa couro cabeludo, regiões inguinocrurais, axilares e palmares^(4, 11, 26, 30). As lesões apresentam-se como eritemas, pápulas, tubérculos, nódulos, infiltrações difusas e aspecto tumoral. A infiltração pode envolver extensas áreas do corpo e quando presente na face, confere ao paciente aspecto leonino, lembrando a forma virchowiana da Hanseníase^(11, 46, 67, 74).

Não existem relatos na literatura dos aspectos anatomopatológicos iniciais na LCD. Como os pacientes são diagnosticados na fase evolutiva da doença, nota-se um quadro monótono, constituído por macrófagos vacuolizados, repletos de parasitos, obscurecendo as estruturas da derme e da hipoderme. Nas lesões que envolvem espontaneamente ou por ação do tratamento, vêem-se também áreas de fibrose e de necrose lítica. Não se observa eosinófilos nas lesões, embora BITTENCOURT *et al.*, (1992)⁽⁸⁾, tenham demonstrado essas células em um caso de longa evolução, com infiltrado tecidual que desapareceram no curso do tratamento.

Do ponto de vista imunológico chama atenção o teste de IDRM e transformação linfoblástica serem negativos. Esta ausência de resposta imunocelular é específica, existindo resposta a outros testes de hipersensibilidade tardia (PPD, candidina, tricofitina, DNCB), o que possibilita a elaboração

de algumas hipóteses sobre os fatores que tem implicação fisiopatogênica^(4, 12, 43).

Os primeiros relatos sobre a terapêutica na LCD pertencem a SILVA (1945)⁽¹¹⁾, quando utilizou o tártaro emético (Sb⁺³) com resultado pouco satisfatório. Posteriormente, vários outros esquemas terapêuticos foram utilizados, destacando-se: uso de calor local, fudadina, neostibosan, injeção de soro antigangrenoso, ureostibamida, estibogluconato de sódio, antimoniato-N-metilglucamina, anfotericina B, pentamidinas, anfotericina B lipossomal. Observou-se ainda, o uso de associações entre as drogas citadas e também de imunoterapia+quimioterapia, havendo relato de melhora, e em alguns casos, regressão completa do quadro clínico, com recidivas freqüentes após o término do tratamento^(12, 23, 28, 49, 52). Remissão clínica e conversão da IDRM foi descrita por BRYCESON, (1970)⁽¹²⁾, na Etiópia, após uso de dimetasulfonato de pentamidina e anfotericina B em pacientes com LCD.

Justifica-se, portanto, o presente estudo com um enfoque da LCD no Brasil, tendo como objetivos: determinar o padrão demográfico da doença, descrever seus aspectos clínicos, exames complementares realizados, tratamentos utilizados, efeitos adversos, e as complicações decorrentes da evolução da doença.

Material e Métodos

Neste artigo, os autores reavaliam quinze anos de estudos dedicados a LCD, período que acompanharam 14 pacientes com a doença no estado do Maranhão, nordeste do Brasil. Trata-se, de um estudo retrospectivo, realizado no Núcleo de Patologia Tropical da Universidade Federal do Maranhão–UFMA e no Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM-FIOCRUZ-Bahia), no qual foram incluídos 40 casos de LCD relatados desde 1945, ano da 1ª descrição no Brasil e no mundo, por meio de levantamento da literatura, usando trabalhos publicados (artigos científicos, resumos de congressos, comunicações) e contatos com profissionais médicos que trabalharam com a doença.

Os dados obtidos foram agrupados em um questionário padrão na forma de ficha protocolar. Nesta ficha registraram-se dados referentes ao ano em que o caso foi relatado, sexo, idade, cor, procedência, tempo de evolução da doença, manifestação clínica, localização das lesões, presença de lesões mucosas e sua localização, presença de alterações ósseas e lesões de mamilo, evolução clínica e complicações.

Avaliou-se ainda, exames complementares que confirmaram o diagnóstico de LCD, entre eles: IDRM, esfregaço em lâminas (pesquisa de *Leishmania*), cultura em meios artificiais, anatomopatológico, inoculação em hamster (*Cricetus auratus*), caracterização da cepa (anticorpos monoclonais) e sorologia (imunofluorescência indireta/RIFI ou Enzyme Linked immunosorbent assay/ELISA).

Uma vez registrados, os dados foram codificados e submetidos a análise estatística pelo programa EPI-INFO versão 6.0 do Center for Diseases Control (CDC)-EUA. A partir dessa etapa fez-se a interpretação dos dados, obtendo-se

valores absolutos e percentuais de cada variável pesquisada, além de agrupá-los na forma de gráficos e tabelas.

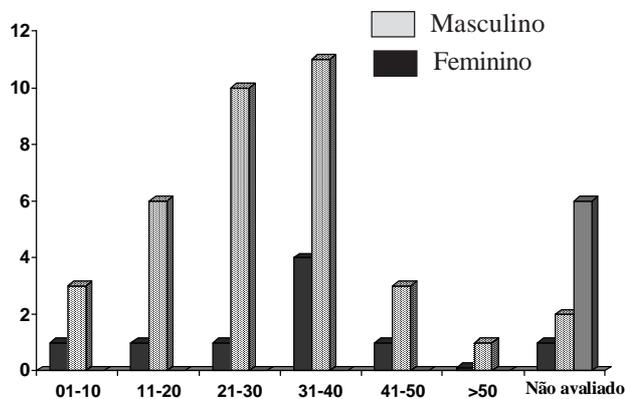
Resultados

Aspectos epidemiológicos e clínicos

Dos 40 pacientes catalogados, 27 (67,5%) eram do sexo masculino, 7 (17,5%) do feminino, e em 6 (15%) não havia relato. No que diz respeito à idade, observou-se variação de seis a 75 anos, havendo maior concentração de casos nas faixas etárias entre 11 a 30 anos (47,5%). Em relação à cor, 21 (52,5%) eram pardos, 7 (17,5%) negros, 5 (12,5%) brancos e de 7 (17,5%) não havia relato. A Figura 1 mostra a distribuição dos casos de LCD do Brasil quanto ao sexo relacionando com faixa etária. Os 40 pacientes eram procedentes de dez estados brasileiros, sendo 16 (40%) do Maranhão, 8 (20%) do Pará, 5 (12,5%) da Bahia, 4 (10%) de Mato Grosso e 2 (5%) de Tocantins. Nos estados do Acre, Amazonas, Amapá, Espírito Santo e Pernambuco, houve relato de apenas 1 caso. A Figura 2 mostra a procedência dos casos de LCD por estados brasileiros.

O tempo de evolução da doença, no momento do diagnóstico, variou de menos de um até 20 anos, com a seguinte distribuição percentual: 5% com < 1 ano de evolução, 47,5% entre 1 a 5 anos, 12,5% (6 a 10 anos), 15% (11 a 15), 2,5% (16 a 20 anos) e 17,5% com tempo de doença ignorado. Quanto

Figura 1. Distribuição quanto ao sexo e a faixa etária dos casos de leishmaniose cutânea difusa (LCD) no Brasil (1945-2005).



ao aspecto das lesões, de acordo com a frequência de ocorrência, foram observados seis grandes grupos: úlceras, placas, nódulos, vegetação, tubérculos e pápulas, havendo, de um modo geral, associação entre elas em um mesmo paciente. A Tabela 1 traz a frequência das manifestações clínicas observadas no estudo. Cinco (12,5%) pacientes apresentaram outros tipos de lesões que não foram catalogadas nos seis grupos citados, sendo: (um) paciente com manchas hipercrômicas, (um) lesão tipo papiloma, (um)

Tabela 1. Frequência de manifestações clínicas dos pacientes com leishmaniose cutânea difusa (LCD), Brasil (1945-2005).

Pacientes		Tipo de lesão	Frequência		Subtipo de lesão	Frequência	
N	%		N	%		N	%
37	92,5	Placas	25	67,6	Infiltradas	18	72
					Queloidianas	1	4
					Infiltrada hiperpigmentada	1	4
		Nódulos	30	81	Infiltrado	19	63,4
					Queloidiano	1	3,4
					Eritematoso	1	3,4
		Vegetação	7	19	Tumoral	2	6,8
					Ulcerada	2	28,6
					Pseudotumoral	1	14,3
		Úlcera	15	40,6	Verrugo-papilomatosa	2	28,6
					Franca	9	60
					Fagedenica	1	6,7
		Papula	7	18,9	Crostosa	2	13,4
					-	4	57,2
					Tuberosa	2	28,6
		Tubérculo	17	46	Nodulares	1	14,3
					-	11	64,8
					Verrucosa	1	5,9
		Outras			-		
		Mancha	1	3	Hpercrômica	1	
		Papiloma	1	3	-	1	
		Goma	1	3	-	1	
		Esclerodermiforme	2	6	-	2	

Figura 2. Distribuição e percentual de pacientes, com leishmaniose cutânea difusa (LCD) segundo Estado de procedência, Brasil (1945-2005).

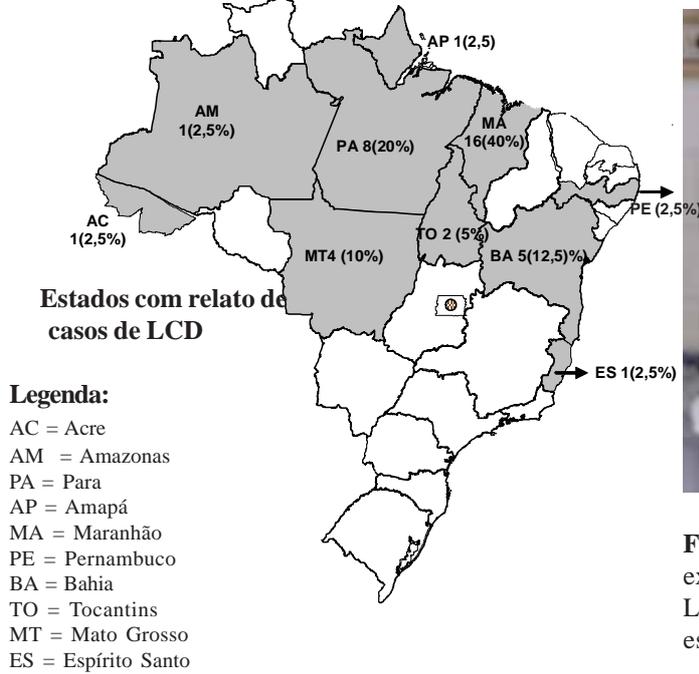


Figura 4. Lesões do tipo pólipoide na base da orelha esquerda, associado à placa infiltrada com exulceração no contorno da orelha. Lesão do tipo tubérculo na asa do nariz esquerdo.



Figura 5. Lesões do tipo placas infiltrativas, algumas com exulceração comprometendo as pernas direita e esquerda. Lesão do tipo tubérculo com exulceração localizada no joelho esquerdo.



ólipo vegetante
 or e nariz e outra

lesão gomosa, (dois) áreas esclerodermiformes, e (um) lesão pustulosa. Em 3 (7,5%) pacientes não houve relato quanto aos aspectos clínicos das lesões. As Figuras 3 a 5 mostram o polimorfismo lesional da LCD no Brasil.

Em relação à tipografia, as lesões se apresentaram com frequência de ocorrência em geral associada, havendo sempre caráter de disseminação pelo corpo. Em 9 (22,5%) pacientes não houve relato da localização das lesões. No que diz respeito à presença de lesões mucosas, houve relato de que 14 (35%) pacientes apresentaram esse acometimento, sendo 5 (35,8%) com lesão de mucosa nasal. Desses, um apresentou perfuração septal. Nove (64,2%) apresentaram lesão concomitante em nariz e lábios. Dos 14 pacientes que apresentaram lesão mucosa, 9 (64,3%) tiveram IDRMs negativos, 2 (14,3) alternaram resultados positivo-negativos, de um não havia relato e 2 (14,3) não fizeram a IDRMs. Seis (42,8%) apresentavam tempo de doença de um a cinco anos, 3 (21,4%) de 11 a 15 anos, um menos de um ano e de outro não havia relato.

Dos 40 pacientes, 6 (15%) apresentaram linfadenomegalia palpável; deles, 4 (66,6%) apresentavam IDRMs (-) e dois não fizeram o exame; 4 (66,6%) com tempo de doença entre 1 e 5 anos, um (6 a 10); e um (11 a 15 anos). Três (7,5%) apresentaram lesão em mamilo, dois eram procedentes do Maranhão, um com 4, e outro com 7 anos de doença, e um procedia do estado do Pará, com tempo de doença de 11 anos.

Nove (22,5%) pacientes apresentaram deformidades ósseas, um era procedente do estado do Pará com tempo de doença de 7 anos, apresentava lesões cutâneas em membros inferiores e superiores, tronco, face, caso relatado em 1951. Os outros 8 (20%) procediam do Maranhão, com tempo de doença variável de 1 a 4 anos. As lesões eram do tipo deformidade óssea predominante nas extremidades (mãos e pés).

Exames complementares

A IDRMs foi realizada em 30 (75%) pacientes, apresentando-se negativa em 27 (90%), com resultado alternante positivo-negativo em 2 (6,6%) pacientes, e falso-positivo (um). O esfregaço em lâminas foi feito em 31 (77,5%) pacientes, sendo positivo em 100% dos casos, o mesmo acontecendo com o exame anatomopatológico – presença de aspecto macrofágico em 100%. Dos 9 pacientes que apresentaram deformidades ósseas, 4 (44,5%) mostravam seqüestro ósseo, associado a necrose óssea no exame anatomopatológico - imunohistoquímica com presença de *Leishmania amazonensis*.

Em relação à cultura em meios artificiais (Agar difco NNN) e inoculação em hamster, o índice de positividade foi de 100%. Quanto à sorologia (RIFI/ELISA), realizada em 22 (55%) pacientes, observou-se 100% de positividade. O isolamento e a caracterização de cepa foi realizado em material de 24 (60%) pacientes, sendo isolado e caracterizado (*Leishmania amazonensis*) em 23 (95,8%) e (*Leishmania braziliensis*) em um paciente.

Evolução terapêutica

Diversos esquemas terapêuticos foram usados, modo geral, múltiplas drogas, incluindo: Sb⁺³, Sb⁺⁵, imunoterápicos, pentamidinas, anfotericina B, anfotericina B lipossomal, sulfato de aminosidina e alopurinol. A frequência de uso das medicações obedeceu a seguinte distribuição: Sb⁺³ em três (7,5%) pacientes; 16 (40%) usaram Sb⁺⁵ (antimoniato-N-metilglucamina) em esquemas diversos: oito (50%) usaram antimoniato-N-metilglucamina, cinco (31,2%) Sb⁺⁵+ interferon-gama (IFN- γ), um Sb⁺⁵+ levamisole, o mesmo ocorrendo em outros 2 pacientes, dos quais 1 usou associado ao interferon-alfa (IFN- α), e o outro associado a imunostimulação com antígeno de Montenegro. Em relação ao uso de imunoterápico: um paciente utilizou vacina anti-*Leishmania*+BCG, 5 (12,5%) usaram sulfato de aminosidina, 8 (20%) pentamidina, 8 (20%) anfotericina B e 1 fez uso de alopurinol e 8 (20%) anfotericina B lipossomal. Vale destacar que, em função de freqüentes recidivas, o mesmo paciente foi submetido a variados esquemas terapêuticos durante sua evolução. Dois pacientes usaram ainda calor local + Glucantime[®] + Leishvacin[®]. Em dez (25%) casos não houve relato do tratamento.

No que diz respeito à evolução dos pacientes: 13 (32,5%) tiveram evolução clínica ignorada, 13 (32,5%) melhora após tratamento, 5 (12,5%) evoluíram para óbito, sendo (dois) causas alheias a doença (um) causa não estabelecida, (um) afogamento), (um) insuficiência renal após uso de anfotericina B, (um) evoluiu para maglignização de uma das lesões (carcinoma epidermoide) e (um) complicações infecciosas durante a internação (infecção hospitalar).

Discussão

Apesar do número reduzido de casos de LCD no Brasil, observou-se na casuística estudada maior frequência do gênero masculino, provavelmente por sua maior exposição ao vetor da doença^(26, 29, 68). O mesmo padrão evidencia-se em relação à faixa etária, ocorrendo maior comprometimento de adultos jovens (38,4%), também guardando relação direta com a maior exposição.

Em virtude do Maranhão, ter apresentado o maior número de casos da doença, vale ressaltar a influência de fatores geográficos sobre a distribuição das leishmanias nessa região do Nordeste brasileiro, considerada área de transição entre Amazônia e semiárido, havendo associação entre seus diferentes subgêneros e a existência de vetores suscetíveis que permitiriam o desenvolvimento do ciclo biológico e posterior transmissão para seus hospedeiros^(29, 32, 37, 62). Nesse Estado, entretanto, ainda não existe descrição concreta sobre a distribuição topográfica dos flebotomíneos associada a diferentes subgêneros de *Leishmania*, havendo relatos que atestam a presença da *L. amazonensis* como responsável pelos casos de LCD e do *Lutzomyia flaviscutellata* como vetor em diversas áreas do Estado^(1, 59, 60, 61).

Pode-se observar que os pacientes apresentaram evolução lenta da doença, pois a maioria (77,5%) tinha tempo superior a um ano, justificando-se tal fato pela dificuldade de diagnóstico

inicial e refratariedade aos tratamentos instituídos, passando, então, a ter melhor investigação. O intervalo de tempo transcorrido entre o aparecimento da lesão inicial e a disseminação, que segundo Fonseca *et al.*, (1981)⁽³⁵⁾, ocorre por via hematogênica, foi variável de meses a anos, sendo encontrado caso com evolução menor que um ano. Neva *et al.*, (1984)⁽⁴⁹⁾, na República Dominicana, e Silveira *et al.*, (1993)⁽⁶⁹⁾, (1993)⁽⁷⁰⁾, no Pará, relataram remissão clínica de pacientes com LCD, com uso de calor local + imuno + quimioterapia, respectivamente, utilizados antes da disseminação. Tais autores ressaltaram a importância da relação diagnóstico e terapêutica precoces como fatores determinantes de melhor prognóstico.

Os aspectos clínicos mostraram-se similares aos encontrados por outros autores, caracterizando-se por lesões nódulo-tumorais e placas infiltradas^(11,12,34). Neste estudo, 40,6% dos pacientes apresentaram lesões ulceradas, que podem ser explicadas, segundo Bittencourt *et al.*, (1992)⁽⁸⁾, pela ação de causas secundárias, como traumas ou infecções, facilitando os microtraumatismos e, conseqüentemente, a migração de microorganismos existentes na pele para a lesão. Entretanto, estes mesmos autores demonstraram que a ocorrência de lesões ulceradas na LCD pode estar relacionada à elevada infiltração eosinofílica encontrada nas úlceras dos pacientes, com muitas dessas células exibindo degranulação. Sua associação a macrófagos parasitados lisados e parasitos mortos poderia indicar o papel parasiticida do eosinófilo na definição da lesão.

Na clínica, a LCD é facilmente diferenciada da leishmaniose dérmica pós-calazar (PKDL) (Thakur, 1984)⁽⁷²⁾, e também da leishmaniose cutânea disseminada (LD), que se apresentam com lesões múltiplas, de curta duração, resposta imunológica ao antígeno de *Leishmania* e boa resposta terapêutica^(15,25). Barral *et al.*, (1995)⁽⁴⁾, estudando 6 pacientes com LCD, afirmaram que tal doença é mais heterogênea do que se acreditava anteriormente, pois foi observado um espectro de comportamento imunológico. Em um extremo, chamado de forma polar da LCD os pacientes ou suas células imunes eram incapazes de responder à estimulação com antígenos de *Leishmania*, ao passo que na forma denominada subpolar podia ser detectada uma resposta, ainda que fraca, aos extratos do parasito.

Quanto à localização das lesões, as áreas mais acometidas foram: face (nariz, lábios, orelhas e outras regiões) e os membros, encontrando-se de acordo com outras citações^(11,33,34). A lesão cutânea foi em geral multissegmentar, sendo disseminadas pelo corpo, condizentes com os registros da literatura, provavelmente resultante das características imunológicas apresentadas pelos pacientes. Segundo Fonseca *et al.*, (1981)⁽³⁵⁾, a disseminação ocorre por via hematogênica e correlaciona-se com a deficiência imunocelular específica, apontada como responsável pela perpetuação do quadro clínico, embora alguns autores defendam a hipótese de que essa deficiência seja conseqüência e não a causa da disseminação das lesões^(9,36,43).

Contradizendo a literatura, 35,3% dos pacientes apresentavam lesão mucosa, um com perfuração de septo

nasal. As descrições referem lesões discretas, apenas infiltração da mucosa nasal por contigüidade, com raros relatos de destruição do septo nasal ou presença de pólipos nas mucosas labial e nasal^(11,19,47). O envolvimento torácico ocorreu em 14,8% dos pacientes com a doença. Embora o comprometimento mamilar seja raro na LCD^(27,28), o encontramos em 9,7% dos pacientes desta casuística. No estudo, 19,4% dos pacientes apresentaram linfadenomegalia palpável. Além dos linfonodos, não foi evidenciado comprometimento de outros órgãos além da pele e mucosa. Fato também observado por outros autores^(40,57).

Deformidades estruturais dos dedos das mãos e pés, associados a exulcerações levando a limitações funcionais importantes, foi observada em nove pacientes deste estudo. O(s) mecanismo(s) para explicar a(s) causa(s) ainda não foram totalmente esclarecidos, havendo hipótese de que as lesões possam ser secundárias a fibrose da pele e partes moles, devido proliferação fibroblástica com acentuada retração cicatricial e determinação de uma espécie de encarceramento local^(51,63,66). Outra hipótese seria em conseqüência de traumatismo direto nas proeminências ósseas das extremidades^(41,58). Recentemente Costa *et al.*, (2004; 2005)^(31,32), descreveram os aspectos clínicos, de imagens (radiografia e cintilografia óssea) e anatomo-patológico de infecção óssea por *L. (L.) amazonensis* em quatro pacientes com LCD. Tais autores utilizaram ainda este parasita em modelos experimentais, caracterizando a osteomielite crônica com presença de seqüestro e necrose óssea, definindo assim a relação da *Leishmania* com o tecido ósseo e cartilaginoso, faltando ainda esclarecer a fisopatogenia da destruição óssea.

A IDRM negativa atesta a deficiência da imunidade celular específica dos casos em relação aos antígenos parasitários, proporcionando acúmulo de leishmanias nas lesões e a manutenção de altos níveis de antígenos, provavelmente responsáveis pela perpetuação da ausência de resposta específica^(55,56). Na evolução da doença, esporadicamente a IDRM pode tornar-se positiva, sobretudo quando os pacientes estão sob uso de algum medicamento específico^(12,29,71).

Estudos imunológicos realizados na Etiópia em pacientes com LCD demonstraram que os níveis de imunoglobulinas foram normais, a resposta a lepromina e a tuberculina foi positiva, embora a IDRM tenha sido negativa, e a ocorrência de infecções concomitantes como: herpes simples, pneumonia lobar, amebíase, não foram consideradas mais graves do que a habitual⁽¹²⁾. Esses achados confirmam a imunodeficiência celular específica dos pacientes com LCD, podendo ser congênita ou resultar de depressão primária da imunidade celular provocada pela própria infecção por *Leishmania* ou por algum evento ainda desconhecido^(12,24,55). A sorologia foi realizada em 55% dos pacientes, com 100%(+), concordando com a literatura^(11,18,20,34).

Na LT, em praticamente todas as formas clínicas, há produção de anticorpos, não sendo sua presença e intensidade relacionadas com a proteção do hospedeiro^(3,5). Estudos

experimentais referiram ser a titulação de anticorpos anti-*Leishmania* inversamente proporcional à atividade macrofágica, proporcionando formas mais graves do que as ocorridas em humanos, podendo ocorrer o desenvolvimento de LCD ou a leishmaniose visceral⁽⁵⁾. Das técnicas para a avaliação sorológica, o teste Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) é particularmente mais econômico quanto ao uso dos reagentes e um dos mais empregados por permitir que maior número de amostras sejam testadas em menos tempo⁽³⁹⁾.

O esfregaço em lâminas realizado em 77,5% dos pacientes, com 100% de positividade, é justificado pela riqueza parasitária encontrada nas lesões, diferindo da forma cutânea, em que às vezes os parasitas são escassos^(6, 9). A realização da cultura do material obtido das lesões em meios artificiais é importante no sentido de isolar o parasito e posteriormente caracterizá-lo. O meio de cultura mais utilizado foi NNN, realizado em 54,2% dos pacientes, com 100% de positividade⁽⁹⁾.

A caracterização do parasito pode ser feita *in situ*, em cortes de parafina de biopsias fixados em formol, fazendo-se a marcação com anticorpos anti-*L. amazonensis*^(9, 10). Tal exame foi realizado em 60% dos pacientes com 95,8% de positividade para *L. amazonensis* e 4,2% para *L. braziliensis*. Este último foi isolado por NERY-GUIMARAES, (1951)⁽⁵⁰⁾, na época em que a *L. amazonensis* não havia sido caracterizada como parasito responsável pela LT⁽⁴²⁾. No Brasil, a *Leishmania amazonensis* está associada com maior frequência, a casos de leishmaniose cutânea localizada (LCL), podendo eventualmente, está associada à doença difusa (LCD)⁽²⁹⁾. A inoculação em hamster (*Cricetus auratus*) foi realizada em 41,9% dos relatos, também com 100% de positividade, explicada pela riqueza parasitária encontrada nas lesões.

No que diz respeito ao tratamento da LCD, ainda são necessárias novas pesquisas para estabelecimento de um esquema comprovadamente eficaz. Os primeiros relatos pertencem a SILVA (1945)⁽⁶⁵⁾, quando utilizou o Sb⁺³, em um paciente com LCD, com resultados insatisfatórios. Posteriormente, Convit & Lapenta (1946)⁽¹⁶⁾, na Venezuela, e Barrientos (1948)⁽⁷⁾, na Bolívia, usaram também sem sucesso essa medicação. Com o advento dos Sb⁺⁵ a LCD passou a ser tratada com esses medicamentos, apesar dos constantes insucessos, tanto no Brasil como em outros países. O percentual de falha terapêutica com o Sb⁺⁵, usado como única droga no tratamento da LCD é de 95% segundo alguns autores^(22, 23, 26).

Os Sb⁺⁵ preconizados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para doença produzida por *L. braziliensis* e *L. amazonensis* são: antimoniato-N-metilglucamina (Glucantime[®]) e estibogluconato de sódio (Pentostan[®]) na dose de 20mg/Sb⁺⁵/kg/dia/período mínimo de quatro semanas^(44, 52, 53, 75). Os avanços surgiram em relação à dose e duração do tratamento com preferência atual para o tratamento sem interrupção e com doses menores do que as anteriormente recomendadas, calculadas em mg/Sb⁺⁵/kg/dia⁽⁷⁵⁾. Na LCD, causada por *L. amazonensis*, a dose recomendada é de 20mg/Sb⁺⁵/kg/dia/30 dias. Utilizam-se os mesmos critérios adotados para a forma cutânea. De um modo geral, a resposta à terapêutica

é inicialmente parcial, devendo esses pacientes ser acompanhados por serviço especializado por um longo período^(13, 14, 33). Vélez et al., (1994)⁽⁷⁴⁾, na Colômbia, relataram sucesso no tratamento de um paciente com LCD usando apenas o Sb⁺⁵, não havendo recidiva das lesões. No mesmo caso os autores isolaram a *L. (V.) panamensis*, parasita nunca antes incriminado como responsável por essa forma da doença.

A refratariedade aos esquemas terapêuticos em pacientes com LT é conhecida, mesmo quando tratados com doses elevadas e por tempo prolongado. Isso ocorre tanto nos casos de leishmaniose mucosa, nas formas disseminadas e até em algumas formas localizadas da doença. Nos casos de LCD, essa não resposta à terapia deve-se a alguma deficiência da imunidade celular específica apresentada pelos pacientes^(6, 25). Em alguns casos, essa falha pode ser atribuída a reinfeção ou alterações nas condições imunológicas, fisiológicas, ou nutricionais dos pacientes ou, ainda, a problemas na farmacocinética da droga ou na formulação da medicação utilizada^(6, 64). Porém, já foram comprovadas, *in vitro*, a diferença na sensibilidade natural de diversas cepas de *Leishmania* e a ocorrência de resistência aos Sb⁺⁵. O mecanismo de resistência adquirida estaria determinado por frações do genoma do parasita que contém genes de resistência a drogas que poderiam ser desprezadas por tratamentos subterapêuticos, produzindo-se pressão seletiva das cepas menos sensíveis^(38, 64).

As drogas de segunda linha para o tratamento das leishmanioses são a anfotericina B e pentamidinas, que, pelas dificuldades de administração e pelo potencial tóxico, demandam internação hospitalar dos pacientes, sendo por isso, reservadas para casos clínicos especiais como a LCD. Bryceson, (1970)⁽¹²⁾, na Etiópia, refere cura clínica e conversão da IDRM após a utilização de dimetassulfonato de pentamida e anfotericina B em 17 (51,5%) pacientes de sua casuística, sem relato de recidiva após seguimento de três anos.

Convit et al., (1989)⁽²³⁾, na Venezuela, utilizaram injeções intradérmicas de promastigotas mortos de *L. amazonensis*+BCG+Sb⁺⁵. Nos resultados observaram melhora clínica em nove de dez de seus pacientes, sem, entretanto, relatar cura. A evolução da doença tende a cronicidade e a incurabilidade, cujo grande desafio, é à busca de terapêutica eficaz capaz de modificar o quadro atual da doença considerada estigmatizante^(12, 26, 73, 74).

Na LCD, alguns estudos com material humano, demonstraram que a ausência de resposta imunocelular seria devido à falta ou deficiência de linfocinas, tais como: interleucinas, IFN- γ e prostaglandinas - substâncias ativadoras de macrófagos e mediadoras da resposta imune do organismo^(4, 5, 61). Esse fato foi decisivo para o uso da associação de Sb⁺⁵+INF- γ , no tratamento de pacientes com a forma refratária da leishmaniose visceral (LV). Os resultados motivaram o uso do mesmo esquema terapêutico em pacientes com LCD no estado do Maranhão, observando-se boa resposta clínica em um paciente que apresentou cura clínica com reversão da IDRM após término do tratamento^(2, 29). Neste estudo, foi observado

que os pacientes apresentavam baixas ou ausências de resposta linfoproliferativa e de produção de IFN- γ para antígeno de *Leishmania*. A avaliação da expressão de RNA mensageiro para citocinas demonstrou que células mononucleares de pacientes com LCD expressam grandes quantidades de IL-10 e IL-4 e baixas quantidades de IFN- γ durante a fase ativa da doença. Após a terapêutica e atenuação das lesões, a expressão de IL-10 diminui enquanto que a expressão de IFN- γ aumenta⁽¹⁰⁾. Concentrações elevadas de IL-10 foram encontradas em sobrenadantes de culturas de CMSP dos pacientes com LCD, estimuladas com antígenos de *Leishmania*. Estes dados, demonstraram que a principal deficiência imunológica na LCD é a incapacidade de produção de IFN- γ , e que a IL-10 tem papel importante nessa modulação negativa.

Na Etiópia, Tecklemarian *et al.*, (1984)⁽⁷³⁾, referiram sucesso no tratamento da LCD, após uso combinado de estibogluconato de sódio+sulfato de aminosidina em dois pacientes com evolução prolongada da doença. A dose utilizada do sulfato de aminosidina foi de 14mg/kg/peso/dia e do estibogluconato de sódio de 10mg/Sb⁺⁵/kg/dia/60 dias, sendo mantido por 2 meses após a cura parasitológica. O seguimento dos pacientes mostrou ocorrência de normalização da imunidade específica mediada por células, havendo síntese de IL-2 e IFN- γ em um paciente e de IL-4 em outro. O seguimento dos pacientes foram de 3 a 21 meses após o tratamento, não sendo observado sinais de recidiva. Nota-se que em se tratando de doença crônica, torna-se difícil o acompanhamento evolutivo dos pacientes, como ocorreu no Brasil em que 32,5% dos casos, foram considerados ignorados. Enquanto que, a cura clínica ocorreu em 8,2%, dado que deve ser avaliado com reservas, pois não dispomos ainda de critérios de cura definitiva na LCD.

Agradecimentos

Estes 15 anos de estudos sobre a LCD no Maranhão, foram financiados pelos seguintes órgãos: Ministério da Saúde, Universidade Federal do Maranhão/UFMA, Conselho Nacional de Pesquisa/CNPq, Secretaria de Saúde do Maranhão/SESMA, Fundação Gonçalo Moniz/FIOCRUZ/Bahia. Estas observações aqui catalogadas foram frutos do trabalho individual de diversos colegas que merecem serem mencionados: Antonio R. da Silva, Conceição M. Pedroso e Silva, Marta Solange C. Moraes (UFMA); Achiléa L. Bittencourt, Edgard M. Carvalho, Roberto Badaró (Universidade Federal da Bahia-UFBA); Carlos E.P. Corbett e Marcelo N. Burattini (Universidade de São Paulo-USP).

Referências

- Alvim MC. Distribuição geográfica dos flebotomíneos do Maranhão. Rev Soc Bras Med Trop 24(supl II):285, 103, 1991.
- Badaró R, Johnson Jr WD. The role of interferon gamma in the treatment of visceral and diffuse cutaneous leishmaniasis. J Inf Dis 167: 13-17, 1993.
- Barral A, Pedral Sampaio D, Grimaldi Jr G, Momem HMC, Mahon-Pratt D, Jesus A, Almeida R, Badaró R, Barral-Netto M, Carvalho EM, Johnson Jr WD. Leishmaniasis in Bahia, Brazil: evidence that *Leishmania amazonensis* produces a wide spectrum of clinical disease. Am J Trop Med Hyg 44: 536-546, 1991.
- Barral A, Costa JML, Bittencourt AL, Barral-Netto M, Carvalho EM. Polar and subpolar diffuse cutaneous leishmaniasis in Brazil: clinical and immunopathologic aspects. Int J Derm. 33: 474-479, 1995.
- Barral-Netto M, Badaró R, Barral A, Carvalho EM. Imunologia da leishmaniose tegumentar. Revisão. Rev Soc Bras Med Trop 19:173-191, 1986.
- Barral-Netto M, Machado PL, Barral A. Human cutaneous leishmaniasis. Recent advances in physiopathology and treatment. Eur J Derm 5:104 -113, 1995.
- Barrientos PL. Um caso atípico de leishmaniose cutâneo-mucosa. Mem Inst Oswaldo Cruz 46: 415-418, 1948.
- Bittencourt AL, Barral A, Costa JML, Saldanha ACR, Badaró R, Barral-Netto M, Freitas LAR. Diffuse cutaneous leishmaniasis with atypical aspects. Int J Derm 31: 568-570,1992.
- Bittencourt AL, Barral-Netto M. Leishmaniasis. In: Doerr W, Seifert G eds. Tropical Pathology. Berlin; Springer-Verlag. 597-651, 1995.
- Bomfim G, Nascimento C, Costa J, Barral-Netto M, Barral A. Variation of cytokine patterns related to therapeutic response in diffuse cutaneous leishmaniasis. Exp Par 84:188-194,1996.
- Bryceson ADM. Diffuse cutaneous leishmaniasis in Ethiopia I – The clinical and histopathological features of the disease. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 63: 708-737, 1969.
- Bryceson ADM. Pathogenesis of Diffuse cutaneous leishmaniasis (DCL). IV. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 64: 387-393,1970.
- Bryceson ADM. Diffuse cutaneous leishmaniasis in Ethiopia III. Immunological studies. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 64: 380-381, 1970.
- Bryceson ADM. Diffuse cutaneous leishmaniasis in Ethiopia. II. Treatment Trans Roy Soc Trop Med Hyg 64: 369-379, 1970.
- Carvalho EM, Barral A, Costa JML, Bittencourt AL, Marsden PD. Clinical and immunological aspects of disseminated cutaneous leishmaniasis. Acta Tropica 56: 315-325, 1994.
- Convit J, Lapenta P. Sobre um caso de leishmaniasis disseminada. Rev Pat Clin (Caracas) 17: 153-158,1946.
- Convit J, Reyes O, Kerdel F. Disseminated anergic american leishmaniasis. AMA. Arch Derm 76, 213-217, 1957.
- Convit J, Alarcon CJ, Medina R, Reyes O, Kerdel-Vegas F. Leishmaniasis tegumentária difusa. Nueva entidad clinicopatológica y parasitaria. Arch Ven Pat Par Med 74: 219-251,1959.
- Convit J, Kerdel-Vegas F, Gordon B. Disseminated anergic cutaneous leishmaniasis. Brit J Derm 74:132-5, 1962.
- Convit J, Pinardi ME. Cutaneous leishmaniasis. The clinical and immunopathological spectrum in South America. In: Trypanosomiasis and leishmaniasis with special reference to Chagas' diseases. New York: Ciba Found Symp. Elsevier. 1: 159-169, 1964.
- Convit J, Pinardi ME, Rondon AJ. Diffuse cutaneous leishmaniasis a disease due to an immunological defect of the host. Trans Roy Soc Trop Med Hyg. 66: 609-610, 1972.
- Convit J. Leprosy and leishmaniasis: similar clinical immunological phatological models. Ethiopian Med Journ. 12: 187-95, 1974.
- Convit J, Castellanos PF, Ulrich M, Castes M, Rondon A, Pinardi ME, Bloom BR, Formiga S, Valencillos L, Bretana A. Immunotherapy of cutaneous leishmaniasis. J Inf Dis. 160:104-115,1989.
- Convit J, Ulrich M, Fernandez CT, Tapia FJ, Cáceres-Dittmar G, Castes M, Rondon AJ. The clinical and immunopathological spectrum of american cutaneous leishmaniasis. Trans Roy Soc Trop Med Hyg. 87: 444-448,1993.
- Costa JML, Marsden PD, Llanos-Cuentas EA, Netto EM, Carvalho EM, Barral A, Rosa AC, Cuba CC, Magalhães AV, Barreto AC. Disseminated cutaneous leishmaniasis in a field clinic in Bahia, Brazil. A report of eight cases. J Trop Med Hyg. 89:319-323,1986.
- Costa JML, Saldanha ACR, Silva ACM, Serra-Neto A, Galvão CES, Silva CMP. Estado atual da leishmaniose cutânea difusa (LCD) no estado do Maranhão: aspectos epidemiológicos, clinico-evolutivos. Rev Soc Bras Med Trop. 25:115-123,1992.
- Costa JML, Saldanha ACR, Pedroso e Silva CM, Branco MRFC, Barral A, Carvalho EM, Bittencourt AL. Spontaneous healing of extensive skin lesions in diffuse cutaneous leishmaniasis (DCL). Rev Soc Bras Med Trop. 28:45-47,1995.
- Costa JML. Comprometimento mamilar na leishmaniose cutânea difusa (LCD) produzida por *Leishmania L. amazonensis*. Rev Soc Bras Med Trop. 28:139-146, 1995.

29. Costa JML. Estudo da Leishmaniose Cutânea difusa (LCD) no Estado do Maranhão- Brasil: Avaliação terapêutica e correlação do perfil imunológico entre os pacientes e seus familiares. Resumo de tese de doutoramento. Rev Soc Bras Med Trop. 31: 89-93,1998.
30. Costa JML. Epidemiologia das leishmanioses no Brasil. Rev Gaz Med. 75:3-17, 2005.
31. Costa AAUML. Alterações ósseas na leishmaniose cutânea difusa (LCD) no estado do Maranhão: aspectos clínicos, de imagens e histopatológico. Universidade de São Paulo, Tese de Doutoramento, 169 pags, 2004.
32. Costa AAUML, Saldanha ACR, Leite BMC, Ramos B, Assub Jr I, Noronha ALL, Báfica A, Barral A, Corbett CEP, Costa JML. Imaging exams of bone lesions in patients with diffuse cutaneous leishmaniasis (DCL). Acta Tropica. 96: 9-15, 2005.
33. Develoux M, Diallo S, Dieng Y, Mane J, Huerre M, Pralong F, Dedet JP, Ndiaye B. Diffuse cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania major* in Senegal. Trans Roy Soc Trop Med Hyg. 90: 396-397,1996.
34. Diaz HB, Martinez D, Quinones M, Estevez FN. Leishmaniose anérgica na Republica Dominicana; estudo de 20 casos. An Bras Derm. 60: 228-236,1985.
35. Fonseca APM, Araújo T, Fonseca WSM. Leishmaniose tegumentar difusa. Med Cut. ILA. 9: 317-322,1981.
36. Franke ED, Lucas CM, Tovar AA, Krugger JH, Rivera MVS, Wignall FS. Diffuse cutaneous leishmaniasis acquired in Peru. Am J Trop Med Hyg. 43: 260-260,1990.
37. Grimaldi Jr G, Tesh RB, Macmohon-Pratt D. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the new world. Am J Trop Med Hyg. 41: 687-725,1980.
38. Grogl M, Thomason TN, Franke E. Drug resistance in leishmaniasis: it's implication in systemic chemotherapy of cutaneous and mucocutaneous disease. Am J Trop Med Hyg. 47:117-126, 1992.
39. Herwaldt BL, Berman JD. Recommendations for treating leishmaniasis with sodium stibogluconate (Pentostan) and review of pertinent clinical studies. Am J Trop Med Hyg. 46:296-306,1992.
40. Kadivar DMH, Sously EIL. Model of disseminated cutaneous leishmaniasis. Science. 190: 1198-1220,1975.
41. Kocks AG Sulla partecipazione óssea nella leishmaniasi cutânea. Minerva Derm. 99: 445-458,1969.
42. Lainson R & Shaw JJ. Leishmaniasis in the New World. Taxonomic problems. Br Med Bul. 28: 44-48,1972.
43. Leon LL, Machado GMC, Barral A, Carvalho-Paes LE, Grimaldi Jr G. Antigenic differences among *Leishmania amazonensis* isolates and their relationship with distinct clinical forms of the disease. Mem Inst Oswaldo Cruz. 86: 229-234,1992.
44. Marsden PD. Pentavalent antimonials. Old drugs for new diseases. Rev Soc Bras Med Trop. 18:187-198,1985.
45. Mayer M, Convit J, Pifani F. Estudos experimentales com uma cepa de leishmaniasis tegumentar disseminada aspecto lepromatoso. Arch Ven Med Trop. 1:183-192,1948.
46. Medina R, Romero J. Estudio clínico e parasitológico de una nueva cepa de *Leishmania*. Arch Ven Pat Trop Par Med. 1:319-353,1962.
47. Menezes JA, Reis VLL, Thonon S. Perfuração do septo nasal em leishmaniose "cútis difusa". An Bras Derm. 53:199-200,1978.
48. Ministério da Saúde do Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de controle da leishmaniose tegumentar americana. 78 pags, 2000.
49. Neva F, Peterson EA, Consey R, Dias HB, Martinez D. Observations on local heat treatment for cutaneous leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg. 33: 800-804,1984.
50. Nery-Guimarães FV. Leishmanioses experimental IV – reprodução em hamster (*Cricetus auratus*) de uma leishmaniose cutânea nódulo-tumoral oriunda da Amazônia. (histiocitoma leishmaniótico). O Hospital. 40:11-24,1951.
51. Nery-Guimarães FV, Silva YP. Lesões ósseas da leishmaniose. An Bras Derm Sif. 32:5-7,1957.
52. Olliaro P, Bryceson ADM. Practical progress and new drugs for changing patients of leishmaniasis. Par Tod. 9:323-338,1993.
53. Oulette M, Papadopoulou B. Mechanism of drug resistance in *Leishmania*. Par Tod. 9:150-153,1993.
54. Pessoa SB, Barreto MP. Leishmaniose tegumentar americana. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 467 pags, 1949.
55. Peterson EA, Neva FA, Oster CN, Diaz BH. Specific inhibition of lymphocyte proliferation responses by adherent suppression cells in diffuse cutaneous leishmaniasis. New Eng J Med. 308:387-391,1982.
56. Peterson EA, Neva FA, Barral A, Correa-Coronas R, Boggart-Diaz H, Martinez D, Ward FE. Monocyte suppression of antigen specific lymphocyte responses in diffuse cutaneous leishmaniasis patient from Dominican Republic. J Imm. 132:2603-2606, 1984.
57. Pouter LW, Pearce MT. Mechanism of immunity to leishmaniasis. III. The development and decay of resistance during metastatic disease. Clin Exp Imm. 42: 211-218,1980.
58. Rabelo FE. A leishmaniose tegumentar no ciclo morfológico das leishmanioses. Trabalho do IV Congresso de Dermatologia Ibero-Latino Americano e Luso-Espanhol. Portugal. 34, 47, 1959.
59. Rebelo JMM, Mendes WA, Costa JML, Cavaleiro N. Lista preliminar das espécies do gênero *Lutzomyia*, Franca. 1924 (Psychodidae, Phlebotominae) do estado do Maranhão. Brasil. Cad Saúde Pub. 12: 37-45, 1996.
60. Rebelo JMM, Oliveira SY, Barros VLL, Silva FS, Costa JML, Ferreira LA, Silva AR. Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) de Lagoas, município de Buriticupu, Amazônia Maranhense, I – Riqueza e abundância relativa das espécies em área de colonização recente. Rev Soc Bras Med Trop. 33:11-19, 2000.
61. Rodriguez G, Corredor A, Cáceres E, Cassiano G, Arrouyo C, Palau MT, Boshel J. Leishmaniasis difusa. Biom. 5:95-111,1985.
62. Saldanha ACR, Silva ACM, Galvão CES, Silva CMP, Costa JML. Procedência de pacientes portadores de leishmaniose cutânea difusa (LCD) no estado do Maranhão, Brasil. Rev Soc Bras Med Trop. 25: 271-273,1992.
63. Saldanha ACR, Malheiros TS, Rodrigues CCR, Balby ITA, Costa JML. Alterações ósseas observadas na leishmaniose cutânea difusa (LCD) no estado do Maranhão. Rev Soc Bras Med Trop. 28: 55-56, 1995.
64. Sanchez Salame GL. Imunoterapia e quimioterapia de leishmaniose cutânea localizada: ensaio clínico controlado. Tese. Brasília, Df. Universidade de Brasília, 157 pags, 1995.
65. Silva F. Forma raríssima de leishmaniose tegumentar; leishmaniose dérmica não ulcerada em nódulos e extensas placas infiltradas e hiperpigmentadas. Separata do volume da Reunião Anual de Dermatológico Brasileiros, Rio de Janeiro. 97-103, 1945.
66. Silva D. Leishmaniose tegumentar queiloideana com lesões ósseas. An Bras Derm Sif. 33: 3-7,1958.
67. Silva D, Maroja R, Salgado U, Loureiro A. Leishmaniose Anérgica Hansenoide. Derm Ibero Lat Am. 14: 493-506, 1972.
68. Silva A, Martins G, Mello JEM, Araújo JP, Mendes JR, Mendes MG. Surto epidêmico de leishmaniose tegumentar americana ocorrido na colonização agrícola de Buriticupu (Estado do Maranhão)-Brasil. Rev Inst Med Trop São Paulo. 21:43-50,1979.
69. Silveira FT. Resultados preliminares do tratamento de dois casos de leishmaniose cutânea difusa, diagnosticados em diferentes fases evolutivas da doença. (Abstract). Anais do XXIX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 68: 106, 1993.
70. Silveira FT, Mayrink W. Leishmaniose cutânea difusa no estado do Pará, Brasil. Registro do 1º caso de cura da doença, após associação de quimioterapia com imunoterapia. (Abstract). Anais do XXIX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 68:108,1993.
71. Silveira FT, Lainson R, Corbett CEP. Clinical and immunopathological spectrum of American cutaneous leishmaniasis with special reference to the disease in Amazonian Brazil – a Review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 99: 239-251, 2004.
72. Thakur CP. Epidemiological, clinical and therapeutic features of Bihar kala azar including post kala-azar dermal leishmaniasis. Trans Roy Soc Trop Med Hyg. 78: 391-398,1984.
73. Teklemariam S, Hiwot AG, Frommell D, Miko TL, Ganlow G, Bryceson A. Aminosalicylic acid and its combination with sodium stibogluconate in the treatment of Diffuse cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania aethiopic*. Trans Roy Soc Trop Med Hyg. 78: 391-398,1984.
74. Vélez I, Agudelo S, Robledo S, Jaramillo L, Segura I, Soccol V, Restrepo S. Diffuse cutaneous leishmaniasis (DCL) with mucosal involvement in Colômbia, caused by an enzymatic variant of *Leishmania panamensis*. Trans Roy Soc Trop Med Hyg. 88:199,1994.
75. WHO. Control of the leishmaniasis. Geneva. WHO, 158p. (Thecnical report Series 793), 1990.