

Aspectos Clínicos da Leishmaniose Tegumentar

Clinical Aspects of Tegumentary Leishmaniasis

Luiz Henrique Guimarães, Paulo Roberto L. Machado, Hélio A. Lessa,
Marcus Lessa, Argemiro D'Oliveira Jr, Edgar M. Carvalho

*Serviço de Imunologia, Hospital Universitário Prof. Edgard Santos, Faculdade de Medicina da Bahia da
Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil*

A leishmaniose tegumentar representa um grupo de doenças com características clínicas, imunológicas e patológicas distintas, compondo uma manifestação espectral. Diversos fatores interferem nessas diferenças, com destaque para a resposta imune do hospedeiro e fatores inerentes à leishmania, que podem aumentar ou atenuar o seu poder patogênico. Recentemente, tem sido demonstrado que a saliva do vetor (*Lutzomyia*) facilita a infecção em modelos experimentais, porém essa influência ainda não está bem estudada no ser humano. Na Bahia, o principal agente da leishmaniose tegumentar é a *Leishmania braziliensis*, seguido da *Leishmania amazonensis*, que é identificada em poucos casos. As quatro principais formas clínicas da doença descritas são: leishmaniose cutânea, leishmaniose mucosa, leishmaniose cutânea difusa e leishmaniose disseminada. A leishmaniose cutânea é a forma mais comum, caracterizando-se pela presença de uma ou várias úlceras com predileção por áreas expostas, principalmente membros inferiores. A leishmaniose mucosa ocorre concomitantemente ou anos após quadro de leishmaniose cutânea em cerca de 3% dos casos e pode progredir para intensa destruição tecidual da mucosa nasal, tornando-se doença grave. A forma difusa é muito rara na Bahia, com presença de nódulos e lesões infiltradas de maneira difusa pelo tegumento, em pacientes anérgicos a antígenos de leishmania. A leishmaniose disseminada apresenta inúmeras lesões acneiformes, papulosas e ulceradas que surgem abruptamente, muitas vezes associadas a sintomas como calafrios e astenia, sugerindo disseminação hematogênica do parasita. Na área endêmica de Corte de Pedra/BA, descreve-se um aumento desta última nos últimos anos, sem associação com imunossupressão.

Palavras-chave: Leishmaniose cutânea, leishmaniose mucosa, leishmaniose disseminada, leishmaniose difusa.

Tegumentary leishmaniasis is a group of diseases of different clinical, immunological and pathological aspects that comprise a wide spectrum of manifestations. Several factors may be responsible for this clinical variability, principally the host immune response, but also factors that may increase or attenuate the pathogenic role of the leishmania. Recent research has shown that the saliva of the vector (Lutzomyia) may promote the development of the Leishmania infection in experimental models. However, this effect has not been documented in cases of the disease in humans. In Bahia, Leishmania braziliensis is the major causal agent of tegumentary leishmaniasis, with only a few cases being caused by Leishmania amazonensis. Four different forms of the disease are described: cutaneous leishmaniasis, mucosal leishmaniasis, diffuse cutaneous leishmaniasis and disseminated leishmaniasis. Cutaneous leishmaniasis is the most common clinical manifestation, characterized by one or several ulcerations in exposed areas, mainly in the lower limbs. Mucosal leishmaniasis occurs concomitantly or following cutaneous leishmaniasis in 3% of the cases, and may result in severe tissue damage. The diffuse form of leishmaniasis is rare in

Recebido em 22/02/2005

Aceito em 27/05/2005

Endereço para correspondência: Dr. Edgar M. Carvalho, Serviço de Imunologia, 5º andar, Hospital Universitário Prof. Edgard Santos, Rua João das Botas s/n Canela, 40110-160, Salvador, BA, Brasil. Tel.: 55 71 3237-7353; Fax: 55 71 3245-7110. E-mail: imuno@ufba.br

Bahia and is characterized by nodules and infiltrative lesions all over the body in patients who are anergic to leishmania antigens. Disseminated leishmaniasis has an abrupt onset associated with chills and asthenia, suggesting the haematogenous dissemination of the parasite from a primary lesion. Patients show a great number of acneiform, papular and ulcerated lesions. In recent years, an increase in the number of cases of disseminated leishmaniasis unrelated to immunosuppression has been described in the endemic area of Corte de Pedra in the state of Bahia, Brazil.

Key words: *Cutaneous leishmaniasis, mucosal leishmaniasis, diffuse cutaneous leishmaniasis and disseminated leishmaniasis.*

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) representa um conjunto de doenças com características clínicas imunológicas e patológicas distintas, cuja expressão depende de fatores relacionados ao hospedeiro e ao parasita. Recentemente, ênfase tem sido dada ao papel do vetor, mais especificamente da saliva do flebótomo na progressão da infecção causada pela leishmania em modelos experimentais, mas a influência do vetor nas manifestações clínicas da leishmaniose tegumentar ainda não tem sido estudada.

Mais de uma dezena de espécies de *Leishmania* são capazes de causar a leishmaniose tegumentar no Velho e no Novo Mundo; mas, no Brasil, os principais agentes causais da LTA são a *L. Viannia braziliensis*, a *L. Viannia guyanensis* e a *L. Leishmania amazonensis*, apresentando quatro formas clínicas bem reconhecidas: a leishmaniose cutânea, a leishmaniose mucosa, a leishmaniose cutânea difusa e a leishmaniose disseminada. Enquanto a infecção por *L. amazonensis* na região Amazônica normalmente se associa com lesão única e cicatrização espontânea⁽²⁰⁾, a *L. braziliensis* é responsável pelas formas mais graves da doença, incluindo a forma mucosa^(12,22), com exceção da forma anérgica difusa, cujo único agente descrito em nosso país é a *L. amazonensis*^(2,12).

A leishmaniose cutânea clássica representa cerca de 90 a 95% dos casos de LTA. Caracteriza-se, clinicamente, por lesão (ões) ulcerada(s), de bordas elevadas com um fundo geralmente granuloso. Em área de transmissão de *L. braziliensis*, a doença acomete, predominantemente, os membros inferiores em adultos do sexo masculino⁽¹¹⁾. Contudo, está surgindo cada vez um maior número de casos com lesão em tórax, face e membros superiores; fato que vem sendo associado com uma mudança no padrão de transmissão,

que ocorria na zona rural e passou a ocorrer nas áreas peri-domiciliares ou intradomiciliares⁽¹⁶⁾.

A forma cutânea localizada corresponde a 97,3% dos casos de leishmaniose tegumentar observados na região endêmica de Três Braços/BA, onde a *L. braziliensis* é responsável por mais de 90% dos casos⁽¹¹⁾. Um estudo prospectivo nesta região mostrou que em 74% dos pacientes a doença manifestou-se com ulceração clássica e única, enquanto em 26% havia presença de duas ou mais lesões. Nesses pacientes, a localização mais comum das lesões foi nos membros inferiores (73%), seguida de membros superiores (11%), tronco (10%), cabeça e pescoço (5%) e nariz (1%)⁽¹¹⁾.

A lesão cutânea se instala no sítio de entrada do parasita após período de incubação estimado entre 2 semanas e alguns meses⁽²²⁾. Na infecção causada pela *L. Viannia braziliensis* a fase inicial da doença se caracteriza por uma pápula ou nódulo seguido de ulceração superficial, habitualmente acompanhada de exuberante adenomegalia regional indolor maior do que 3 cm, documentada em 85% dos casos⁽¹⁵⁾. Em um estudo no qual uma busca ativa de casos em fase inicial da doença foi feita em familiares de pacientes com leishmaniose cutânea, Barral et al.⁽⁴⁾ relatam o isolamento de *L. braziliensis* no linfonodo de 10 pacientes na região endêmica de Corte de Pedra/BA, onde a linfadenopatia sem lesão cutânea foi detectada, com 7 desses pacientes evoluindo com ulceração cutânea posteriormente. Como a maioria das lesões cutâneas ocorre em membros inferiores, a linfadenopatia crural é a predominantemente observada⁽⁴⁾. É compreensível que gânglios próximos ao sítio de inoculação do parasita devem ter um papel importante no controle do processo infeccioso. Em camundongos

resistentes à doença, a excisão da cadeia linfática homolateral ao sítio da infecção induz ao rápido aparecimento de lesões metastáticas⁽¹⁷⁾. Por outro lado, uma resposta imune exuberante e não modulada contra o agente parasitário pode estar envolvida no fenômeno patológico responsável pelo desenvolvimento de lesões cutâneas ou mucosas na LTA^(1,18). Portanto, é bastante provável que a intensa linfadenopatia regional que ocorre nesses pacientes, além de contribuir para a eliminação do parasita, esteja associada ao processo que resulta em dano tecidual. A comparação de subgrupos de pacientes com a forma recente de leishmaniose cutânea, que desenvolvem ulceração, apesar de tratamento precoce, e necessitam de segunda série para cura, em contraste com o subgrupo que evoluiu com cura rápida usando uma série de antimonial, mostrou ausência de adenopatia regional em apenas 4 indivíduos, todos pertencentes ao subgrupo com evolução favorável⁽¹⁵⁾. Desta forma, estudos são necessários no sentido de determinar se esta exuberante linfadenopatia se relaciona com a proteção ou com a patologia. Na maioria dos casos de LTA, a lesão cutânea inicial evolui para ulceração superficial e, posteriormente, para a lesão clássica de úlcera profunda bem delimitada com bordas elevadas, que habitualmente atingem pleno desenvolvimento em 60 a 90 dias de doença. Mais raramente são observadas lesões vegetantes, lesões verrucosas, lesões superficiais eritemato-descamativas, lesões em placa e infiltradas também denominadas de lupóides e lesões nodulares, seguindo um trajeto linfático como o observado na esporotricose⁽²²⁾.

Do ponto de vista histopatológico, a leishmaniose cutânea se caracteriza por um infiltrado linfoplasmocitário, presença de granuloma e ausência ou escassez de parasitas. Entretanto, uma biópsia realizada na fase inicial da doença e antes do aparecimento de ulceração clássica apresentam uma vasculite linfoplasmocitária obliterando parcialmente ou completamente a luz do vaso. Dessa forma, é possível que esta resposta inflamatória do hospedeiro a nível da luz do vaso tenha um papel importante no desenvolvimento da úlcera e, conseqüentemente, na patogênese da doença.

O método ideal para diagnóstico de uma doença infecciosa é a identificação de parasitas. Todavia, como anteriormente mencionado, o parasita é escasso na lesão e, mesmo através da cultura, o percentual de positividade é baixo para ser considerado como um método indispensável para o diagnóstico. Como o teste intradérmico de hipersensibilidade tardia tem sensibilidade que se aproxima de 100% no diagnóstico da leishmaniose cutânea, em uma área endêmica, é plenamente aceitável que o diagnóstico da doença seja feito baseado na presença de uma lesão típica associada ao teste intradérmico (reação de Montenegro) positivo. Fora da área endêmica, são recomendados o estudo histopatológico, a realização de cultura do parasita e a utilização de técnicas como a deração de polimerase em cadeia (PCR).

O aspecto clínico da leishmaniose tegumentar no Brasil e a resposta imune nas formas clínicas de LTA são mostrados na Figura 1.

Os pólos da doença são representados pela leishmaniose mucosa, caracterizada por uma resposta imune exacerbada contra o parasita, mas também associada à lesão tecidual; e, no outro extremo, pela leishmaniose cutânea difusa, caracterizada por incapacidade de produção de INF- γ , principal citocina ativadora de macrófago e de indução nesta célula da síntese de óxido nítrico e peroxidase de hidrogênio, responsáveis pela morte do parasita.

A leishmaniose cutânea tem características imunológicas semelhantes, mas menos exuberantes que a mucosa, e a leishmaniose disseminada apresenta uma resposta imune celular mais próxima da leishmaniose cutânea difusa. No centro da Figura 1, observa-se a infecção subclínica, na qual existe uma resposta imune modulada que controla a infecção sem levar o parasita à morte.

Estudos na fase inicial da leishmaniose cutânea, antes do aparecimento da lesão ulcerada clássica, podem contribuir para o entendimento da patogênese da doença. Analisando 22 de indivíduos nesta fase precoce de doença, Machado et al.⁽¹⁵⁾ mostraram que a instituição da terapêutica precoce

Figura 1. Espectro clínico e imunológico da leishmaniose tegumentar.



	<i>Pólo hiperérgico</i> +		Infecção subclínica	<i>Pólo anérgico</i> -	
	LM	LC	↓	LD	LCI
Parasitas	+/-	+	?	+ / ++	++++
Im.celular	+++	++	+	+ / -	-

Figura 2a. Estágio III da leishmaniose mucosa, mostrando granulação aberrante, com alargamento do septo nasal e tendência à formação de sinéquia.

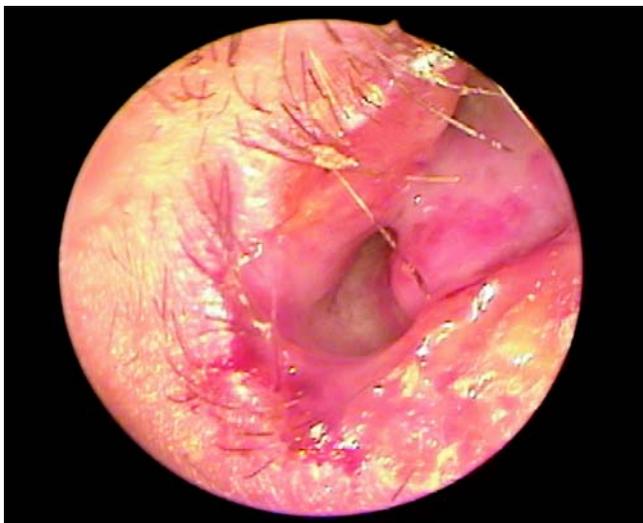


Figura 2b. Estágio IV da leishmaniose mucosa. Presença de granulação com perfuração do septo nasal.



com antimonial não interferiu na evolução da doença em 10 dos casos. Ou seja, a despeito do tratamento, os pacientes evoluíram com o aparecimento de úlceras.

Cerca de 2,7% dos pacientes infectados com *L. braziliensis*, na área endêmica de Corte de Pedra/BA, evoluíram para doença mucosa concomitantemente ou meses e até anos após a cura da doença cutânea⁽¹¹⁾. Os fatores de risco para desenvolvimento de lesão mucosa são a presença de lesões múltiplas ou extensas, lesões acima da cintura e tratamento inadequado da lesão cutânea primária⁽¹³⁾. Com referência ao parasita, tem sido documentada a existência de diferenças genéticas de isolados de *L. braziliensis* e que essas diferenças podem se relacionar com as diferentes formas clínicas da doença⁽¹⁹⁾. Por parte do hospedeiro, existe uma agregação familiar dos casos de leishmaniose mucosa, o que pode relacionar-se tanto com o ambiente como pela genética do hospedeiro. Dá suporte à importância do hospedeiro no desenvolvimento da doença mucosa a observação de que, nesses casos da doença, existe uma resposta imune exagerada caracterizada por grande produção de IFN- γ e TNF- α , que, embora envolvidos com a proteção, também estão envolvidos na lesão tecidual⁽¹⁾.

Clinicamente, a doença mucosa se caracteriza por coriza, obstrução nasal e, em situações mais avançadas, presença de odor fétido. A leishmaniose mucosa acomete o nariz em cerca de 100% dos casos. As lesões atingem o septo cartilaginoso nasal e podem se estender para a parede lateral e assoalho, região do palato, úvula e, em menor frequência, ocorre envolvimento da faringe, laringe, cordas vocais e lábio superior, com graus diversos de infiltração, granulação e ulceração.

A lesão inicial da leishmaniose mucosa é caracterizada por uma nodulação esbranquiçada sem ulceração que é habitualmente observada no septo cartilaginoso (área de Kiesselbach), assoalho e na parede lateral, especificamente na cabeça das conchas inferiores. Este comprometimento, classificado como Estágio I da doença, representa uma fase muito inicial do processo inflamatório e não se assemelha, do ponto de vista clínico, a nenhuma outra doença nasal.

Posteriormente, aparece uma lesão granulosa fina, caracterizada por ulceração superficial, documentada a nível do septo anterior, conchas inferiores e assoalho da fossa nasal (Estágio II). No Estágio III, ou estágio de ulceração profunda, a reação tecidual é mais intensa, com tecido de granulação aberrante e infiltração da mucosa, tornando o septo nasal alargado (Figura 2a). Às vezes, ocorre infiltração edematosa da própria pirâmide nasal. Nessa fase, crostas hemáticas podem ser observadas sobre o septo, conchas inferiores e assoalho das fossas nasais. Essas lesões se caracterizam pela excessiva fragilidade, sangrando com muita facilidade ao toque da mucosa. Clinicamente, o paciente pode queixar-se de sensação dolorosa ao nível da pirâmide nasal, rinorréia de característica sanguinolenta e emissão de crostas hemáticas. Obstrução nasal é um sintoma frequente nessa fase da doença. Do ponto de vista externo, em virtude do processo inflamatório que envolve as cartilagens e o tecido celular subcutâneo e a própria pele da base da pirâmide nasal, o nariz adquire o aspecto conhecido pelo nome de nariz de tapir ou anta.

O Estágio IV da doença caracteriza-se por envolvimento cartilaginoso do septo anterior com necrose e, às vezes, comprometimento da columela. É nesse estágio que se estabelece a perfuração do septo cartilaginoso, também com infiltração acentuada do septo posterior (Figura 2b). Em formas mais avançadas (Estágio V), pode ocorrer destruição total da columela e queda da ponta do nariz, transformando a fossa nasal numa verdadeira cloaca e, às vezes, há perfuração do dorso da pirâmide nasal (Figura 3). Em alguns casos pode ocorrer destruição total do septo anterior, restando ainda a columela inteira, ficando o nariz selado. Crostas extensas de aspecto hemorrágico ou mesmo decorrentes do ressecamento da secreção mucosa provocada pelo alargamento da estrutura nasal interna, podem ser observadas em consequência da lesão tecidual, representada pela destruição do septo cartilaginoso e conchas inferiores. Nesta ocasião, há eliminação de secreção sanguinolenta e a presença de crostas se acentua. A intensidade do processo inflamatório e a consequente destruição tecidual podem, portanto, interferir de forma importante na estética

Figura 3. Leishmaniose mucosa, estágio V, com intensa deformidade da pirâmide nasal e desabamento do septo nasal.



facial. Mais raramente, a obstrução de vias aéreas superiores pode se manifestar com dispnéia e ser a causa de óbito ⁽¹⁴⁾.

Diferente das leishmanioses cutânea e mucosa, cuja resposta imune se caracteriza por uma forte resposta do tipo 1 com grande produção de IFN- γ e de TNF- α e importante reação inflamatória com lesão tecidual associada, a leishmaniose cutânea difusa se caracteriza por uma negatização do teste de Montenegro, baixa resposta linfoproliferativa e produção baixa ou ausente de IFN- γ . Em virtude de não apresentar uma resposta imunológica associada com o controle de infecção, os pacientes com leishmaniose cutânea difusa apresentam múltiplas lesões com características nodulares que, ao exame histopatológico, apresentam um infiltrado composto por linfócitos, predominância de macrófagos e documentação fixada de forma amastigota do parasita ⁽⁵⁾.

A leishmaniose cutânea difusa é caracterizada no Brasil pela *L. amazonensis* e é uma forma rara de apresentação da doença. Habitualmente, não existe ulceração das lesões e não há envolvimento da mucosa. Estudos realizados com pacientes diagnosticados no Maranhão têm chamado a

Figura 4. Leishmaniose disseminada. Inúmeras lesões acneiformes, pápulas grandes e eritematosas no tronco.



atenção para uma forma subpolar da doença, na qual pode-se documentar leve resposta inflamatória e ulceração de algumas lesões ⁽³⁾.

O principal defeito imunológico da leishmaniose cutânea difusa é a incapacidade de produção de IFN- γ , principal citocina ativadora de macrófagos. Em contraste, existe um aumento da expressão de IL-10. Durante o tratamento e com conseqüente destruição dos parasitas e melhora de lesões, existe um aumento temporário de IFN- γ e uma redução de IL-10, enfatizando o papel dessas citocinas na resposta imune desta doença ⁽⁶⁾.

Em 1986, Costa et al. ⁽⁸⁾ descrevem, na Bahia, uma forma diferente de leishmaniose, denominada leishmaniose disseminada, por apresentar-se com lesões cutâneas múltiplas em várias partes do corpo. A leishmaniose disseminada se caracteriza pela presença de numerosas lesões papulosas, acneiformes (Figura 4) e menos comumente ulceradas, localizadas na face, tronco e membros com número de lesões variando de 75 até 800 ⁽⁷⁾. Inicialmente, a leishmaniose cutânea disseminada foi associada à *L. amazonensis*, mas, recentemente, quase a totalidade dos casos da doença nessa região é causada pela *L. braziliensis*.

Tabela 1. Achados clínicos, histológicos, parasitológicos e imunopatológicos na LC, LD e LCD.

Aspectos clínicos e imunopatológicos	Formas clínicas de leishmaniose		
	Disseminada	Difusa	LC
Manifestações cutâneas	Lesões papulosas, acneiformes e ulceradas	Nódulos infiltrados	Úlceras
Número de lesões	Dezenas-centenas	Dezenas-centenas	Uma a quatro
Frequência de comprometimento mucoso	38%	Ausente	3%
Padrão folicular	Presente	Ausente	Ausente
Padrão granulomatoso	Presente ou ausente	Ausente	Presente
Parasita no tecido	Pouco ou ausente	Abundante	Pouco ou ausente
Teste intradérmico	Positivo ou negativo	Negativo	Positivo
Título de anticorpo	Elevado	Elevado	Baixo

Na década de 80, essa forma da doença era rara na área endêmica de Corte de Pedra/BA e representava cerca de 0,2% dos casos de leishmaniose tegumentar⁽¹¹⁾, com registro de aumento para 1,9% dos casos na década de 90⁽²¹⁾. Essa forma da doença tem também sido descrita no Maranhão⁽¹⁰⁾. A leishmaniose cutânea disseminada acomete predominantemente homens adultos com atividade rural. Esses indivíduos são aparentemente saudáveis e não há associação dessa forma com a leishmaniose associada ao HIV, que pode apresentar múltiplas lesões mas com predomínio de lesões ulceradas. Os pacientes com leishmaniose disseminada, tipicamente, relatam o aparecimento de uma única lesão inicial ulcerada em uma extremidade corpórea, seguida, após um período de poucos dias, pelas lesões disseminadas que ocorrem de forma súbita e podendo se associar com manifestações clínicas de febre e astenia. Com a evolução e o tratamento há regressão rápida da maioria das lesões, mas raramente a cura é atingida com um curso de antimonial e, na maioria das vezes, os pacientes persistem com algumas lesões ulceradas por meses. Uma das complicações da leishmaniose disseminada é o comprometimento mucoso que pode ocorrer em até 38% dos casos⁽²¹⁾. Alguns relatos na literatura confundem a leishmaniose disseminada com a leishmaniose difusa. A Tabela 1 mostra os aspectos clínicos, histológicos, parasitológicos e imunopatológicos que permitem diferenciar a leishmaniose cutânea, disseminada e difusa.

A imunopatogênese da leishmaniose disseminada é pouco esclarecida e tanto fatores relacionados com o parasita como o hospedeiro podem participar do processo. Do ponto de vista do parasita, tem sido mostrado diferenças genótípicas entre isolados de *L. braziliensis*, que causam doença disseminada, quando comparados com isolados que induzem a outras formas da doença. Com relação à resposta imune do hospedeiro e comparando com a leishmaniose cutânea, a forma disseminada se caracteriza por uma produção menor de IFN- γ e de TNF- α ⁽²¹⁾. Essa diminuição da produção de citocinas do tipo 1 está relacionada mais com características do hospedeiro do que com o parasita.

Estudos realizados em diferentes áreas endêmicas têm mostrado que cerca de 10% dos indivíduos que vivem em área de transmissão de *L. braziliensis* apresentam um teste cutâneo de hipersensibilidade tardia positivo para antígeno de leishmania sem evidência da doença. Em um estudo realizado em Canoas, na zona rural do município de Santo Amaro/Bahia, foi observado que a razão forma subclínica para leishmaniose cutânea era de 104:29. Indivíduos com infecção subclínica apresentavam idade menos elevada e tinham um teste de hipersensibilidade tardia significativamente menor do que os pacientes que desenvolviam leishmaniose cutânea⁽⁹⁾. Do ponto de vista imunológico, esses pacientes apresentam uma resposta imunológica celular menos intensa do que a observada em leishmaniose cutânea, com níveis

menos elevados de IFN- γ do que os observados na forma clínica da doença. Esses dados indicam que tanto uma resposta Th1 exacerbada, como a observada na leishmaniose cutânea e leishmaniose mucosa, quanto a ausência da resposta Th1, como documentada na leishmaniose cutânea difusa, são malélicas para o hospedeiro; e que o ideal, após uma infecção causada por *L. braziliensis*, seria uma resposta imunológica modulada, capaz de impedir a proliferação de parasitas, mas sem levar a dano tecidual.

Referências Bibliográficas

- Bacellar O, Lessa H, Schriefer A, Machado P, Ribeiro de Jesus A, Dutra WO, Gollob KJ, Carvalho EM. Up-regulation of Th1-type responses in mucosal leishmaniasis patients. *Infection and Immunity*, 70: 6734-40, 2002.
- Barral A, Pedral-Sampaio D, Grimaldi G, Momen H, McMahon-Pratt D, Ribeiro de Jesus A, Almeida R, Badaró R, Barral-Netto M, Carvalho EM, & Johnson WD. Leishmaniasis in Bahia, Brazil: Evidence that *Leishmania amazonensis* produces a wide spectrum of clinical disease. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 44: 536-46, 1991.
- Barral A, Costa JM, Bittencourt AL, Barral-Netto M, Carvalho EM. Polar and subpolar diffuse cutaneous leishmaniasis in Brazil: clinical and immunopathologic aspects. *International Journal of Dermatology* 34(7):474-9, 1995.
- Barral A, Guerreiro J, Bomfim G, Correia D, Barral-Netto M & Carvalho, EM. Lymphadenopathy as the first sign of human cutaneous infection by *Leishmania braziliensis*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 53: 256-259, 1995.
- Bittencourt AL, Rodrigues de Freitas LA. Diffuse cutaneous leishmaniasis. *Anatomo-pathologic aspects. Medicina Cutânea Ibero Latino Americana* 11(4):265-70, 1983.
- Bomfim G, Nascimento C, Costa J, Carvalho EM, Barral-Netto M, Barral A. Variation of cytokine patterns related to therapeutic response in diffuse cutaneous leishmaniasis. *Experimental Parasitology* 84: 188-94, 1996.
- Carvalho EM, Barral A, Costa JML, Bittencourt A, Marsden P. Clinical and immunopathological aspects of disseminated cutaneous leishmaniasis. *Acta Tropica* 56: 315-25, 1994.
- Costa JM, Marsden PD, Llanos-Cuentas EA, Netto EM, Carvalho EM, Barral A, Rosa AC, Cuba CC, Magalhaes AV, Barreto AC. Disseminated cutaneous leishmaniasis in a field clinic in Bahia, Brazil: a report of eight cases. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 89(6): 319-23, 1986.
- Follador I, Araujo C, Bacellar O, Araujo CB, Carvalho LP, Almeida RP, Carvalho EM. Epidemiologic and immunologic findings for the subclinical form of *Leishmania braziliensis* infection. *Clinical Infectious Diseases* 34(11): E54-8, 2002.
- Galvão CE, Silva AC, Saldanha AC, Silva CM, Costa Mdo R, Costa JM. Disseminated cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania viannia braziliensis* in the state of Maranhao, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 26(2): 121-3, 1993.
- Jones TC, Johnson WD Jr, Barreto AC, Lago E, Badaró R, Cerf B, Reed SG, Netto EM, Tada MS, Franca F, Wiese K, Golightly L, Fikrig E, Costa JML, Cuba CC, Marsden PD. Epidemiology of American Cutaneous Leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis braziliensis*. *Journal of Infectious Diseases* 156: 73-83, 1987.
- Lainson R. The American leishmaniasis: some observations on their ecology and epidemiology. *Transactions Royal Society Tropical Medicine Hygiene* 77: 569-96, 1983.
- Marsden, PD. Mucosal leishmaniasis ("espundia", Escomel 1911). *Transactions Royal Society Tropical Medicine Hygiene* 80: 859-76, 1986.
- Marsden, PD. Mucosal leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) braziliensis* L(V)b in Três Braços, Bahia, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 27: 93-101, 1994.
- Machado P, Araujo C, Da Silva AT, Almeida RP, D'Oliveira Jr A, Bittencourt A, Carvalho EM. Failure of early treatment of cutaneous leishmaniasis in preventing the development of an ulcer. *Clinical Infectious Diseases* 34(12):E69-73, 2002.
- Miranda JC, Reis E, Schriefer A, Goncalves M, Reis MG, Carvalho L, Fernandes O, Barral-Netto M, Barral A. Frequency of infection of *Lutzomyia phlebotomines* with *Leishmania braziliensis* in a Brazilian endemic area as assessed by pinpoint capture and polymerase chain reaction. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 97(2):185-8, 2002.
- Reed SG, Andrade ZA, Roters SB, Inverso JA, Sadigursky M. *Leishmania mexicana amazonensis* infections in 'resistant' inbred mice following removal of the draining lymph node. *Clinical Experimental Immunology* 64(1): 8-13, 1986.
- Ribeiro de Jesus A, Almeida RP, Lessa H, Bacellar O, Carvalho EM. Cytokine profile and pathology in human leishmaniasis. *Brazilian Journal of Medical Biological Research* 31: 143-8, 1998.

19. Schriefer A, Schriefer AL, Goes-Neto A, Guimaraes LH, Carvalho LP, Almeida RP, Machado PR, Lessa HA, de Jesus AR, Riley LW, Carvalho EM. Multiclonal *Leishmania braziliensis* population structure and its clinical implication in a region of endemicity for American tegumentary leishmaniasis. *Infection and Immunity* 72(1): 508-14, 2004.
20. Silveira FT, Lainson R, Shaw JJ, De Souza AA, Ishikawa EA, Braga RR. Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in Amazonian Brazil, and the significance of a negative Montenegro skin-test in human infections. *Transactions Royal Society Tropical Medicine Hygiene* 85: 735-8, 1991.
21. Turetz ML, Machado PR, Ko AI, Alves F, Bittencourt A, Almeida RP, Mobashery N, Johnson WD Jr, Carvalho EM. Disseminated leishmaniasis: a new and emerging form of leishmaniasis observed in northeastern Brazil. *Journal of Infectious Diseases* 186(12): 1829-34, 2002.
22. Walton BC. American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. In: Peters W, Killick-Kendrick R (eds) *Clinical aspects and control. Academic, London, p 637. (The leishmaniasis in biology and medicine vol 2), 1987.*