

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO  
CHAGAS  
MESTRADO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS  
INFECCIOSAS

LILIANE DE FÁTIMA ANTONIO

**RESPOSTA À INTRADERMORREAÇÃO DE  
MONTENEGRO, TEMPO DE EVOLUÇÃO DA LESÃO  
E OCORRÊNCIA DE FALHA TERAPÊUTICA NA  
FORMA CUTÂNEA DA LEISHMANIOSE  
TEGUMENTAR AMERICANA: UM ESTUDO CASO-  
CONTROLE.**

Rio de Janeiro

2012

**Resposta à Intradermoreação de Montenegro,  
tempo de evolução da lesão e a ocorrência de falha  
terapêutica na forma cutânea da leishmaniose  
tegumentar americana: um estudo caso-controle.**

LILIANE DE FÁTIMA ANTONIO

Dissertação apresentada ao  
Curso de Pós Graduação em  
Pesquisa Clínica em Doenças  
Infecciosas do Instituto de  
Pesquisa Clínica Evandro  
Chagas para obtenção do título  
de Mestre em Ciências da  
Saúde.

Orientadoras: Dra. Aline  
Fagundes da Silva e Dra. Maria  
Inês Fernandes Pimentel

Rio de Janeiro

2012

LILIANE DE FÁTIMA ANTONIO

**Resposta à Intradermorreação de Montenegro,  
tempo de evolução da lesão e a ocorrência de falha  
terapêutica na forma cutânea da leishmaniose  
tegumentar americana: um estudo caso-controle.**

Dissertação apresentada ao  
Curso de Pós Graduação em  
Pesquisa Clínica em Doenças  
Infecciosas do Instituto de  
Pesquisa Clínica Evandro  
Chagas para obtenção do título  
de Mestre em Ciências da  
Saúde.

Orientadoras: Dra. Aline Fagundes da Silva

Dra. Maria Inês Fernandes Pimentel

Aprovada em:    /    /

BANCA EXAMINADORA

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sônia Regina Lambert Passos**

Doutora em Saúde Pública

Fundação Oswaldo Cruz/Fiocruz

---

**Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>a</sup>. Keyla Belizia Feldman Marzochi**

Doutora em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias)

Universidade Federal do Rio de Janeiro/UFRJ

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fátima Conceição da Silva**

Doutora em Biologia Celular e Molecular

Fundação Oswaldo Cruz /Fiocruz

A Deus, pela inspiração, força e sabedoria.

Aos meus pais, por toda dedicação e apoio na minha formação e em todos os momentos de minha vida.

Ao meu namorado, pelo incentivo e pela compreensão nos momentos de ausência.

Aos amigos e familiares, que comigo vivenciaram mais um momento de vitória em minha vida.

## AGRADECIMENTOS

Toda e qualquer falha deste trabalho deve ser creditada exclusivamente à autora do mesmo. Todos os méritos, porém, têm que ser divididos com todos aqueles que participaram e fizeram o melhor de si por sua realização, de todas as formas possíveis. A todos, meus agradecimentos...

Às minhas orientadoras, Dr<sup>a</sup> Aline Fagundes da Silva e Dr<sup>a</sup> Maria Inês Fernandes Pimentel, por me ajudarem a realizar este trabalho e principalmente por todo o ensinamento, atenção, amizade, carinho, dedicação, enfim, por tudo.

Ao Dr. Armando Schubach, pelos ensinamentos, disponibilidade, ajuda, atenção e amizade.

À coordenação do Curso de Pós- Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas e Parasitárias do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas da FIOCRUZ.

Ao Laboratório de Vigilância em Leishmanioses do IPEC/FIOCRUZ, pela acolhida, respeito e incentivo à realização deste trabalho

A professora Raquel Vasconcellos, pela ajuda em estatística e pela amizade.

À equipe e amigos do “Ambulatório”, pelo apoio e incentivo.

À professora que participou de diversos momentos do processo de avaliação e acompanhamento deste trabalho Dr<sup>a</sup> Sonia Lambert Passos/IPEC.

Aos professores com quem tive oportunidade de aprender, durante os créditos, uma lição de ciência.

À todos os colegas da turma de 2010 da Pós- Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, pela amizade e maravilhosa convivência.

Aos que me apoiaram e me incentivaram a realizar meus sonhos profissionais em minha vida, meus pais, Cleusa e José Antonio, meus tios, primos e avós, e meu namorado Paulo Henrique.

E a todos aqueles que, mesmo não tendo sido citados, com certeza nunca serão esquecidos....

*“A paz exige quatro condições essenciais: Verdade, justiça, amor e  
liberdade.”  
(Papa João Paulo II)*

Antonio, L F. **Resposta à intradermorreação de Montenegro, tempo de evolução da lesão e ocorrência de falha terapêutica na forma cutânea da leishmaniose tegumentar americana: um estudo caso-controle.** Rio de Janeiro, 2011. 55 f. Dissertação [Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz.

## RESUMO

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença parasitária que acomete o homem através da picada de um inseto flebotômico infectado. No período de 2001 a 2010 foram confirmados 266.526 casos de LTA no Brasil. A intradermorreação de Montenegro (IDRM) é o teste mais utilizado para o diagnóstico rotineiro nos pacientes suspeitos de LTA principalmente pela alta sensibilidade, facilidade de aplicação e baixo custo. Uma questão fundamental é a relação entre o comportamento da IDRM e o prognóstico da LTA pós-tratamento. O presente estudo verificou a associação entre a resposta à IDRM e a ocorrência de falha terapêutica em pacientes com a forma cutânea da LTA, atendidos no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil. Trata-se de um estudo caso-controle retrospectivo, por meio da análise de prontuários de pacientes com a forma cutânea da doença, submetidos à IDRM, tratados com antimoniatto de meglumina ( $Sb^{5+}$ ) por via intramuscular, na dose de 5 mg $Sb^{5+}$ /kg/dia, e que apresentaram falha terapêutica, acompanhados entre 1989 e dezembro de 2009, comparando-os com um grupo-controle de pacientes atendidos no mesmo local, com características semelhantes, e que não apresentaram falha terapêutica no seguimento pós-tratamento. Pacientes com falha terapêutica apresentaram reações de IDRM menos intensas que os doentes que evoluíram à cura clínica; já pacientes com IDRM mais intensas no momento do diagnóstico foram menos suscetíveis à ocorrência de falha terapêutica. A cada 10 milímetros de incremento na IDRM correspondeu um aumento de 74% na proteção do paciente contra a falha terapêutica. Além disso, a resposta terapêutica em pacientes com forma cutânea da LTA teve aproximadamente cinco vezes mais chance de falhar quando as lesões apresentadas tinham até dois meses de evolução. Portanto, o tratamento precoce, antes do estabelecimento de uma resposta imune celular eficaz, pode contribuir como um fator de falha terapêutica, assim como a maior intensidade de resposta à IDRM pode propiciar melhor resposta ao tratamento com antimonial, na LTA.

**Palavra Chave:** 1. Testes cutâneos. 2. Leishmaniose cutânea. 3. Falha de tratamento.

Antonio, L F. **Montenegro skin test, evolution period of the lesion and the occurrence of therapeutic failure in cutaneous form of american tegumentary leishmaniasis: case control study.** Rio de Janeiro, 2011. 55 f. Master [Science dissertation in clinical research in Infection Disease] – Evandro Chagas Clinical Research Institute, Oswaldo Cruz Foundation.

## ABSTRACT

American tegumentary leishmaniasis (ATL) is a parasitic disease that affects humans through the bite of an infected sandfly. In the period 2001 to 2010 there were 266,526 confirmed cases of ATL in Brazil. The Montenegro skin test (MST) is the most used test for routine diagnosis in patients suspected of ATL, mainly due to its high sensitivity, ease of application and low cost. A key issue is the relation of MST in the prognosis of ATL after treatment. This study examined the association between the response to the MST and the occurrence of therapeutic failure in patients with the cutaneous form of ATL admitted to the Evandro Chagas Clinical Research Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil. This is a case-control retrospective study, through the analysis of medical records of patients with cutaneous form of desiasse, who underwent MST and were treated with meglumine antimoniate ( $Sb^{5+}$ ) intramuscularly, at a dose of 5 mg $Sb^{5+}$  / kg / day, between 1989 and December 2009, and having had treatment failure. We compared them with a control group of patients with similar characteristics, who did not have therapeutic failure in the follow-up. Patients with treatment failure showed less intense MST reactions compared to patients who progressed to clinical cure; in contrast, patients with more intense MST at diagnosis were less susceptible to the occurrence of therapeutic failure. Every 10 mm of increase in MST response corresponded to a 74% na proteção do paciente contra a failure. In addition, patients with cutaneous form of ATL were approximately five times more likely to fail when the lesions had up to two months of evolution at the beginning of the treatment. Therefore, early treatment, before the establishment of an effective cellular immune response, could contribute like a factor to the occurrence of treatment failure, and patients with more intense MST can have better therapeutic evolution with meglumine antimoniate ( $Sb^{5+}$ ) in patients with ATL.

**Keywords:** 1.Skin tests. 2. Cutaneous leishmaniasis. 3.Treatment failure

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Seleção de casos e controles após análise do Banco de Dados do LabVigileish - 1989-2009, IPEC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil	47
----------	---	----

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1	Odds ratio bruta das variáveis no modelo simples de regressão logística condicional.	47
Tabela 2	Odds ratio bruta das variáveis no modelo múltiplo de regressão logística condicional.	47

## LISTA DE ABREVIÇÕES

LTA – Leishmaniose tegumentar americana

IDRM – Intradermorreação de Montenegro

SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação do Ministério da Saúde

LC – Leishmaniose cutânea

LM – Leishmaniose mucosa

IFI – Imunofluorescência

ELISA – Ensaio imunoenzimático

IPEC – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

CPPI – Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos

Sb<sup>5+</sup> - Antimonial pentavalente

LabVigiLeish – Laboratório de Vigilância em Leishmaniose

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	16
2.1 LEISHMANIOSES E LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA.....	17
2.2 A LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO RIO DE JANEIRO.....	20
2.3 ASPECTOS CLÍNICOS.....	21
2.4 DIAGNÓSTICO .....	24
2.4.1 Intradermorreação de Montenegro (IDRM).....	25
2.4.1.1 Antígeno de Montenegro (IDRM).....	25
2.4.1.2 O teste de Montenegro (IDRM).....	255
2.5 TRATAMENTO .....	33
2.6 EVOLUÇÃO DO DOENTE TRATADO .....	35
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	40
3.1 GERAL.....	40
3.2 ESPECÍFICOS .....	40
<b>4. ARTIGO: INTENSIDADE DA INTRADERMORREAÇÃO DE MONTENEGRO E TEMPO DE EVOLUÇÃO DA LESÃO COMO PREDITORES DE FALHA NA RESPOSTA TERAPÊUTICA DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA</b> .....	42
<b>5. COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES</b> .....	60
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	62

## 1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose tegumentar americana é uma antropozoonose com amplo espectro clínico e diversidade epidemiológica (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). Nos últimos 10 anos as áreas endêmicas se ampliaram aumentando o número de casos registrados (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2010). Segundo a Organização Mundial de Saúde (2010) as leishmanioses estão relacionadas com diversos fatores associados ao hospedeiro como deslocamento, desnutrição, condições precárias de habitação, analfabetismo e fraqueza do sistema imunológico; e a fatores relacionados às mudanças ambientais como desmatamento; construção de barragens; mudanças nos sistemas de irrigação e urbanização e migração.

No Brasil, a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) apresenta ampla distribuição, com registro da enfermidade em todos os estados brasileiros (GONTIJO; CARVALHO, 2003; VIEIRA-GONÇALVES et al, 2008; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). É considerada pelo Ministério da Saúde (2010) uma das afecções dermatológicas que merece grande atenção devido ao significativo número de casos registrados anualmente (média de 27.000 casos novos), ao risco de provocar deformidades nos indivíduos acometidos e ao fato de ser uma doença ocupacional na maioria dos casos, capaz de afetar as condições psicológicas (SILVA; LOPES, 2004), sociais e econômicas do indivíduo acometido (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Os exames diagnósticos parasitológicos e de detecção molecular da *Leishmania* ainda têm utilização restrita aos centros de referência da doença pelo alto custo e complexidade técnica (GONTIJO; CARVALHO, 2003; MINISTÉRIO DA

SAÚDE, 2010). A intradermoreação de Montenegro (IDRM) é o teste complementar mais utilizado para o diagnóstico rotineiro nos pacientes suspeitos de LTA devido à sua alta sensibilidade, facilidade de aplicação e baixo custo. Na rede básica de saúde, quando associada à presença de lesão tegumentar suspeita, a IDRM constitui o principal exame confirmatório indicado.

O tratamento de primeira escolha recomendado pelo Ministério da Saúde é o antimonial pentavalente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). No entanto, esse medicamento provoca diversos efeitos adversos como artralgia, mialgia, anorexia, cefaléia, febre, vômitos, tontura e edema no local da aplicação, sendo a cardio, nefro e hepatotoxicidade dos antimoniais uma importante limitação à sua utilização. Além disso, por serem abortivos, não podem ser administrados em gestantes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Pela literatura, a falha terapêutica em indivíduos com LTA tratados com antimoniato varia de 46 a 75% (MACHADO et al, 2002; RODRIGUES et al, 2006; TEIXEIRA et al, 2008; UNGER et al, 2009). No entanto, no Rio de Janeiro, as taxas de falha terapêutica são bem menores que no resto do país.

Define-se como falha terapêutica aquele caso que recebeu dois esquemas terapêuticos regulares sem apresentar cura clínica da doença (Ministério da Saúde, 2010). Nesses casos, o mesmo esquema terapêutico deve ser repetido, e nos casos de não resposta após duas aplicações do mesmo esquema, uma droga de segunda escolha deve ser utilizada (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

No entanto, a repetição do tratamento, assim como a utilização de uma droga de segunda escolha, expõe novamente o paciente aos riscos de efeitos adversos aos medicamentos. Contudo, os controles de resposta terapêutica nem sempre são padronizados, gerando dificuldades de comparação entre os mesmos.

Neste estudo, a falha terapêutica foi considerada quando o paciente não apresentou cura clínica após o primeiro esquema de tratamento, conforme a definição adotada na rotina clínica de atendimento do Laboratório de Vigilância em Leishmaniose (Lab VigiLeish) do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

O comportamento da IDRM tem sido estudado por vários autores, desde 1926 quando foi desenvolvido para aplicação em seres humanos (Montenegro, 1926). Atualmente, diante das evidências observadas por Passos et al. (2002) em que a IDRM pode funcionar como um preditor da ocorrência de recidiva surgiu novos questionamentos quanto ao valor prognóstico do teste.

Uma questão fundamental a ser elaborada é sobre o comportamento da IDRM como um indicador de prognóstico da LTA quanto á resposta ao tratamento com antimonial: conhecer se a negatividade ao teste indicaria uma probabilidade de falha terapêutica a seguir. Em relação ao comportamento da IDRM, de outra forma, podemos questionar sobre qual seria a intensidade da resposta esperada ao teste diante de casos de falha terapêutica e se a resposta positiva à IDRM indicaria melhor prognóstico.

O presente estudo analisou a resposta à IDRM nos pacientes que apresentaram falha terapêutica ocorrida em até dois anos pós-tratamento, comparando-os com pacientes que não apresentaram falha terapêutica no seguimento de, no mínimo, dois anos pós-tratamento. Os indivíduos foram pareados segundo sexo, idade e todos pacientes do estudo receberam o mesmo esquema terapêutico. Outros parâmetros clínicos e laboratoriais foram conjuntamente analisados, para verificar sua possível associação com a falha terapêutica.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

## 2.1 LEISHMANIOSES E LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA

As leishmanioses se incluem entre as doenças negligenciadas, constituindo um problema de saúde pública. Com ampla distribuição mundial, acometem o homem sob diversas formas clínicas. Estima-se que 350 milhões de pessoas estejam expostas ao risco com registro aproximado de dois milhões de novos casos ao ano das diferentes formas clínicas (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2010).

As formas clínicas principais são a tegumentar e a visceral, que estão relacionadas com a espécie de parasito envolvido no ciclo de transmissão dessas infecções. No aspecto clínico-patológico, as leishmanioses tegumentares se relacionam ao parasitismo das células mononucleares do tegumento (acometimento de pele e/ou mucosa) e a leishmaniose visceral (LV) ou calazar ao parasitismo da medula óssea e vísceras (baço e fígado) (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2010). No entanto, espécies típicas dos parasitos cutâneos podem provocar visceralização, devido à interferência da resposta imunológica do hospedeiro (BARRAL et al, 1991).

Entre as leishmanioses, a leishmaniose tegumentar destaca-se por sua frequência.

No Brasil, nos anos de 2001 a 2010, de acordo com dados tabulados no DATASUS, a LTA correspondeu a 266.526 casos confirmados e notificados ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação do Ministério da Saúde (SINAN),

distribuídos nos 27 estados brasileiros, sendo que, em 2010, somaram 21.866 novos casos. No mesmo período, foram notificados 35.917 casos de leishmaniose visceral, sendo 3.943 casos novos no ano de 2010, com destaque para os estados de Pará, Tocantins, Maranhão, Piauí, Ceará, Bahia, Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso do Sul, que concentraram aproximadamente 87% desses (DATASUS, 2011; disponível: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/dh?sinan/lta/bases/ltabr.def>). Alguns autores estimam que a incidência pode ser duas a três vezes maior, considerando as subnotificações e falhas no sistema de notificação (MARZOCHI, 1992; MARZOCHI; MARZOCHI, 1994).

As leishmanioses são doenças transmitidas ao homem através da picada da fêmea do inseto vetor, infectado com o parasito causador dessas protozooses. A infecção pela *Leishmania spp* pode ser também subclínica.

Os parasitos causadores da doença ou da infecção subclínica são os protozoários pertencente à família Trypanosomatidae, gênero *Leishmania*, que é intracelular obrigatório das células do sistema fagocítico mononuclear. Apresenta-se sob duas formas principais: uma flagelada ou promastigota, encontrada no tubo digestivo do inseto vetor, e outra aflagelada ou amastigota, observada nos tecidos dos hospedeiros vertebrados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). Até o momento, foram registradas sete espécies de *Leishmania* causadoras de LTA identificadas no Brasil, seis do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania*, sendo as principais: *L. (Viannia) braziliensis*, *L. (Viannia) guyanensis* e *L. (Leishmania) amazonensis*. Essas três espécies têm uma distribuição mais ampla, amazônica e extra-amazônica, principalmente a *L.(V.) braziliensis*. E as demais, *L. (Viannia) lainsoni*, *L. (Viannia) naiffi*, *L. (Viannia) shawi* (GONTIJO; CARVALHO, 2003; BASANO; CAMARGO, 2004) e *L. (V.) lindenbergi* foram identificadas

predominantemente em estados da região Norte (SILVEIRA, et al, 2002; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Os vetores das leishmanioses pertencem à Ordem Díptera, Família Psychodidae, Subfamília Phlebotominae, Gênero *Lutzomyia*, conhecidos popularmente, dependendo da localização geográfica, como mosquito palha, tatuquira, birigui, entre outros (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006, 2010). As principais espécies de flebotomíneos envolvidas na transmissão da LTA são: *Lutzomyia flaviscutellata*, *L. whitmani*, *L. umbratilis*, *L. intermedia*, *L. wellcomei* e *L. migonei* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010), predominando no Sudeste a *L. intermedia* e a *L. whitmani*.

Os animais domésticos podem também se infectar e adoecer, principalmente canídeos, eqüinos e mais raramente gatos, implicados na transmissão peridomiciliar e domiciliar.

O padrão de transmissão da LTA tem sofrido mudanças nas últimas décadas. A doença, que acometia ocasionalmente pessoas em contato com as florestas, começou a ocorrer em zonas rurais, já praticamente desmatadas, e em regiões periurbanas e mesmo consideradas urbanas. Podem assim ser referidos três a quatro perfis epidemiológicos da leishmaniose tegumentar: silvestre, rural, periurbano/urbano (MARZOCHI; MARZOCHI, 1997; BASANO; CAMARGO, 2004; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

A LTA se apresenta com período de incubação, em média, de dois a três meses, podendo variar de duas semanas a dois anos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Na LTA as manifestações variam com a *Leishmania spp* envolvida, podendo acometer a pele de formas diversas, atingir mucosas e responder diferentemente à terapêutica.

## 2.2 A LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO RIO DE JANEIRO

No Rio de Janeiro, casos autóctones de LTA vêm sendo registrados de forma descontínua, desde a primeira década do século XX (KAWA; SABROZA, 2002). O registro do primeiro caso de leishmaniose no Rio de Janeiro foi relatado por Rabello (1913 apud KAWA e SABROZA, 2002), e D'Ultra e Silva (1915) relatou novos casos em outras localidades do estado. Recentemente, em 2010, foram registrados 104 casos novos de LTA no estado do Rio de Janeiro (DATASUS, 2011).

A espécie isolada dos pacientes diagnosticados no Rio de Janeiro é a *L. (Viannia) braziliensis*, que também é o principal agente causal da LTA em todo o território brasileiro. Até hoje, somente um caso autóctone de infecção por *L. (Leishmania) amazonensis* foi registrado em Paraty, cidade litorânea do estado do Rio de Janeiro (AZEREDO-COUTINHO et al, 2007).

A *L. (Viannia) braziliensis* causa a leishmaniose cutânea, que pode ser localizada, única ou múltipla, e disseminada, e a leishmaniose cutâneo-mucosa. É a principal espécie presente nos ciclos peri-doméstico/doméstico da LTA. Associa-se a uma grande variedade de espécies de flebotomíneos e pode infectar vários animais domésticos e silvestres (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

A forma clínica mais frequente nos pacientes do Rio de Janeiro é a cutânea única ou múltipla, com lesões ulceradas, localizadas principalmente em membros inferiores e superiores (OLIVEIRA-NETO et al, 1988; FERNANDES et al, 2009; BUSTAMANTE et al, 2009).

O principal padrão de transmissão da LTA encontrado é o periurbano. Alguns estudos epidemiológicos realizados nos focos de transmissão da região metropolitana e região centro-sul do Rio de Janeiro puderam caracterizar um padrão (representado por um conjunto de características epidemiológicas e fatores de risco) bastante diferente daquele observado nos trabalhos realizados em frentes agrícolas. Dentre eles destacam-se: distribuição homogênea entre faixa etária e sexo, ausência de risco ocupacional, baixa proporção de formas mucosas e acentuada agregação familiar dos casos (KAWA; SABROZA, 2002; BUSTAMANTE et al, 2009), além da presença frequente no entorno de galinheiro, árvores frutíferas, bambuzais e animais domésticos, principalmente o cão.

## 2.3 ASPECTOS CLÍNICOS

O paciente com LTA apresenta uma evolução crônica podendo ser acometidas as estruturas da pele bem como cartilagens da nasofaringe.

De forma geral, a apresentação clínica da LTA pode ser cutânea, cutâneo-mucosa e difusa (GONTIJO; CARVALHO, 2003) conforme a *Leishmania spp* envolvida e a resposta imunológica do paciente.

No entanto, a infecção por *Leishmania spp* pode ser subclínica, na dependência da resposta imunológica do paciente suscetível, não se associando a manifestação clínica, mas acompanhando-se de positividade à IDRM e às vezes aos testes sorológicos. É mais observada em áreas de transmissão da LTA, em pessoas sem história prévia de LTA e na ausência de cicatriz cutânea sugestiva ou de lesão mucosa (SILVA, 2007; FAGUNDES et al, 2007).

A leishmaniose cutânea localizada, pode se apresentar com lesão única ou múltiplas lesões; a cutânea disseminada é caracterizada pelo aparecimento de lesões múltiplas (dez ou mais), de aspectos diversos - ulceradas, papulosas ou de aparência acneiforme, acometendo vários segmentos corporais e envolvendo com frequência a face e o tronco; recidiva cútis é a reativação localizada geralmente na borda da lesão após cicatrização da úlcera. De regra, a forma cutânea localizada e múltipla estão associadas a *L. (V) braziliensis* e *guianensis* e a *L. (L) amazonensis* enquanto a forma disseminada associa-se apenas às duas primeiras (MARZOCHI; MARZOCHI, 1994).

A leishmaniose cutâneo-mucosa (LM) pode ocorrer em uma pequena proporção de casos, atingindo a mucosa oral, de nasofaringe e/ou laríngea. Associa-se, de regra a *L. (V.) braziliensis* e, eventualmente, a *L. (V.) guianensis* (MARZOCHI; MARZOCHI, 1994).

Muito mais raramente, pode ocorrer a forma cutânea difusa, que é grave, e pode se manifestar em pacientes anérgicos (com deficiência específica na resposta imune celular a antígenos de *Leishmania sp*), iniciando-se com lesão única e má resposta ao tratamento, e evoluindo lentamente com formação de placas e nodulações recobrando grandes extensões cutâneas (MINISTÉRIO DA SAÚDE,

2010). Esta forma clínica, porém, no Brasil, associa-se apenas a *L. (L.) amazonensis* (MARZOCHI; MARZOCHI, 1994).

Outra forma rara é de leishmaniose linfonodal em que pacientes apresentam linfadenopatia localizada na ausência de lesão tegumentar, diferenciada da linfangite ou linfadenomegalia satélite que podem surgir após o estabelecimento da lesão (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). Tem sido descrita em áreas onde predomina a *L. (V.) braziliensis*. (MARZOCHI; MARZOCHI, 1994).

Na leishmaniose cutânea (LC), a úlcera típica é indolor, arredondada ou ovalada, com base eritematosa, infiltrada e de consistência firme, bordas bem delimitadas e elevadas, e fundo avermelhado com granulações grosseiras; costuma localizar-se em áreas da pele mais expostas a picada de insetos.

Se há infecção bacteriana associada pode causar dor e produzir exsudato sero-purulento que, ao dessecar-se em crostas, recobre total ou parcialmente o fundo da úlcera (PESSOA; BARRETO, 1948)

A LM apresenta as seguintes formas clínicas: mucosa tardia, que é a mais comum, surgindo após a cura da LC e associada a lesões múltiplas ou única de longa duração, cura espontânea ou tratamento insuficiente; mucosa indeterminada, que se apresenta clinicamente isolada e sem evidência de LC anterior, possivelmente associada às infecções subclínicas ou lesões pequenas não ulceradas e de evolução rápida que teriam passado despercebidas sem deixar cicatrizes perceptíveis; mucosa concomitante, quando a lesão mucosa ocorre distante da lesão cutânea, mas ao mesmo tempo; mucosa contígua, quando ocorre por propagação direta de lesão cutânea, situada próxima a orifícios naturais, para o tecido mucoso das vias aerodigestivas superiores e outros; mucosa primária,

ocorrendo eventualmente pela picada do vetor na mucosa ou semimucosa de lábios e genitais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

## 2.4 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico é realizado pelo exame clínico, com auxílio de exames complementares e da história epidemiológica do paciente. O diagnóstico de certeza somente se obtém pela demonstração do parasito, que pode ser conseguida por meio da pesquisa direta das formas amastigotas (escarificação, aspiração ou aposição em lâmina de fragmento de biópsia) ou cultura (aspiração ou fragmento de biópsia). O diagnóstico também pode ser obtido pela pesquisa dos parasitos em cortes histológicos e pela reação em cadeia da polimerase (FURTADO, 1980; GONTIJO; CARVALHO, 2003; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). Alguns autores têm sugerido a associação de exames visando melhorar a capacidade de identificar a confirmação laboratorial da doença (SZARGIKI et al, 2009).

A constatação da presença do parasito ou de seu DNA, além de não ser de fácil execução, tem percentuais variáveis de positividade (MARZOCHI, 1992; DEGRAVE et al, 1994).

Outras técnicas indiretas, de avaliação da resposta imunológica do hospedeiro frente à *Leishmania spp*, como a dosagem de anticorpos séricos, também têm considerável frequência de resultados falso-negativos (FURTADO, 1980; MARZOCHI, 1992). Dentre os métodos imunológicos estão as reações sorológicas de imunofluorescência indireta (IFI) e o ensaio imunoenzimático (ELISA),

sendo mais importantes nas formas mucosas e na forma cutânea disseminada; normalmente os títulos de anticorpos caem após a cura clínica das leishmanioses.

Na prática, o teste mais utilizado, associado à resposta imune celular, é a intradermoreação de Montenegro (IDRM) que, em caso de leishmaniose tegumentar, apresenta alta frequência de positividade (SILVA, 2007).

### **2.4.1 Intradermoreação de Montenegro (IDRM)**

#### 2.4.1.1 Antígeno de Montenegro

O Antígeno de Montenegro foi desenvolvido em 1923 por Wagener para imunização de coelhos contra LTA e em 1926 foi padronizada para a aplicação em seres humanos por Montenegro a fim de diminuir a dificuldade do diagnóstico diferencial entre a leishmaniose, sífilis, blastomicose e tuberculose (WAGENER, 1923; MONTENEGRO, 1926).

Esse composto é utilizado no auxílio diagnóstico da LTA através do teste de intradermoreação de Montenegro (IDRM) que traduz resposta alérgica de hipersensibilidade celular retardada. Cada frasco ampola de antígeno de Montenegro com 1 ml contém suspensão de *L. amazonensis* (cepa de referência OMS MHOM/BR /73/PH8), na concentração de 40µg/ml de nitrogênio protéico (Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos, 2005). A concentração do

parasito para a fabricação do antígeno foi padronizada por Melo et al. (1977) apresentando uma suspensão antigênica conservada em fenol.

Atualmente, o antígeno utilizado no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) é produzido pelo Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos – CPPI do Instituto de Saúde do Paraná.

#### 2.4.1.2 O teste de intradermorreação de Montenegro (IDRM)

A IDRM é um teste de avaliação da hipersensibilidade tardia ao antígeno de *Leishmania sp* mediada por células T (SASSI et al, 1999). Portanto, uma IDRM positiva indica o estabelecimento de uma resposta imune celular contra a infecção por *Leishmania spp*.

Na rede pública de saúde, esse teste clínico constitui um dos poucos exames complementares disponíveis para investigação, principalmente devido à alta sensibilidade, à facilidade de aplicação, e ao baixo custo.

A IDRM é considerada de alto valor como indicador de infecção por *Leishmania spp*, com sensibilidade de 86,4 a 100% (MONTENEGRO, 1926; SILVA, 1999; REIS et al. 2008; CURTI et al, 2011) e, quando associada à presença de lesão tegumentar suspeita, constitui o principal exame utilizado na rede de saúde. A utilização da IDRM associada com os critérios clínicos para confirmação da doença está relacionada à dificuldade de se obter o diagnóstico por confirmação etiológica. A pouca quantidade de parasitos nas lesões e o fato de que muitos dos exames parasitológicos e de detecção molecular da *Leishmania spp* ainda têm utilização

restrita aos centros de referência da doença são as principais dificuldades para a obtenção do diagnóstico etiológico para a leishmaniose tegumentar (GONTIJO; CARVALHO, 2003; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). Por sua vez, a restrição dos exames parasitológicos e molecular aos centros de referência está relacionada ao alto custo e à complexidade técnicas desses exames.

A aplicação do teste de Montenegro consiste na inoculação, por via intradérmica, de 0,1 ml de antígeno de *Leishmania sp*, na face anterior do antebraço direito, com bisel da agulha voltado para cima, num ângulo de 5 a 15° (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). No caso de reações positivas, verifica-se o estabelecimento de uma reação inflamatória local formando um nódulo, enduração ou pápula que atinge o auge em 48-72 horas (MONTENEGRO, 1926; NEVES et al, 2003; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). A reação é considerada positiva se, na leitura, detectar-se uma enduração no local igual ou maior que cinco milímetros de diâmetro (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). A reação de Montenegro positiva é classificada em fraco reator quando apresenta enduração local entre 5 e 9 milímetros de diâmetro e forte reator quando essa enduração é maior que 10 milímetros (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

A positividade do teste é de 90% dos casos LTA e geralmente permanece positiva após o tratamento, ou cicatrização da lesão cutânea tratada ou curada espontaneamente, negativando nos indivíduos fracos-reatores e nos precocemente tratados (CENTRO DE PRODUÇÃO E PESQUISA DE IMUNOBIOLOGICOS, 2005; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

A leitura da IDRM deve ser realizada, após 48 horas, com demarcação da área endurecida com caneta esferográfica (SOKAL, 1975). Sokal (1975) propôs o método de demarcação da área endurecida com caneta esferográfica para reduzir a variação entre observadores encontrada por Bearman et al. (1964) com a utilização

da técnica da palpação para a leitura do teste tuberculínico. O resultado da leitura é anotado em milímetros e a endureção, demarcada com caneta no antebraço, é registrada através do decalque desta demarcação utilizando papel úmido com álcool 70% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010; FAGUNDES et al. in press)<sup>1</sup>. O decalque funciona como registro permanente, permitindo a leitura posterior. Fagundes et al. (in press) encontraram alta concordância entre os resultados lidos no antebraço dos pacientes após 48 horas da aplicação com os resultados lidos posteriormente no papel decalcado, sugerindo que a leitura posterior em papel reproduz o resultado observado no antebraço.

Embora seja, classicamente, preconizada a leitura da reação após 48 horas da aplicação do teste, Rabello et al. (1945) relataram reações tardias à IDRM. Segundo estes autores, pacientes suspeitos de infecção por LTA, com leitura negativa no teste após 48 horas, apresentaram reação local no ponto de inoculação do antígeno de Montenegro cerca de dez dias após a aplicação e essas reações foram morfológicamente indiferenciáveis da resposta positiva à IDRM em 48 horas. Silva (2007) também encontrou na primeira fase do seu estudo casos de indivíduos que tinham apresentado resultado negativo após 48 horas da aplicação e apresentaram IDRM positiva após 12 e 16 dias da aplicação. Segundo a autora, esses achados poderiam estar relacionados com a composição do antígeno utilizado nos trabalhos ou poderiam estar associados a um estímulo antigênico diferente da IDRM eventualmente recebido no período entre a aplicação e a leitura após 2 semanas.

---

<sup>1</sup>Fagundes A, Antonio L, Schubach A, Marzochi KBF. Comparison between in vivo measurement of the Montenegro skin test and paper recording. *Int. J. Dermatol* (in press).

Na segunda fase do estudo, Silva (2007), avaliou a IDRM em pacientes atendidos no Laboratório de Vigilância em Leishmaniose (Lab VigiLeish) de leishmaniose do IPEC/FIOCRUZ, utilizou o antígeno Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos/Paraná e não observou reação sistêmica, nem positividade tardia em até 15 dias de estudo após a realização da IDRM, garantindo a segurança e a qualidade da aplicação da IDRM.

A IDRM se torna positiva normalmente após um a dois meses de evolução da doença. Contudo, Mazur; Bari (2006) demonstraram alta sensibilidade nos testes realizados com menos de um mês de evolução. Outros, porém, relataram a negatividade da reação nos casos iniciais da doença, entre 7 e 30 dias após o aparecimento da lesão (PESSOA; PESTANA, 1940; LOPES; LAENDER, 1945). Estes estudos confirmaram os achados de Salles Gomes (1939) que identificou uma associação entre a intensidade da IDRM com o tempo de doença e com a presença de lesões mucosas, assim como a permanência de resultados positivos em indivíduos curados.

Devido à natureza alérgica da IDRM, algumas precauções devem ser tomadas antes e após a realização da mesma, como: o antígeno deve ser conservado em geladeira com temperaturas de 2 a 8°C para evitar a inativação e garantir a qualidade do mesmo; antes de aspirar o antígeno, o frasco deve ser agitado por 30 vezes para homogeneizar o líquido (CENTRO DE PRODUÇÃO E PESQUISA DE IMUNOBIOLÓGICOS, 2005) ; a formação de uma pápula na pele do paciente no momento da injeção do antígeno é necessária para confirmação da via intradérmica de aplicação, pois um erro na via de administração da IDRM pode aumentar o risco de reações sistêmicas ou imediatas (POTTER; PERRY, 2006); e verificar se o indivíduo possui alergia ao conservante antes da aplicação da IDRM,

assim como a observação do indivíduo por 30 minutos após a realização da mesma, para segurança de não ocorrência de reação imediata generalizada após a realização da IDRm, como observada por Fagundes et al. (2003).

Resultados discordantes ao se comparar dois antígenos de Montenegro elaborados por duas instituições diferentes demonstraram a ausência de um antígeno padrão para uso universal, o que pode levar à variação nas respostas aos antígenos existentes entre populações diferentes e dentro da mesma população. A positividade foi de 52 (13%) reações com antígeno 1 e 95 (23,8%) com o antígeno 2. Neste estudo todos os pacientes receberam por via intradérmica 0,1 ml dos dois antígenos fabricados, sendo cada antígeno em um antebraço diferente. Foi empregada a mesma técnica de fabricação, utilizado cepas idênticas, ambas na concentração 40µg de nitrogênio protéico/ml e preservado em solução salina mertiolatada 1/10.000, para produção do antígeno. A leitura foi realizada 48 a 72h após aplicação, utilizando a técnica caneta esferográfica e as reações foram consideradas positivas quando apresentaram diâmetros transversos e longitudinais iguais ou maiores que 5mm. Tanto a aplicação quanto a leitura foram feitas pelo mesmo pesquisador (ROMERO et al, 2004).

Uma devida atenção ao conservante do antígeno deve ser dada, pois o mesmo pode induzir uma hipersensibilidade tardia provocando resultados falso-positivos à IDRm. Alguns estudos demonstraram que o fenol é o melhor conservante a ser utilizado na fabricação do antígeno de Montenegro (MAYRINK et al, 2006; FAGUNDES et al, 2007).

A resposta à IDRm pode ser influenciada pela forma clínica da doença. Nas diferentes formas clínicas da doença a resposta imune é dependente de células T e a diferença entre resistência e susceptibilidade à infecção por *Leishmania spp* está

relacionada com nível de expansão de células Th1 e Th2 (BACELLAR, et al 2002; REIS et al, 2006). Casos de LM geralmente apresentam IDRMs mais intensas que pacientes com LC (SALLES-GOMES, 1939) assim como a resposta imune em pacientes com LM caracterizam-se por uma mistura de resposta dos tipos Th1 e Th2 e nos pacientes com LC é do tipo Th1 (PIRMEZ et al, 1993); em casos da forma cutânea difusa, a IDRMs é normalmente negativa (FURTADO, 1980) e os pacientes exibem uma resposta quase exclusivamente do tipo Th2 (PIRMEZ et al, 1993; REIS et al, 2006); e nos casos de LV a IDRMs tende a ser negativa na fase ativa da doença onde a resposta imunológica é predominante Th2 não protetora e positiva após a cura com desenvolvimento de uma resposta imune protetora predominantemente Th1.

A IDRMs geralmente permanece positiva após a cura da doença, não sendo capaz de diferenciar infecção pregressa de atual. Pessôa e Barretto (1948) preconizavam que a resposta de hipersensibilidade retardada, demonstrada pelos testes cutâneos, poderia permanecer indefinidamente positiva. Outros autores relatam a diminuição da intensidade de resposta com o tempo (MAYRINK et al, 1976; MARZOCHI et al, 1980). Marzochi et al. (1980) verificaram que em 57,9% dos indivíduos examinados quatro anos após a cura clínica existia uma tendência à negatificação do teste. Entretanto, Schubach et al. (1990), reavaliando 96 antigos pacientes que permaneceram residindo em áreas endêmicas do Rio de Janeiro após o tratamento e a cura clínica, verificaram que as IDRMs eram positivas em 100% dos casos testados e não houve diferenças nos diâmetros dos testes entre os grupos de LC entre 1 e 14 anos após o tratamento.

Estudos sugerem que a IDRMs positiva pode estar relacionada com a proteção contra o desenvolvimento da doença (BEN SALAH et al, 2005). Estes autores

observaram que a presença de IDRMM positiva associada com cicatriz sugestiva de LC foi considerada um fator protetor contra o desenvolvimento da doença, e que pacientes que possuíam reações maiores que sete milímetros apresentaram um fator de proteção maior contra o desenvolvimento da doença.

Nos estudos de vacinas para leishmaniose, a IDRMM é utilizada para verificar a formação da resposta imune protetora à *Leishmania sp.* Espera-se que indivíduos vacinados contra *Leishmania sp.* possam apresentar IDRMM positiva e não desenvolver doença (DELUCA et al, 1999). Marzochi et al, 1998 selecionaram indivíduos que apresentaram IDRMM negativa para avaliação da resposta imune à vacina contra *Leishmania sp.*, e voluntários são que convertiam para IDRMM positiva após a aplicação da vacina eram considerados protegidos.

Alguns estudos nos anos 40 avaliaram a resposta da IDRMM em diferentes doenças, boubá, pênfigo, tuberculose, que constituem diagnóstico diferencial da LTA, e todos encontraram resposta 100% negativas (CAMPOS, 1943; LOPES; LAENDER, 1945; ROTBERG, 1952). No entanto, no Rio de Janeiro, recentemente Barros et al. (2005) demonstraram IDRMM positiva em pacientes com esporotricose, sem ocorrência de co-infecção clínica com LTA, e sem registro prévio na literatura de reatividade cruzada entre *Leishmania sp.* e *Sporothrix schenkii*.

Na realização do diagnóstico diferencial entre esporotricose e leishmaniose cutânea, principalmente em regiões com dificuldade de realização dos exames laboratoriais, devem ser investigadas a possibilidade de co-infecção, alergia ao diluente e reação cruzada (BARROS et al, 2005).

Indivíduos moradores de áreas endêmicas podem ser infectados e permanecer sem expressão clínica apresentando IDRMM positiva, o que caracteriza uma infecção subclínica. A frequência de pacientes com IDRMM positiva, sem

antecedentes ou presença de manifestações clínicas de leishmanioses, tanto em áreas de doença visceral quanto de tegumentar, varia desde valores baixos como 5 a 8% até cerca de 70%, nas diferentes populações estudadas (SOUZA et al, 1992; ARBAJI et al, 1993; COIMBRA JÚNIOR et al, 1996).

Embora de fácil aplicação, a utilização da IDRM deve ser feita de forma criteriosa, pois alguns estudos demonstram que a realização da IDRM repetidamente pode provocar sensibilização do indivíduo pelo teste (DE LUCA et al, 2003). Portanto, a repetição do teste, principalmente em um curto intervalo de tempo, não é indicada.

Nos locais de difícil acesso e com poucos recursos laboratoriais, a IDRM constitui-se muitas vezes a única opção para diagnóstico da doença diante da suspeita clínica. A resposta negativa à IDRM, excluídos os casos de imunossupressão, erros de aplicação e conservação do antígeno, bem como a realização muito precoce do teste na evolução da doença (menos de 30 dias de infecção), sugerem a ausência da enfermidade.

## 2.5 TRATAMENTO

Para o tratamento da LC a droga de primeira escolha é o antimonial pentavalente ( $Sb^{5+}$ ), existente sob duas formas: o antimoniato de N-metilglucamina (Glucantime®) e o stibogluconato de sódio, sendo que este último não é comercializado no Brasil. O Ministério da Saúde preconiza o uso de 10-20mg  $Sb^{5+}$ /Kg peso/dia, durante 20 dias, para a leishmaniose cutânea (MINISTÉRIO DA

SAÚDE, 2010). A indicação de doses altas de  $Sb^{5+}$  baseia-se em evidências de que poderia haver indução à resistência com o uso de sub-doses (GROGL et al, 1992; HERWALDT; BERMAN, 1992). No entanto, o antimonial pode atingir seu limiar de toxicidade, levando a alterações cardíacas, pancreáticas ou renais que obriguem a suspensão do tratamento. O principal efeito adverso do  $Sb^{5+}$  é decorrente de sua ação sobre o aparelho cardiovascular. Outros efeitos adversos ao antimonial encontrados são: artralgia, mialgia, anorexia, náuseas, vômitos, plenitude gástrica, epigastria, pirose, dor abdominal, pancreatite, prurido, febre, fraqueza, cefaléia, tontura, palpitação, insônia, nervosismo, herpes zoster, choque pirogênico, edema e insuficiência renal aguda (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Estudos clínicos no Rio de Janeiro sugerem que doses de  $5mg Sb^{5+}/kg/dia$ , por via sistêmica, podem constituir um esquema eficaz, apresentando menor toxicidade, maior facilidade de administração e menor custo, no entanto, o tempo de tratamento varia de acordo com o estudo (OLIVEIRA-NETO et al, 1996, 1997; SCHUBACH et al, 2005).

O Ministério da Saúde recomenda que, na ausência de cicatrização completa após 12 semanas do término do tratamento com antimonial, o mesmo esquema seja repetido uma vez; e então diante de não resposta, utilizar uma das drogas de segunda escolha. Nesses casos de falha terapêutica ao antimonial, pode-se utilizar a anfotericina B ou o isotionato de pentamidina (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Nesse estudo, conforme reportado anteriormente, o critério para falha terapêutica é quando o indivíduo apresenta ausência de resposta clínica após o primeiro tratamento, assim como o critério adotado pelo LAb VigiLeish. Além disso, este critério proporcionou uma maior amostra para estudo.

Na LTA, a resposta ao tratamento e à IDRМ varia de acordo com a forma clínica da doença: na LC localizada a resposta ao tratamento é boa, com tendência à cura espontânea e a IDRМ é positiva; na LC disseminada os resultados com o uso de antimoniato de meglumina são satisfatórios, embora alguns pacientes possam requerer uma ou mais séries adicionais de antimonial para alcançar a cura clínica, e a resposta à IDRМ é variável; na LC recidiva cútis a resposta à terapêutica frequentemente é pobre ou ausente e geralmente a IDRМ apresenta-se positiva; e na LC difusa a resposta à terapêutica é pobre ou ausente e geralmente a IDRМ apresenta-se negativa (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

## 2.6 EVOLUÇÃO DO DOENTE TRATADO

A cura para forma cutânea da LTA, conforme considerada pelo Ministério da Saúde (2010), é definida pela epitelização/cicatrização das lesões ulceradas com regressão total da infiltração e do eritema e ausência de lesões mucosas até três meses após a conclusão do esquema terapêutico. Em casos com evidência de cicatrização progressiva das lesões sem cumprir completamente os critérios acima, sugere-se o prolongamento da observação até completar seis meses.

A falha terapêutica é definida como aquele caso que recebeu dois esquemas terapêuticos regulares sem apresentar remissão clínica (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

O critério de cura utilizado no LabVigiLeish do IPEC/FIOCRUZ é semelhante ao adotado pelo Ministério da Saúde, no entanto, a definição de falha terapêutica é

mais rigorosa no LabVigiLeish . A cura clínica definitiva é considerada quando se verifica a epitelização das lesões ulceradas com desaparecimento progressivo de crostas, descamação, infiltração e eritema, configurando, no final, uma cicatriz atrófica, hipertrófica ou imperceptível. O controle de cura após o tratamento baseia-se na reavaliação regular dos pacientes. A não ocorrência de progressão para a formação de cicatriz, após o primeiro tratamento, é considerada falha terapêutica.

O índice de cura na leishmaniose cutânea varia entre 42,1 e 100% nos diferentes estudos conduzidos para avaliação de vários esquemas de tratamento com o antimoniato de meglumina (OLIVEIRA-NETO et al, 1996; DEPS et al, 2000; SCHUBACH et al, 2005; RODRIGUES et al, 2006; TEIXEIRA et al, 2008). Especificamente no Rio de Janeiro, Oliveira-Neto et al. (1996) observaram que 100% dos pacientes (n=17) apresentaram cura com cicatrização da lesão, num tempo médio de 43 dias. Schubach et al. (2005) avaliaram 151 casos retrospectivos, procedentes do Rio de Janeiro, que foram tratados com baixa dose de antimoniato de meglumina (em média 5 mgSb<sup>5+</sup>/kg de peso/dia), e encontraram 97,1% de cura, com um tempo médio de 50 dias. O tempo de tratamento neste estudo variou de 25 a 126 dias contínuos para 41 pacientes e para os outros 94 pacientes variou entre 2 a 5 séries de tratamento com 10 a 25 aplicação em por série.

Alguns indivíduos acometidos pela doença podem apresentar cura espontânea das lesões cutâneas. Costa et al. (1990) relataram em estudo realizado na Bahia, acompanhando 16 homens que se recusaram a tratar e 6 mulheres não tratadas porque estavam gestantes, que encontraram 40,9% de cura espontânea após 6 meses do diagnóstico, e 86,3% após 12 meses. Contudo, esses casos podem ser considerados candidatos a desenvolver a forma mucosa.

Alguns estudos têm apresentado evidências de que os parasitos podem persistir nas cicatrizes cutâneas de pacientes que preencheram todos os critérios de cura, ao serem avaliados vários anos após o tratamento (SCHUBACH et al, 1998a, 1998b). Schubach et al. (1998a) demonstraram a presença de DNA de *Leishmania sp* em cicatrizes de 80% dos pacientes estudados com até 10 anos pós-tratamento, e sugeriram que este fenômeno poderia resultar em lesões mucosas e ou ter um papel na manutenção da memória imunológica nos pacientes que vivem em áreas endêmicas de leishmanioses. Em outro estudo, Schubach et al. (1998b) identificaram dois pacientes que apresentaram resultados positivos na cultura da cicatriz, biopsiada após 8 e 11 anos de tratamento regular com antimonialato de meglumina no IPEC.

Em alguns casos a recidiva da LC pode ocorrer e é definida pelo Ministério da Saúde como: o reaparecimento de lesão leishmaniótica em qualquer parte do corpo no período de até um ano após a cura clínica, descartada a possibilidade de reinfecção considerando-se a história da doença atual e a realidade epidemiológica de transmissão do agravo, bem como os possíveis deslocamentos do paciente a locais de endemia da doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Saravia et al. (1990) identificaram a recorrência de lesões de leishmaniose após o tratamento no qual os pacientes apresentaram lesões recorrentes com cepas idênticas às cepas de lesões iniciais.

O acompanhamento pós-tratamento com reavaliações periódicas é obrigatório para identificar possíveis casos de falha do tratamento, recidiva, evolução para LM, e quando possível para isolamento de parasitos viáveis a partir de cicatrizes de pacientes curados.

A falha ao tratamento leva à submissão do paciente a um novo tratamento e, assim, à exposição repetida ao risco dos efeitos adversos do mesmo ou de outros fármacos.

A principal hipótese para ocorrência de falha terapêutica e recidiva é a persistência do parasito associado com um defeito da resposta imune no organismo do hospedeiro.

A ocorrência de recidiva pode estar relacionada a diversos fatores, como o tratamento irregular sem esquema pré-definido; tratamento insuficiente sem alcançar a quantidade de droga necessária para o efeito desejado; uso de drogas ineficientes que não estão preconizadas para o tratamento da leishmaniose; uso de drogas imunossupressoras, ou de terapia anti-TNF $\alpha$  (MAVILIA et al, 2002; TUON et al, 2007; MULLER et al, 2009).

Passos et al. (2000) demonstraram que os pacientes que apresentam negatividade à IDRМ têm maior chance de desenvolverem recidivas posteriormente. Na busca de fatores preditivos para a ocorrência de falha terapêutica, Rodrigues et al. (2006) encontraram associação entre a ocorrência de falha terapêutica com as seguintes condições: presença de 3 ou mais lesões cutâneas; presença de tratamento anterior para leishmaniose; peso maior que 68 kg; e irregularidade no tratamento. Llanos-Cuentas et al. (2008) identificaram a idade, a estadia de menos de 72 meses na área de aquisição da doença, a duração da doença menor que 5 semanas, a ocorrência de lesão adicional e a infecção com *L. (V.) peruviana* e com *L. (V.) braziliensis* como fatores de risco para falha do tratamento.

Rodrigues et al (2006) não encontraram significância entre a resposta da IDRМ com a falha ao tratamento, na análise de fatores associados ao insucesso terapêutico da LC. No entanto, Passos et al. (2002) verificaram que pacientes com

IDRM negativa apresentaram aproximadamente três vezes mais chance de recidivar após o tratamento. Diante das evidências, admitimos que a IDRM possa ser um indicador da resposta imune, que por sua vez é capaz de interferir na resposta terapêutica; portanto, a IDRM pode apresentar relevância na prática clínica quanto ao acompanhamento dos pacientes de LTA para o controle de cura.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 GERAL

Verificar a associação entre a resposta à intradermoreação de Montenegro (IDRM), outras variáveis e a ocorrência de falha terapêutica em pacientes com forma cutânea de leishmaniose tegumentar americana (LTA) atendidos no Laboratório de Vigilância em Leishmanioses (Lab Vigileish), Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC), Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz).

#### 3.2 ESPECÍFICOS

1) Descrever as características do grupo de falha terapêutica e do grupo-controle (cura clínica) de acordo com as variáveis: local e área mais provável de infecção, motivo da exposição, resultados dos exames IDRM, parasitológico, sorológico e histopatológico, comorbidades, número de lesões, localização da lesão e tempo de evolução da lesão.

2) Verificar a associação entre resposta negativa dos pacientes frente à IDRМ no momento do diagnóstico e a ocorrência de falha terapêutica após o tratamento da LTA.

3) Verificar a associação entre a intensidade da resposta à IDRМ e ocorrência de falha terapêutica após o tratamento da LTA.

4) Verificar a associação entre as variáveis de análise e a ocorrência de falha terapêutica.

#### **4. ARTIGO: INTENSIDADE DA INTRADERMORREAÇÃO DE MONTENEGRO E TEMPO DE EVOLUÇÃO DA LESÃO COMO PREDITORES DE FALHA NA RESPOSTA TERAPÊUTICA DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA**

Referência: Antonio LF, Fagundes A, Oliveira RVC, Pinto PGP, Vasconcellos ECF, Valete CM, Lyra MR, Passos SRL, Pimentel MIF, Schubach AO. **Intensidade da intradermorreação de Montenegro e tempo de evolução da lesão como preditores de falha na resposta terapêutica da leishmaniose cutânea.** Bulletin of World Health Organization (submetido).

Revista: Bulletin of World Health Organization

Situação: submetido

O artigo apresenta a associação entre a intradermorreação de Montenegro (IDRM), o tempo de evolução da lesão e a resposta terapêutica em pacientes com leishmaniose cutânea. Este estudo teve como objetivo geral verificar a associação entre a resposta à intradermorreação de Montenegro e a ocorrência de falha terapêutica em pacientes com forma cutânea de leishmaniose tegumentar americana que foram atendidos no Laboratório de Vigilância em Leishmanioses, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz. Além da resposta à IDRM, encontramos associação significativa entre a ocorrência de falha terapêutica e o tempo de evolução da lesão menor que 2 meses no primeiro atendimento.

## Resumo

**Objetivo:** O presente estudo verificou a associação entre a intradermorreação de Montenegro (IDRM), o tempo de evolução da lesão e a resposta terapêutica em pacientes com leishmaniose cutânea (LC) atendidos no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC), Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brasil.

**Método:** Foi realizado um estudo caso controle no qual para cada caso com má resposta à terapêutica foram selecionados aleatoriamente dois controles que evoluíram com cicatrização das lesões após o tratamento, pareados por sexo e idade. Todos os pacientes realizaram tratamento com antimoniato de meglumina ( $Sb^{5+}$ ) IM, na dose de 5 mg  $Sb^{5+}$ /kg/dia, contínua, por 30 dias.

**Resultados:** Pacientes com LC apresentaram aproximadamente cinco vezes mais chance de falhar quando as lesões apresentavam menos de dois meses de evolução no primeiro dia de atendimento. Pacientes com falha terapêutica apresentaram reações de IDRM menos intensas que pacientes que evoluíram para a cura clínica. A cada 10 milímetros de aumento na resposta à IDRM, houve um aumento de 74% na chance de ocorrência de falha.

**Conclusão:** O tratamento precoce, traduzido pelo tempo de evolução da lesão menor que dois meses no primeiro dia de atendimento, e uma resposta de imunidade celular deficiente, traduzida por uma IDRM menos intensa, demonstraram contribuir para a ocorrência de falha terapêutica na leishmaniose cutânea.

## Introdução

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma antroponose amplamente distribuída no território brasileiro com 21.866 casos novos em 2010 (1,2), e se apresenta sob duas formas: leishmaniose cutânea (LC) e leishmaniose mucosa. A forma localizada da LC é a mais frequente, podendo se apresentar com úlceras únicas ou múltiplas (2).

A cultura de amostras de lesões sugestivas e o exame direto de material obtido pela escarificação destas são as principais formas de confirmação do agente da doença, parasito *Leishmania spp*, que na área do estudo é predominantemente a *Leishmania braziliensis* (3). O diagnóstico também pode ser obtido pela pesquisa de parasitas em cortes histológicos e pela reação em cadeia da polimerase (4). No Brasil, os exames parasitológicos e de detecção molecular da *Leishmania spp* são quase totalmente restritos aos centros de referência da doença pelo alto custo e complexidade técnica (2,4). A Intradermorreação de Montenegro (IDRM) positiva é um indicador de infecção por *Leishmania spp* e, quando associada à presença de lesão tegumentar suspeita, constitui o principal exame recomendado para uso na rede de saúde, com sensibilidade de 86,4 a 100% (5-8). Reações de IDRM maiores ou iguais a 5 mm são consideradas positivas e ausência de reação ou reações menores que 5 mm são consideradas negativas (2). Foi descrito que pacientes com IDRM negativa no momento do diagnóstico apresentaram maior chance de desenvolver recidivas (9). A IDRM é um marcador da resposta imune celular (10)

pois avalia a resposta de hipersensibilidade do tipo IV mediada por células T (11). No entanto, pode ser influenciada pela forma clínica (12) e pelo tempo de evolução da doença (13, 14). Mazur e Bari (2006) observaram um aumento na taxa de positividade do teste em paciente que apresentaram lesões cutâneas com evolução de 2, 4 e 6 semanas (13).

No Brasil, o medicamento de primeira escolha para o tratamento da LC é o antimoniato de meglumina (2). O Ministério da Saúde (2010) recomenda 10-20 mg  $Sb^{5+}$ /kg/dia durante 20 dias. Entretanto, estudos clínicos no Rio de Janeiro têm mostrado que 5mg  $Sb^{5+}$ /kg/dia, durante 30 dias, por via sistêmica, resulta em boa resposta terapêutica e com menor toxicidade, maior facilidade de administração e menor custo, com uma taxa de aproximadamente 16% de falha terapêutica (15,16).

A falha terapêutica é definida por Daps et al. (2000) como ausência de resposta clínica durante e após o tratamento, com estabilização ou piora da lesão ulcerada (17). Em indivíduos tratados com antimoniato de meglumina, entre 10 a 20mg  $Sb^{5+}$ /kg/dia, a falha terapêutica varia de 46 a 75% (18-21). Alguns fatores foram relacionados com a falha terapêutica como presença de três ou mais lesões cutâneas, tratamento anterior para leishmaniose, peso maior que 68 kg e irregularidade no tratamento(18).

Neste estudo procuramos verificar a associação entre a intensidade da IDRM, o tempo de evolução da lesão e a resposta terapêutica em pacientes com LC.

## Métodos

Trata-se de um estudo observacional, caso-controle, retrospectivo, de pacientes com LC localizada, atendidos no Laboratório de Vigilância em Leishmaniose (LabVigileish) no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) – Rio de Janeiro/Brasil entre janeiro de 1989 e dezembro de 2009.

Foram incluídos no estudo: os pacientes com diagnóstico de LC por critérios parasitológicos (visualização do parasito em exame anatamopatológico ou exame direto – escarificação e/ou imprint, ou isolamento em cultura, ou detecção do DNA de *Leishmania spp* por reação em cadeia da polimerase), e/ou epidemiológicos (procedência ou viagem para área endêmica), e/ou clínicos (lesões cutâneas sugestivas), e/ou imunológicos (sorologia para *Leishmania sp* – reação de imunofluorescência indireta e/ou ensaio imunoenzimático); e submetidos a tratamento inicial com antimoniato de meglumina intramuscular (IM) na dose de 5 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/dia, contínua, por 30 dias (15). Foram excluídos do estudo aqueles pacientes com outras formas clínicas de LTA, com ausência de registro da leitura da IDRM em milímetros, com ausência de acompanhamento pós-tratamento de, no mínimo, 2 anos, e os que apresentaram recidiva da doença após boa resposta inicial.

Foram considerados casos, os pacientes que apresentaram falha terapêutica, definida como a não ocorrência de progressão para a formação de cicatriz após o primeiro tratamento.

Foram considerados controles, os pacientes com cura clínica definitiva, considerada como epitelização das lesões ulceradas com o desaparecimento progressivo de crostas, descamação, infiltração e eritema, configurando, uma cicatriz atrófica, hipertrófica ou imperceptível, e o não surgimento de lesão mucosa após o primeiro tratamento. Os controles foram selecionados aleatoriamente dentre os pacientes com cura clínica e foram pareados ao acaso por sexo e faixa etária na proporção de 2:1. Para fins de pareamento foram consideradas as seguintes faixas etárias: 5 – 9; 10 – 14; 15 – 19; 20 – 24; 25 – 29; 30 – 34; 35 – 39; 40 – 45; 46 – 50; 51 – 55 anos.

A descrição dos dados foi realizada pelas frequências simples das variáveis categóricas: local (Rio de Janeiro-RJ/outros municípios-RJ/Manaus/Ceará/Pará/Minas Gerais/indefinido), área mais provável de infecção (rural/urbana), motivo da exposição (domicílio, viagem, indefinido) resultados dos exames de IDRMs, parasitológico, sorológico e histopatológico (positivo/negativo), comorbidades (presença/ausência), número de lesões (uma/duas ou mais), localização da lesão (membros inferiores/outros locais) e tempo de evolução da lesão (< 2 meses/> 2 meses), e com a média e mínimo/máximo das variáveis contínuas: número de lesões, IDRMs em milímetros, tempo de evolução da lesão e tempo de ocorrência da falha terapêutica.

Para comparação das variáveis categóricas entre casos e controle foi utilizado o teste de McNemar; para as variáveis contínuas, quando rejeitada a hipótese de normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, foi utilizado o teste de Wilcoxon.

Modelos simples de regressão logística binária condicional foram empregados para verificar o efeito de cada variável na ocorrência de falha terapêutica (tempo de

evolução da lesão em dias, número de lesões, localização da lesão, presença de comorbidades, IDRM em milímetros, e positividade de sorologia, histopatologia e cultura). Posteriormente, foi realizado um modelo múltiplo, para falha terapêutica, ajustado pelas mesmas características. O teste de razão de verossimilhança foi utilizado para indicar o melhor modelo ajustado. O odds ratio (OR) e seus respectivos intervalos de confiança foram utilizados como medida de associação dos modelos de regressão.

Devido à ausência de distribuição normal, a variável IDRM em milímetros foi previamente transformada aplicando-se o logaritmo. Consequentemente, a aplicação do antilogaritmo foi realizada para interpretação do resultado.

P-valores < 0,05 indicaram associação significativa nos testes utilizados.

Os dados foram analisados com o auxílio do software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS-WIN) versão 16.0 e STATA 10.0.

Este estudo está de acordo com a resolução 196/1996 do Conselho Nacional de Saúde e foi aprovado pelo comitê de ética IPEC (CAAE-0066.0.009.000-10).

## **Resultados**

Dos 800 pacientes com LTA acompanhados nesse período, 634 (79,25%) apresentavam LC. Destes, 407 pacientes foram excluídos do atual estudo (Figura 1).

Dentre os 227 pacientes elegíveis havia 32 (14,1%) com falha terapêutica. Portanto, foram selecionados 64 controles, totalizando 96 pacientes estudados. A população estudada foi composta por 59,4% de homens, com idade variando entre 5

a 55 anos. Em 89,6% dos pacientes o local mais provável de infecção foi no estado do Rio de Janeiro e 64,6% da população estudada eram de áreas rurais. A mais provável situação de exposição, em 93,8%, dos pacientes foi o domicílio. A presença de comorbidade foi observada em 34,4% dos pacientes, sendo as mais frequentes: anemia, hipertensão arterial, tireoideopatia, atopia, tabagismo e tuberculose. A cultura, sorologia para leishmaniose e histopatologia foram positivas em 78,1%, 62,5%, 63,5% dos pacientes, respectivamente. Nenhuma diferença significativa entre estas variáveis e a ocorrência de falha terapêutica foi encontrada (tabela 1).

Houve diferença significativa, na proporção de casos, quanto ao tempo de evolução da lesão. A proporção de casos com menos de 2 meses de evolução no primeiro atendimento foi de 71,9%, enquanto nos controles foi de 35,9% ( $p < 0,001$ ).

A resposta em milímetros da IDRМ também apresentou diferença significativa entre os casos e controles ( $p=0,027$ ). A IDRМ variou de 0 a 60 mm, com mediana de 13,5 mm nos casos, e nos controles variou de 0 a 50 mm, com mediana de 17,5mm. No entanto, essa diferença entre os grupos não foi observada quando comparamos a variável IDRМ de forma binária (positiva ou negativa) ( $p=0,289$ ).

O efeito do tempo de evolução da lesão e da LogIDRM foram significativos quanto à ocorrência de falha terapêutica no modelo simples de regressão logística binária condicional,  $p < 0,001$  e  $p =0,026$ , respectivamente. As demais variáveis (número de lesões, localização da lesão, comorbidades, sorologia, histopatologia e cultura) não foram estatisticamente significativas nos modelos de regressão simples (tabela 2).

O teste de razão de verossimilhança indicou um modelo logístico múltiplo final constituído pela LogIDRM em milímetros ( $OR_{ajustado}$ : 0,26/ IC: [0.09 – 0.77] / $p = 0,015$ ) e pelo tempo de evolução da lesão ( $OR_{ajustado}$ : 6,33/ IC: [2.52 – 15.90] / $p <$

0,001), e não foi encontrada interação significativa entre as duas variáveis (tabela 3). Pacientes com menos de 2 meses de evolução da lesão possuem 5,33 mais chances de apresentarem falha terapêutica após o 1º esquema de tratamento com antimonial utilizado. A cada 10 milímetros de incremento na IDRМ, existe um aumento de 74% na proteção contra a falha terapêutica.

### **Discussão**

No presente estudo foi observada uma associação inversa entre a intensidade da IDRМ e a ocorrência de falha terapêutica. Pacientes forte reatores à IDRМ foram menos suscetíveis à ocorrência de falha ao tratamento.

Houve significativamente maior chance de desenvolver falha terapêutica em pacientes tratados precocemente (com menos de 2 meses de evolução da lesão no primeiro atendimento). Estudos anteriores observaram maiores taxas de falha ao tratamento em pacientes tratados antes do desenvolvimento da úlcera; nestes, o tratamento não impediu a evolução para ulceração (19,20).

Um defeito da resposta imune celular do hospedeiro associado à persistência do parasita é uma hipótese para a ocorrência de falha terapêutica ou recidiva (2,22,23). Uma resposta à IDRМ negativa após dois meses de evolução de doença pode estar relacionada ao defeito dessa resposta imune de hospedeiro. No entanto, a ocorrência de pacientes que apresentaram cura definitiva com IDRМ negativa, indica que outros fatores também podem estar relacionados com a ocorrência de falha terapêutica.

A porcentagem de falha terapêutica (14%) encontrada no estudo foi considerada baixa quando comparada a estudos anteriores que apresentam de 46 a 75% de falha ao tratamento com antimoniato de meglumina (17,18,21,24). Esta baixa proporção de falha na população estudada corrobora a eficiência obtida com o tratamento de baixa dose (5mgSb<sup>5+</sup>/Kg/dia) encontrada nos estudos realizados previamente no IPEC/FIOCRUZ, no Rio de Janeiro (15).

O fato da maioria da população estudada ter provavelmente adquirido a infecção no domicílio é compatível com o perfil epidemiológico periurbano da doença, dissociada do aspecto profissional comum no Rio de Janeiro (3, 25, 26).

A IDRM tem sido utilizada desde a década de 1920, quando foi desenvolvida por Montenegro (5). A importância da padronização da técnica (aplicação e leitura) de IDRM e do antígeno utilizado para sua realização vem sendo destacada por diversos autores. O teste deve ser executado e lido por pessoa treinada a fim de se obter resultados comparáveis e se evitar causas comuns de variação na execução e interpretação de testes cutâneos como a quantidade de antígeno injetada, o sítio e a profundidade da injeção, o estado fisiológico do paciente, o antígeno utilizado e o observador que realizou a leitura (27-29). Nesse sentido, os pacientes atendidos no LabVigiLeish e que realizam a IDRM na instituição foram submetidos a um protocolo padronizado, garantindo qualidade de assistência na realização do teste.

A IDRM positiva reflete o desenvolvimento de uma resposta imune celular específica do tipo 1 a *Leishmania spp* (11). O desenvolvimento da resposta imune adaptativa contra a leishmaniose constitui a base para a resistência à doença (30). Usualmente, a IDRM é utilizada como indicador de proteção em estudos de avaliação de vacinas contra *Leishmania sp* (10,31).

A IDRMM se torna positiva em torno de dois meses após o início da lesão cutânea em pacientes, indicando o estabelecimento de uma resposta imune celular (30,32-34). A baixa porcentagem de resposta negativa à IDRMM nesse estudo confirma a alta sensibilidade do teste (5-7,35). Por outro lado, verificou-se que a proporção de pacientes com IDRMM negativa no grupo dos casos foi o dobro da proporção no grupo dos controles. A ausência de significância estatística na análise da IDRMM quando classificada em positiva ou negativa pode estar relacionada à baixa proporção de testes negativos (18). Passos et al (2002) sugeriram que uma resposta negativa da IDRMM possa funcionar como preditor da recidiva pós-tratamento (9).

A população atendida na rotina ambulatorial do LabVigiLeish, como serviço de referência, apresenta algumas características específicas, como atender população de casos mais graves e com faixa etária extremas, e a inclusão de pacientes de um serviço de referência pode ter representado um possível viés de seleção. A análise de todos os pacientes com má resposta terapêutica atendidos no período e o pareamento entre os grupos foram estratégias utilizadas para minimizar vieses. No entanto, a validade interna do estudo foi assegurada pela homogeneidade na distribuição dos grupos.

O preenchimento incompleto dos prontuários foi a principal dificuldade encontrada no estudo. A utilização do prontuário eletrônico, no entanto, foi um facilitador no processo de coleta de dados.

Outros questionamentos e novos estudos em outras localidades, com populações diferentes devem ser realizados para confirmação dos achados. Igualmente, um estudo mais amplo para verificar o comportamento da IDRMM faz-se necessário, principalmente porque existem localidades onde o exame utilizado para o diagnóstico da LC é a IDRMM.

### Considerações finais

O tratamento precoce, traduzido pela intervenção terapêutica em paciente com tempo de evolução da lesão menor que dois meses no primeiro dia de atendimento e uma resposta de imunidade celular deficiente, traduzida por uma IDRМ menos intensa, demonstraram contribuir para a ocorrência de falha terapêutica nos pacientes com LC tratados com antimoniato de meglumina IM, na dose contínua de 5 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/dia por 30 dias.

### Referências

1. DATASUS - Ministério da Saúde.[homepage na Internet] TabNet Linux 2.4: LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA - Casos confirmados Notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan. [acesso em 17 out 2011];Disponível em: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/dh?sinan/lta/bases/ltabr.def>
2. Ministério da Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. Segunda edição atualizada. Brasília, Ministério da Saúde Editor. 2010;(2):180 p.
3. Marzochi MCA, Marzochi KBF. Tegumentary and visceral leishmaniases in Brazil: emerging anthroozoonosis and possibilities for their control. *Cad. Saúde Públ.* 1994;10(supl. 2):359–375.
4. Gontijo B, Carvalho MLR. American cutaneous leishmaniasis. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2003;36:71-80.

5. Montenegro, J. A cutis reacção na leishmaniose. *Ann. Fac. Med. Univ. S.P.* 1926;1:323-30.
6. Reis LC, Brito MEF, Almeida EL, Félix SM, Medeiros ACR, Silva CJ, et al. Clinical, epidemiological and laboratory aspects of patients with American cutaneous leishmaniasis in the State of Pernambuco. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2008 out;41(5):439-43.
7. Curti MCM, Silveira TGV, Arraes SMAA, Bertolini DA, Zanzarini PD, Venazzi EAS, et al. Epidemiological and clinical characteristics of cutaneous leishmaniasis and their relationship with the laboratory data, south of Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2011;15:12-16.
8. Silva, AF. A Reacção Intradérmica de Montenegro na clínica e na epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar. Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. Tese [Doutorado] – Instituto Nacional de Controle e Qualidade em Saúde, Vigilância Sanitária; 2007.
9. Passos VM, Barreto SM, Romanha AJ, Krettli AU, Volpini AC, Lima, Costa MF. American cutaneous leishmaniasis: use of a skin test as a predictor of relapse after treatment. *Bull. World Health Organ.* 2000;78:968-74.
10. De Luca PM, Mayrink W, Santiago MA, Nogueira R, Conceição-Silva F, Mélo G, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled study on the immunogenicity of the leishmanin skin test. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2003 dez;97(6):709-712.
11. Sassi A, Louzir H, Ben Salah A, Mokni M, Ben Osman A, Dellagi K. Leishmanin skin test lymphoproliferative responses and cytokine production after symptomatic or asymptomatic *Leishmania major* infection in Tunisia. *Clin. Exp. Immunol.* 1999;116:127-32.
12. Reis L de C, Brito MEF de, Souza M de A, Pereira VRA. Mecanismos imunológicos na resposta celular e humoral na leishmaniose tegumentar americana. *Rev de Patologia Tropical* 2006;35(2):103-115.

13. Manzur A, Bari A ul. Sensitivity of leishmanin skin test in patients of acute cutaneous leishmaniasis. *Dermatol. Online J.* 2006;12:2.
14. Llanos-Cuentas A, Tulliano G, Araujo-Castillo R, Miranda-Verastegui C, Santamaria-Castrellon G, Ramirez L, et al. Clinical and Parasite Species Risk Factors for Pentavalent Antimonial Treatment Failure in Cutaneous Leishmaniasis in Peru. *Clinical Infectious Diseases.* 2008 jan;46(2):223-231.
15. Oliveira-Neto MP, Schubach A, Mattos M, Goncalves-Costa SC, Pirmez C. A low-dose antimony treatment in 159 patients with American cutaneous leishmaniasis: extensive follow-up studies (up to 10 years). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1997;57:651-5.
16. Oliveira-Neto MP, Schubach A, Mattos M, Gonçalves-Costa SC, Pirmez C. Treatment of American cutaneous leishmaniasis: a comparison between low dosage (5 mg/kg/day) and high dosage (20 mg/kg/day) antimony regimens. *Pathol. Biol.* 1997;45:496-9.
17. Deps PD, Viana MC, Falqueto A, Dietze R. Comparative assessment of the efficacy and toxicity of N-methyl-glucamine and BP88 sodium stibogluconate in the treatment of localized cutaneous leishmaniasis. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2000;33:535-43.
18. Rodrigues AM, Hueb M, Santos TARR dos, Fontes CJF. Factors associated with treatment failure of cutaneous leishmaniasis with meglumine antimoniate. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2006;39:139-45.
19. Machado P, Araújo C, Da Silva AT, Almeida RP, D'Oliveira Jr A, Bittencourt A, et al. Failure of early treatment of cutaneous leishmaniasis in preventing the development of an ulcer. *Clin. Infect. Dis.* 2002;34:E69-73.
20. Unger A, O'Neal S, Machado PRL, Guimarães LH, Morgan DJ, Schriefer A, et al. Association of treatment of American cutaneous leishmaniasis prior to ulcer development with high rate of failure in northeastern Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2009;80:574-9.

21. Teixeira AC, Paes MG, Guerra J de O, Prata A, Silva-Vergara ML. Failure of both azithromycin and antimony to treat cutaneous leishmaniasis in Manaus, AM, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* 2008;50:157-60.
22. Stefanidou MP, Antoniou M, Koutsopoulos AV, Neofytou YT, Krasagakis K, Krüger-Krasagakis S, et al. A rare case of leishmaniasis recidiva cutis evolving for 31 years caused by *Leishmania tropica*. *Int. J. Dermatol.* 2008;47:588-589.
23. Reis LC, Brito MEF, Souza MA, Medeiros ACR, Silva CJ, Luna CF, et al. Cellular immune response profile in patients with American tegumentary leishmaniasis prior and post chemotherapy treatment. *J. Clin. Lab. Anal.* 2009;23:63-69.
24. Schubach A de O, Marzochi KBF, Moreira JS, Schubach TMP, Araújo ML, Vale ACF do, et al. Retrospective study of 151 patients with cutaneous leishmaniasis treated with meglumine antimoniate. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2005;38:213-7.
25. Bustamante MCFS, Pereira MJS, Schubach AO, Fonseca AH. Epidemiological profile of cutaneous leishmaniasis in an endemic region in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 2009;18:34.
26. Sabroza, PC. O domicílio como fator de risco na Leishmaniose Tegumentar Americana: estudo epidemiológico em Jacarepaguá, município do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, Dissertação [Mestrado], Escola Nacional de Saúde Pública FIOCRUZ; 1981.
27. Bearman JE, Kleinman H, Glycer VV, Lacroix OM. A Study of variability in tuberculin test reading. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1964;90:913-9.
28. Melo MN, Mayrink W, Costa CA, Magalhaes PA, Dias M, Williams P, et al. Standardization of the Montenegro antigen. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* 1977;19:161-4.

29. Weigle KA, Valderrama L, Arias AL, Santrich C, Saravia NG. Leishmanin skin test standardization and evaluation of safety, dose, storage, longevity of reaction and sensitization. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1991;44:260-71.
30. Ben Salah A, Louzir H, Chlif S, Mokni M, Zaatour A, Raouene M, et al. The predictive validity of naturally acquired delayed-type hypersensitivity to leishmanin in resistance to *Leishmania major*-associated cutaneous leishmaniasis. *J. Infect. Dis.* 2005;192:1981-7.
31. De Luca PM, Mayrink W, Alves CR, Coutinho SG, Oliveira MP, Bertho AL, et al. Evaluation of the stability and immunogenicity of autoclaved and nonautoclaved preparations of a vaccine against American tegumentary leishmaniasis. *Vaccine.* 1999;17:1179-85.
32. Bacellar O, Lessa H, Schriefer A, Machado P, Ribeiro de Jesus A, Dutra WO, et al. Up-regulation of Th1-type responses in mucosal leishmaniasis patients. *Infect. Immun.* 2002;70:6734-40.
33. Pessoa S, Pestana, BR. A intradermo-reação de Montenegro nas campanhas sanitárias contra a leishmaniose. *Arq. Hig. Saúde Pública.* 1940;125-37.
34. Pirmez C, Yamamura M, Uyemura K, Paes-Oliveira M, Conceição-Silva F, Modlin RL. Cytokine patterns in the pathogenesis of human leishmaniasis. *J. Clin. Invest.* 1993;91:1390-5.
35. Silva A. Avaliação do teste intradérmico de Montenegro em populações militares do Brasil: positividade e resposta inespecífica. Rio de Janeiro. Dissertação [Mestrado] – Instituto Oswaldo Cruz, Biologia Parasitária; 1999.

Figura 1: Seleção de casos e controles após análise do Banco de Dados do LabVigileish- 1989-2009 – Rio de Janeiro, Brasil:

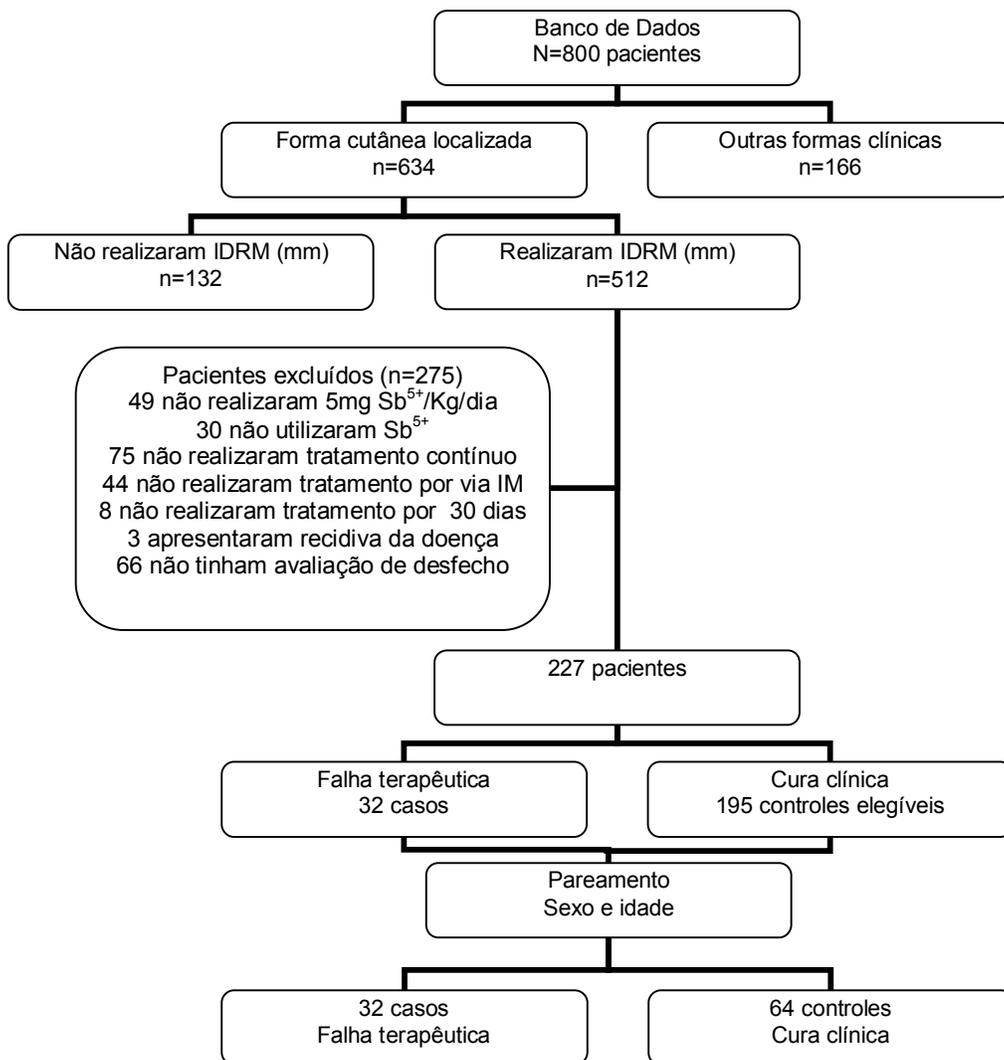


Tabela 1: Frequência e associação das variáveis categóricas nos pacientes que apresentaram falha terapêutica (casos) e que apresentaram cura clínica (controles) (1989 - 2009).

Variáveis	Casos (n=32)		Controles (n=64)		p-valor
	N° abs	%	N° abs	%	
<b>Comorbidade</b>					
Presença	10	31,3	23	35,4	0,405
Ausência	22	68,8	35	54,7	
Missing	-	-	6	9,4	
<b>Número de lesões</b>					
Lesão única	20	62,5	42	65,6	0,857
Duas ou mais lesões	12	37,5	22	34,4	
<b>Localização da lesão</b>					
Membros inferiores	15	46,9	28	43,8	0,868
Outros locais	17	53,1	36	56,2	
<b>Tempo de lesão</b>					
Menos de 2 meses	9	28,1	41	64,1	< 0,001
Mais de 2 meses	23	71,9	23	35,9	
<b>IDRM</b>					
Positivo	28	87,5	60	93,8	0,289
Negativo	4	12,5	4	6,3	
<b>Cultura</b>					
Positivo	28	87,5	47	73,4	1.000
Negativo	2	6,3	4	6,3	
Missing	2	6,3	13	20,3	
<b>Histopatologia</b>					
Positivo	23	71,9	37	57,8	0,405
Negativo	7	21,9	18	28,1	
Missing	2	6,2	9	14,1	
<b>Sorologia</b>					
Positivo	24	75,0	37	57,8	0,425
Negativo	6	18,8	11	17,2	
Missing	2	6,3	16	25,0	

Tabela 2: Odds ratio bruta das variáveis no modelo simples de regressão logística condicional.

Variáveis	OR <sub>bruta</sub>	95% IC	p valor
<b>Tempo de evolução da lesão antes do início do tratamento</b>	<b>5.64</b>	<b>[2.35 – 13.53]</b>	<b>&lt; 0.001</b>
<b>LogIDRM</b>	<b>0.32</b>	<b>[0.12 – 0.87]</b>	<b>0.026</b>
<b>Número de lesões</b>	1.19	[0,53 – 2,68]	0,679
<b>Localização da lesão</b>	1.15	[0,56 – 2,37]	0,712
<b>Presença de Comorbidade</b>	0.60	[0,25 – 1,47]	0,268
<b>Positividade de Sorologia</b>	1.76	[0,55 – 5,64]	0,345
<b>Positividade de Histopatologia</b>	1.75	[0,70 – 4,34]	0,229
<b>Positividade de Cultura</b>	1.23	[0,26 – 5,69]	0,793

Tabela 3: Odds ratio ajustada do modelo múltiplo final de regressão logística condicional.

Variáveis	OR <sub>ajustada</sub>	95% IC	p valor
<b>Tempo de lesão</b>	6.33	[2.52 – 15.90]	< 0.001
<b>LogIDRM</b>	0.26	[0.09 – 0.77]	0.015

## 5. COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

O estudo foi planejado visando associar a resposta terapêutica a parâmetros clínicos e laboratoriais, destacando a resposta à IDRМ, buscando e obtendo a maior validade interna possível. O pareamento dos casos e controles foi utilizado para garantir a homogeneidade entre os grupos e evitar que as variáveis idade e sexo eventualmente confundissem os resultados encontrados. Como se tratou de avaliar um evento pouco frequente, o estudo retrospectivo foi utilizado para fornecer o número suficiente de casos e avaliar essa associação.

O cálculo de amostra não foi realizado, pois foi utilizada toda a população atendida no período do estudo. A casuística utilizada correspondeu a pacientes atendidos no LabVigiLeish, com leishmaniose cutânea confirmada. Todos os pacientes foram submetidos ao mesmo protocolo de aplicação e leitura da IDRМ e ao mesmo esquema terapêutico.

Algumas limitações foram encontradas devido a relatos incompletos nos prontuários, gerando perda de dados (“missing”) nas variáveis: resultado da cultura, histopatologia, sorologia. No entanto, isso não invalida os dados obtidos nesse estudo e nem a confirmação diagnóstica, pois a perda foi em dados alternados e todos os pacientes realizaram mais de um exame diagnóstico.

Concluimos, portanto:

- Pacientes com reações menos intensas à IDRМ no momento do diagnóstico apresentam mais 26% de chance de ocorrência de falha terapêutica.

- Indivíduos com menos de 2 meses de evolução da lesão foram 5 vezes mais suscetíveis à falha do tratamento.
- As variáveis tempo de evolução da lesão e a intensidade da resposta à IDRM influenciam significativamente a ocorrência de falha terapêutica de modo independente. Embora não tenhamos encontrado nenhum tipo de correlação ou associação quando as variáveis foram trabalhadas a partir de vários pontos de corte, acreditamos que seja possível encontrar algum tipo de correlação entre as mesmas se elas fossem analisadas ao longo do tempo.
- As variáveis número de lesões, localização da lesão, presença de comorbidade e os resultados dos exames de cultura, sorologia e histopatologia não apresentaram associação significativa com a ocorrência de falha terapêutica.

Os fatores associados à falha ao tratamento foram a IDRM e o tempo de evolução da lesão. Diante dos achados desse estudo, deve-se ter uma maior atenção e análise crítica do pensar clínico em relação à resposta apresentada pelo paciente no tratamento para LC quando o mesmo apresenta IDRM menos intensas, aproximadamente menor que 20 milímetros e tempo de evolução da lesão menor que 2 meses devido a maior chance de ocorrência de falha terapêutica. Além disso, outros fatores ainda não estudados podem estar relacionados com a ocorrência de falha terapêutica.

Outros questionamentos e novos estudos em outras localidades, com populações diferentes devem ser realizados para confirmação dos achados. Igualmente, um estudo mais amplo para verificar o comportamento da IDRM faz-se

necessário, principalmente porque existem localidades onde o exame utilizado para o diagnóstico da LC é a IDRM.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arbaji AK, Gradoni L, Gramiccia M. Leishmanin skin test survey in a focus of high endemicity of *Leishmania major* in Jordan. *Acta Trop.* 1993;54(1):77-79.

Azeredo-Coutinho RBG, Conceição-Silva F, Schubach A, Cupolillo E, Quintella LP, Madeira MF, et al. First report of diffuse cutaneous leishmaniasis and *Leishmania amazonensis* infection in Rio de Janeiro State, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 2007;101(7):735-737.

Bacellar O, Lessa H, Schriefer A, Machado P, Ribeiro de Jesus A, Dutra WO, et al. Up-regulation of Th1-type responses in mucosal leishmaniasis patients. *Infect. Immun.* 2002;70(12):6734-6740.

Barral A, Pedral-Sampaio D, Grimaldi Júnior G, Momen H, McMahon-Pratt D, Ribeiro de Jesus A, et al. Leishmaniasis in Bahia, Brazil: evidence that *Leishmania amazonensis* produces a wide spectrum of clinical disease. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1991;44(5):536-546.

Barros MB de L, Schubach A, Francesconi-do-Valle AC, Gutierrez-Galhardo MC, Schubach TMP, Conceição-Silva F, et al. Positive Montenegro skin test among patients with sporotrichosis in Rio De Janeiro. *Acta Trop.* 2005;93(1):41-47.

Basano S de A, Camargo LMA. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. *Rev. bras. epidemiol.* 2004;7(3):328-337.

Bearman JE, Kleinman H, Glycer VV, Lacroix OM. A Study of variability in tuberculin test reading. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1964;90:913-919.

Ben Salah A, Louzir H, Chlif S, Mokni M, Zaatour A, Raouene M, et al. The predictive validity of naturally acquired delayed-type hypersensitivity to leishmanin in resistance to *Leishmania major*-associated cutaneous leishmaniasis. *J. Infect. Dis.* 2005;192(11):1981-1987.

Bustamante MCFS, Pereira MJS, Schubach AO, Fonseca AH. Epidemiological profile of cutaneous leishmaniasis in an endemic region in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 2009;18(3):34-40.

Campos JA. A intradermorreação de Montenegro no pêfnigo tropical. *Arq Hig Saúde Pública.* 1943;8:121-123.

Coimbra Júnior CE, Santos RV, do Valle AC. Cutaneous leishmaniasis in Tupí-Mondé Amerindians from the Brazilian Amazonia. *Acta Trop.* 1996;61(3):201-211.

Costa JML, Vale KC, França F, Saldanha ACR, Silva JO da, Lago EL, et al. Cura espontânea da leishmaniose causada por *leishmania viannia braziliensis* em lesões cutâneas. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 1990;23(4):205-208.

Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos – CPPI do Instituto de Saúde do Paraná. Antígeno de Montenegro [Bula de remédio]. 2005;

Curti MCM, Silveira TGV, Arraes SMAA, Bertolini DA, Zanzarini PD, Venazzi EAS, et al. Epidemiological and clinical characteristics of cutaneous leishmaniasis and their

relationship with the laboratory data, south of Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2011;15(1):12–16.

DATASUS - Ministério da Saúde.[homepage na Internet] TabNet Linux 2.4: LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA - Casos confirmados Notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan. [acesso em 17 out 2011];Disponível em:  
<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/dh?sinan/lta/bases/ltabr.def>

Degrave W, Fernandes O, Campbell D, Bozza M, Lopes U. Use of molecular probes and PCR for detection and typing of *Leishmania*--a mini-review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 1994;89(3):463-469.

De Luca PM, Mayrink W, Alves CR, Coutinho SG, Oliveira MP, Bertho AL, et al. Evaluation of the stability and immunogenicity of autoclaved and nonautoclaved preparations of a vaccine against American tegumentary leishmaniasis. *Vaccine.* 1999;17(9-10):1179-1185.

De Luca PM, Mayrink W, Santiago MA, Nogueira R, Conceição-Silva F, Mélo G, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled study on the immunogenicity of the leishmanin skin test. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2003;97(6):709-712.

Deps PD, Viana MC, Falqueto A, Dietze R. Comparative assessment of the efficacy and toxicity of N-methyl-glucamine and BP88 sodium stibogluconate in the treatment of localized cutaneous leishmaniasis. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2000;33(6):535-543.

D'utra e Silva O. Sobre a leishmaniose tegumentar e seu tratamento. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1915;213-214.

Fagundes A, Antônio L, Schubach A, Marzochi KBF (in press). Comparison between in vivo measurement of the Montenegro skin test and paper recording. Int. J. Dermatol.

Fagundes A, Marzochi KBF, Marzochi MCA. Ocorrência de reação imediata generalizada à intradermoreação de Montenegro. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2003;36(3):413-414.

Fagundes A, Marzochi MCA, Perez M, Schubach A, Ferreira A, Silva JP, et al. Skin reactivity to thimerosal and phenol-preserved Montenegro antigen in Brazil. Acta Trop. 2007;101(1):25-30.

Fagundes A, Marzochi MCA, Fernandes O, Perez MA, Schubach AO, Schubach TMP, et al. First encounter of subclinical human *Leishmania (Viannia)* infection in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007;102(8):1003-1005.

Fernandes NC, Morgan I, Maceira JP, Cuzzi T, Noe RAM. Leishmaniose tegumentar americana: casuística hospitalar no Rio de Janeiro. An bras Dermatol. 2004;79(4):431-439.

Furtado T. Critérios para o diagnóstico da leishmaniose tegumentar americana. An. Bras. Dermatol. 1980;55(2):81-86

Gontijo B, de Carvalho M de LR. American cutaneous leishmaniasis. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2003;36(1):71-80.

Grogl M, Thomason TN, Franke ED. Drug resistance in leishmaniasis: its implication in systemic chemotherapy of cutaneous and mucocutaneous disease. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1992;47(1):117-126.

Herwaldt BL, Berman JD. Recommendations for treating leishmaniasis with sodium stibogluconate (Pentostam) and review of pertinent clinical studies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1992;46(3):296-306.

Kawa H, Sabroza PC. Spatial distribution of tegumentary leishmaniasis in the city of Rio de Janeiro. *Cad Saude Publica.* 2002;18(3):853-865.

Llanos-Cuentas A, Tulliano G, Araujo-Castillo R, Miranda-Verastegui C, Santamaria-Castrellon G, Ramirez L, et al. Clinical and Parasite Species Risk Factors for Pentavalent Antimonial Treatment Failure in Cutaneous Leishmaniasis in Peru. *Clin. Infect. Dis.* 2008;46(2):223-231.

Lopes C, Laender J. A intradermorreação de Montenegro no diagnóstico da leishmaniose tegumentar americana. *Brasil-Médico.* 1945;41-46.

Machado P, Araújo C, Da Silva AT, Almeida RP, D'Oliveira Jr A, Bittencourt A, et al. Failure of early treatment of cutaneous leishmaniasis in preventing the development of an ulcer. *Clin. Infect. Dis.* 2002;34(12):E69-73.

Manzur A, Bari A ul. Sensitivity of leishmanin skin test in patients of acute cutaneous leishmaniasis. *Dermatol. Online J.* 2006;12(4):2.

Marzochi MC, Coutinho SG, Sabroza PC, Souza WJ. Indirect immunofluorescence reaction and intradermoreaction for American cutaneous leishmaniasis in residents of the Jacarepagua region (Rio de Janeiro). Comparative study of results observed in 1974 and 1978. *Rev Inst Med Trop.* 1980;22(3):149-155.

Marzochi MCA. Leishmanioses no Brasil: as leishmanioses tegumentares. *JBM.* 1992;63:82-104.

Marzochi MCA, Marzochi KBF. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil: emerging anthroponosis and possibilities for their control. *Cad. Saúde Públ.* 1994;10(supl. 2):359–375.

Marzochi M, Marzochi KBF. Leishmanioses em áreas Urbanas. *Rev. Soc. Bras. Medicina Tropical.* 1997; 30(supl 1):162-165.

Marzochi KBF, Marzochi MCA, Silva AF, Grativol N, Duarte R, Confort EM, et al. Phase 1 study of an inactivated vaccine against American tegumentary leishmaniasis in normal volunteers in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 1998;93(2):205–212.

Mavilia L, Rossi R, Massi D, Difonzo EM, Campolmi P, Cappugi P. Leishmaniasis recidiva cutis: an unusual two steps recurrence. *Int. J. Dermatol.* 2002;41(8):506-507.

Mayrink W, Melo M, Costa C, Magalhães P, Dias M, Coelho M. Montenegro's intradermal test in American cutaneous leishmaniasis after antimonial treatment. *Rev Inst Med Trop.* 1976;18(3):182-185.

Mayrink W, Coelho GLLM, Guimarães TMPD, de Andrade HM, de Castro Peres E, da Costa CA, et al. Immuno-biochemical evaluations of phenol and thimerosal as antigen preservatives in Montenegro skin test. *Acta Trop.* 2006;98(1):87-93.

Melo MN, Mayrink W, da Costa CA, Magalhães PA, Dias M, Williams P, et al. Standardization of the Montenegro antigen. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 1977;19(3):161-164.

Ministério da Saúde (Brasil). Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília, DF: 2006.

Ministério da Saúde (Brasil). Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. Brasília, DF: 2010.

Montenegro, J. A cutis reacção na leishmaniose. Ann. Fac. Méd. Univ. S.P. 1926;1:323-330.

Mueller MC, Fleischmann E, Grunke M, Schewe S, Bogner JR, Löscher T. Relapsing cutaneous leishmaniasis in a patient with ankylosing spondylitis treated with infliximab. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2009;81(1):52-54.

Neves DP, Melo L, Gen O, Linardi PM. Parasitologia Humana. 10<sup>o</sup> ed. [S.I.]: Editora Atheneu; 2003.

Oliveira-Neto MP, Pirmez C, Rangel E, Schubach A, Gabriel Jr-Grimaldi. An outbreak of american cutaneous leishmaniasis (*Leishmania braziliensis braziliensis*) in a periurban area of Rio de Janeiro city, Brazil: clinical and epidemiological studies. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1988;83(4):427-435.

Oliveira-Neto MP, Schubach A, Araujo ML, Pirmez C. High and low doses of antimony (Sbv) in American cutaneous leishmaniasis. A five years follow-up study of 15 patients. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1996;91(2):207-209.

Oliveira-Neto MP, Schubach A, Mattos M, Gonçalves-Costa SC, Pirmez C. Treatment of American cutaneous leishmaniasis: a comparison between low dosage (5 mg/kg/day) and high dosage (20 mg/kg/day) antimony regimens. Pathol. Biol. 1997;45:496-9.

Oliveira-Neto MP, Schubach A, Mattos M, Goncalves-Costa SC, Pirmez C. A low-dose antimony treatment in 159 patients with American cutaneous leishmaniasis: extensive follow-up studies (up to 10 years). Am. J. Trop. Med. Hyg. 1997;57(6):651-655.

Organização Mundial de Saúde. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010. Geneva: World Health Organization; 2010.

Passos VM, Barreto SM, Romanha AJ, Krettli AU, Volpini AC, Lima e Costa MF. American cutaneous leishmaniasis: use of a skin test as a predictor of relapse after treatment. Bull. World Health Organ. 2000;78(8):968-974.

Pessoa S, Pestana, BR. A intradermo-reação de Montenegro nas campanhas sanitárias contra a leishmaniose. Arq. Hig. Saude Pública. 1940;5:125-137.

Pessoa S, Barreto M. Leishmaniose Tegumentar Americana. Rio de Janeiro: Ministério da Educação e Saúde, Serviço de Documentação; 1948.

Pirmez C, Yamamura M, Uyemura K, Paes-Oliveira M, Conceição-Silva F, Modlin RL. Cytokine patterns in the pathogenesis of human leishmaniasis. J. Clin. Invest. 1993;91(4):1390-1395.

Potter, Perry. Guia de estudo. Fundamentos de Enfermagem: Conceitos e Procedimentos. 5<sup>o</sup> ed. [S.l.]: Lusociência; 2006.

Rabello FE, Portugal H, Serra O. Leishmaniose Tegumentar: formas clínicas, alergia específica, estrutura histológica e número de germens. In: (Ed.). I Reunião de dermato-sifiliógrafos brasileiros. 1945; s.l 37-71

Reis L de C, Brito MEF de, Souza M de A, Pereira VRA. Mecanismos imunológicos na resposta celular e humoral na leishmaniose tegumentar americana. Rev de Patologia Tropical 2006;35(2):103-115.

Reis L de C, Brito MEF de, Almeida EL de, Félix SM, Medeiros ACR, Silva CJ, et al. Clinical, epidemiological and laboratory aspects of patients with American cutaneous leishmaniasis in the State of Pernambuco. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2008;41(5):439-443.

Reis LC, Brito MEF, Souza MA, Medeiros ACR, Silva CJ, Luna CF, et al. Cellular immune response profile in patients with American tegumentary leishmaniasis prior and post chemotherapy treatment. *J. Clin. Lab. Anal.* 2009;23:63-69.

Rodrigues AM, Hueb M, Santos TARR dos, Fontes CJF. Factors associated with treatment failure of cutaneous leishmaniasis with meglumine antimoniate. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2006;39(2):139-145.

Romero HD, Prata A, Silva-Vergara ML, de Almeida Silva L. Comparação de dois antígenos para intradermoreação de Montenegro. *Rev Soc. Bras. Med. Trop.* 2004;37(6):508–509.

Rotberg A. Contribuição para o estudo da alergia na Leishmaniose Tegumentar Americana. *Rev Hosp N S Aparecida.* 1952;5:1-88.

Sabroza, PC. O domicílio como fator de risco na Leishmaniose Tegumentar Americana: estudo epidemiológico em Jacarepaguá, município do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, Dissertação [Mestrado], Escola Nacional de Saúde Pública FIOCRUZ; 1981.

Saravia NG, Weigle K, Segura I, Giannini SH, Pacheco R, Labrada LA, et al. Recurrent lesions in human *Leishmania braziliensis* infection--reactivation or reinfection. *Lancet.* 1990;336(8712):398-402.

Sassi A, Louzir H, Ben Salah A, Mokni M, Ben Osman A, Dellagi K. Leishmanin skin test lymphoproliferative responses and cytokine production after symptomatic or asymptomatic *Leishmania major* infection in Tunisia. *Clin. Exp. Immunol.* 1999;116(1):127-132.

Salles-Gomes L. A intra-dermo-reação de Montenegro na leishmaniose e outras pesquisas afins. *Brasil-Medico.* 1939;1079-1087.

Schubach AO. Estudo da evolução da leishmaniose tegumentar americana em pacientes tratados. Rio de Janeiro. Tese [Doutorado] - Instituto Oswaldo Cruz; 1990.

Schubach A, Haddad F, Oliveira-Neto MP, Degraive W, Pirmez C, Grimaldi G Jr, et al. Detection of *Leishmania* DNA by polymerase chain reaction in scars of treated human patients. *J. Infect. Dis.* 1998a;178(3):911-914.

Schubach A, Marzochi MC, Cuzzi-Maya T, Oliveira AV, Araujo ML, Oliveira AL, et al. Cutaneous scars in American tegumentary leishmaniasis patients: a site of *Leishmania (Viannia) braziliensis* persistence and viability eleven years after antimonial therapy and clinical cure. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1998b;58(6):824-827.

Schubach A de O, Marzochi KBF, Moreira JS, Schubach TMP, Araújo ML, Vale ACF do, et al. Retrospective study of 151 patients with cutaneous leishmaniasis treated with meglumine antimoniate. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2005;38(3):213-217.

Silva A. Avaliação do teste intradérmico de Montenegro em populações militares do Brasil: positividade e resposta inespecífica. Rio de Janeiro. Dissertação [Mestrado] – Instituto Oswaldo Cruz, Biologia Parasitária; 1999.

Silva M, Lopes R. A Leishmaniose Tegumentar Americana na perspectiva de quem a vivencia [periódico na Internet]. *Online Brazilian Journal of Nursing.* 2004 [acesso em

20 jul 2011];3(2). Disponível em:

<http://www.uff.br/nepae/siteantigo/objn302silvalopes.htm>

Silva, AF. A Reação Intradérmica de Montenegro na clínica e na epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar. Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. Tese [Doutorado] – Instituto Nacional de Controle e Qualidade em Saúde, Vigilância Sanitária; 2007.

Silveira FT, Ishikawa EAY, De Souza AAA, Lainson R. An outbreak of cutaneous leishmaniasis among soldiers in Belém, Pará State, Brazil, caused by *Leishmania* (*Viannia*) *lindenbergi* n. sp. A new leishmanial parasite of man in the Amazon region. *Parasite*. 2002;9(1):43-50.

Sokal JE. Editorial: Measurement of delayed skin-test responses. *N. Engl. J. Med*. 1975;293(10):501-502.

Souza WJ, Sabroza PC, Santos CS, de Sousa E, Henrique MF, Coutinho SG. Montenegro skin tests for American cutaneous leishmaniasis carried out on school children in Rio de Janeiro, Brazil: an indicator of transmission risk. *Acta Trop*. 1992;52(2-3):111-119.

Stefanidou MP, Antoniou M, Koutsopoulos AV, Neofytou YT, Krasagakis K, Krüger-Krasagakis S, et al. A rare case of leishmaniasis recidiva cutis evolving for 31 years caused by *Leishmania tropica*. *Int. J. Dermatol*. 2008;47:588-589.

Szargiki R, Castro EA de, Luz E, Kowalthuk W, Machado AM, Thomaz-Soccol V. Comparison of serological and parasitological methods for cutaneous leishmaniasis diagnosis in the state of Paraná, Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2009;13(1):47-52.

Teixeira AC, Paes MG, Guerra J de O, Prata A, Silva-Vergara ML. Failure of both azithromycin and antimony to treat cutaneous leishmaniasis in Manaus, AM, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 2008;50(3):157-160.

Tuon FF, Sabbaga Amato V, Floeter-Winter LM, de Andrade Zampieri R, Amato Neto V, Siqueira França FO, et al. Cutaneous leishmaniasis reactivation 2 years after treatment caused by systemic corticosteroids - first report. *Int. J. Dermatol.* 2007;46(6):628-630.

Unger A, O'Neal S, Machado PRL, Guimarães LH, Morgan DJ, Schriefer A, et al. Association of treatment of American cutaneous leishmaniasis prior to ulcer development with high rate of failure in northeastern Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2009;80(4):574-579.

Vieira-Gonçalves R, Pirmez C, Jorge ME, Souza WJS, Oliveira MP, Rutowitsch MS, et al. Clinical features of cutaneous and disseminated cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis* in Paraty, Rio de Janeiro. *Int. J. Dermatol.* 2008;47(9):926-932.

Wagener EH. A skin reaction to extracts of *Leishmania tropica* and *Leishmania infantum*. *Univ. C. Publ. Zool.* 1923;20(22):477-488.

Weigle KA, Valderrama L, Arias AL, Santrich C, Saravia NG. Leishmanin skin test standardization and evaluation of safety, dose, storage, longevity of reaction and sensitization. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1991;44:260-71.