

Guenael Freire de Souza

*“COMPARAÇÃO DE ASPECTOS CLÍNICOS E DIAGNÓSTICOS
DA LEISHMANIOSE VISCERAL ENTRE PORTADORES E
NÃO PORTADORES DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA
HUMANA”*

Belo Horizonte

2007

Guenael Freire de Souza

**“COMPARAÇÃO DE ASPECTOS CLÍNICOS E DIAGNÓSTICOS
DA LEISHMANIOSE VISCERAL ENTRE PORTADORES E NÃO
PORTADORES DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical do
Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina
da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito
parcial para obtenção do grau de mestre
Orientador: Professor Doutor Dirceu Bartolomeu Greco
Co-orientadora: Doutora Ana Lúcia Teles Rabello

Belo Horizonte

2007

S729c

Souza, Guenael Freire de.

Comparação de aspectos clínicos e diagnósticos da leishmaniose visceral entre portadores e não portadores do vírus da imunodeficiência humana [manuscrito] / Guenael Freire de Souza. – 2007.

126 f., enc. : il. color, p&b, graf., tabs.

Orientador : Prof. Dr. Dirceu Bartolomeu Greco.

Co-orientadora : Profa. Dra. Ana Lúcia Teles Rabello.

Área de concentração: Infectologia e Medicina Tropical.

Linha de pesquisa: Leishmaniose.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

Bibliografia: f. 95-112.

Anexos: f. 115-126.

1. Leishmaniose visceral – Teses. 2. Leishmaniose – Diagnóstico – Teses. 3. Doenças parasitárias – Teses. 4. Doenças transmissíveis – Teses. 5. Infecções por HIV – Teses. 6. Síndrome de imunodeficiência adquirida – Teses. I. Greco, Dirceu Bartolomeu. II. Rabello, Ana Lúcia Teles. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WC 715

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor: Professor Ronaldo Tadeu Pena

Vice-reitora: Professora Heloisa Maria Murgel Starling

Pró-reitor de pós-graduação: Professor Jaime Arturo Ramirez

Pró-reitor de pesquisa: Professor Carlos Alberto Pereira Tavares

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor: Professor Francisco José Penna

Vice-diretor: Professor Tarcizo Afonso Nunes

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Professor Carlos Faria Santos Amaral

Sub-coordenador do Centro de Pós-Graduação: Professor João Lúcio dos Santos Jr.

Chefe do Departamento de Clínica Médica: Professor Dirceu Bartolomeu Greco

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE: INFECTOLOGIA E MEDICINA TROPICAL

Coordenador: Professor Manoel Otávio da Costa Rocha

Sub-coordenador: Professor Antônio Luiz Pinho Ribeiro

Colegiado:

Professor Manoel Otávio da Costa Rocha

Professor Antônio Luiz Pinho Ribeiro

Professor Carlos Maurício Figueiredo Antunes

Professor Dirceu Bartolomeu Greco

Professor José Roberto Lambertucci

À Ana Gabriela, com amor.

AGRADECIMENTOS

Durante o meu processo de aprendizagem para a realização deste trabalho, entre a leitura de artigos, comunicados, sugestões e livros, percebi que idéias emergiram das discussões. Ao me confrontar com a austera estatística e depois de me frustrar tentando compreender os livros, aprendi a utilizar de maneira simples esta ferramenta. Após ser sugestionado pelos resultados de outros autores, desenvolvi a capacidade de gerar meus próprios resultados, simples mas originais. Aprendi com meus próprios erros e me apoiei em ombros de gigantes para tentar ver além. Chamo de gigantes Ana Rabello, Prof. Dirceu Greco e Fernando Biscione, que terão minha infinita ingratidão.

Sem o suporte do Laboratório de Pesquisas Clínicas, que me acolheu incondicionalmente em todas as etapas do meu projeto, não teria concluído este trabalho. Agradeço a todos do laboratório e de maneira especial a Zélia Profeta, Tália Assis, Alexandre Rotondo e Letícia Dias.

O despertar para as minhas potencialidades foi feito pela minha amada mulher. Obrigado por tudo Gabi, do fundo do meu coração.

RESUMO

Com o objetivo de descrever e comparar dados demográficos, clínicos e diagnósticos da leishmaniose visceral (LV) entre pacientes infectados e não infectados pelo HIV, um estudo retrospectivo foi realizado através da análise de prontuários de pacientes avaliados entre janeiro de 2000 e dezembro de 2005 em duas unidades de referência em Belo Horizonte: ambulatório do Centro de Referência em Leishmanioses (CPqRR/FIOCRUZ) e ambulatório e unidade de internação do Hospital Eduardo de Menezes (HEM/FHEMIG). Foram considerados casos de LV: i) Reação de imunofluorescência indireta positiva (RIFI) associada a pelo menos duas das seguintes manifestações; febre, anemia/citopenia, esplenomegalia/hepatomegalia, ou ii) detecção de DNA de *Leishmania* por PCR ou identificação destes parasitos através da pesquisa direta ou cultivo de aspirado esplênico, hepático ou de medula óssea. Os pacientes sem resultado de exame anti-HIV ou história de LV tratada há mais de 72 horas da admissão foram excluídos. Foram incluídos 65 pacientes. A média de idade foi 37,6 anos ($\pm 12,1$ anos) e 81,5% dos pacientes era do sexo masculino. Vinte e sete pacientes eram infectados pelo HIV, com contagem mediana de CD4 = 115 céls/mm³. A maioria dos pacientes co-infectados (74%) apresentou CD4 < 200 céls/mm³. A frequência do uso de drogas injetáveis não diferiu entre os grupos mas alcoolismo foi mais comum entre os pacientes infectados pelo HIV ($p < 0,05$). A tríade clássica da LV (febre, anemia/citopenia, esplenomegalia/hepatomegalia) foi igualmente frequente entre pacientes HIV-positivos e HIV-negativos (70,4% vs. 76,5% $p = 0,6$). Os pacientes co-infectados apresentaram maior frequência de hiperglobulinemia, hipoalbuminemia e linfopenia, enquanto que os pacientes não infectados apresentaram maior ocorrência de hiperbilirrubinemia. Após 10 a 15 dias de tratamento específico para a LV, febre, anemia, leucopenia e eosinopenia foram significativamente mais frequentes entre os pacientes HIV-positivos. Este grupo ainda apresentou níveis plasmáticos de creatinina mais elevados. A chance ajustada de resolução de todas as manifestações clínicas após 10 a 15 dias de tratamento foi significativamente menor entre infectados pelo HIV (OR = 0,04, IC 95% = 0,01-0,45), na presença de esplenomegalia, (OR = 0,06, IC 95% = 0,01-0,69) ou quando o número de manifestações clínicas foi superior a três (OR = 0,12, IC 95% = 0,02-0,74) à admissão. Leishmânias foram identificadas em 74% dos pacientes infectados pelo HIV e em 53% dos pacientes HIV-negativos ($p = 0,08$). A RIFI foi mais sensível entre os pacientes HIV-negativos (86,4% vs. 45,5%; $p < 0,01$). A sensibilidade do anti-rK39 (ELISA) não diferiu entre os pacientes HIV-positivos e HIV-negativos (50% vs. 92,3% respectivamente; $p = 0,052$).

Unitermos: leishmaniose visceral, HIV, co-infecção, diagnóstico

ABSTRACT

To describe and compare demographic, clinical and diagnostic features of visceral leishmaniasis (VL) among HIV-positive or negative individuals, a retrospective study was conducted using data collected from January 2000 to December 2005 at two referral healthcare centers of Belo Horizonte: the outpatient unit at Centro de Pesquisas René Rachou, and the outpatient and inpatient units at Hospital Eduardo de Menezes. VL was diagnosed as either: i) a positive ($\geq 1:80$) serum anti-*Leishmania* IgG indirect immunofluorescence assay (IFA), plus any two of the following clinical manifestations: fever, anemia/citopenia, splenomegaly/hepatomegaly; or ii) detection of *Leishmania* genome by PCR assay, or parasites by direct staining or culture of bone marrow, liver, spleen or lymph node samples. Excluded were patients with unavailable HIV testing results or history of VL treated ≥ 72 hours before study enrollment. Overall, 65 patients met eligibility criteria. Mean age was 37,6 years-old ($\pm 12,1$) and 81,5% were male. Twenty-seven patients were HIV-infected; median CD4+ T cell count was 115 cells/mm³, and most (74%) patients had counts below 200 cells/mm³. At baseline, intravenous drug use did not significantly differ between groups, but alcohol abuse was more frequent among HIV-infected patients ($p < 0,05$). The classical clinical triad of fever, anemia and/or citopenia, and splenomegaly and/or hepatomegaly was present at similar high frequencies in HIV-positive and negative patients (70,4% vs. 76,5%; $p = 0,6$). As compared to non-HIV-infected individuals, HIV-infected subjects were more likely to have hyperglobulinemia, hypoalbuminemia and lymphopenia at baseline, and less likely to have elevated serum bilirubin levels. After ten to 15 days of antileishmanial treatment, fever, anemia, leucopenia and eosinopenia were significantly more frequent among HIV-infected subjects. Conversely, mean serum creatinine was significantly higher in this group. The adjusted odds of complete clinical resolution after ten to 15 days of treatment initiation was significantly lower in HIV-positive patients (odds ratio-OR= 0,04; 95%CI= 0,01-0,45), or in the presence of splenomegaly (OR= 0,06; 95%CI= 0,01-0,69) or > three clinical signs/symptoms (OR= 0,12; 95%CI= 0,02-0,74) at baseline. *Leishmania* parasites were identified in 74% of HIV-infected subjects and in 53% of HIV-negative individuals ($p = 0,08$). Anti-*Leishmania* IgG IFAT was more sensitive among HIV-negative patients (86,4% vs. 45,5%; $p < 0,01$). The sensitivities of the anti-rK39 ELISA assay were marginally non-different between HIV-infected or uninfected subjects (50% vs. 92,3% respectively; $p = 0,052$).

Key-words: visceral leishmaniasis, HIV, coinfection, diagnosis.

LISTA DE GRÁFICOS E QUADROS

GRÁFICO 1 – Evolução dos casos de leishmaniose visceral no Brasil e em Minas Gerais, de 1990 a 2005.	19
GRÁFICO 2 – História natural da infecção pelo HIV não tratada.	34
GRÁFICO 3 – Classificação do estágio da infecção pelo HIV, segundo os critérios do CDC (1993), em portadores da co-infecção Leishmania/HIV, RMBH, 2000-2006.	68
GRÁFICO 4 – Frequência absoluta das infecções oportunistas em 27 pacientes portadores da co-infecção Leishmania/HIV, no período de 2000 a 2005.	69
QUADRO 1 – Classificação do CDC (1993) para a infecção pelo HIV, modificada em 1997.	34

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Sensibilidades de técnicas sorológicas de diagnóstico da LV em pacientes com a co-infecção <i>Leishmania</i> /HIV.....	47
TABELA 2 - Distribuição por faixa etária de 65 pacientes portadores de leishmaniose visceral, entre infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.....	66
TABELA 3 – Anos de estudo de 65 pacientes portadores de leishmaniose visceral, entre infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.....	67
TABELA 4 - Infecções concorrentes à leishmaniose visceral diagnosticadas durante o acompanhamento de 65 pacientes, RMBH, 2000-2005.....	69
TABELA 5 – Manifestações clínicas e laboratoriais após o 10º dia de tratamento de 65 pacientes com leishmaniose visceral, infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.....	71
TABELA 6 – Valores de parâmetros laboratoriais iniciais de 62 pacientes infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.....	72
TABELA 7 – A positividade do diagnóstico parasitológico para a leishmaniose visceral entre pacientes infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.....	73
TABELA 8 - A sensibilidade da RIFI e da detecção do anticorpo anti-rK39 (ELISA) entre pacientes infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.....	73
TABELA 9 – A positividade do diagnóstico específico combinado para a leishmaniose visceral entre pacientes infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.....	74
TABELA 10 – Manifestações clínicas e alterações laboratoriais após 10 a 15 dias de tratamento da leishmaniose visceral em pacientes infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.....	76
TABELA 11 – Valores de parâmetros laboratoriais após 10 a 15 dias de tratamento da leishmaniose visceral, entre pacientes infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.....	77
TABELA 12 – Manifestações clínicas e alterações laboratoriais em pacientes com leishmaniose visceral infectados pelo HIV, no momento da admissão e após 10 a 15 dias de tratamento, RMBH, 2000-2005.....	77
TABELA 13 – Manifestações clínicas e alterações laboratoriais em pacientes com leishmaniose visceral não infectados pelo HIV, no momento da admissão e após 10 a 15 dias de tratamento, RMBH, 2000-2005..	78
TABELA 14 – Valores de parâmetros laboratoriais em pacientes com leishmaniose visceral infectados pelo HIV, no momento da admissão e após 10 a 15 dias de tratamento, RMBH, 2000-2005.....	79
TABELA 15 – Valores de parâmetros laboratoriais em pacientes com leishmaniose visceral não infectados pelo HIV, no momento da admissão e após 10 a 15 dias de tratamento, RMBH, 2000-2005.....	79
TABELA 16 – Associação de variáveis clínicas à resposta clínica completa em 56 pacientes com leishmaniose visceral, RMBH, 2000-2005.....	81
TABELA 17 – Associação de variáveis complementares à resposta clínica completa em pacientes com leishmaniose visceral, RMBH, 2000-2005.....	82
TABELA 18 - Modelo final de regressão logística binária para resposta clínica completa após 10-15 dias de tratamento.....	82

GLOSSÁRIO DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AZT – Zidovudina
CCR5 - Receptor número cinco da beta-quimiocina
CDC - Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Estados Unidos.
CXCR4 – Receptor número quatro da quimiocina CXCR4
DAT – Teste de aglutinação direta
ELISA – Ensaio imunoenzimático
FAST-DAT - Teste de aglutinação direta de rápida realização
GEEPI – Gerência de epidemiologia (Belo Horizonte)
HAART – Terapia anti-retroviral altamente eficaz
HTLV – Vírus T-linfotrópicos humanos (do inglês: Human T-cell lymphotropic vírus)
IL- Interleucina
IL-2R – Receptor de IL-2
INF γ - - Interferon gama
IP – Inibidores da protease
ITRN – Inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos
ITRNN - Inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos
LAV – Vírus da linfadenopatia (do inglês: lymphadenopathy vírus)
LPG – Lipofosfolípido
LV - Leishmaniose visceral
OMS – Organização Mundial da Saúde
PBH – Prefeitura de Belo Horizonte
PCR – Reação da cadeia da polimerase
PVC – Policloreto de vinila
RIFI – Reação de imunofluorescência indireta
RMBH – Região Metropolitana de Belo Horizonte
SINAN – Sistema Nacional de Agravos de Notificação
TNF α - Fator de necrose tumoral alfa
UNAIDS – Programa de HIV/AIDS das Nações Unidas (do inglês: Joint United Nations Programme on HIV/AIDS)

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	16
1.1 Leishmaniose visceral	17
1.1.1 Aspectos históricos	17
1.1.2 Distribuição geográfica	18
1.1.3 Transmissão vetorial	19
1.1.4 Aspectos clínicos	20
1.1.5 Diagnóstico laboratorial	21
1.1.5.1 Diagnóstico Específico	21
1.1.5.2 Diagnóstico Complementar	24
1.1.6 Tratamento	24
1.1.7 Controle	26
1.2 AIDS	27
1.2.1 Aspectos históricos	28
1.2.2 Distribuição geográfica	29
1.2.3 Vírus da imunodeficiência humana	31
1.2.4 Imunopatogenia	32
1.2.5 Aspectos clínicos	33
1.2.6 Diagnóstico complementar	35
1.2.7 Tratamento	35
1.3 CO-INFECÇÃO <i>Leishmania</i>/HIV	38
1.3.1 Introdução	39
1.3.2 Co-infecção na era HAART	40
1.3.3 Aspectos da transmissão – uso de drogas injetáveis como fator de risco	41
1.3.4 Co-infecção é mais frequente nos pacientes com imunodepressão grave	42
1.3.5 Patogênese da co-infecção <i>Leishmania</i>/HIV	43
1.3.6 Aspectos clínicos e evolutivos	44
1.3.7 Diagnóstico na co-infecção <i>Leishmania</i>/HIV	46
1.3.8 Métodos sorológicos: baixa sensibilidade na co-infecção	46
1.3.9 Diagnóstico molecular na co-infecção	48
1.3.10 Tratamento: menor eficácia e maior incidência de reações adversas	48
2. OBJETIVOS	51
3 – METODOLOGIA	53
3.1 Delineamento e local do estudo	54

3.2 Unidades de saúde	54
3.3 Critérios de elegibilidade	55
3.4 Coleta de dados	56
3.4.1 Análise do prontuário	56
3.4.2 Dados demográficos e de identificação	56
3.4.3 Dados do exame clínico	57
3.4.4 Variáveis da entrevista	57
3.4.5 Variáveis do exame físico	58
3.4.6 Definição de caso de leishmaniose visceral	58
3.4.7 Exames específicos para a leishmaniose visceral	59
3.4.8 Exames complementares	59
3.5 Diagnóstico sorológico	60
3.5.1 Descrição da técnica de ELISA para detecção de anti-rK9	60
3.5.2 Descrição da RIFI para detecção de anticorpos contra promastigotas	61
3.6 Tratamento estatístico	61
3.6.1 Estatística descritiva	61
3.6.2 Estatística analítica	62
3.7 Aspectos éticos	63
3.8 Normatização bibliográfica	64
4- RESULTADOS	65
4.1 Informações sócio-demográficas	66
4.2 Dados da infecção pelo HIV	67
4.3 Complicações infecciosas não oportunistas	69
4.4 Exame clínico e dados laboratoriais da LV	70
4.5 Diagnóstico específico da leishmaniose visceral	72
4.6 Tratamento da leishmaniose visceral	75
4.7 Evolução clínica e laboratorial após início do tratamento	76
5- DISCUSSÃO	83
6- LIMITAÇÕES DO ESTUDO	89
7- CONCLUSÕES	92
8- CONSIDERAÇÕES FINAIS	94
9 - REFERÊNCIAS	96
ANEXO 1	114
ANEXO 2	116

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Condições definidoras de AIDS, segundo o CDC.....	112
Anexo 2. Instrumento de coleta de dados.....	114

1. INTRODUÇÃO

1.1 LEISHMANIOSE VISCERAL

1.1.1 ASPECTOS HISTÓRICOS

Entende-se como leishmaniose visceral (LV) a doença provocada por parasitos do complexo *Leishmania donovani*, caracterizada por anormalidades no sistema retículo-endotelial do homem e clinicamente manifesta como febre irregular e de longa duração, emagrecimento, palidez cutâneo-mucosa decorrente de anemia e exuberante hepatoesplenomegalia, além de outras manifestações clínicas e alterações de exames laboratoriais.

Em 1901, Leishman identificou microorganismos em esfregaços do baço de um soldado falecido com quadro de disenteria e hepatoesplenomegalia, procedente da localidade denominada Dum-Dum, na Índia, considerada de alto risco para a doença conhecida como febre Dum-Dum e que se caracterizava por debilidade, febre irregular e arrastada, anemia grave, atrofia muscular e esplenomegalia. Este quadro também era conhecido como calazar (do hindu: kala=negro, azar=doença, afecção).

[...] On making smears preparation from the spleen pulp, I was stuck by the curious appearance, among the spleen cells and red corpuscles of enormous numbers of small round or oval bodies 2 to 3 μm in diameter, wich corresponded to nothing I had previously met with or had seen figure or described. (Leishman *apud* Badaró & Duarte, 2002)

Inicialmente, estes microorganismos foram classificados como tripanossomas por Charles Donovan em 1903, confundindo-os com o *Trypanossoma brucei*. Bruce, Laveran e Mesnil posteriormente consideraram estes microorganismos como sendo uma nova espécie .

A relação entre estes parasitos e a LV foi descoberta por Major Ross, que nomeou o novo microorganismo *Leishmania donovani*. O gênero *Leishmania* assim fora descoberto (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2006a). Charles Nicolle, em 1908, demonstrou o papel do cão como hospedeiro intermediário da *Leishmania donovani* (Nicolle *apud* BADARÓ & DUARTE, 2002).

No Brasil, o primeiro caso autóctone foi descrito por Mignone, no Paraguai, e ocorreu em 1913. Tratava-se de paciente procedente do município de Boa Esperança, no Mato Grosso (MIGNONE *apud* BADARÓ & DUARTE, 2002).

Em 1934, Henrique Penna examinou 47.000 amostras de fígado pacientes falecidos devido à febre amarela e verificou que 41 destas mortes foram provocadas por LV. Estes resultados sugeriram maior incidência da doença na Região Nordeste, o que motivou Carlos Chagas a enviar seu filho, Evandro Chagas, à região, com o intuito de investigar a “nova” doença. Em 1936, Evandro Chagas descreveu no Brasil o primeiro caso diagnosticado em paciente vivo, um jovem do estado de Sergipe (CHAGAS *apud* BRITTO *et al.*, 1994; LAINSON & RANGEL, 2005).

1.1.2 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Atualmente as leishmanioses estão presentes em quatro continentes, são consideradas endêmicas em 88 países, 72 deles nações em desenvolvimento. Cerca de 90% de todos os casos de LV ocorrem em cinco países: Bangladesh, Brasil, Índia, Nepal e Sudão e estão associadas a 70.000 mortes por ano em todo o mundo (MURRAY *et al.*, 2005; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2007).

No Brasil são notificados cerca de 3.500 casos de LV por ano, com tendência ao aumento do número de notificações. O gráfico 1 mostra o aumento da incidência da LV ao longo do tempo.

A incidência da LV tem aumentado dramaticamente nos últimos anos na RMBH (GONTIJO & MELO, 2004). O primeiro caso ocorreu em 1989, no município de Sabará (GENARO *et al.*, 1990). Apenas em 2006, 513 casos foram registrados no estado, cifra apenas superada pelo Ceará (554 casos) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007). Acredita-se que a doença fora introduzida em Belo Horizonte vinda de municípios vizinhos, devido ao processo de urbanização e ao êxodo rural (GENARO *et al.*, 1990; LUZ *et al.*, 2001; GONTIJO & MELO, 2004). Na RMBH, foram notificados 331 casos em 2006, perfazendo a maioria dos casos notificados em Minas Gerais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

A epidemia em humanos foi precedida pelo aumento do número de casos em cães, possivelmente provenientes de áreas endêmicas. A soroprevalência canina estabilizou em cerca de 8% de 2002 a 2005 (PREFEITURA DE BELO HORIZONTE, 2005).

No Brasil, a letalidade saltou de 3,6% em 1994 para 6,7% em 2003. As taxas de letalidade superaram 15% em alguns locais. No município de Belo Horizonte, a letalidade foi 18,1% em 2004. Observa-se ligeira redução do número de casos e da letalidade da doença em 2005, ano que 95 casos foram notificados (letalidade – 9%), contrastando com 128 casos notificados em 2004 (PREFEITURA DE BELO HORIZONTE, 2005).

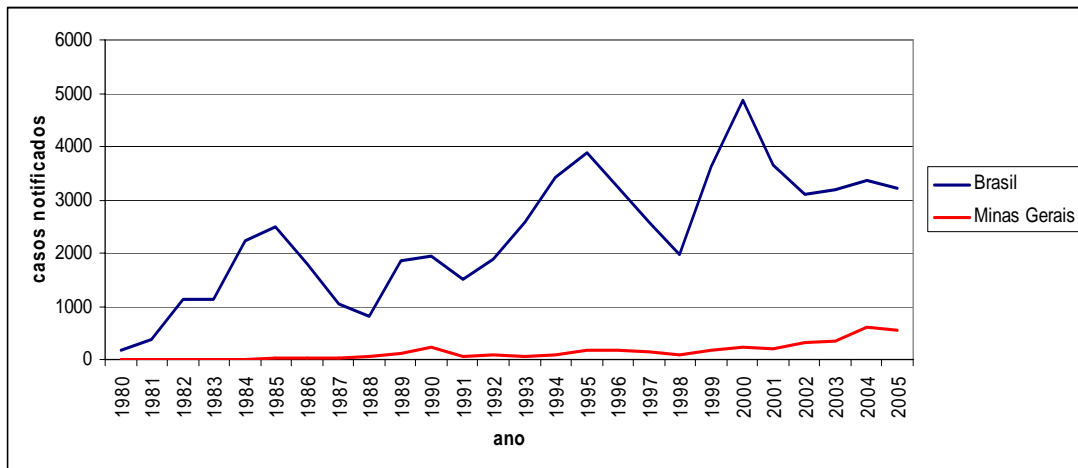


GRÁFICO 1 - Evolução dos Casos de Leishmaniose Visceral no Brasil e em Minas Gerais, de 1990 a 2005. **Fonte:** SINAN

1.1.3 TRANSMISSÃO VETORIAL

A leishmaniose é transmitida ao homem através da picada de inseto de 2 a 3 mm de comprimento, da subfamília dos flebotomíneos, dos gêneros *Lutzomyia* e *Psychodopygus* no continente americano e *Phlebotomus* nos demais continentes. De 500 espécies conhecidas de flebotomos, apenas 30 são consideradas vetores da doença. Somente a fêmea transmite o parasito, infectando-se com a *Leishmania* presente no sangue dos hospedeiros. O *Lutzomyia longipalpis* é a espécie mais frequentemente encontrada em áreas de transmissão da LV, tanto em ambientes domésticos quanto em meios silvestres, origem do vetor (GENARO, 2000; BADARÓ & DUARTE, 2002; LAINSON & RANGEL, 2005).

A fêmea deposita seus ovos na toca de alguns roedores, em oco de árvores velhas, em construções abandonadas, em fissuras das paredes das casas, em abrigos de animais, em lixo doméstico ou em qualquer lugar que a larva encontre condições para o desenvolvimento: ambientes ricos em matéria orgânica, calor e umidade.

Após a picada, o amastigota no tubo digestivo do inseto se diferencia em promastigota. Durante um período de quatro a 25 dias, o parasita continua seu desenvolvimento no intestino do vetor, onde se diferencia em promastigota metacíclico – forma infectante para os mamíferos. O ciclo de vida se completa quando o flebotomíneo inocula a leishmânia, durante a picada. O inseto vetor ingere o amastigota, oriundo da derme dos vertebrados infectados. O amastigota se diferencia em promastigota após 24 a 28 h. Posteriormente, o parasito migra para a faringe e o esôfago do vetor, sendo então inoculado no vertebrado (LAINSON & RANGEL, 2005).

A saliva do inseto contém substâncias inibidoras da ativação de macrófagos, como neuropeptídeos. A maior parte é destruída por células polimorfonucleares mas os parasitas que sobrevivem se diferenciam na forma amastigota e serão fagocitados por macrófagos. Dentro do vacúolo dessas células, os amastigotas resistem à ação lítica das enzimas lisossômicas, multiplicando-se por divisão binária. A multiplicação de amastigotas no interior do fagócito culminará com sua lise e a liberação de novas leishmânias, que serão novamente fagocitadas (MARSELLA *et al.*, 1998; GENARO, 2000).

A transmissão vetorial é mais freqüente nos meses de chuva. O alcance de vôo do flebotomíneo é curto (estimado em 250 metros), possivelmente devido ao seu tamanho diminuto (GENARO, 2000; PEARSON *et al.*, 2000).

1.1.4 ASPECTOS CLÍNICOS

A expressão clínica da doença varia desde quadros assintomáticos à forma clássica da doença. Crianças menores que cinco anos e portadores de desnutrição apresentam maior risco para a aquisição da doença em área endêmica (BADARÓ *et al.*, 1986a). A LV também pode se apresentar como recidiva (até 12 meses após a cura clínica) ou reativação tardia de infecção subclínica ou tratada previamente (ZIJLSTRA *et al.*, 1991; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006a). A reativação pode ser espontânea ou ocorrer em função da queda do número de linfócitos T CD4 ou alterações na função destas células – uso de corticóides ou de medicamentos citotóxicos, terapia com imunossupressores após transplantes de órgãos ou AIDS (MURRAY *et al.*, 2004).

Febre, hepatoesplenomegalia e pancitopenia compõem a tríade clássica da LV (BADARÓ *et al.*, 1986a; ZIJLSTRA *et al.*, 1991; EL-HASSAN, 2001). A febre ocorre

precocemente e está presente durante todo o curso da infecção. Este sinal pode adquirir caráter intermitente, às vezes vespertino ou mesmo constante. Normalmente este sintoma precede os demais e se associa à hiporexia e emagrecimento. O aumento do fígado e do baço é progressivo, podendo atingir graus variáveis de tamanho. O baço pode se encontrar sob o rebordo costal mas não raro atinge volume exagerado, ultrapassando a cicatriz umbilical. A visceromegalia é normalmente indolor e não percebida pelo paciente. Astenia, palidez, dispnéia aos esforços e claudicação são sintomas associados à anemia observada. A plaquetopenia pode ser grave e ocasionar sangramentos espontâneos. Epistaxe é comum na vigência da infecção e normalmente não denota gravidade. A leucopenia ocorre em todas as séries, agravando o dano à imunidade do paciente, o que facilita infecções bacterianas secundárias. Outros sinais e sintomas comuns são tosse, que pode ser seca ou oligoprodutiva, edema de membros inferiores ou anasarca, icterícia e dor abdominal. Menos comuns são diarreia e vômitos. Estes se intensos denotam gravidade. Em alguns casos, a LV se apresenta de forma branda e frustra, não evoluindo para o típico calazar. Estes casos oligossintomáticos não raro curam espontaneamente após um tempo prolongado e são facilmente confundidos com outras doenças ou simplesmente não são diagnosticados, prejudicando o crescimento de crianças acometidas com esta forma (BADARÓ *et al.*, 1986b; DUARTE *et al.*, 1989).

1.1.5 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

1.1.5.1 DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO

Entre os exames parasitológicos, a demonstração do parasito é o padrão ouro. As formas amastigotas de *Leishmania* spp. podem ser visualizadas em lâminas contendo esfregaços corados de aspirado de baço, fígado, medula óssea, linfonodos e sangue periférico. A sensibilidade desta técnica varia de 95-98% para o aspirado de baço (CHULAY *et al.*, 1985), 76-91% para o aspirado de fígado, 52-89% para o aspirado de medula óssea (ZIJLSTRA *et al.*, 1992) e 52-69% para o aspirado de linfonodos (SIDDIG *et al.*, 1988; ZIJLSTRA *et al.*, 1992). O cultivo dos parasitos em meios de cultura axênicos apresenta sensibilidade superior a 90% (SINGH, 2006).

Na LV, a ativação policlonal de células B facilita seu diagnóstico através de testes sorológicos. Destacam-se o teste de aglutinação direta (DAT), a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), os ensaios imunoenzimáticos, principalmente o realizado em micro-placas (micro-ELISA) e mais recentemente, os testes imunocromatográficos.

O teste de aglutinação direta (DAT) é um dos testes mais simples e baratos usados para o diagnóstico da LV, muito utilizado nos países da África Sub-Saariana, Índia e Nepal, com sensibilidade de 91 a 100% e especificidade de 72 a 100% (EL HARITH *et al.*, 1988; ZIJLSTRA *et al.*, 1991b; ABDALLAH *et al.*, 2004). A possibilidade de liofilização do antígeno possibilitou ainda mais a utilização do método em condições de campo (MEREDITH *et al.*, 1995; SUNDAR *et al.*, 1995). No Brasil, Andrade *et al.* (1989) verificaram reatividade cruzada com soros de pacientes com doença de Chagas, esquistossomose, filariose, malária e leishmaniose mucocutânea. Uma variação do DAT (fast agglutination screening test – FAST-DAT) mostrou-se útil no campo (SILVA *et al.*, 2005), com possibilidade de detectar anticorpos anti-*Leishmania* em poucas horas, sem a necessidade de equipamentos sofisticados. O DAT não é capaz de diferenciar infecções recentes de infecções passadas (ZIJLSTRA *et al.*, 1991b).

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) tem sido amplamente usada no diagnóstico da LV desde 1964 (DUXBURY & SADUN, 1964) e é o teste utilizado pelo programa de controle da LV no Brasil (MINISTÉRIO DA SAUDE, 2006a). Os reagentes são acessíveis, mas a técnica apresenta a desvantagem de requerer microscópio de imunofluorescência e microscopista treinado. Sensibilidade de 82 a 100% e especificidade de 78 a 92% são relatadas, dependendo do estágio da doença e da espécie de *Leishmania* utilizados (MITTAL *et al.*, 1991; KAR, 1995; ALAM *et al.*, 1996). O cultivo para produção em grande escala é mais fácil com formas promastigotas e espécies como a *L. amazonensis* ou *L. major*, mas esta escolha propicia maior reatividade cruzada com soros de portadores de outras leishmanioses, doença de Chagas, malária, esquistossomose e tuberculose pulmonar (DUXBURY & SADUN, 1964). A RIFI detecta anticorpos em infecções recentes e pode persistir positiva por até anos após a cura.

Desde sua introdução em 1971, os métodos imunoenzimáticos vêm sendo avaliados para detecção de anticorpos específicos na leishmaniose (HO *et al.*, 1983). Dependendo do método utilizado, uma variedade de antígenos, com diferentes sensibilidades e especificidades são obtidos. Embora os valores de sensibilidade sejam mais reprodutivos, variando entre 90 e 100%, pode haver reatividade cruzada com soros de pacientes portadores de doença de Chagas, malária, esquistossomose, tuberculose e toxoplasmose (KAR, 1995).

Alguns antígenos purificados, sintéticos ou recombinantes, foram identificados para aumentar a especificidade de testes diagnósticos. Entre estes, a proteína recombinante K-39 (rK-39), uma seqüência de 39 aminoácidos clonada da região quinase de *L. chagasi*, complexo donovani-específico foi a mais amplamente avaliada (BURNS *et al.*, 1993). Sensibilidades de 98 e 99% e especificidade de 100% foram relatadas por Burns *et al.* (1993) e Badaró *et al.* (1996) utilizando rK39-ELISA, no Brasil e no Sudão. Em vários outros relatos, o antígeno foi avaliado em formato imunocromatográfico, conhecido como teste rápido para detecção de anticorpo *Leishmania donovani* (TRALd) em soro ou sangue capilar. A TRALd apresenta 100% de especificidade e 93-98% de sensibilidade (BRÁZ *et al.*, 2002; SINGH *et al.*, 2002; SUNDAR *et al.*, 2006). Badaró *et al.* (1996) e Singh *et al.* (2002) demonstraram que a presença de anticorpos anti-rK39 pode predizer infecção ativa. Outra possível vantagem deste antígeno é a baixa freqüência de reatividade cruzada (BRÁZ *et al.*, 2002).

O DAT e a pesquisa do anticorpo anti-rK39 surgem como boas opções aos tradicionais testes sorológicos, com sensibilidade superior a 90% e possibilidade de realizar exames de modo rápido e descomplicado (BERN *et al.*, 2000).

A reação de polimerase em cadeia (PCR) apresenta alta sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da LV. Um dos principais alvos da PCR é o DNA do cinetoplasto ou kDNA, uma região conservada entre as espécies de *Leishmania*. O uso da PCR para a detecção de DNA do parasito em sangue periférico de pacientes com LV é uma alternativa não-invasiva para o diagnóstico. A PCR para o diagnóstico de LV é particularmente útil para o diagnóstico de casos suspeitos com o diagnóstico parasitológico negativo (OSMAN *et al.*, 1997).

A sensibilidade desta técnica varia de 91% a 95%, com especificidade de 100% (SALOTRA *et al.*, 2001; DISCH *et al.*, 2003) quando a amostra utilizada é o sangue periférico. Sensibilidade de 97% e especificidade de 95% foram encontradas em pacientes com LV na Europa, utilizando soro previamente congelado como amostra (FISSORE *et al.*, 2004). Disch *et al.* (2004) demonstraram que a PCR pode ser útil no monitoramento pós-tratamento da LV, uma vez que houve clareamento de DNA durante e após a instituição do tratamento adequado.

1.1.5.2 DIAGNÓSTICO COMPLEMENTAR

O exame preliminar mais importante nos casos suspeitos é o hemograma, que mostra graus variáveis de citopenia (BADARÓ *et al.*, 1996a, ZIJLSTRA *et al.*, 1991a). Outros exames importantes para o diagnóstico diferencial e identificação de indicadores de gravidade são escórias urinárias, aminotransferases e bilirrubinas. Aumento de creatinina pode ser decorrente da própria enfermidade ou por hipoperfusão renal, como na desidratação e no choque (DUTRA *et al.*, 1985). Aumento de aminotransferases é freqüente, no entanto estas enzimas raramente superam cinco vezes o limite superior da normalidade. O aumento de bilirrubinas é indicativo de doença de maior tempo de evolução, portanto mais grave. Este aumento nem sempre se traduz clinicamente em icterícia. A hipoalbuminemia é freqüente e associada à gravidade e hipergamaglobulinemia quase sempre está presente, classicamente ocorrendo a inversão da relação albumina / gamaglobulina. O prolongamento do tempo de protrombina e a redução da sua atividade indicam a intensidade da injúria hepática e predizem a possibilidade de sangramentos, segundo a publicação “Leishmaniose Visceral Grave: Normas e Condutas” (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006b).

1.1.6 TRATAMENTO

O arsenal terapêutico disponível para o calazar consiste em antimoniais pentavalentes, como drogas de primeira linha e, como tratamento secundário, a anfotericina B, a pentamidina e a paromomicina. Os antimoniais pentavalentes são utilizados há mais de 60 anos, apresentam boa eficácia embora a ocorrência de efeitos adversos e a via parenteral dificulte seu uso. A anfotericina B é a droga leishmanicida mais eficaz, relacionada com os maiores níveis de cura, contudo seus efeitos adversos e a longa duração do tratamento, com necessidade de internação a mantém como tratamento de segunda escolha, reservado a casos graves (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006b).

As formulações lipídicas da anfotericina B são geralmente mais bem toleradas que os antimoniais e apresentam a mesma eficácia. Estes medicamentos têm substituído os antimoniais devido à menor incidência de reações adversas graves e possibilidade de cursos rápidos de tratamento (CROFT *et al.*, 2003; MURRAY, 2004; BERMAN, 2005). Encontra-se

disponível no mercado a anfotericina B em dispersão coloidal (Amphocil®), a anfotericina B em complexo lipídico (Abelcet®) e a anfotericina B lipossomal (Ambisome®), considerada o tratamento de escolha para a terapia da LV (SUNDAR *et al.*, 2001). O custo elevado destas preparações inviabilizam o uso rotineiro nos países em desenvolvimento (MURRAY, 2004).

Os antimoniais continuam como drogas de primeira linha em todas as regiões, exceto na província indiana de Bihar (onde estão 90% dos casos da Índia e 45% dos casos de todo o mundo) e no sul da Europa. Em Bihar, os antimoniais curam apenas 35% dos casos e o tratamento é realizado utilizando o deoxicolato de anfotericina B. Na Europa, apesar de não haver níveis alarmantes de resistência, a opção recai na anfotericina B lipossomal objetivando diminuir o tempo de internação e a frequência de eventos adversos (MURRAY *et al.*, 2005).

Os antimoniais são hidrossolúveis e podem ser ministrados pela via endovenosa ou intramuscular, não sendo absorvido pela via oral. No Brasil, o produto é distribuído em ampolas de 5 ml onde há 405 mg de antimônio pentavalente. A dose preconizada pelo Ministério da Saúde é 20 mg/kg/dia durante 20 a 40 dias, não excedendo o volume de 15 ml (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006b). Geralmente a droga é bem tolerada mas os efeitos adversos são proporcionais à dose diária e à dose acumulada. Efeitos adversos observados são pancreatite, inapetência, artralgia, mialgia, pirose, prurido, febre, tonteira, insônia, náusea, vômitos, aumento transitório de transaminases e exantema. A droga se deposita no tecido cardíaco, podendo causar alterações no ritmo cardíaco e eventualmente morte súbita. As alterações eletrocardiográficas mais observadas são achatamentos ou inversão de onda T, elevação do segmento ST e prolongamento do intervalo QT (CHULAY *et al.*, 1985; ARONSON *et al.*, 1998).

Miltefosine, o primeiro medicamento oral para a LV, representa uma esperança para o tratamento ambulatorial e auto-administrado. Trata-se de um alquilfosfolípideo com atividade *in vitro* e *in vivo* contra a *Leishmania* (RATH *et al.*, 2003; SUNDAR *et al.*, 2006a, 2006b). A eficácia do miltefosine foi verificada por diversos estudos (JHA *et al.*, 1999; SUNDAR *et al.*, 2000; 2002). Em um estudo conduzido na Índia, foi demonstrado que o miltefosine foi tão eficaz quanto a anfotericina B (SUNDAR *et al.*, 2002). Esta droga foi registrada na Índia (2002), Alemanha (2004) e Colômbia (2005) (MURRAY *et al.*, 2005). A dose preconizada para adultos é 100 mg por dia, via oral, por 28 dias. As reações adversas geralmente se restringem ao trato gastrointestinal, como vômitos e diarreia, variam de 20 a 62% e normalmente não acarretam em interrupção de terapia (SUNDAR *et al.*, 2000). Este medicamento é teratogênico e deve ser evitado nas gestantes. Apesar do sucesso deste novo

agente, análises preliminares de estudo de eficácia do miltefosine no Brasil mostraram resultados decepcionantes (GUIMARÃES DE CARVALHO, 2005).

1.1.7 CONTROLE

O controle da LV se baseia no tratamento dos indivíduos parasitados, na eliminação do reservatório canino e na desinsetização regular do domicílio e peridomicílio (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006a). Embora haja diminuição dos casos com estas medidas, nem sempre a interrupção da transmissão é possível. É necessário que o esforço seja continuado para que observemos os melhores resultados (LAINSON & RANGEL, 2005).

Uma esperança é uma vacina que possa ser ministrada aos cães, eliminando assim este reservatório. Há uma vacina no mercado brasileiro, baseada no antígeno Fucose Manose Ligante, um complexo glicoproteico extraído de isolados de *L. (L.) donovani*. Esta vacina foi registrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento em 2003, entretanto as evidências científicas até o momento disponíveis não fazem referência clara ao efeito da vacina na prevenção da infecção, nem sobre a infectividade do cão vacinado para o vetor (transmissão do parasito) (PALATNIK *et al.*, 2001; LAINSON & RANGEL, 2005; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

Outra estratégia consiste em coleiras de PVC impregnadas de deltametrina, que pode proteger o animal do inseto vetor por várias semanas (FOGLIA MANZILO *et al.*, 2006). A mesma idéia é banhar os cães em solução de deltametrina, medida experimentada na China e que se mostrou útil (LAINSON & RANGEL, 2005).

1.2 AIDS

1.2.1 ASPECTOS HISTÓRICOS

No final dos anos 70 e início dos anos 80 o Centro para o Controle de Doenças (CDC), órgão responsável pela vigilância epidemiológica nos Estados Unidos da América, verificou aumento no número de relatos de uma pneumonia até então rara e provocada por um fungo denominado *Pneumocystis carinii* (atualmente *Pneumocystis jiroveci*), associada a estados de imunodepressão grave (CENTERS FOR DISEASE CONTROL, 1981). Em 1982, observou-se aumento no número de casos de um tipo raro de sarcoma em haitianos vivendo nos Estados Unidos da América, denominado sarcoma de Kaposi e de ocorrência mais freqüente em pacientes gravemente imunossuprimidos (CENTERS FOR DISEASE CONTROL, 1982). Alguns haitianos apresentavam ainda candidíase oral e pneumocistose. Esta situação particular chamou a atenção do CDC para o surgimento de nova doença caracterizada por dano imunológico grave e restrita a grupos de comportamentos homogêneos, como os homens que fazem sexo com homens, usuários de drogas injetáveis e haitianos. Em 1982, o CDC reconheceu a epidemia, instituindo maior vigilância. Os casos pareciam dobrar a cada seis meses e pacientes com sintomas semelhantes foram identificados em várias regiões do mundo (FAUCI, 1996; GARRET, 1995; FAUCI, 2003).

Antes de se descobrir a etiologia, a hipótese de se tratar de uma doença transmissível ganhou força, haja vista a maior prevalência entre homossexuais do sexo masculino e usuários de drogas injetáveis, transpondo o modelo de transmissão da hepatite B, já bem conhecido à época (GARRET, 1995). A comprovação da infecção via recepção de hemoderivados corroborou a hipótese infecciosa de natureza viral e deflagrou investimentos no diagnóstico desta enfermidade, talvez por ela já não estar mais restrita a grupos marginalizados (FAUCI, 2003; GALLO & MONTAGNIER, 2003). Em 1982, o termo AIDS, sigla de Síndrome da Deficiência Imunológica Adquirida em inglês, é utilizado pelo CDC (CENTERS FOR DISEASE CONTROL, 1982; GARRET, 1995).

O vírus causador da AIDS foi isolado pela primeira vez em 1983, por Luc Montagnier e colaboradores, no Instituto Pasteur, na França, sendo denominado pelo grupo de pesquisadores franceses LAV - Lymphadenopathy Associated Virus – Vírus relacionado à linfadenopatia (BARRE-SINOUSSE *et al.*, 1983; MONTAGNIER, 2002).

Em 1984, a equipe de virologistas liderada por Robert C. Gallo identificou o mesmo vírus e o denominou HTLV III (*Human Tropical Leukemia Virus III*), classificando-o como um retrovírus da família do HTLV, descoberto pela mesma equipe anos antes (GALLO,

2002). Naquele mesmo ano, foram identificados anticorpos capazes de possibilitar a testagem sorológica do vírus causador e foi constatado que a maioria dos infectados ainda não havia desenvolvido a síndrome ou apresentavam graus variáveis de imunossupressão, desvendando assim a natureza crônica e progressiva da enfermidade recém descoberta (FAUCI, 2003). Em 1986, foi proposto o nome HIV (Human Immunodeficiency Vírus – Vírus da Imunodeficiência Humana) e no mesmo ano foi identificado o HIV – 2. Aparentemente, o HIV passou a infectar o homem entre 1940 e 1950, no continente africano. O caso mais antigo foi identificado através de análise de soro de 1959 (ZHU *et al.*, 1998).

A história natural da infecção pelo HIV foi determinada posteriormente em estudos de coorte envolvendo homens que fazem sexo com homens em estudos delineados para a hepatite B. A natureza crônica e progressiva do HIV foi identificada, assim como os diversos níveis de imunossupressão e suas expressões clínicas (BYERS *et al.*, 1988; LEMP *et al.*, 1990; VEUGELERS *et al.*, 1994).

Na década de 1980, testes clínicos envolvendo pacientes com AIDS concluíram que a zidovudina (AZT) conferia aumento discreto da sobrevida em pacientes infectados pelo HIV com doença manifesta em comparação com o placebo, efeito este não observado no longo prazo (FISCHL *et al.*, 1987). Ensaio subseqüentes concluíram que os pacientes que recebiam combinações de duas drogas tinham aumento do tempo de progressão para a AIDS e da sobrevida, quando comparados com pessoas que recebiam terapia de droga única (SARAVOLATZ *et al.*, 1996). Nos últimos anos, o advento dos inibidores da protease e a terapia combinada de três drogas produziram melhora espetacular nos pacientes infectados pelo HIV, com aumento de sobrevida, de qualidade de vida e recuperação do sistema imune (COLLIER *et al.*, 1996).

1.2.2 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

A UNAIDS, órgão da Organização das Nações Unidas que combate a AIDS em todo o globo, estima que havia 39,5 milhões [34,1–47,1 milhões] de pessoas vivendo com a infecção pelo HIV em todo o mundo ao final de 2006. Cerca de 4,3 milhões [3,6-6,6 milhões] de novas infecções ocorreram em 2006 e aproximadamente 2,9 [2,5 – 3,5 milhões] de pessoas perderam suas vidas em decorrência da AIDS naquele ano.

A taxa de incidência do HIV/AIDS em todo o mundo atingiu seu pico no final dos anos 90 e desde então estabilizou nos mesmos níveis, embora o registro de casos novos esteja aumentando em vários países. Algumas nações reduziram a incidência incentivando o aconselhamento de mudanças no padrão de comportamento e programas de prevenção ativos. A prevalência tende a aumentar pois a letalidade da AIDS caiu nos pacientes que têm acesso à terapia anti-retroviral. Na África Subsaariana, a região mais afetada pela epidemia, a taxa de incidência mostra sinais de estabilização em alguns países. No entanto, a epidemia na África apresenta muitas peculiaridades e continua a se expandir em países do Sul do continente. Por exemplo, cerca de 33% dos adultos de Suazilândia são infectados pelo HIV (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2006b; UNAIDS, 2006).

A mulher africana apresenta grande vulnerabilidade e em média se infectam mais que os homens (razão mulher / homem = 3/2). Entre os jovens (15-24 anos), as mulheres se infectam ainda mais (razão mulher / homem = 3/1) (UNAIDS, 2006).

Kênia e Zimbábue reduziram a prevalência de HIV/AIDS devido a mudanças no comportamento (uso de preservativos, redução de parceiros sexuais e abstinência sexual na adolescência). A prevalência de HIV/AIDS também tem declinado na Índia. Camboja e Tailândia também exibem queda na prevalência, contudo países como China, Indonésia, Papua Nova Guiné e Vietnã apresentam aumento da prevalência e há evidências de epidemia de AIDS em Bangladesh e Paquistão (UNAIDS, 2006).

A maioria das pessoas vivendo com HIV/AIDS na Ásia Central e Oriental se encontra em dois países: Ucrânia e Rússia (UNAIDS, 2006).

No Brasil, já foram notificados cerca de 433 mil casos de AIDS ao Ministério da Saúde. Este número representa as notificações feitas desde a identificação do primeiro caso de AIDS, em 1980, até junho de 2006. A taxa de incidência foi crescente até metade da década de 90, alcançando, em 1998, cerca de 19 casos por 100 mil habitantes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006c). Em 2005 esta taxa foi 18 casos / 100.000 habitantes, variando de 6,6 em Tocantins a 33,2 no Rio de Janeiro. Fato digno de nota é a relativa estabilidade da taxa de incidência nos últimos quatro anos, que aliada à queda da letalidade tende a aumentar a prevalência de pessoas vivendo com HIV/AIDS no Brasil.

Do total de casos notificados, mais de 80% concentram-se nas Regiões Sudeste e Sul. O Sudeste é a região mais atingida desde o início da epidemia e, apesar da alta taxa de incidência, mostra moderada estabilização desde 1998.

Em 2004 foi estimado que no Brasil cerca de 593 mil pessoas, entre 15 a 49 anos de idade, vivem com HIV/AIDS (prevalência - 0,61%). Deste número, cerca de 208 mil são

mulheres e 385 mil são homens (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006c).

O país acumulou cerca de 183 mil óbitos por AIDS até dezembro de 2005. Até 1995, a mortalidade acompanhava a incidência, quando atingiu a taxa de 9,7 óbitos por 100 mil habitantes. Após o acesso universal ao tratamento anti-retroviral, foi observado queda significativa da mortalidade. Além disso, entre 1993 e 2003, houve aumento de cerca de cinco anos na idade mediana dos óbitos por AIDS, em ambos os sexos, refletindo aumento na sobrevivência dos pacientes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006d).

Em Minas Gerais, de 1.980 até junho de 2.006 foram notificados 31.488 casos de AIDS, sendo 2.853 em 2005 e 1.066 de janeiro a junho de 2.006. A taxa de incidência em Minas Gerais em 2005 foi 14,8 casos / 100.000 habitantes, levemente inferior à taxa nacional (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006d).

Em relação aos casos notificados ao Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN) até julho de 2006, a categoria de exposição sexual entre os homens foi responsável por quase 60% dos casos (11% - bissexual, 20,3% - homossexual e 28,2% heterossexual) e 90% nas mulheres. A transmissão por uso de drogas injetáveis entre os homens totalizou 19,8% e nas mulheres, 9,4%. De maneira global, a prevalência de uso de drogas injetáveis em todos os casos foi 16,7% e a transmissão vertical e por recepção de hemoderivados foi aproximadamente 1%. Em 2005, cerca de 8% dos casos diagnosticados no Brasil foram devido ao uso de drogas injetáveis. Naquele mesmo ano, a exposição ao HIV por uso de drogas injetáveis foi responsável por 6,1% dos casos diagnosticados em Minas Gerais, enquanto que a categoria heterossexual compareceu com 73% dos casos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006d).

1.2.3 VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA

O HIV é um membro do gênero *Lentivirus* da família Retroviridae e compreende os tipos HIV-1 e HIV-2 (BARRE-SINOUSSE *et al.*, 1983; CLAVEL *et al.*, 1986). A estrutura química do vírus foi desvendada em 1985 (ALLAN *et al.*, 1985). Trata-se de um vírus muito simples, envelopado, cujo conteúdo genético são duas fitas simples e idênticas de RNA (ácido ribonucléico), encerrados no núcleo juntamente às enzimas transcriptase reversa, integrase e protease (NADLER, 2002). O HIV-1 é classificado em três grupos: M (*major*), O (*outlier*) e N (*new*, não M não O). O grupo M é o mais abundante e é distribuído em subtipos A, B, C, D,

E, F, G, K e O (WAINBERG, 2004). Infecções do grupo O são menos comuns, correspondendo a menos de 10% de todas as infecções pelo HIV-1 (REQUEJO, 2006).

No Brasil há o predomínio do subtipo B, assim como na Europa Ocidental, na Austrália, no Japão e nos Estados Unidos. O HIV-2 é menos freqüente, exceto na África Subsaariana (REQUEJO, 2006).

O HIV tem de 18 a 300 nm (nanômetros) de tamanho. O envelope é constituído de dupla camada de fosfolipídeos e é composto por 72 complexos de lipoproteínas. Apresenta ainda duas glicoproteínas críticas para a infecção, a GP 120, presente externamente e com 120 kD de peso específico e a GP 41, uma glicoproteína transportadora transmembrana de 41 kD. O genoma apresenta três genes principais, a saber: GAG (codifica proteínas estruturais), POL (codifica as polimerases, como a transcriptase reversa) e ENV (codifica proteínas do envelope) (NADLER, 2002).

1.2.4 IMUNOPATOGENIA

Uma vez em contato com uma célula susceptível, o HIV invade os linfócitos T, principalmente o linfócito T auxiliar CD4+ e os macrófagos (incluindo as células dendríticas). Existe alta afinidade da GP 120 pelo receptor CD4 e a GP-41 facilita a ligação, enquanto coreceptores (CCR-5 e CXR-4) da célula hospedeira promovem a fusão de membranas, liberando o *virion* para o interior do citoplasma (KALINKOVICH *et al.*, 1999; LEDERMAN *et al.*, 2006; REQUEJO, 2006). O RNA é transcrito para DNA (ácido desoxirribonucléico), em processo inverso à transcrição normal, através de uma polimerase, a transcriptase reversa. O DNA viral (provírus) é então transportado e integrado ao genoma do linfócito, através da enzima integrase. A partir daí, é iniciado o processo de replicação viral. Os polipeptídeos virais sintetizados pela tradução são clivados em peptídeos menores e funcionais, as proteínas virais, através do concurso da protease viral. Novas partículas virais são então montadas e por brotamento, promovem a lise da célula e adquirem o envelope. A destruição dos linfócitos T CD4+ é acompanhada de disfunção generalizada do sistema imune, sobretudo na resposta celular, verificado pela queda paulatina das contagens de linfócitos T CD4+ e diminuição da função dos linfócitos restantes, por ativação monoclonal e por mecanismos ainda não claramente elucidados (GEA-BANACLOCHE & LANE, 1999; GOTTLIEB *et al.*, 2002; DYBUL *et al.*, 2006).

1.2.5 ASPECTOS CLÍNICOS

A história natural da infecção pelo HIV está representada no gráfico 2. Classicamente se classifica em transmissão viral, síndrome retroviral aguda, período de latência clínica e infecção sintomática. Após a transmissão, há súbita diminuição da contagem de linfócitos T CD4 (quadrados pretos), altos níveis de viremia plasmática (círculos pretos) e altas concentrações de RNA do HIV no plasma (triângulos pretos). Há recuperação clínica e imunológica provavelmente devido à ação citotóxica dos linfócitos T CD8. A soroconversão ocorre em média após 10-14 dias após a infecção e virtualmente todas as pessoas infectadas soroconvertem até seis meses. O período de latência clínica (podendo haver linfadenopatia persistente generalizada) apresenta duração variada aproximadamente 7-8 anos (BYERS *et al.*, 1988; LEMP *et al.*, 1990; VEUGELERS *et al.*, 1994; GOUGEON *et al.*, 1999). Estima-se que 25% dos pacientes infectados pelo HIV não vão progredir para a AIDS após dez anos de infecção e 15% permanecerão livres da doença após 15 anos (RUTHERFORD, 1994). Na fase de latência clínica, há intensa replicação viral e *turnover* de linfócitos T CD4, com hiperativação imune (PANTALEO *et al.*, 1993). A velocidade da queda dos linfócitos é inversamente proporcional ao nível de carga viral ao término da fase aguda da infecção (*setpoint* viral). Geoffrey *et al.* (2002) demonstraram que a perda anual de linfócitos foi 4% para cada um logaritmo em base 10 de carga viral (RNA/mL), independente do tipo viral (HIV-1 ou HIV-2). A queda se acentua na fase terminal da doença. Antes do surgimento da AIDS, há período de sintomatologia decorrente de imunossupressão de grau moderado, classificadas como categoria “B” pelo CDC (1993), como angiomatose bacilar, candidíase oral / vulvovaginal persistente, displasia cervical, carcinoma cervical *in situ*, febre, diarreia prolongada, leucoplasia oral pilosa, herpes zóster, púrpura trombocitopênica idiopática, listeriose, doença inflamatória pélvica e neuropatia periférica. A AIDS propriamente dita caracteriza-se pelo desenvolvimento de infecções oportunistas, neoplasias específicas, síndromes consupativas e complicações neurológicas, descritas no anexo 1.

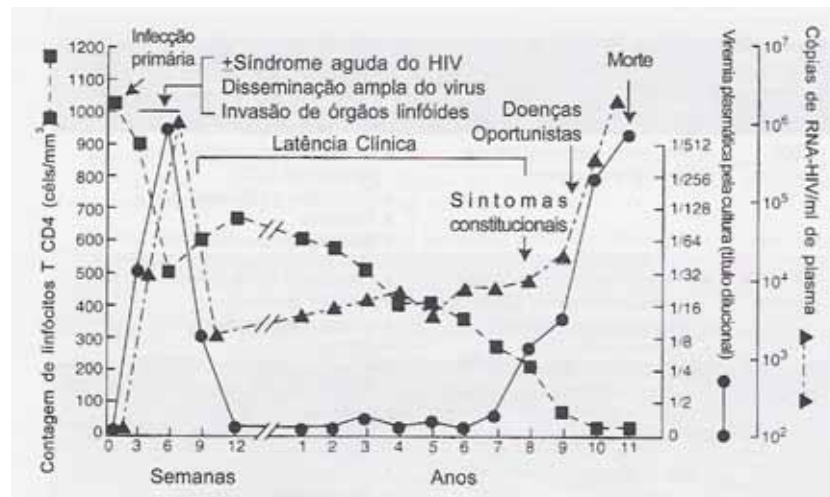


GRÁFICO 2 - História natural da infecção pelo HIV não tratada.

Fonte: BARTLETT & GALLANT, 2004.

A classificação de estágio evolutivo do HIV/AIDS mundialmente seguida, baseada em critérios clínicos e imunológicos e elaborada pelo CDC, nos Estados Unidos da América, definida em 1987 e revisada em 1993, está descrita no quadro 1 (CENTERS FOR DISEASE CONTROL, 1993).

QUADRO 1 – Classificação do CDC (1993) para a infecção pelo HIV, modificada em 1997.

CATEGORIAS CLÍNICAS			
Contagem de Linfócitos T CD4	A	B	C
	Assintomático e/ou linfadenopatia persistente generalizada e/ou Síndrome Retroviral Aguda	Sintomático (Não A Não C)	Condições definidoras de AIDS
≥ 500/ mm ³ (≥ 29%)	A1	B1	C1
200-499/ mm ³ (14 a 28%)	A2	B2	C2
<200/ mm ³ (< 14%)	A3	B3	C3

As áreas em cinza correspondem a AIDS.

O paciente infectado pelo HIV e não tratado desenvolve AIDS após aproximadamente 8 a 10 anos. Este período parece ser menor entre hemofílicos e em pessoas com mais de 35 anos (NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH, 2006).

1.2.6 DIAGNÓSTICO COMPLEMENTAR

A infecção pelo HIV é diagnosticada por detecção de anticorpos contra o vírus, antígenos virais, RNA/DNA viral ou cultura (GURTLER, 1996). O exame padrão é a sorologia para a detecção de anticorpos.

O teste sorológico convencional é um ensaio imunoenzimático (ELISA) de rastreamento seguido de um teste confirmatório (*Western Blot* ou imunofluorescência). Recomenda-se que o ELISA seja repetido antes do teste confirmatório. O Ministério da Saúde determinou que o exame anti-HIV deve ser realizado utilizando a técnica de ELISA. Caso seja positivo, deve ser submetido a novo ELISA utilizando antígenos diferentes do primeiro e em seguida a amostra deve ser submetida ao exame confirmatório. Amostras positivas devem ainda ser confirmadas com outra amostra do mesmo paciente, submetida novamente ao anti-HIV (ELISA), para afastar a principal causa de falso-positivo, a troca de amostras (Portaria nº 2458, de 29 de dezembro de 2003). O diagnóstico para fins de notificação é definido por dois exames de triagem reativos, devido à elevada acurácia destes (> 99%).

1.2.7 TRATAMENTO

Os conhecimentos atuais sobre a imunopatogênese da infecção e a existência de reservatórios virais anatômicos e celulares indicam que a erradicação do HIV ainda não é possível. Por outro lado, estima-se que 10 a 20% dos pacientes que iniciam o tratamento não conseguem suprimir a viremia de forma satisfatória após alguns meses de terapia (falha virológica primária) e cerca de 20 a 50% dos que apresentam boa resposta inicial apresentarão falha virológica após um ano de tratamento (falha virológica secundária), sendo a taxa de resposta virológica a tratamentos subsequentes progressivamente menor.

A terapia anti-retroviral não é uma emergência e não deve ser iniciada antes que as devidas avaliações clínicas e laboratoriais sejam realizadas para determinar o grau de imunodeficiência existente e o risco de progressão. O benefício da terapia anti-retroviral potente já foi claramente demonstrado em pacientes com doença sintomática avançada e naqueles que, apesar de assintomáticos, apresentam imunodeficiência acentuada (contagem de linfócitos T-CD4+ abaixo de $200/\text{mm}^3$). Para os assintomáticos e com contagem de linfócitos T-CD4+ acima de $350/\text{mm}^3$, os benefícios parecem ser insuficientes para contrabalançar os potenciais efeitos adversos da terapia anti-retroviral altamente eficaz (doravante HAART, sigla de terapia anti-retroviral altamente ativa, em inglês). O início da terapia é recomendado para pacientes com manifestações clínicas associadas ao HIV, independente da contagem de linfócitos T-CD4+ e da carga viral plasmática e para aqueles com contagem de linfócitos T-CD4+ abaixo de $200/\text{mm}^3$, independentemente da presença de sintomas ou da magnitude da carga viral. Além de terapia anti-retroviral, quimioprofilaxia para infecções oportunistas, como pneumocistose e toxoplasmose, deve ser indicada sempre que a contagem de linfócitos T-CD4+ estiver próxima ou inferior a $200/\text{mm}^3$ ou quando houver condição clínica sugestiva de imunodeficiência associada ao HIV (AUTRAN *et al.*, 1997; NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH, 2006; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006e).

No Brasil, o percentual de internações em decorrência da AIDS não se modificou no tempo, mas ocorreu diminuição de hospitalizações entre os usuários de terapia anti-retroviral. Houve um incremento de 2,7 vezes no número de indivíduos em uso da terapia, de 1997 a 2003. Incidência e mortalidade apresentaram crescimentos uniformes até 1995, em todas as regiões. A partir de 1996, verificou-se uma redução progressiva da mortalidade, embora a incidência da infecção continue crescendo. Em todas as regiões, exceto a Norte, as incidências esperadas foram maiores do que as observadas nos últimos anos, embora as diferenças somente tenham atingido níveis de significância estatística nas regiões Sudeste e Centro-Oeste (DOURADO *et al.*, 2006).

Atualmente existem quatro classes principais de medicamentos anti-retrovirais. Os inibidores da transcriptase reversa análogos dos nucleosídeos (ITRN), os inibidores da transcriptase reversa não análogos dos nucleosídeos (ITRNN), os inibidores da protease (IP) que podem ser reforçados (IP/r) ou não com o ritonavir e um inibidor de entrada (enfuvirtida) (HANNA & HIRSCH, 2005; NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH, 2006; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006e).

Todas as diretrizes atuais recomendam a associação de três ou quatro drogas (quando há reforço com ritonavir) para pacientes virgens de tratamento (HANNA & HIRSCH, 2005).

O Ministério da Saúde do Brasil indica o esquema com 2 ITRN + ITRNN como preferencial e 2 ITRN + IP/r ou IP como esquemas alternativos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006e).

1.3 CO-INFECÇÃO Leishmania/HIV

1.3.1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da pandemia de HIV/AIDS nos último 25 anos modificou o espectro das leishmanioses nos campos clínico e epidemiológico. Desde meados dos anos 80, quando o primeiro caso de co-infecção *Leishmania*/HIV foi publicado (DE LA ROMA, 1985), a incidência da co-infecção tem sido crescente e atualmente é detectada em 35 países (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2000; 2006c).

Em um cenário sombrio, a disseminação da infecção pelo HIV está ampliando as áreas de ocorrência da LV e modificando a epidemiologia da doença. As duas enfermidades co-existem e se agravam (DESJEUX & ALVAR, 2003).

Até o momento, a maioria dos casos da co-infecção *Leishmania*/HIV relatados são procedentes dos países mediterrâneos. De mais de 2.000 casos notificados à Organização Mundial da Saúde até o ano 2.000, 90% deles procedem de apenas quatro países: Espanha, Itália, França e Portugal (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2000). Do início da epidemia de AIDS até a era da HAART, entre 25 e 70% de todos os casos de LV nestes países foram associados à infecção pelo HIV. Foi previsto que mais que 9% dos pacientes com AIDS apresentariam LV, como infecção nova ou como reativação de infecção latente (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2000). Os dados epidemiológicos do sul da Europa indicam que a infecção pelo HIV é um fator de risco associado à LV. Um estudo realizado por Kubar *et al* (1998) demonstrou que em regiões endêmicas de leishmaniose, aproximadamente 10% dos indivíduos portadores do HIV que apresentaram infecção assintomática por *Leishmania* podem vir a desenvolver a doença clássica. De fato, em série de casos estudada por Alvar *et al* (1992) o percentual de soroprevalência encontrado foi 17%. Dois terços dos casos de LV registrados em Madri se tratavam de co-infecção.

A maioria dos casos de co-infecção registrados na América do Sul ocorreu no Brasil, onde a incidência de AIDS aumentou de 0,8 casos por 100.000 habitantes em 1986 para 20,7 em 2003 (RABELLO *et al.*, 2003; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2006c). Na África, o número de casos registrados tem aumentado, influenciados pelas guerras e migrações em massa. Em Adis Abeba (Etiópia), 35% de todos os casos de LV foram associados à infecção pelo HIV, enquanto que no Sudão este percentual foi 8%. Na Ásia, casos de co-infecção têm sido registrados na Índia, Bangladesh e Nepal, países em que este fenômeno foi agravado pela emergência da resistência aos antimoniais (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2000).

Não obstante, o impacto real da co-infecção é subestimado em escala mundial devido às deficiências nos sistemas de vigilância. O fato de a LV não ser incluída como uma condição definidora de AIDS agrava esta situação. Para amenizar este problema, em 1998 a OMS, em parceria com a UNAIDS, criou uma rede de vigilância para determinar a dimensão deste agravo em todo o mundo.

Baseado em informações de estudos de países mediterrâneos, considera-se que a prevalência da LV entre pacientes com AIDS é 100 a 2.320 vezes maior do que na população geral (CRUZ *et al.*, 2006; DESJEUX & ALVAR, 2003).

Na Espanha, a epidemiologia da LV mudou com o advento da AIDS. Até 1985 a maioria dos casos ocorria em crianças imunocompetentes, enquanto em 2005 80% dos casos são vistos em adultos imunocomprometidos, a grande maioria infectada pelo HIV (ALVAR *et al.*, 1997, DESJEUX & ALVAR, 2005). A LV é a 3ª doença parasitária oportunista mais prevalente na Europa em pessoas vivendo com HIV/AIDS, só menos freqüente que a toxoplasmose e a criptosporidiose (DESJEUX & ALVAR, 2003).

Na maioria dos casos de co-infecção, foi incriminado o HIV-1, embora haja relato de co-infecção com o HIV-2 (CRUZ *et al.*, 2006). Nestes pacientes, as principais espécies de leishmânias incriminadas são *L. infantum*, *L. chagasi* e *L. donovani*. Outras espécies como a *L. braziliensis*, *L. aethiopica*, *L. tropica* e *L. major* também estão associadas a casos de co-infecção, dependendo da região do globo.

Grande número de zimodemas diferentes foram identificados nos pacientes co-infectados, alguns deles não identificados em cães e em pacientes imunocompetentes, sendo que zimodemas de espécies dermatotróficas foram identificadas em casos de LV nos casos de co-infecção (PRATLONG *et al.*, 2002).

1.3.2 CO-INFECÇÃO NA ERA HAART

Sabe-se que o surgimento da HAART modificou a história natural da infecção pelo HIV e o surgimento de infecções oportunistas como a LV. Ademais, esta terapia permite uma recuperação considerável da imunidade, o que tornou desnecessárias quimioprofilaxias (PALELLA *et al.*, 2006). Um estudo francês demonstrou que a incidência de LV em portadores do HIV caiu de 12 em cada 10.000 indivíduos por ano antes de 1996 para sete em cada 10.000 após 1996, ano que a HAART foi introduzida naquele país (DEL GIUDICE *et*

al., 2002). Em Madri, a incidência anual da co-infecção caiu de 0,48 para 0,26 casos para cada 100 pacientes. Dados similares foram observados na Itália (LÓPEZ-VÉLEZ, 2003). A queda da incidência coincidiu com a oferta dos anti-retrovirais pelos sistemas de saúde pública (CRUZ *et al.*, 2006).

Os pacientes co-infectados que recebem HAART apresentam maior sobrevida que os pacientes que não a recebem (CRUZ *et al.*, 2006). Uma vez restaurada a resposta imune, o paciente é menos susceptível aos efeitos da primoinfecção (ORSINI, 2003; LÓPEZ-VELEZ, 2003). Infelizmente, a HAART não demonstrou ser muito eficaz para evitar as recidivas (CRUZ *et al.*, 2006; MIRA *et al.*, 2004). Estima-se que de 38-70% dos pacientes co-infectados que recebem HAART recidivam até 24 meses após a terapia anti-leishmania (MIRA *et al.*, 2004). Recidivas podem ocorrer mesmo nos pacientes com aumento de linfócitos T CD4 e carga viral indetectável, embora a recidiva ocorra em média sete meses mais tardiamente nos pacientes co-infectados em terapia anti-retroviral (LÓPEZ-VÉLEZ *et al.*, 2001; LÓPEZ-VÉLEZ, 2003) e seja menos comum no paciente com recuperação imune significativa (MIRA *et al.*, 2004). Fernández Cotarelo *et al.* (2003) em estudo prospectivo não demonstraram qualquer efeito protetor proporcionado pela HAART após o episódio de LV. Entre 66 pacientes (35 receberam HAART), as recidivas foram igualmente frequentes.

1.3.3 USO DE DROGAS INJETÁVEIS COMO FATOR DE RISCO

Embora a distribuição geográfica da leishmaniose esteja restrita a áreas onde há vetores eficientes, a infecção pelo HIV modificou o padrão tradicional de transmissão. A resposta pobre à terapia, o grande número de recidivas e a alta parasitemia na co-infecção fazem com que haja um aumento de reservatórios do parasito em áreas de transmissão antroponótica (CRUZ *et al.*, 2006).

Nos países mediterrâneos, mais de 70% dos casos de LV em adultos está associada à infecção pelo HIV. Fato digno de nota é que 50 a 90% destes pacientes são usuários de drogas injetáveis. Alvar *et al.* (1997) aventaram a possibilidade de um ciclo antroponótico artificial através do compartilhamento de agulhas e seringas, o que definiria uma nova via de transmissão da *Leishmania*. De fato, houve amplificação de DNA de *Leishmania* spp em 32-52% de seringas descartadas em programas de redução de danos para usuários de drogas injetáveis na Espanha (CRUZ *et al.*, 2002). Piñeda *et al.* (2002) encontraram prevalência de

detecção de DNA de *Leishmania* spp por PCR igual a 7,5% em amostras de sangue de pacientes HIV-positivos usuários de drogas injetáveis, fato também observado por Chicarro e colaboradores (2003). Na Sicília (Itália), nove zimodemas diferentes foram encontrados em 30 pacientes HIV-positivos (GRAMICCIA, 2003).

Estudos entomológicos mostram que a transmissão vetorial é possível com 0,3-0,5 µL, conteúdo suficiente para preencher uma agulha, fato que corrobora a hipótese de transmissão via seringas e agulhas compartilhadas (CRUZ *et al.*, 2006). Desjeux & Alvar (2003) observaram que as faixas etárias da co-infecção e dos usuários de drogas injetáveis são coincidentes.

Na França e em Portugal, a proporção de usuários de drogas injetáveis na co-infecção supera em mais de 50% a população geral infectada pelo HIV (DESJEUX & ALVAR, 2003), sendo considerado fator de risco independente para a co-infecção (DEL GIUDICE *et al.*, 2002).

No Brasil, as categorias de exposição ao HIV não parecem diferir entre co-infectados e soropositivos (RABELLO *et al.*, 2003). Há de se notar que nos demais países em desenvolvimento a co-infecção também não está associada ao uso de drogas injetáveis (CRUZ *et al.*, 2006).

No sudoeste europeu, 65 a 83% dos pacientes co-infectados são homens, fato que reflete a população usuária de drogas injetáveis (CRUZ *et al.*, 2006; DESJEUX & ALVAR, 2003).

1.3.4 CO-INFECÇÃO É MAIS FREQUENTE NOS PACIENTES COM IMUNODEPRESSÃO GRAVE

Entre os pacientes co-infectados, 33 a 78% já apresentavam critérios para AIDS previamente. A LV também pode ser a primeira infecção nos pacientes HIV-positivos em 13-47% dos pacientes (MEDRANO *et al.*, 1992; PINTADO *et al.*, 2001; DE LA ROSA *et al.*, 2002; RUSSO *et al.*, 2003a).

A contagem de linfócitos T CD4 é igual ou menor que 200 céls/mm³ em 62-92% dos co-infectados e menor ou igual a 50 em 42% deles (DESJEUX & ALVAR, 2003; CRUZ *et al.*, 2006).

Há um estudo que sugere pior resposta terapêutica em pacientes co-infectados com

carga viral elevada antes do tratamento (BEHRE *et al.*, 1999).

Considerando que a resposta celular é fator crucial para o desenvolvimento da LV, duas possibilidades (não excludentes) são aventadas para o surgimento da co-infecção: reativação de infecção latente ou progressão rápida para a doença em casos de primo-infecção (KUBAR *et al.*, 1998). Molina *et al.* (2003), através de projeções matemáticas baseadas na incidência de AIDS e LV, sugeriram que na Sicília os casos de co-infecção provavelmente se devem a infecções novas e não reativação. A reativação foi demonstrada em pacientes portadores de infecção pelo HIV e com anticorpos anti-leishmania detectados por técnica de Western Blot, que após queda da linfometria CD4 exibiram quadro clínico de LV (KUBAR *et al.*, 1998). É interessante notar que neste mesmo estudo alguns pacientes não desenvolveram LV mesmo com grave imunossupressão, sugerindo que há outros fatores associados à reativação.

1.3.5 PATOGÊNESE DA CO-INFECCÃO *Leishmania*/HIV

A *Leishmania* infecta e se multiplica no interior de macrófagos, células também atingidas pelo HIV (TREMBLAY *et al.*, 1996; OLIVIER *et al.*, 2003). A presença de dois microorganismos na mesma célula tem implicações na expressão e disseminação de ambas. Estas infecções modificam a resposta celular de predomínio Th0 ou Th1 para Th2. Sabe-se que há redução da produção do interferon gama (IFN- γ), o que reduz a capacidade macrofágica de combater as leishmânias (WOLDAY *et al.*, 1994), impedindo a eliminação de amastigotas por ação tóxica do óxido nítrico. A depleção de linfócitos T CD4 diminui o número de linfócitos capazes de reconhecer a *Leishmania* e de estimular os linfócitos B / plasmócitos, provável razão do grande número de pacientes com exames sorológicos falso-negativos. A inversão da relação CD4/CD8 possivelmente contribui para a instalação da doença (DA CRUZ *et al.*, 1992).

Segundo Olivier *et al.* (2003), a maioria dos pacientes com doença branda ou autolimitada produz grandes quantidades de interleucina – 2 (IL-2) e IFN- γ , mesmo com a doença em atividade. Por outro lado, a susceptibilidade e a exacerbação da doença estão associadas a respostas celulares tipo Th2, com produção aumentada das interleucinas 4, 5 e 10, além do fator de necrose tumoral α (TNF- α) (WOLDAY *et al.*, 1994; TREMBLAY *et al.*, 1996).

A infecção pela *Leishmania* aumenta a replicação do HIV *in vivo* e *in vitro* em indivíduos co-infectados (CACOPARDO *et al.*, 1996; WOLDAY *et al.*, 1999), principalmente devido à ativação crônica do sistema imune provocada pela AIDS. A hiperativação imune aumenta a expressão de co-receptores virais (CCR5 e CXR4), diminui a produção de citocinas, favorecendo a entrada (fusão), integração, formação e liberação de partículas virais (HAILU *et al.*, 2004). Ocorre ainda aumento do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e das interleucinas 2, 4, 6 e 10, afetando o ciclo celular (WOLDAY *et al.*, 1994) e modificando a resposta Th1 para Th2 de modo irreversível (CACOPARDO *et al.*, 1996). Quando comparados com pacientes infectados somente pelo HIV, os pacientes co-infectados exibem níveis maiores de interleucinas 4 e 10 e receptor de interleucina 2 (IL-2R) e menor produção de IFN- γ pós-estímulo (WOLDAY *et al.*, 1999, 2000).

O lipofosfoglicano (LPG) da *L. infantum*, um glicoconjugado presente maciçamente na superfície do parasito, pode induzir à expressão do HIV em células mononucleares de sangue periférico de pacientes assintomáticos, provavelmente devido a produção de TNF- α (BERNIER *et al.*, 1995; WOLDAY *et al.*, 1999; DESJEUX & ALVAR, 2003; OLIVIER *et al.*, 2003).

A LV está associada ao surgimento de condições definidoras de AIDS e à sua progressão clínica e reduz a expectativa de vida do portador do HIV (LÓPEZ-VÉLEZ *et al.*, 1998).

1.3.6 ASPECTOS CLÍNICOS E EVOLUTIVOS

A maioria dos relatos de co-infecção determina quadros clínicos semelhantes aos classicamente descritos em indivíduos imunocompetentes, embora haja maior proporção de casos com sítios atípicos de infecção, maior número de recidivas e resposta pobre ao tratamento, seja qual for a droga utilizada, além de menor produção de anticorpos anti-*Leishmania* (PASQUAU *et al.*, 2005).

Sabe-se que a tríade clássica da leishmaniose visceral – febre, pancitopenia, e hepato/esplenomegalia – está presente em mais de 75% dos casos de co-infecção. As manifestações clínicas mais comumente encontradas são febre (80-95%), sintomas constitucionais (70-90%), esplenomegalia sem hepatomegalia (54-90%), hepatoesplenomegalia (68-73%), linfadenomegalias (12-57%), anemia (49-100%), leucopenia

(56-95%) e plaquetopenia (52-93%) (PASQUAU *et al.*, 2005; ROSENTHAL *et al.*, 1995; RUSSO *et al.*, 2003).

O período de incubação é variável e pode ser associado à idade dos pacientes (CRUZ *et al.*, 2006).

Um aspecto muito importante da co-infecção *Leishmania*/HIV é a recidiva após o tratamento, que ocorre em mais de 27 % dos pacientes após seis meses e em mais de 60 % nos 12 meses seguintes ao tratamento (ALVAR *et al.*, 1997).

A letalidade da LV em co-infectados é muito maior do que a observada nos pacientes imunocompetentes. Antes da era HAART, cerca de 27% dos pacientes co-infectados morriam até um mês após o diagnóstico da LV e cerca de 60% após um ano (LAGUNA *et al.*, 1997).

A maioria dos co-infectados apresentam febre, hepato/esplenomegalia, hipergamaglobulinemia e pancitopenia (MEDRANO *et al.*, 1992; PINTADO *et al.*, 2000; RUSSO *et al.*; DE LA ROSA *et al.*, 2003). A esplenomegalia parece ser menos freqüente nos pacientes infectados pelo HIV (PINTADO *et al.*, 2000). A maioria dos pacientes co-infectados apresenta algum tipo de citopenia. A anemia, a leucopenia, a linfopenia e a plaquetopenia parecem ser mais freqüentes e graves nestes pacientes (PINTADO *et al.*, 2000). A hiperglobulinemia é comum a ambas as infecções, assim como sintomas constitucionais. A linfadenomegalia afeta 16-60 % dos pacientes. A LV foi identificada em 7-17% dos pacientes HIV-positivos com febre de origem indeterminada (KUBAR *et al.*, 1998).

Manifestações atípicas são verificadas com maior freqüência na co-infecção *Leishmania*/HIV. A LV pode se manifestar através de úlceras no trato gastrointestinal, enantemas, gastroduodenites erosivas e lesões petequiais no cólon (LAGUNA *et al.*, 1994; MONDAIN-MITON *et al.*, 1995). Estudos anátomo-patológicos encontraram amastigotas em 75 % dos pulmões examinados, em casos de co-infecção (DUARTE *et al.*, 1989). O significado clínico desta informação ainda é incerto, mas classicamente a LV se manifesta por tosse seca ou oligoprodutiva em indivíduos imunocompetentes (BADARÓ & DUARTE, 2002).

Glomerulopatia com insuficiência renal também tem sido descrita. Proteinúria, hematúria e piúria foram descritas em 60 % dos pacientes HIV-negativos (DUTRA *et al.*, 1985), contudo a prevalência destas manifestações é desconhecida na co-infecção. Um caso de insuficiência renal foi descrito como manifestação clínica inicial em um paciente co-infectado (CLEVENBERGH *et al.*, 2002).

Na co-infecção, amastigotas já foram isolados de sítios atípicos como pleura, pericárdio, miocárdio, pâncreas, adrenal, peritônio, sinóvia, cérebro e língua. Esta situação é

mais comum nos pacientes com contagem de linfócitos T CD4 menor que 50 céls/mm³ (RUSSO *et al.*, 2003; CRUZ *et al.*, 2006).

Um aspecto muito importante da co-infecção *Leishmania*/HIV é a recidiva após o tratamento, que ocorre em mais de 27 % dos pacientes após seis meses e em mais de 60 % nos 12 meses seguintes ao tratamento (ALVAR *et al.*, 1997).

1.3.7 DIAGNÓSTICO NA CO-INFECÇÃO *Leishmania*/HIV

O exame microscópico direto do aspirado de medula óssea apresenta sensibilidade de 67 a 94% (MONTÁLBAN *et al.*, 1990; MOLINA *et al.*, 1994; MOLINA *et al.*, 1999; PINTADO *et al.*, 2001; RABELLO *et al.*, 2003; SINGH, 2006).

Amastigotas podem ser encontrados em sangue periférico de aproximadamente 50% dos pacientes (MEDRANO *et al.*, 1993). Montálban *et al.* (1990) encontraram sensibilidade de 87,7% do exame direto de fragmento hepático.

Em pacientes co-infectados, o cultivo de células mononucleares de sangue periférico apresenta sensibilidade de 67% (LÓPEZ-VÉLEZ *et al.*, 1995). O cultivo de aspirado esplênico apresenta sensibilidade de 63 a 100% (LÓPEZ-VÉLEZ *et al.*, 1998; PINTADO *et al.*, 2000), sensibilidade comparável a mielocultura em meio axênico.

A elevada parasitemia observada nos pacientes co-infectados favorece o diagnóstico parasitológico.

1.3.8 MÉTODOS SOROLÓGICOS: BAIXA SENSIBILIDADE NA CO-INFECÇÃO

Na co-infecção *Leishmania*/HIV, os exames sorológicos que avaliam presença de anticorpos tendem a ser menos sensíveis devido à resposta humoral débil. Mary *et al.* (1992) estimou que o nível de anticorpos anti-*Leishmania* nos pacientes co-infectados é 50 vezes menor do que nos imunocompetentes. Outros estudos mostram que a sorologia é positiva em somente metade dos casos (ROSENTHAL *et al.*, 1995), sugerindo que a sensibilidade é diretamente proporcional ao número de linfócitos T CD4. De 1.402 casos de co-infecção na Europa, 39,1% não apresentaram anticorpos anti-*Leishmania* (DESJEUX & ALVAR, 2003).

Neste estudo, a sensibilidade não variou entre os métodos utilizados (ELISA e RIFI).

Pacientes que desenvolveram LV após a AIDS apresentam dificuldade adicional em organizar a resposta imune humoral. Nestes casos, a proliferação de linfócitos B é provavelmente oligoclonal devido ao baixo número de linfócitos T CD4 capazes de reconhecer os antígenos da *Leishmania* e ativar células B (OLIVIER *et al.*, 2003).

A tabela 1 mostra as diferentes sensibilidades dos métodos sorológicos mais comumente utilizados para o diagnóstico da LV em casos de co-infecção *Leishmania*/HIV. À exceção do DAT, a positividade não superou 82% em vários estudos. Nota-se que a RIFI, método mais empregado em nosso meio, apresenta positividade inferior a 50% na maioria dos estudos.

TABELA 1 – Sensibilidades de técnicas sorológicas de diagnóstico da LV em pacientes com a co-infecção *Leishmania*/HIV.

Autor /ano	RIFI	ELISA (antígeno solúvel)	ELISA rk-39	DAT	Tamanho Amostral
Medrano <i>et al.</i> , 1992	31%*	-	-	-	47
Houghton <i>et al.</i> , 1998	-	-	82%	-	56
Medrano <i>et al.</i> , 1998	22%	-	22%	-	11 (RIFI) 22 (rK-39)
Pintado <i>et al.</i> , 2000	50%	-	-	-	80
OMS, 2000	58,1%	60,4	-	-	202(ELISA) 925 (RIFI)
Hailu & Berhe, 2002	-	-	-	95,7%	51
Deniau <i>et al.</i> , 2003	67%	76-89%	62%	-	55
Fernández-Guerrero <i>et al.</i> , 2004	64%	-	-	-	12
Pasquau <i>et al.</i> , 2005	49%*	-	-	-	228
Malik <i>et al.</i> , 2006	11%	-	-	0	9 (RIFI) 9 (DAT)
Sinha <i>et al.</i> , 2006	-	-	-	80%	8
Viana, 2006	-	-	100%	-	18

RIFI - Reação de imunofluorescência indireta; DAT- teste de aglutinação direta.
* RIFI reativo se títulos \geq 1:40.

Estudando o soro de 11 pacientes co-infectados e 37 pacientes HIV-negativos, Mary *et al.* (1992) encontraram maior sensibilidade para a detecção de anticorpos contra antígenos de 14 e 16 kilodaltons (kDa). Nos pacientes HIV negativos, antígenos com 14 e 16 kDa foram detectados em 92 e 95% dos pacientes, respectivamente. No paciente co-infectado, a detecção de antígenos de 16 kDa mostrou sensibilidade equivalente a dos pacientes HIV negativos, embora o antígeno de 14 kDa tenha sido negativo em todos os pacientes imunossuprimidos. A técnica de *imunoblot* apresentou sensibilidade de 75% a 85% (MEDRANO *et al.*, 1998; MORENO *et al.*, 2000; DENIAU *et al.*, 2003).

1.3.9 DIAGNÓSTICO MOLECULAR NA CO-INFECÇÃO

A amplificação do DNA da *Leishmania* pela técnica de reação da cadeia da polimerase (PCR) mostrou sensibilidade de 82 a 100% em aspirado medular (PIARROUX *et al.*, 1994, 1995; LACHAUD *et al.*, 2000). Em estudo retrospectivo, Fissore *et al.* (2004) demonstrou sensibilidade de 97% e especificidade de 95% através da técnica de PCR utilizando soro como amostra. Em estudo conduzido por Pizzuto *et al.* (2001), a PCR foi boa preditora de recidiva nos pacientes co-infectados.

A técnica de PCR quantitativa em tempo real permite inferir a carga parasitária através da amplificação do DNA alvo. Traz como vantagens em relação à técnica de PCR convencional resultados mais rápidos e capacidade de monitorar a carga parasitária. Bossolasco *et al.* (2003) associaram a carga parasitária pós tratamento às recidivas da LV, nos pacientes infectados pelo HIV, sugerindo o uso da PCR em tempo real como método no acompanhamento.

1.3.10 TRATAMENTO: MENOR EFICÁCIA E MAIOR INCIDÊNCIA DE REAÇÕES ADVERSAS

O tratamento da LV quando associada à infecção pelo HIV permanece um desafio, seja pela baixa resposta terapêutica observada, traduzida pela elevada letalidade da co-infecção e complicada pelo diagnóstico tardio (LÓPEZ-VÉLEZ *et al.*, 1998), seja pela

elevada incidência de reações adversas graves (DELGADO *et al.*, 1999; PINTADO *et al.*, 2001) ou pela dificuldade em se evitar as recidivas independente das drogas e doses utilizadas (LAGUNA *et al.*, 2003).

Sabe-se que os antimoniais pentavalentes são mais tóxicos nos pacientes co-infectados do que nos HIV-negativos (DELGADO *et al.*, 1999, SANTOS *et al.*, 2000). De 11 a 28% dos pacientes co-infectados interrompem o tratamento devido a reações adversas (DELGADO *et al.*, 1999).

Berhe *et al.* (1999) associaram carga viral elevada à resposta pobre a terapia anti-*Leishmania*, no entanto não utilizaram a contagem de linfócitos T CD4, que provavelmente é a variável determinante, inversamente proporcional à carga viral.

Mais da metade dos pacientes co-infectados tratados com desoxicolato de anfotericina B experimentam reações adversas, mormente tremores, febre, mialgia, artralgia, náuseas, anorexia e disfunção renal (LAGUNA *et al.*, 2003).

Dois estudos prospectivos e não comparativos avaliaram a segurança e a eficácia da anfotericina B lipossomal em pacientes co-infectados. No primeiro, sete pacientes foram tratados com dose diária de 1 mg/kg por 21 dias. Recidivaram cinco pacientes que inicialmente exibiram cura parasitológica (DAVIDSON *et al.*, 1994). No segundo estudo, com o objetivo de reduzir as recidivas, Russo *et al.* (1996) utilizaram doses elevadas e intermitentes (4 mg/kg/dia do 1º ao 5º dia, repetindo a dose no 10º, 17º, 24º, 31º e 38º dia de tratamento). Este regime também não foi capaz de evitar recidivas.

Laguna *et al.* (2003) encontraram eficácia semelhante entre o antimoniato de n-metilglucamina e a anfotericina B em complexo lipídico, embora o tratamento com antimoniais tenha mostrado mais reações adversas.

O uso da miltefosina para o tratamento de um paciente com LV e AIDS foi inicialmente descrito em 2000 por Thakur *et al.*, com cura parasitológica. Sindermann *et al.* (2004) obtiveram cura parasitológica em 43% dos pacientes co-infectados tratados. A experiência desta droga na co-infecção ainda é limitada.

Em pacientes infectados pelo HIV, as recidivas são freqüentes mesmo quando o paciente é submetido ao tratamento correto e independe da droga utilizada. Pacientes em uso de anti-retrovirais também apresentam alto risco de recidivar (CRUZ *et al.*, 2006), embora a HAART tenha mostrado proteção quanto ao risco de adoecer na primo-infecção (LÓPEZ-VÉLEZ, 2003). Associada às recidivas está a imunossupressão, aferida pela contagem de linfócitos T CD4, fato que subsidia recomendação de quimioprofilaxia secundária utilizando anfotericina B ou antimoniato de n-metilglucamina, em uma a duas doses mensais. Alguns

autores a recomendam até a linfometria CD4 superar 350 células/mm³ (BERENGUER *et al.*, 2000; CENTERS FOR DISEASE CONTROL, 2004) enquanto outros não a recomendam pela falta de estudos conclusivos e pela possibilidade de indução de resistência (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

Drogas como o alopurinol, itraconazol e a pentamidina já foram utilizadas como quimioprofiláticos (LAGUNA, 2003). As drogas mais utilizadas são a anfotericina B e o antimoniato. Estudos retrospectivos demonstraram alguma proteção às recidivas utilizando mensalmente algumas destas duas drogas (RIBERA *et al.*, 1996; PINTADO *et al.*, 2000). O único estudo prospectivo, multicêntrico e randomizado sobre o assunto demonstrou redução de recidivas (Risco Relativo - 3,5) ao utilizar anfotericina B em complexo lipídico (3 mg/kg a cada 21 dias), comparada a nenhum quimioprofilático (LÓPEZ-VÉLEZ *et al.*, 2004). O estudo tem como limitação a pequena casuística, reduzindo sua validade externa. Pasquau *et al* (2005) demonstraram que a profilaxia secundária e o tratamento adequado são fatores de proteção contra a recidiva da LV, enquanto que o sexo feminino se comporta como preditor de recidiva.

Ainda não há consenso sobre o tema pela falta de um estudo controlado. A maioria dos autores sugere a profilaxia e as autoridades brasileiras não a indicam, no entanto não a proíbem, o que suscita dúvidas na decisão (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005). Em 2004, o CDC, através de uma publicação sobre tratamento de infecções oportunistas, recomenda que a quimioprofilaxia secundária seja realizada principalmente se a contagem de linfócitos T CD4 for menor que 200 céls/mm³. A suspensão poderia ser tentada se a contagem de linfócitos T CD4 superar 350 céls/mm³ mas ainda não há evidência que suporte esta recomendação.

A co-infecção *Leishmania*/HIV já foi reportada em nosso meio e descrita por diversos pesquisadores, no entanto um estudo nacional homogêneo de pacientes portadores de LV associada à infecção pelo HIV ainda não foi realizado. É necessário determinar os aspectos clínicos e diagnósticos da co-infecção *Leishmania*/HIV referente à forma visceral para contribuir para a identificação precoce desta entidade e evitar a simples transposição de aspectos demográficos, clínicos e diagnósticos de estudos europeus para a realidade brasileira.

O conhecimento da utilidade de métodos diagnósticos complementares, mormente exames sorológicos e parasitológicos, é de fundamental relevância na abordagem do paciente suspeito de co-infecção. A otimização dos recursos diagnósticos e o tratamento precoce da co-infecção são conseqüências do conhecimento das particularidades dos métodos diagnósticos nesta situação especial.

2. OBJETIVOS

Geral

- Descrever aspectos sócio-demográficos, clínicos, laboratoriais e evolutivos da leishmaniose visceral entre portadores e não portadores do vírus da imunodeficiência humana em centros de referência da Região Metropolitana de Belo Horizonte, no período de 2000 a 2005.

Específicos

- Verificar se há diferenças nos aspectos clínicos, sócio-demográficos, laboratoriais e diagnósticos da leishmaniose visceral entre pacientes portadores e não portadores do HIV;
- Verificar se há diferenças na resposta clínica após 10 a 15 dias de tratamento específico para a leishmaniose visceral entre pacientes portadores e não portadores do HIV;
- Verificar se há diferenças na sensibilidade de provas diagnósticas específicas para a leishmaniose visceral entre portadores e não portadores do HIV, a saber: exame parasitológico; reação de imunofluorescência indireta e ensaio imunoenzimático para detecção de anticorpos contra o antígeno recombinante k-39.
- Verificar se há diferenças na sensibilidade do exame parasitológico ou da reação de imunofluorescência indireta combinados com a detecção do anticorpo anti-rK39 (ELISA) entre portadores e não portadores do HIV.

3 – METODOLOGIA

3.1 DELINEAMENTO E LOCAL DO ESTUDO

O presente trabalho consiste em estudo retrospectivo de 65 pacientes com o diagnóstico de leishmaniose visceral, acompanhados no Centro de Referência em Leishmanioses, do Centro de Pesquisas René Rachou (CRL/FIOCRUZ) e no Hospital Eduardo de Menezes, da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG).

3.2 UNIDADES DE SAÚDE

3.2.1 O HOSPITAL EDUARDO DE MENEZES

O Hospital Eduardo de Menezes é uma unidade hospitalar localizada em Belo Horizonte – MG e pertencente à Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG). Esta fundação foi criada em 1977 e atualmente mantém uma rede de 20 unidades assistenciais que prestam atendimento médico-hospitalar à população de todo o estado.

O Hospital Eduardo de Menezes foi escolhido por ser um importante centro de referência em doenças infecto-contagiosas do Estado de Minas Gerais.

3.2.2 O CENTRO DE PESQUISAS RENÉ RACHOU

O Centro de Pesquisas René Rachou (CPqRR), unidade da Fundação Oswaldo Cruz em Minas Gerais, está localizado em Belo Horizonte – MG. O centro exerce atividades integradas de pesquisa, formação de recursos humanos e prestação de serviços, contribuindo para promover a saúde da população.

O Centro de Referência e Treinamento em Leishmanioses consiste em unidade ambulatorial especializada no diagnóstico e acompanhamento de grande parte dos pacientes

diagnosticados com leishmaniose na Região Metropolitana de Belo Horizonte, o que motivou a escolha.

3.3 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

As informações sobre os pacientes com o diagnóstico de LV admitidos no Hospital Eduardo de Menezes e no CRL/FIOCRUZ de janeiro de 2000 a dezembro de 2005, foram coletadas seguindo os critérios seguintes.

Critérios de inclusão

- Diagnóstico de LV, confirmado por reação de imunofluorescência indireta, diagnóstico parasitológico e/ou molecular.
- Disponibilidade de teste anti-HIV (detecção de anticorpo) feito durante internação ou até seis meses antes desta se o teste for negativo ou em qualquer tempo, se o teste for positivo.

Critério de exclusão

- Pacientes com história prévia de leishmaniose visceral tratada ou tratamento iniciado antes de 72 horas do início do acompanhamento

3.4 COLETA DE DADOS

3.4.1 ANÁLISE DO PRONTUÁRIO

O estudo minucioso dos prontuários dos pacientes com o diagnóstico de LV foi realizado para a coleta de dados sobre apresentação, evolução e exames complementares. Nos casos de pacientes co-infectados, colheu-se informações referentes ao *status* imunológico e virológico, à terapia anti-retroviral e ao histórico de infecções oportunistas. Estes foram classificados de acordo com os critérios definidos pelo Centro para o Controle de Doenças (CDC) em 1993, descritos no anexo 1.

Os dados foram registrados em formulário semi-estruturado antes de serem transferidos para o banco de dados (Anexo 2).

3.4.2 DADOS DEMOGRÁFICOS E DE IDENTIFICAÇÃO

Foram coletados inicialmente o código identificador do prontuário, a data da internação em estudo, ou seja, a internação quando ocorreu o diagnóstico e/ou o tratamento do primeiro episódio da leishmaniose visceral, o nome do paciente e o nome da unidade de internação. A data da alta também foi registrada, seja por melhora, transferência ou óbito. Para os pacientes avaliados no CRL/FIOCRUZ, o instrumento de coleta foi adaptado (Anexo 2). Assim, consideramos a data da admissão no ambulatório e não a data de internação. A data da alta foi considerada como aquela da primeira avaliação após o término do tratamento específico da leishmaniose visceral.

O gênero dos pacientes, a data de nascimento e a idade (em anos, na ocasião do diagnóstico da LV) também foram registrados. A escolaridade foi classificada pelos anos de estudo.

A ocupação foi registrada em campos abertos para não limitar as opções.

A procedência também foi categorizada em “1 - Região Metropolitana de Belo Horizonte”, “2 - Interior de Minas Gerais”, “3 - Outros estados / países” e “4 - Ignorado (sujeitos sem informações sobre a procedência)”.

O uso de drogas ilícitas foi registrado em dois campos fechados e um aberto. O primeiro serviu para o registro do uso corrente ao diagnóstico ou progresso de drogas ilícitas, com três opções de resposta: “0 ou não”, “1 ou sim” e “9 ou ignorado”. O campo seguinte, aberto, teve o propósito de discriminar qual droga ilícita foi utilizada, nos casos que em que a resposta ao campo anterior tenha sido “1 ou sim”. Em seguida, há outro campo fechado com mesma codificação para registro do uso corrente ou progresso de drogas injetáveis. Abuso corrente ou progresso de bebidas alcoólicas, através do relato do paciente ou de seus familiares, ou mesmo através de relatório médico, foram registrados como “1 ou sim”, “0 ou não” ou “9 ou ignorado”. Registros de alcoolismo eventual ou expressões equivalentes não foram considerados como abuso de bebidas alcoólicas.

3.4.3 DADOS DO EXAME CLÍNICO

Dados da entrevista e do exame físico foram registrados em três diferentes períodos. O período inicial foi considerado aquele entre a admissão e os primeiros cinco dias de acompanhamento médico, seja em regime de internação ou ambulatorial. Este tempo traz dados da história natural da leishmaniose visceral, permitindo identificar sua apresentação mais comum, sem a influência de medidas terapêuticas. O segundo período está compreendido entre o 10º e o 15º dia após o início do tratamento específico para a leishmaniose visceral. Este tempo foi escolhido devido à melhora significativa que os pacientes usualmente experimentam após 10 dias de tratamento, podendo predizer a resposta terapêutica. O último período, compreendido entre o primeiro e o quinto dia após o término do tratamento específico, forneceu dados clínicos após a intervenção terapêutica completa.

3.4.4 VARIÁVEIS DA ENTREVISTA

Informações relacionadas à leishmaniose visceral reportadas ao médico através da anamnese foram registradas em campos fechados, com três alternativas de respostas, a saber:

- 1 – sim, se foi reportado o sintoma em questão;
- 0 – não, se foi negado o sintoma em questão;

9 – ignorado, se não havia registro deste sintoma.

As variáveis investigadas foram febre, emagrecimento, tosse, diarreia e dor abdominal, além de sangramento espontâneo. O emagrecimento apenas foi registrado na entrevista clínica inicial. A manifestação foi considerada presente quando havia claro registro em prontuário, feito por médico. Outros sintomas foram registrados em campo aberto.

3.4.5 VARIÁVEIS DO EXAME FÍSICO

Informações relacionadas à leishmaniose visceral identificadas pelo médico através do exame físico foram registradas em campos fechados, com duas alternativas de respostas, a saber:

1 - sim (foi verificado o sinal em questão);

0 - não (não foi verificado o sinal em questão ou não havia informação registrada)

Os sinais investigados foram febre, tosse, sangramento, icterícia, esplenomegalia, hepatomegalia, linfadenomegalia e edema.

Outros sinais foram registrados em campo aberto.

3.4.6 DEFINIÇÃO DE CASO DE LEISHMANIOSE VISCERAL

No presente estudo, considerou-se casos de LV os pacientes que obedeceram pelo menos um dos seguintes critérios:

- Todos os pacientes com soro reativo para a reação de imunofluorescência indireta (RIFI \geq 1:80) para a leishmaniose e que apresentaram pelo menos duas das três principais manifestações: febre, citopenia/anemia, hepatomegalia/esplenomegalia;
- Todos os pacientes com detecção de DNA de *Leishmania* spp no sangue periférico (através da PCR) e que apresentaram pelo menos duas das três principais manifestações: febre, citopenia/anemia, hepatomegalia/esplenomegalia;
- Todos os pacientes com o diagnóstico parasitológico (identificação da *Leishmania* spp no exame direto e/ou no cultivo do aspirado de medula óssea, baço, fígado ou linfonodo).

3.4.7 EXAMES ESPECÍFICOS PARA A LEISHMANIOSE VISCERAL

Os sujeitos da pesquisa também foram investigados quanto à identificação do parasito causador da LV. Amostras de aspirado de medula óssea, baço, fígado e linfonodo podem ser submetidas à pesquisa direta de formas amastigotas de *Leishmania* spp. Estas mesmas amostras também podem ser cultivadas em meio axênico, sendo consideradas positivas quando há o crescimento de formas promastigotas. Eventualmente o diagnóstico parasitológico da LV ocorre através do estudo anátomo-patológico de peça de biópsia, mormente fígado e baço.

Para o estudo dos métodos sorológicos, amostras de soro estocadas na soroteca do Laboratório de Pesquisas Clínicas do Centro de Pesquisas René Rachou. Como o laboratório é uma referência para exames diagnósticos para as leishmanioses na região metropolitana de Belo Horizonte, amostras de soro da maioria dos pacientes haviam sido estocadas para eventuais repetições técnicas. Estas amostras foram recebidas para a realização do teste sorológico usual para o diagnóstico da LV, a reação de imunofluorescência indireta.

3.4.8 EXAMES COMPLEMENTARES

Novamente três períodos da internação foram considerados. Os dados mais precoces da internação (até 72 horas da admissão), do período compreendido entre o 10º e o 15º dia após terapia específica e do período compreendido entre o último e o 5º dia após o término do tratamento.

A avaliação do hemograma, das escórias renais, dos marcadores de lesão hepática, das proteínas totais e suas frações ocorreram nos três tempos do acompanhamento dos pacientes.

Informações hematológicas incluíram dados quantitativos da série vermelha, da série branca e da série plaquetária.

Foi considerado anemia se os níveis de hemoglobina eram menores que 11 g/dL, leucopenia se a leucometria global era menor que 4.000 céls/mm³, plaquetopenia se os níveis de plaquetas eram menores que 150.000 unidades/mm³, linfopenia se os linfócitos totais eram menores que 1.000 céls/mm³, hiperglobulinemia se as globulinas eram maiores que 3,0 g/dL, hipoalbuminemia se a albumina era menor que 3,0 g/dL e hiperbilirrubinemia se as

bilirrubinas totais eram maiores que 1,2 g/dL.

Os exames foram realizados nos laboratórios dos próprios serviços.

3.5 DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO

3.5.1 DESCRIÇÃO DA TÉCNICA DE ELISA PARA DETECÇÃO DE ANTI-rK39

As placas de ELISA de poliestireno com 96 poços e fundo chato (NUNC[®]) são sensibilizadas com 3 µg/ml de antígeno de *L. chagasi* ou com 50ng/well de antígeno recombinante r-K39. 100µl de solução de antígeno em tampão carbonato bicarbonato (TCB) (pH = 9,6) é colocado em cada poço e incubado por 12 horas a 4°C. O bloqueio é feito com 150µl por poço de solução de albumina bovina (Sigma[®]) a 2% em PBS_{T20} (pH = 7,2) e incubado por uma hora a 37°C. As placas são lavadas como na etapa anterior e 100µl do soro do paciente diluído 1:1000 (antígeno solúvel *L. chagasi*) e 1:100 (antígeno r-K39) em PBS_{T20} foram adicionados em cada poço. As placas são incubadas e lavadas nas mesmas condições. 100µl/poço de conjugado anti – IgG humano ligado à peroxidase (Sigma[®] A6029) na diluição 1:1000 em PBS_{T20} foram usados. Novamente as placas são incubadas e lavadas e, em seguida, adiciona-se 100µl do revelador ABTS (2, 2' *anzino bis 3-ethylbenzothiazolie sulphonic acid*) em cada poço. A leitura é realizada a 405 nm em leitor de ELISA (Bio-Rad[®]). Todas as amostras são testadas em duplicata. O resultado de cada amostra corresponde à média aritmética dos resultados da duplicata. O ponto de corte da reação é determinado através da média aritmética vezes dois desvios-padrão.

3.5.2 DESCRIÇÃO DA REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA ANTÍGENOS DE PROMASTIGOTAS

Para a realização deste exame 10ml de antígeno foram incubados em cada orifício da lâmina à 37°C por duas horas. O soro dos pacientes foi diluído em PBS nos títulos de 1:40 até 1:640 e 10 ml de cada diluição foi pingado na lâmina. O soro foi incubado a 37°C durante 30

min em câmara úmida. Após esse período, as lâminas foram lavadas por 3 min em PBS e mais 3 min em água destilada. Depois de estarem secas, o conjugado foi diluído a 1:50 em PBS com Azul de Evans a 1:25 e 15ml dessa solução foram colocados em cada orifício da lâmina. As etapas de incubação e lavagem foram repetidas como anteriormente. As lâminas foram montadas com glicerina tamponada entre lâmina e lamínula e levadas ao microscópio de imunofluorescência. Foram considerados positivos todos os títulos iguais ou superiores a 1:80.

3.6 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

3.6.1 ESTATÍSTICA DESCRITIVA

As variáveis categóricas foram descritas quanto à frequência relativa e intervalo de confiança. As variáveis contínuas foram descritas através de medidas de tendência central e de dispersão segundo a distribuição dos dados: média e desvio-padrão (DP) para variáveis de distribuição normal e mediana e intervalo interquartilício (Q_1 - Q_3) para variáveis de distribuição não normal.

O teste de *Shapiro-Wilk* e a inspeção visual de histogramas de distribuição foram utilizados para testar a normalidade na distribuição dos dados contínuos.

Foram discriminadas em tabelas de contingência as modalidades de exame parasitológico, a positividade da reação de imunofluorescência indireta e da pesquisa de anticorpos anti-k39 (ELISA). As sensibilidades dos testes sorológicos empregados também foram aferidas e descritas, bem como os respectivos intervalos de confiança a 95% (IC 95%).

Em razão das perdas de dados clínicos e laboratoriais observadas imediatamente após o tratamento, bem como a freqüente falta de informação acerca da evolução dos pacientes naquele momento, optou-se por utilizar como variável de desfecho a resolução de todos os sinais e sintomas após 10 a 15 dias de tratamento, dicotomizada em melhora completa ou ausência de melhora completa de sinais e sintomas. Deste modo, foi possível identificar os pacientes que apresentaram resposta precoce à terapia.

A análise de concordância entre os exames sorológicos e parasitológicos foi realizada através da determinação do coeficiente Kappa. O cálculo do coeficiente considera a diferença entre a proporção esperada de concordância e a proporção observada de concordância, dividida pela máxima diferença possível entre as proporções observada e esperada. Resultado de Kappa=0 indica independência entre as medições feitas pelos dois medidores. Resultado diferente de zero até 0,4 indica concordância baixa; valor entre 0,4 e 0,75 indica concordância razoável e valor maior a 0,75 indica excelente concordância. Define-se como concordância perfeita Kappa=1 (Gordis, 2004).

A fim de se verificar se houve perdas sistemáticas de dados, para todas as variáveis com perda igual ou maior que 10% das observações, o grupo de pacientes com registros completos foi comparado ao grupo de pacientes com o registro incompleto quanto ao restante das variáveis incluídas na análise.

3.6.2 ESTATÍSTICA ANALÍTICA

Para preservar a independência das observações, a unidade de análise escolhida foi o paciente e não o episódio de LV. Foram incluídos, portanto, pacientes com primeiro diagnóstico de LV.

A associação univariada entre a ocorrência do desfecho primário e as variáveis categóricas foi avaliada através do teste qui-quadrado (X^2) de *Pearson* ou do teste exato de Fisher, quando apropriado. Foi calculado o risco relativo e o intervalo de confiança a 95% (IC95%) como medida da magnitude do efeito univariado de cada variável categórica no risco de ocorrência do desfecho. Os dados contínuos foram comparados através do teste *t* de *Student* para variáveis de distribuição normal ou do teste U de *Mann-Whitney* para dados com distribuição não normal. Para examinar as mudanças nos valores de variáveis categóricas através do tempo foi utilizado o teste X^2 de McNemar. As mudanças no tempo nos valores de variáveis contínuas foram comparadas através do teste *t* de Student para amostras pareadas para distribuições normais e teste de Wilcoxon para distribuições não normais.

Para avaliar a influência independente de cada variável na ocorrência do desfecho primário, as variáveis mostrando associação univariada com $p < 0,25$ foram incluídas em um modelo de regressão logística binária utilizando o método de entrada de variáveis e partindo desde o modelo saturado. Os coeficientes de regressão logística (β), a razão das chances (odds

ratio - OR) e os correspondentes IC 95% foram computados como estimativas da magnitude do efeito independente de cada variável na odds de ocorrência do desfecho estudado, controlando simultaneamente os efeitos de outros fatores significativos. A significância estatística dos coeficientes β das variáveis explicativas foi testada utilizando-se o teste de Wald e as mudanças na razão da verossimilhança (i.e., estatística $-2 \log \text{likelihood}$) foram provocadas pela adição ou retirada de cada variável explicativa (teste da razão da verossimilhança parcial). Em caso de resultados discordantes entre o teste de Wald e o teste da razão da verossimilhança parcial, foi dada prioridade aos resultados sugeridos por este último. Foi testada a presença de multicolinearidade entre as variáveis preditoras só na presença de coeficientes β com erro padrão alto. Variáveis preditoras mostrando multicolinearidade foram removidas da análise. A bondade do ajuste dos dados aos modelos de regressão logística foi testada através do teste de Hosmer-Lemeshow.

Todos os testes foram bilaterais. Foi admitida probabilidade de erro tipo I de 5% (i.e., $\alpha = 0,05$).

O pacote estatístico SPSS para Windows (versão 10.0, SPSS Inc., Chicago, Illinois, Estados Unidos da América) foi utilizado para a análise estatística. O programa Epi Info (versão 6.04, Centers for Disease Control, Atlanta, Geórgia, Estados Unidos da América) foi utilizado para cálculo dos intervalos de confiança e dos riscos relativos.

3.7 ASPECTOS ÉTICOS

A proteção dos sujeitos da pesquisa foi realizada de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, que trata da ética em pesquisa envolvendo seres humanos.

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas René Rachou / FIOCRUZ, ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP-UFMG) e ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Eduardo de Menezes. As comissões emitiram pareceres favoráveis, sem ressalvas para a execução.

3.8 NORMALIZAÇÃO BIBLIOGRÁFICA

As regras e as normas seguidas para a confecção do relatório final do presente estudo foram as estabelecidas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

4- RESULTADOS

Após o levantamento de todos os prontuários de ambas as instituições com registro de admissão entre 01/01/2000 a 31/12/2005, 65 pacientes foram considerados elegíveis para o estudo. A amostra foi composta por 16 pacientes do Centro de Referência em Leishmanioses e 49 pacientes do Hospital Eduardo de Menezes. Dos 65 pacientes, 38 (58,5%) apresentaram soro não reativo para o HIV, enquanto que 27 (41,5%) eram infectados pelo HIV.

Foram excluídos 159 casos de LV em ambos os centros, sendo que 85% destes se encontravam no CPqRR. A falta de resultado de exame anti-HIV foi a causa da exclusão em 75% dos casos atendidos, 23% (37) dos pacientes já haviam sido admitidos em ambos os centros com o diagnóstico definido e tratados parcialmente ou completamente e 2% (3) dos pacientes apresentavam-se em recidiva. Entre os pacientes excluídos, 65,4% (104) eram do sexo masculino.

4.1 INFORMAÇÕES SÓCIO-DEMOGRÁFICAS

A maioria dos pacientes era do gênero masculino (81,5%). A proporção de homens e mulheres não diferiu em função do *status* sorológico para o HIV. Pacientes procedentes da Região Metropolitana de Belo Horizonte (RMBH) contribuíram com 86,2% da amostra. Os demais eram procedentes de outras cidades do interior de Minas Gerais.

A média de idade dos pacientes foi 37,6 anos, com DP = 12,13 anos e mínimo e máximo de 20 e 71 anos, respectivamente. Exatamente a mesma média de idade foi encontrada nos pacientes infectados e não infectados pelo HIV, com $p = 0,4$ (teste t de *Student*). A idade foi estratificada nos intervalos descritos na tabela 2.

TABELA 2 - Distribuição por faixa etária de 65 pacientes portadores de leishmaniose visceral, entre infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.

Faixas etárias	Infectados pelo HIV	n (%)	Não infectados pelo HIV	n (%)
10 - 20 anos	0	(0)	0	(0)
20 - 30 anos	10	(37)	11	(28,9)
30 - 40 anos	7	(26)	12	(31,2)
40 - 50 anos	8	(29,6)	9	(23,4)
50 - 60 anos	0	(0)	3	(7,8)
60 anos ou mais	2	(7,4)	3	(7,8)
Total	27		38	

n = número de dados válidos.

A comparação da idade estratificada entre os portadores e não portadores do HIV apresentou valores de p superiores a 0,05, utilizando o teste exato de Fisher.

As ocupações registradas eram bastante diversas, sendo que as atividades básicas (que prescindem de instrução formal) constituíram 71% (35) da amostra, nenhum paciente relatou curso técnico ou superior, 8,2% (3) eram aposentados, 6,1% (3) eram desempregados e 6,1% (3) eram “do lar”. A ocupação mais freqüente foi pedreiro (8,2%), relatada por quatro pacientes. Não havia informação acerca da ocupação de três pacientes (6,1%).

A distribuição por anos completos de estudo está descrita na tabela 3 e apresentou distribuição normal. Não houve diferença quanta a escolaridade média entre os grupos (Teste t de *Student* – $p > 0,8$).

TABELA 3 – Anos de estudo de 65 pacientes portadores de leishmaniose visceral, entre infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.

Anos de estudo	Infectados pelo HIV n (%)	Não infectados pelo HIV n (%)
Nenhum	1 (3,7)	1 (2,6)
1 a 3	2 (7,4)	4 (10,5)
4 a 7	3 (11,1)	2 (5,3)
8 a 11	15 (55,6)	17 (44,8)
12 ou mais	1 (3,7)	2 (5,3)
Sem informação	5 (18,5)	12 (31,6)
Total	26	39

n = número de dados válidos.

Entre os 31 (47,7%) dos prontuários com informação sobre o uso de drogas injetáveis, 9,7% dos pacientes relataram ter feito uso em algum momento da vida. Entre os pacientes portadores do HIV, a prevalência de drogas injetáveis foi 17,6% em 17 (38%) prontuários com esta informação. Não houve relato de uso de drogas injetáveis entre os pacientes HIV negativos. Os grupos foram comparados através do teste exato de Fisher ($p = 0,1$).

Foi constatado abuso de bebidas alcoólicas em 24,6 % dos casos, entre 36 (55,4%) prontuários com informações sobre alcoolismo. A freqüência desta variável foi de 75% nos pacientes co-infectados e 10,5% nos pacientes HIV-negativos. O valor de p para esta diferença foi 0,007, quando utilizado o teste do X^2 .

4.2 DADOS DA INFECÇÃO PELO HIV

Entre os pacientes infectados pelo HIV, cinco (18,5 %) estavam em uso de terapia anti-retroviral altamente eficaz previamente ao diagnóstico de LV.

O diagnóstico da infecção pelo HIV foi simultâneo ao da LV em 55,6% (15) dos casos. Os 12 pacientes restantes já eram sabidamente portadores do HIV antes da LV.

A classificação do estágio evolutivo da infecção pelo HIV segundo o CDC (1993) foi possível em 25 pacientes co-infectados e está descrita no gráfico 3.

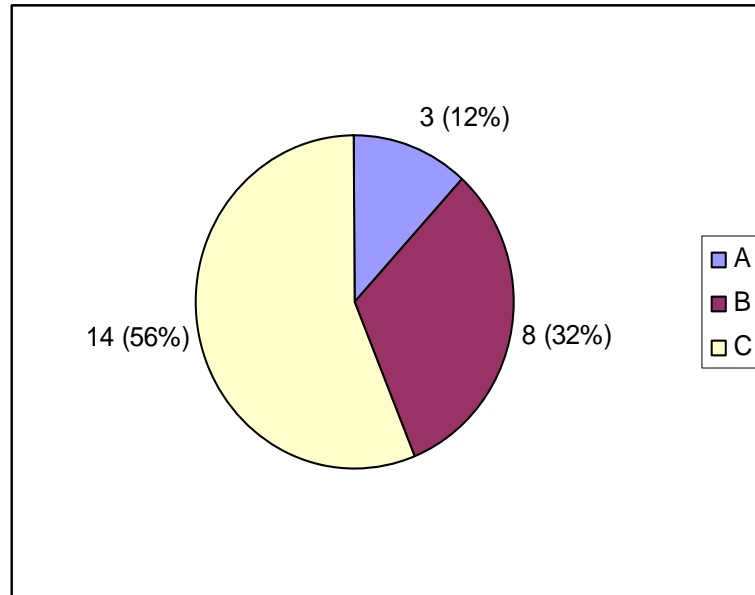


GRÁFICO 3 – Classificação do estágio da infecção pelo HIV, segundo os critérios do CDC (1993), em portadores da co-infecção *Leishmania*/HIV, RMBH, 2000-2006.

A contagem de linfócitos T CD4 apresentou distribuição não normal. O valor mediano foi 115 céls/mm³ (9 a 1267 céls/mm³) em 19 pacientes portadores do HIV, com Q₁Q₃ = 172 céls/mm³. O CD4 foi menor que 200 céls/mm³ em 74% dos co-infectados.

Entre os pacientes com contagem de linfócitos T CD4 maior que 200 céls/mm³, este parâmetro apresentou distribuição não normal e o valor mediano encontrado foi 304 céls/mm³, variando de 227 a 1267, com Q₁Q₃ = 560,5.

Nos pacientes infectados pelo HIV e que desenvolveram infecção oportunista, a contagem de linfócitos T CD4 apresentou distribuição normal com valor médio de 97,67 céls/mm³, variando de 9 a 286 (DP = 98,33 céls/mm³).

Nos pacientes infectados pelo HIV e que não desenvolveram infecção oportunista, a contagem de linfócitos T CD4 apresentou distribuição não normal com valor mediano de 133 céls/mm³, variando de 66 a 1267 (Q₁Q₃ = 228,5 céls/mm³).

Seis pacientes co-infectados iniciaram o uso de anti-retrovirais na ocasião do diagnóstico da LV. Entre todos os pacientes em terapia anti-retroviral, 63,6% (7/11) utilizavam regimes baseados em ITRNN, 27,3% (3/11) utilizavam regimes baseados em IP e um paciente (9,1%) estava em uso de terapia dupla.

A frequência de infecções oportunistas diagnosticadas durante a internação está representada no gráfico 4.

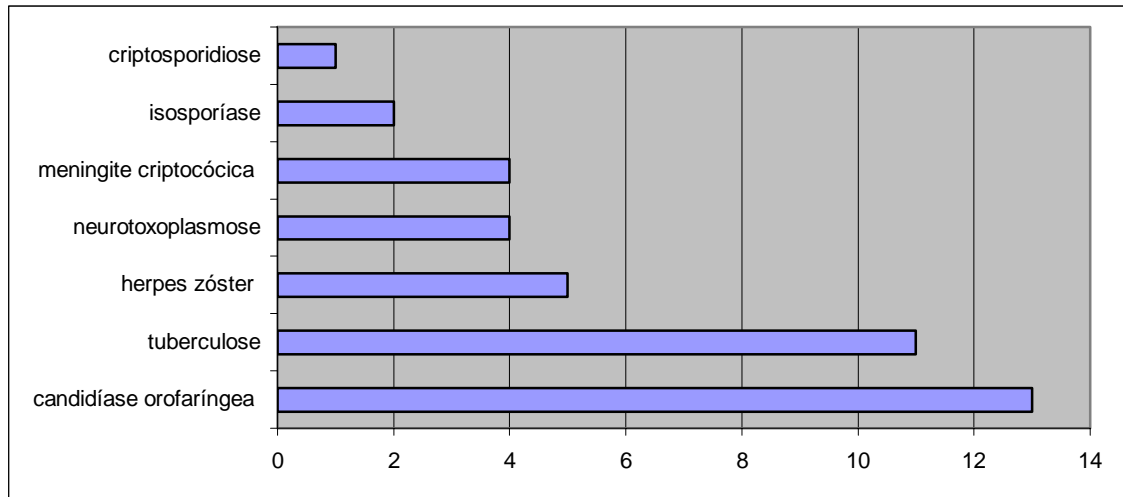


GRÁFICO 4 – Frequência absoluta das infecções oportunistas diagnosticadas durante o acompanhamento em 27 pacientes portadores da co-infecção *Leishmania*/HIV, RMBH, 2000 a 2005.

4.3 COMPLICAÇÕES INFECCIOSAS NÃO OPORTUNISTAS

As infecções e infestações não oportunistas associadas à LV e diagnosticadas durante o acompanhamento foram registradas (tabela 4). A comparação da incidência destas enfermidades entre os portadores e não portadores do HIV foi feita através do X^2 com correção de continuidade, apresentando $p = 0,627$.

TABELA 4 - Infecções concorrentes à leishmaniose visceral diagnosticadas durante o acompanhamento de 65 pacientes, RMBH, 2000-2005.

Infecções	Infectados pelo HIV	Não Infectados pelo HIV	Total
Pneumonia	5	4	9
Sinusite	3	3	6
Esquistossomose	2	3	5
ITU	1	4	5
Sepse	3	2	5
Giardíase	0	3	3
Ascariíase	0	5	5
Estrongiloidíase	0	2	2
Escabiose	0	1	1
Ancilostomose	0	1	1
Amebíase intestinal	0	1	1
Celulite	1	1	2
Empiema pleural	1	0	1
Total	16	30	46

4.4 EXAME CLÍNICO E DADOS LABORATORIAIS DA LV

O período de tempo compreendido entre o início do quadro clínico e a admissão apresentou valor mediano igual a sete semanas, com valores mínimos e máximos de um a 48 semanas, respectivamente e apresentou distribuição não normal. O intervalo interquartilico foi de 8,7 semanas. Este período foi superior a oito semanas em 28 (43,1%) pacientes. Entre os pacientes co-infectados, 12 (44,4%) apresentavam mais de oito semanas de evolução enquanto que nos pacientes HIV-negativos, 16 (42,1%) pacientes apresentavam sintomas por igual período. Este período foi comparado entre os grupos (co-infectados versus não infectados pelo HIV) através do teste U de Mann-Whitney, com $p = 0,85$.

As frequências das manifestações clínicas em todos os pacientes, estratificadas entre portadores e não portadores do HIV, estão distribuídas na tabela 5. A comparação entre os grupos foi feita utilizando o teste do X^2 ou o teste exato de Fisher, quando apropriado. Linfopenia, hiperglobulinemia e hipoalbuminemia foram significativamente mais frequentes nos pacientes co-infectados, enquanto que a hiperbilirrubinemia foi mais frequente nos pacientes não infectados pelo HIV.

TABELA 5 – Manifestações clínicas e alterações laboratoriais iniciais de pacientes portadores de leishmaniose visceral, infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.

Manifestações clínicas	%	Intervalo de Confiança (IC 95%)	Infetados	Não-infetados	P	Nº de dados válidos
			pelo HIV	pelo HIV		
			% (n)	% (n)		
Febre	93,8	84,2-98	88,9 (24)	97,4 (37)	0,30*	65
Hepatomegalia	84,6	73-92	77,8 (21)	89,5 (34)	0,30*	65
Esplenomegalia	80	67,9-88,5	77,8 (21)	81,6 (31)	0,71	65
Emagrecimento	64,2	51,7-75,8	38,1 (16)	61,9 (26)	0,45	65
Tosse	58,5	45,6-70,3	69,2 (18)	52,6 (20)	0,26	65
Dor abdominal	30,8	20,2-43,6	25 (6)	36,8 (14)	0,21	65
Diarréia	27,7	17,6-40,4	45,8 (11)	18,4 (7)	0,05	65
Icterícia	26,6	16,4-38,8	22,2 (6)	28,9 (11)	0,54	65
Linfadenomegalia	21,5	12,7-33,8	33,3 (9)	13,5 (5)	0,05	65
Sangramento	18,4	10,3-30,4	22,2 (6)	15,8 (6)	0,54*	65
Edema	7,7	2,8-17,7	3,7 (1)	10,5 (4)	0,40*	65
Anemia	90,3	79,5-96	96,3 (26)	85,7 (35)	0,22*	62
Leucopenia	82,3	70-90,4	85,2 (23)	73,7 (35)	0,75*	62
Plaquetopenia	69,5	56-80,5	61,5 (16)	75,8 (33)	0,24	59
Linfopenia	66,7	53,2-78	81,5 (22)	47,4 (18)	0,03	60
Hiperglobulinemia	80	63,8-90,4	100 (20)	60 (20)	<0,01*	40
Hipoalbuminemia	65	48,3-75	95 (19)	55 (11)	<0,01*	40
Hiperbilirrubinemia	28,6	16,2-44,8	10,5 (2)	43,5 (23)	0,02	42

* Teste exato de Fisher

Entre os pacientes co-infetados, 70,4% reuniram na avaliação inicial as seguintes manifestações: febre, anemia e/ou citopenia (leucopenia/plaquetopenia) e esplenomegalia. Entre os pacientes não infectados, esta tríade foi encontrada em 76,5% dos casos. Estes grupos foram comparados através do teste de X^2 , com valor de $p = 0,6$.

Entre os pacientes que apresentaram sangramentos, sete apresentaram epistaxe (53,6%) e dois apresentaram gengivorragia (15,4%). Hemoptóico, petéquia, melena e enterorragia totalizaram quatro episódios (31 %).

A tabela 6 ilustra os primeiros exames laboratoriais realizados à admissão para todos os pacientes, bem como entre portadores e não portadores do HIV, comparados através do teste t de Student quando as variáveis apresentavam distribuição normal e através do teste U de Mann-Whitney para variáveis de distribuição não normal. A média da globulinemia foi significativamente superior entre os pacientes co-infetados, enquanto que a média da linfocitometria e da albuminemia foi significativamente superior nos pacientes não infectados pelo HIV.

TABELA 6 – Valores de parâmetros laboratoriais iniciais de pacientes com leishmaniose visceral, infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.

Exames laboratoriais	média (mín-máx)	DP	Infectados pelo HIV (n)	Não infectados pelo HIV (n)	P	n
Hemoglobina (g/dL)	8,75 (2-12,8)	1,9	8,44 (27)	9,0 (34)	0,27	62
Hemácias (cél/mm ³)	3,2 x 10 ⁶ (1,63-5,38)	0,76x10 ⁶	3,0x10 ⁶ (27)	3,4x10 ⁶ (34)	0,23	61
Hematócrito (%)	26,4 (13-39,8)	5,5	25,2 (26)	27,23 (35)	0,24	62
Leucócitos (cél/mm ³)	2.770 (800-14.900)	2056	2341 (27)	3101 (35)	0,11	62
Linfócitos (cél/mm ³)	880 (132-2682)	469	698 (27)	1029 (33)	0,01	60
Plaquetas (unid/mm ³)	141 x 10 ³ (15-754x10 ³)	99840	142.231 (27)	140.394 (35)	0,21	59
ALT (TGP) (mg/dL)	66,7 (6-310)	54,7	79,6 (25)	82 (31)	0,70	56
AST (TGO) (mg/dL)	87,68 (16-591)	90,7	48 (25)	94,2 (31)	0,86	56
Albumina (g/dL)	2,71 (0,3-8,2)	1,5	2,05 (20)	3,37 (20)	< 0,01	40
Globulina (g/dL)	4,818 (1,2-11)	2,0	5,75 (20)	3,88 (20)	< 0,01	40
Creatinina (mg/dL)	1,10 (0,5-3,8)	0,57	1,05 (24)	1,14 (30)	0,58	54
A. Protrombina* (%)	72,5 (30-100)	19,1	76,2 (15)	70 (20)	0,33	35
	mediana (mín-máx)	Q₁Q₃				
Bilirrubina+ (mg/dL)	0,55 (0,1-6,9)	1,1	0,811 (19)	1,6 (23)	0,09 [#]	42
Eosinófilos (cél/mm ³)	24,5 (0-984)	50,2	28 (27)	42,8 (33)	0,28 [#]	60

DP – Desvio-padrão; *Atividade de protrombina; +Bilirrubinas totais; N– número de dados válidos; # Teste U de Mann-Whitney.

4.5 DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO DA LEISHMANIOSE VISCERAL

Os resultados das sensibilidades das técnicas utilizadas para confirmar o diagnóstico da LV nos pacientes portadores e não portadores do HIV estão descritas nas tabelas 7 e 8. O diagnóstico parasitológico foi positivo em 61,5%, considerando todos os pacientes. A tabela 7

descreve as amostras investigadas para o diagnóstico parasitológico, bem como compara a sensibilidade deste exame diagnóstico entre portadores e não portadores do HIV.

TABELA 7 – A positividade do diagnóstico parasitológico para a leishmaniose visceral entre pacientes infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.

Diagnóstico	Infetados pelo	Não infectados pelo	<i>P</i>
	HIV	HIV	
	% (n)	% (n)	
Exame parasitológico	74 (20/27)	53 (20/38)	0,08
Aspirado de medula Óssea	55 (15/27)	50 (19/38)	
Mielocultura	46 (6/13)	45 (5/11)	
Aspirado esplênico	50 (1/2)	100 (2/2)	
Cultura de aspirado esplênico	50 (1/2)	-	
Biópsia hepática	100 (3/3)	-	

Não houve diferença de positividade de diagnóstico parasitológico entre pacientes HIV-positivos e HIV-negativos, quando estes grupos foram comparados através do teste do X^2 ($p=0,08$).

O diagnóstico molecular (PCR) foi realizado em cinco pacientes, sendo positivo em quatro (80%). Dois pacientes eram co-infectados.

A tabela 8 mostra a positividade dos exames sorológicos realizados. Para o cálculo das sensibilidades, apenas foram considerados os pacientes com diagnóstico estabelecido por identificação do parasito ou seu DNA, por PCR.

TABELA 8 - A sensibilidade da RIFI e da detecção do anticorpo anti-rK39 (ELISA) entre pacientes infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.

Método sorológico	Infecção pelo HIV		<i>P</i>
	Infetados pelo HIV	Não infectados pelo HIV	
	% (n)	% (n)	
	IC 95%	IC 95%	
RIFI reativa	45,5 (10/22) (25,07 - 67,3)	86,4 (19/22) 64,04 - 96,01	0,004
Anti-rK39 reativa	50 (5/10) (12,98 - 61,31)	92,3 (12/13) (28,3 - 68,24)	0,052*

* Teste exato de Fisher. Somente casos com o diagnóstico parasitológico e/ou molecular foram incluídos nesta comparação.

O exame para a pesquisa do anti-rK39 foi realizado após o diagnóstico e não foi considerado na definição de caso. A sensibilidade da pesquisa do anti-rk39 foi igual a 72,5 % para todos os casos. A concordância da RIFI e do ELISA anti-rk39 foi avaliada pelo coeficiente *kappa*, que apresentou valor igual a 0,245 em 40 pacientes. Apenas a RIFI diferiu significativamente entre os grupos pois foi menos sensível entre os pacientes co-infectados

A tabela 9 mostra a associação de testes diagnósticos comparados entre pacientes infectados e não infectados pelo HIV. Não houve diferenças significativas entre os pacientes HIV-positivos e HIV-negativos, quando os exames associados foram comparados através do teste exato de Fisher.

TABELA 9 – A positividade do diagnóstico específico combinado para a leishmaniose visceral entre pacientes infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.

Exames combinados em paralelo	Todos os pacientes	Infectados pelo HIV	Não infectados pelo HIV	P
	% (n)	% (n)	% (n)	
Anti-rk39 ou exame parasitológico	85 (34/40)	80 (12/15)	89,5 (22/25)	0,654*
Anti-rk39 ou RIFI	92,5 (37/40)	86,7 (13/15)	96 (24/25)	0,545*

* Teste exato de Fisher

A RIFI e o exame parasitológico, quando associados em paralelo à detecção sérica do anticorpo anti-rK39, apresentaram igual sensibilidade entre os pacientes infectados e não infectados pelo HIV.

A associação da positividade do exame parasitológico ou da RIFI com a presença de infecção oportunista entre os pacientes co-infectados apresentou valores de p superiores a 0,6, utilizando o teste exato de Fisher.

O anti-rK39 (ELISA) foi reativo em 100% dos seis pacientes co-infectados que não apresentavam infecção oportunista e em dois (22,2%) entre os nove pacientes infectados pelo HIV que apresentavam infecção oportunista (categoria C, do CDC). A análise destas diferenças através do teste exato de Fisher mostrou $p < 0,001$.

As sensibilidades das técnicas sorológicas e o exame parasitológico não diferiram significativamente entre co-infectados com contagem de CD4 maior ou menor que 200 céls/mm³. O valor de p foi 1 em todas as comparações através do teste exato de Fisher.

4.6 TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE VISCERAL

O antimoniato de n-metilglucamina foi a droga inicial prescrita em 55 (93,2%) dos pacientes, enquanto o desoxicolato de anfotericina B e a anfotericina B lipossomal foram prescritas em três (5,1%) e um (1,7%) paciente, respectivamente.

A dose média diária de antimoniato de n-metilglucamina utilizada foi 19,5 mg/kg (\pm 2,5 mg/kg), variando de 14 a 27 mg/kg.

O medicamento de escolha para o tratamento da LV entre os pacientes co-infectados foi o antimoniato de n-metilglucamina, prescrito na dose média de 20 mg/kg (\pm 2,95 mg/kg), variando de 14 a 27 mg/kg, para 24 (88,9 %) dos 27 pacientes. O tempo de duração médio deste tratamento foi de 23,8 dias (\pm 7,48 dias), variando de seis a 33 dias. Três pacientes não receberam tratamento específico a tempo e evoluíram para o óbito.

Entre os pacientes não infectados pelo HIV, medicamento de escolha para o tratamento da LV também foi o antimoniato de n-metilglucamina, prescrito na dose média de 19,52 mg/kg (DP=2,32 mg/kg), variando de 13,5 a 26 mg/kg, para 31 (81,57 %) dos 38 pacientes. O tempo de duração médio deste tratamento foi igual a 21,21 dias (DP = 9,71 dias), variando de três a 34 dias. Em três pacientes não foi possível obter informação sobre o tratamento.

A troca de medicamento para o tratamento da LV devido a reação adversa ou ausência de resposta terapêutica ocorreu em 10 (15,4%) pacientes dos 65 acompanhados. Pancreatite foi o motivo da troca em seis (9,2%) pacientes. Artralgia, cardiotoxicidade e insuficiência renal aguda foram as justificativas restantes, cada uma comparecendo com um caso. Todos os pacientes que tiveram o tratamento trocado estavam em uso de antimoniais.

Reação adversa que motivou a troca do tratamento para a LV ocorreu em 18,5% dos pacientes infectados e 13% dos pacientes não infectados. Esta diferença foi comparada através do teste exato de Fisher, com $p = 0,73$.

4.7 EVOLUÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL APÓS INÍCIO DO TRATAMENTO

As tabelas 10 e 11 mostram as principais manifestações clínicas e laboratoriais após 10 a 15 dias de tratamento, comparadas entre portadores e não portadores do HIV. Estas variáveis foram comparadas através do teste t de *Student* ou X^2 de Pearson (ou teste de Fisher, quando indicado). A contagem de eosinófilos apresentou distribuição não normal e foi comparada utilizando o teste U de Mann-Whitney. Após 10-15 dias de tratamento, febre e leucopenia foram significativamente mais freqüentes nos pacientes co-infectados. Em relação aos exames laboratoriais, a hemoglobinemia, a hematimetria, o hematócrito, a leucometria, a linfometria e a contagem de eosinófilos foram significativamente menores nos pacientes infectados pelo HIV.

TABELA10 – Manifestações clínicas e alterações laboratoriais após 10 a 15 dias de tratamento da leishmaniose visceral em pacientes infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.

Manifestações clínicas	%	Nº de dados válidos	Intervalo de Confiança (IC 95%)	Infectedos pelo HIV	Não-infectados pelo HIV	P
				% (n)	% (n)	
Esplenomegalia	50	56	36,5-63,5	65,2 (23)	39,4 (33)	0,10
Hepatomegalia	50	56	36,5-63,5	65,2 (23)	39,4 (33)	0,10
Febre	10,7	56	4,4-22,5	26,1 (23)	0 (33)	< 0,01*
Linfadenomegalia	7,1	56	2,4-19	15 (23)	3 (33)	0,15*
Dor abdominal	5,5	56	1,4-16,3	9,5 (23)	3 (33)	0,55*
Diarréia	5,5	56	1,4-16,3	9,1 (23)	3 (33)	0,56*
Tosse	3,8	56	0,67-14,3	5 (23)	3,1(33)	1*
Sangramento	3,6	56	0,6-13,6	9,1 (23)	0 (33)	0,16*
Icterícia	3,6	56	0,6-13,6	4,5 (23)	3 (33)	1*
Anemia	87,2	39	71,7-95,2	100 (19)	75 (20)	0,05*
Leucopenia	71,2	39	54,9-84,4	94,7 (19)	50 (20)	< 0,01
Linfopenia	54,1	37	37,1-70,1	70,6 (17)	40 (20)	0,10
Plaquetopenia	23,7	38	12-40,6	26,3 (19)	21,1 (19)	1

* Teste exato de Fisher

TABELA 11 – Valores de parâmetros laboratoriais após 10 a 15 dias de tratamento da leishmaniose visceral, entre pacientes infectados e não infectados pelo HIV, RMBH, 2000-2005.

Exames laboratoriais	Nº de dados válidos	média	DP	Infectados pelo HIV	Não infectados pelo HIV	P
Hemoglobina	39	9,26	1,65	8,4 (19)	10,1 (20)	< 0,01
Hemácias	38	3,32 x10 ⁶	0,8 x10 ⁶	3,02x10 ⁶ (18)	3.602.000 (20)	0,02
Hematócrito	39	27,2	5,2	25,1 (19)	29,2 (20)	< 0,01
Leucócitos	39	3.480	2341	2.268 (19)	4.630 (20)	< 0,001
Linfócitos	37	1.156	602	930 (17)	1.348 (20)	0,03
Plaquetas	38	215.578	101.260	200.526 (19)	230.631(19)	0,35
ALT	34	63,3	57,7	61,7 (15)	64,6 (19)	0,41
AST	34	51,7	51,7	56,5 (15)	48 (19)	0,12
Creatinina	38	1,21	1,21	1,34 (16)	1,11 (22)	0,55
		<i>mediana</i> (<i>min-máx</i>)	<i>Q₁Q₃</i>			
Eosinófilos	36	41 (0-672)	101,5	0 (17)	58 (19)	< 0,01 [#]

Teste U de Mann-Whitney

A tabela 12 mostra as manifestações clínicas e laboratoriais no momento da admissão e após 10-15 dias de tratamento apenas entre os portadores do HIV. Estas variáveis foram comparadas através do teste de McNemar. As freqüências de dor abdominal, sangramento, icterícia, hepatomegalia, esplenomegalia, anemia, leucopenia, linfopenia e plaquetopenia não diferiram significativamente das freqüências verificadas à admissão. Febre, tosse e diarreia apresentaram freqüências significativamente menores após 10 a 15 dias de tratamento.

TABELA 12 – Manifestações clínicas e alterações laboratoriais em pacientes com leishmaniose visceral infectados pelo HIV, no momento da admissão e após 10 a 15 dias de tratamento, RMBH, 2000-2005.

Manifestações clínicas	Até 72 horas de acompanhamento % (n)	Após 10 dias de tratamento % (n)	P
Febre	88,9 (27)	26,1 (23)	< 0,001
Tosse	86,7 (30)	5 (20)	< 0,001
Dor abdominal	40 (35)	9,5 (21)	1
Diarreia	21,2 (33)	9,1 (22)	< 0,01
Sangramento	25,9 (27)	9,1 (22)	0,37
Icterícia	22,2 (27)	4,5 (22)	0,37
Esplenomegalia	77,8 (27)	65,2 (23)	0,37
Hepatomegalia	77,8 (27)	65,2 (23)	0,25
Anemia	96,3 (27)	100 (19)	1,00
Linfopenia	81,5 (27)	70,6 (17)	1,00
Leucopenia	85,2 (27)	94,7 (19)	1,00
Plaquetopenia	61,5 (26)	26,3 (19)	0,12

O teste de McNemar foi utilizado nas comparações.

A tabela 13 mostra as manifestações clínicas e laboratoriais no momento da admissão e após 10-15 dias de tratamento apenas entre os pacientes HIV-negativos. Estas variáveis foram comparadas através do teste de McNemar. As freqüências de diarreia, sangramento, anemia e linfopenia não diferiram das freqüências verificadas à admissão. Febre, tosse, dor abdominal, icterícia, esplenomegalia, hepatomegalia e plaquetopenia foram significativamente menos freqüentes após 10 a 15 dias de tratamento neste grupo.

Excluindo a linfopenia, as variáveis descritas nas tabelas 5 e 6 eram igualmente freqüentes entre os HIV-positivos e os HIV-negativos na apresentação clínica inicial. Após 10 a 15 dias de tratamento, os pacientes co-infectados persistiram com 75% das manifestações iniciais, enquanto que nos pacientes HIV-negativos 41,6% dos sintomas persistiram. Comparando estas proporções através do teste do X^2 , foi encontrado $p = 0,09$.

A avaliação de manifestações clínicas e laboratoriais após o término do tratamento não foi possível pois havia registro destas informações em apenas 21 prontuários (32,3%).

TABELA 13 – Manifestações clínicas e alterações laboratoriais em pacientes com leishmaniose visceral **não** infectados pelo HIV, no momento da admissão e após 10 a 15 dias de tratamento, RMBH, 2000-2005.

Manifestações clínicas	Até 72 horas de acompanhamento % (n)	Após 10 dias de tratamento % (n)	<i>P</i>
Febre	97,4 (38)	0 (33)	< 0,001
Tosse	86,7 (30)	3,1(32)	< 0,001
Dor abdominal	40 (35)	3 (33)	< 0,01
Diarreia	21,2 (33)	3 (33)	0,12
Sangramento	10,8 (37)	0 (33)	0,12
Icterícia	28,9 (38)	3 (33)	< 0,01
Esplenomegalia	81,6 (38)	39,4 (33)	< 0,001
Hepatomegalia	89,5 (38)	39,4 (33)	< 0,001
Anemia	85,7 (35)	75 (20)	1
Linfopenia	54,5 (33)	40 (20)	0,22
Leucopenia	73,7 (35)	50 (20)	0,06
Plaquetopenia	75,8 (33)	21,1 (19)	<0,001

O teste de McNemar foi utilizado nas comparações.

Os exames laboratoriais do momento da admissão e após 10 a 15 dias de tratamento foram registrados e comparados nos pacientes portadores do HIV, utilizando o teste de Wilcoxon para variáveis de distribuição não normal e o teste t de *Student* pareado para as variáveis de distribuição normal (tabela 14). Esta tabela compara valores médios de variáveis

de distribuição normal e valores medianos para aquelas de distribuição não normal (apenas contagem de eosinófilos, neste caso). A creatinina sérica foi significativamente superior ao valor encontrado à admissão.

TABELA 14 – Valores de parâmetros laboratoriais em pacientes com leishmaniose visceral infectados pelo HIV, no momento da admissão e após 10 a 15 dias de tratamento, RMBH, 2000-2005.

Exames laboratoriais	Até 72 horas de acompanhamento (n)	Após 10 dias de tratamento (n)	P
Hemoglobina	8,44 (27)	8,4 (19)	0,12
Hemácias	3.023.000 (27)	3.014.444 (18)	0,20
Hematócrito	25,2 (26)	25,1 (19)	0,32
Leucócitos	2341 (27)	2.268 (19)	0,57
Linfócitos	698 (27)	930 (17)	0,49
Eosinófilos	28 (27)	0 (17)	0,55+
Plaquetas	142.231 (27)	200.526 (19)	0,05
ALT	79,6 (25)	61,7 (15)	0,42
AST	48 (25)	56,5 (15)	1,00
Creatinina	1,05 (24)	1,34 (16)	0,03

+ Teste de Wilcoxon

Os exames laboratoriais do momento da admissão e após 10 a 15 dias de tratamento foram registrados e comparados nos pacientes HIV-negativos, utilizando o teste de Wilcoxon para variáveis de distribuição não normal e o teste t de *Student* pareado para as variáveis de distribuição normal (tabela 15). Apenas a contagem de eosinófilos apresentou distribuição não normal e neste caso valores medianos foram comparados. A hemoglobina, a leucometria, a linfometria, a plaquetometria e a contagem de eosinófilos foram significativamente superiores aos valores encontrados à admissão.

TABELA 15 – Valores de parâmetros laboratoriais em pacientes com leishmaniose visceral **não** infectados pelo HIV, no momento da admissão e após 10 a 15 dias de tratamento, RMBH, 2000-2005.

Exames laboratoriais	Até 72 horas de acompanhamento (n)	Após 10 dias de tratamento (n)	P
Hemoglobina	9,0 (34)	10,1 (20)	0,019
Hemácias	3.440.882 (34)	3.602.000 (20)	0,167
Hematócrito	27,23 (35)	29,2 (20)	0,167
Leucócitos	3101 (35)	4.630 (20)	<0,001
Linfócitos	1029 (33)	1.348 (20)	0,008
Eosinófilos	19 (33)	58 (19)	0,031+
Plaquetas	140.394 (35)	230.631(19)	0,013
ALT (TGP)	82 (31)	64,6 (19)	1,000
AST (TGO)	94,2 (31)	48 (19)	0,481
Creatinina	1,6 (23)	1,11 (22)	0,607

+ Teste de Wilcoxon

Dentre os valores laboratoriais investigados após 10 a 15 dias de tratamento nos pacientes infectados pelo HIV, 80% deles não foram modificados com o tratamento. Entre os pacientes HIV-negativos, esta proporção foi de 60%. Comparando estas proporções, foi encontrado $p = 0,63$ no teste exato de Fisher.

A análise de variáveis com perda amostral maior que 10% não revelou diferenças significativas ($p > 0,1$ para todas as variáveis incluídas no estudo) entre os pacientes com registros completos e incompletos.

Entre os pacientes acompanhados, oito (18,2%) evoluíram para o óbito durante o tratamento, dos quais seis eram portadores do HIV. Comparando a letalidade durante o tratamento entre portadores do HIV e não portadores, foi encontrado $p = 0,06$ para esta diferença utilizando o teste exato de Fisher.

Dezessete pacientes (30,3%) entre os 56 que permaneceram em acompanhamento apresentaram melhora clínica completa após 10 a 15 dias de tratamento, definida como a resolução de todos os sinais e sintomas investigados, a saber: febre, tosse, dor abdominal, diarreia, hepatomegalia, esplenomegalia, sangramento e icterícia. Entre os pacientes co-infectados, a resposta clínica precoce foi verificada em 11,1% dos casos. Nos pacientes não infectados pelo HIV, a resposta clínica precoce foi verificada em 45,8%. A análise desta diferença foi feita através do teste do X^2 , com $p < 0,01$.

A variável resposta clínica completa foi utilizada como variável de desfecho para a análise multivariada, por ser binária e por ter sido pouco afetada pelas perdas do estudo.

Para a identificação de variáveis clínicas e laboratoriais associadas à resposta clínica completa, foi realizado o teste do X^2 ou teste exato de Fisher, quando apropriado, conforme ilustrado nas tabelas 16 e 17. Variáveis que estiveram associadas à resposta clínica completa ($p < 0,25$) foram incluídas em um modelo de regressão logística binária.

As tabelas 16 e 17 mostram a influência univariada das variáveis clínicas e laboratoriais analisadas na ocorrência do desfecho primário (i.e., resposta clínica completa após 10 a 15 dias de tratamento). A incidência não ajustada de resposta clínica completa foi significativamente menor nos pacientes com sorologia positiva para o HIV, com esplenomegalia, com número de sinais e sintomas superior a três e com anemia. A tabela 18 mostra as variáveis que permaneceram associadas de forma significativa e independente com a chance de ocorrência do desfecho estudado no modelo final de regressão logística binária, controlando simultaneamente os potenciais fatores de confusão. A variável anemia apresentou multicolinearidade e foi excluída da análise. Os pacientes infectados pelo HIV, com esplenomegalia e com número de sinais / sintomas superior a três apresentaram chance

ajustada de resposta clínica completa significativamente menor após 10 a 15 dias de tratamento.

TABELA 16 – Associação de variáveis clínicas à resposta clínica completa em 56 pacientes com leishmaniose visceral, RMBH, 2000-2005.

Apresentação clínica antes do tratamento	Resposta clínica precoce		RR	<i>P</i>
	Sim	Não	(IC 95%)	
Febre				
Sim	17 (32,1%)	36 (67,9%)	0,96	1*
Não	1 (33,3%)	2 (66,7%)	(0,2-0,5)	
Tosse				
Sim	9 (26,5%)	25 (73,5%)	0,65	0,259
Não	9 (40,9%)	13 (59,1%)	(0,3-1,4)	
Sexo				
Masculino	16 (34,8%)	30 (65,2%)	1,74	0,474*
Feminino	2 (20%)	8 (80%)	(0,5-6,4)	
Edema				
Sim	2 (50%)	2 (50%)	1,63	0,587*
Não	16 (30,8)	36 (69,2%)	(0,6-4,7)	
Dor abdominal				
Sim	6 (35,3%)	11 (64,7%)	1,15	0,739
Não	12 (30,8%)	27 (69,2%)	(0,5-2,5)	
Icterícia				
Sim	5 (38,5%)	8 (61,5%)	1,27	0,736*
Não	13 (30,2%)	30 (69,8%)	(0,6-2,9)	
Tempo de evolução > 8 semanas				
Sim	7 (31,8%)	15 (68,2%)	1,35	0,49
Não	8 (23,5%)	26 (76,5%)	(0,6-3,2)	
Diarréia				
Sim	3 (18,8%)	13 (81,3%)	0,5	0,175
Não	15 (37,5%)	25 (62,5%)	(0,2-1,5)	
Hepatomegalia				
Sim	14 (29,8%)	33 (70,2%)	0,67	0,448*
Não	4 (44,4%)	5 (55,6%)	(0,3-1,6)	
Esplenomegalia				
Sim	9 (20,5%)	35 (79,5%)	0,27	0,001*
Não	9 (75%)	3 (25%)	(0,1-0,5)	
Linfadenomegalia				
Sim	2 (16,7%)	10 (83,3%)	0,46	0,3*
Não	16 (36,4%)	28 (63,6%)	(0,1-1,7)	
Sangramento				
Sim	1 (11,1%)	8 (88,9%)	0,31	0,245*
Não	17 (36,2%)	30 (63,8%)	(0,0-2)	
Mais que 3 sinais/sintomas				
Sim	8 (19,5%)	33 (80,5%)	0,29	0,002*
Não	10 (66,7%)	5 (33,3%)	(0,14-0,6)	

RR: risco relativo; IC: intervalo de confiança; *teste exato de Fisher.

TABELA 17 – Associação de variáveis complementares à resposta clínica completa em pacientes com leishmaniose visceral, RMBH, 2000-2005.

Parâmetros laboratoriais antes do tratamento	Resposta clínica precoce		RR	P
	Sim	Não	(IC 95%)	
Anemia				
Sim	13 (26,5%)	36 (73,5%)	0,33	0,03*
Não	4 (80%)	1 (20%)	(0,2-0,6)	
Leucopenia				
Sim	12 (26,1%)	34 (73,9%)	0,42	0,092*
Não	5 (62,5%)	3 (37,5%)	(0,2-0,86)	
Linfopenia				
Sim	9 (25,7%)	26 (74,3%)	0,62	0,257
Não	7 (41,2%)	10 (58,8%)	(0,3-1,4)	
Plaquetopenia				
Sim	10 (27,8%)	26 (72,2%)	0,83	0,743*
Não	5 (33,3%)	10 (66,7%)	(0,3-2)	
Diagnóstico parasitológico				
Sim	9 (24,3%)	28 (75,7%)	0,51	0,08
Não	9 (47,4%)	10 (52,6%)	(0,24-1,1)	
RIFI positiva				
Sim	15 (34,9%)	28 (65,1%)	1,22	1*
Não	2 (28,6%)	5 (71,4%)	(0,3-4,2)	
Infecção pelo HIV				
Sim	2 (8,7%)	21 (91,3%)	0,18	0,002
Não	16 (48,5%)	17 (51,5%)	(0,0-0,7)	

RR: risco relativo; IC: intervalo de confiança; *teste exato de Fisher.

TABELA 18 - Modelo final de regressão logística binária para resposta clínica completa após 10-15 dias de tratamento.

Variável	β	E.P.	OR ajustado (IC 95%)	P
Sorologia HIV (referência: negativa)				
Positiva	-3,14	1,19	0,04 (0,01-0,45)	0,009
Esplenomegalia (referência: não)				
Sim	-2,74	1,21	0,06 (0,01-0,69)	0,024
> 3 sinais/sintomas (referência: não)				
Sim	-2,10	0,92	0,12 (0,02-0,74)	0,022

 β : coeficiente de regressão logística; E.P: erro padrão de β ; OR= odds ratio; IC: intervalo de confiança

5. DISCUSSÃO

A prevalência do gênero masculino no presente estudo ocorreu a exemplo dos demais estudos da co-infecção *Leishmania*/HIV (PINTADO *et al.*, 2000; ROSENTHAL *et al.*, 2000; RUSSO *et al.*, 2003; SHARMA *et al.*, 2004) e a LV não associada ao HIV (BADARÓ *et al.*, 1996a; DAVIDSON *et al.*, 1999). Estudos conduzidos na Região Mediterrânea associam o predomínio de homens com a elevada proporção de usuários de drogas injetáveis neste gênero, possível fator de risco para a aquisição da infecção na Europa. Por outro lado, estudos conduzidos na África e na Índia também demonstraram predomínio do gênero masculino contudo com baixa frequência de usuários de drogas injetáveis (SHARMA *et al.*, 2004).

A prevalência do uso de drogas injetáveis entre os pacientes co-infectados (17,6%) foi mais elevada à estimativa estadual (6,1% em 2005), divulgada pelo Programa Nacional de DST/AIDS em 2006. Na Europa, o uso de drogas injetáveis é verificado na maioria dos pacientes co-infectados. Portugal (70% co-infecção versus 44% AIDS) e França (62% co-infecção versus 26% AIDS) apresentam diferença especialmente grande (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2000), fato que suscita discussões sobre um ciclo alternativo da transmissão da *Leishmania* spp. com seringas e agulhas sendo veículos para a contaminação de ambas as infecções, que Alvar *et al.* (1997) denominaram ciclo antroponótico artificial. Estudos na África, Índia e Brasil demonstraram que nos pacientes co-infectados a principal via de exposição ao HIV é a sexual (DAVIDSON *et al.*, 1999; RABELLO *et al.*, 2003; SHARMA *et al.*, 2004), portanto a LV apresenta provável transmissão vetorial nos casos de co-infecção.

A média de idade verificada no presente estudo foi compatível com os demais estudos comparativos. Estes não demonstraram diferenças entre os co-infectados e os pacientes HIV-negativos (PINTADO *et al.*, 2000; FERNÁNDEZ-GUERRERO *et al.*, 2004).

As pessoas mais vulneráveis à infecção pelo HIV e à LV apresentam baixo poder aquisitivo, fator associado à baixa escolaridade verificada no presente estudo. A maior frequência de alcoolismo entre os co-infectados ainda não foi descrita na literatura.

O diagnóstico da infecção pelo HIV foi simultâneo ao diagnóstico da LV na maioria dos pacientes no presente estudo e a co-infecção *Leishmania*/HIV ocorreu com mais frequência em pacientes gravemente imunossuprimidos, situação em que a maioria dos pacientes brasileiros são diagnosticados como portadores do HIV (GABRIEL *et al.*, 2005).. Orsini (2003) demonstrou que a HAART pode ser fator de proteção para o desenvolvimento da LV nos pacientes portadores de HIV/AIDS, portanto os pacientes infectados pelo HIV e ainda não diagnosticados parecem ser mais vulneráveis à co-infecção.

Mais da metade dos pacientes co-infectados apresentaram AIDS. As infecções oportunistas mais freqüentes foram candidíase oral, tuberculose e herpes zoster. As séries de casos de co-infecção publicadas mostraram que a grande maioria dos pacientes apresenta condições definidoras de AIDS no momento do diagnóstico da LV (MEDRANO *et al.*, 1998; PINTADO *et al.*, 2000; ROSENTHAL *et al.*, 2000; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2000; RUSSO *et al.*, 2003; SHARMA *et al.*, 2004; LÓPEZ-VÉLEZ *et al.*, 2004; PASQUAU *et al.*; 2005).

De maneira semelhante ao relatado por outros autores, a contagem mediana de linfócitos T CD4 no presente estudo foi baixa e menor que 200 céls/mm³ em três quartos dos pacientes co-infectados (MEDRANO *et al.*, 1998; ROSENTHAL *et al.*, 2000; PINTADO *et al.*, 2001; RUSSO *et al.*, 2003; SHARMA *et al.*, 2004; LÓPEZ-VÉLEZ *et al.*, 2004; PASQUAU *et al.*; 2005).

A redução de incidência da co-infecção após o surgimento da HAART, a ocorrência da co-infecção em pacientes com CD4 menor que 200 céls/mm³, a tendência à reativação em imunossupressão, o curso clínico modificado pela infecção pelo HIV e a possível redução da incidência com quimioprofilaxia secundária suscitam debates sobre a inclusão da LV como doença definidora de AIDS pelo CDC, sobretudo advogada pelos autores europeus. Atualmente, a LV em adultos é definida como condição definidora de imunossupressão pelo Programa Nacional de DST/AIDS (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006e).

O perfil de complicações infecciosas identificado nos dois grupos de pacientes mostrou grande variabilidade, com predomínio de pneumonia e sinusite e foi compatível com o anteriormente descrito (ANDRADE *et al.*, 1990; PEARSON & SOUZA, 1996; DAVIDSON, 1999).

O tempo do início dos sintomas até a admissão (oito semanas) foi compatível com o determinado em outro estudo (seis semanas), publicado por Pintado *et al.* (2001). A exemplo do estudo conduzido por este autor, a presença da infecção pelo HIV não alterou este dado.

O exame clínico inicial registrou quadro clínico semelhante entre os pacientes co-infectados e pacientes não infectados pelo HIV. A apresentação clínica de ambos os grupos contou com a tríade clássica descrita: febre, visceromegalia e anemia/citopenias.

Não houve diferença significativa em relação às manifestações clínicas presentes à admissão.

Embora tenha sido relatada maior freqüência de diarreia (LÓPEZ-VÉLEZ *et al.*, 1998) e linfadenomegalia (PINTADO *et al.*, 2001) entre os pacientes co-infectados, a apresentação clínica via de regra é semelhante à classicamente descrita para a LV.

Alguns estudos verificaram menor ocorrência de esplenomegalia e febre entre co-infectados quando comparados aos pacientes não infectados pelo HIV (PINTADO *et al.*, 2001; RUSSO *et al.*, 2003; SHARMA *et al.*, 2004; PASQUAU *et al.*, 2005), no entanto o presente estudo não demonstrou estas diferenças.

As alterações laboratoriais detectadas na abordagem inicial no presente estudo se mostraram compatíveis com as anteriormente descritas (ROSENTHAL *et al.*, 1995; LÓPEZ-VÉLEZ *et al.*, 1998; PINTADO *et al.*, 2001; FERNÁNDEZ-GUERRERO *et al.*, 2004). Na análise comparativa, os pacientes co-infectados apresentaram maior frequência de linfopenia, hiperglobulinemia e hipoalbuminemia.

A linfopenia se justifica pelo mecanismo fisiopatológico da AIDS, que consiste em depleção de linfócitos T CD4. Esta população de linfócitos equivale a aproximadamente 20% dos linfócitos totais e sua queda naturalmente se traduz em linfopenia. Este achado foi compatível com os achados verificados por Pintado *et al.* (2001).

A hiperglobulinemia possivelmente se deve à ativação policlonal de linfócitos B provocadas pela AIDS e a hipoalbuminemia pode ser justificada pelo estado nutricional dos pacientes.

A positividade do diagnóstico parasitológico não diferiu entre os pacientes co-infectados e HIV-negativos. A sensibilidade do exame do aspirado medular no paciente com LV não associada ao HIV varia de 52 a 89% (ZIJLSTRA *et al.*, 1992) e de 62 a 93% na co-infecção (LÓPEZ-VÉLEZ *et al.*, 1998; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2000). Pintado *et al.* (2001) não encontraram diferenças de sensibilidade da punção de medula óssea em estudo comparativo, embora o aproveitamento do exame parasitológico tenha se mostrado maior nos co-infectados em outros estudos (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2000; ROSENTHAL *et al.*, 2000). Fernández-Guerrero *et al.* (2003) encontraram sensibilidade de punção de medula óssea menor nos pacientes portadores do HIV, em estudo comparativo entre co-infectados e pacientes com LV associado a outras imunodeficiências e justificou o fato à hipoplasia medular relativamente freqüente nos pacientes com AIDS.

No presente estudo, não foram pesquisados parasitos em sítios atípicos. O isolamento de parasitos no trato gastrointestinal, pulmões, linfonodos e amígdalas já foi relatado em outros estudos (ROSENTHAL *et al.*, 2000; PASQUAU *et al.*, 2005). Nota-se que em muitos destes estudos o encontro do parasito foi um achado durante a propedêutica para outras patologias.

A sensibilidade da RIFI foi significativamente inferior nos pacientes co-infectados no presente estudo, quando comparada à sensibilidade do grupo de pacientes imunocompetentes

(45,5% versus 86,4%). A baixa positividade desta técnica na co-infecção foi descrita por Medrano *et al.* (1992 e 1998), Pintado *et al.* (2000), Deniau *et al.* (2003), Pasquau *et al.* (2005) e Malik *et al.* (2006) e é associada à incapacidade do paciente infectado pelo HIV organizar resposta humoral eficiente contra o parasito. Em nosso meio, Rabello *et al.* (2003) verificaram menor frequência de positividade da sorologia na co-infecção.

A pesquisa do anticorpo anti-rK39 apresentou sensibilidade mais baixa nos pacientes co-infectados mas esta diferença não foi estatisticamente significativa (50% versus 92,3%, $p=0,052$). Estudos anteriores demonstraram positividade de 22 a 100% deste método na co-infecção *Leishmania*/HIV (HOUGHTON *et al.*, 1998; MEDRANO *et al.*, 1998; DENIAU *et al.*, 2003, VIANA, 2006). A sensibilidade deste teste nos pacientes HIV-negativos foi semelhante a descrita em outros estudos (BURNS *et al.*, 1993; BADARÓ *et al.*, 1996; BRÁZ *et al.*, 2002).

Entre os pacientes co-infectados, houve associação entre a positividade do anti-rK39 e a ausência de infecções oportunistas todavia a sensibilidade não se associou à contagem de linfócitos T CD4. De fato, a expressão clínica da imunossupressão é a ocorrência de infecções oportunistas, que ocorrem com mais frequência em portadores do HIV com linfócitos T CD4 menor que 200 céls/mm^3 mas não estritamente neles. É sabido que a imunodeficiência progressiva na infecção pelo HIV está associada a alterações quantitativas e qualitativas no repertório de linfócitos T CD4 e que a depleção de linfócitos T CD4 de memória (CD45RA-) está associada a menor resposta a antígenos (Bartlett & Gallant, 2004).

A mudança ou interrupção do tratamento devido à incidência de reações adversas graves ou ausência de resposta terapêutica não foi modificada pelo *status* sorológico do HIV. Delgado *et al.* (1999) verificou incidência de reações adversas em 56% de pacientes co-infectados, motivando a suspensão do antimonial pentavalente em 28% dos pacientes. Em estudo comparativo publicado por Pintado *et al.* (2001), a interrupção do tratamento com antimoniais foi necessária em 18,5% dos pacientes co-infectados e em apenas 2,5% nos pacientes HIV negativos.

Apesar da semelhança da apresentação clínica e laboratorial inicial entre os pacientes infectados e não infectados pelo HIV, após 10 a 15 dias de tratamento observou-se aumento nestas diferenças. Cerca de 26% de os pacientes co-infectados persistiram febris, normalmente o primeiro sinal a desaparecer com a instituição do tratamento (TAB. 11). Normalmente, o desaparecimento da febre é precoce e ocorre por volta do 5º dia (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006a).

Os dados dos exames laboratoriais após 10 a 15 dias de tratamento, quando comparados entre os grupos, demonstraram diferenças importantes. Os níveis de hemoglobina, a leucometria global, a linfometria e a contagem de eosinófilos foram significativamente menores nos pacientes co-infectados (TAB. 11)

A avaliação de manifestações clínicas e alterações em exames complementares após 10 a 15 dias de tratamento ainda não foram reportadas na literatura mas diversos estudos demonstraram maior frequência de falência terapêutica na co-infecção *Leishmania*/HIV ao término do tratamento, independente da medicação utilizada (PINTADO *et al.*, 2001; FERNÁNDEZ-GUERRERO *et al.*, 2003).

Eosinofilia no final do tratamento está associada à resposta terapêutica (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006a). De fato, os pacientes co-infectados, que responderam pior ao tratamento, apresentaram níveis menores de eosinófilos após o início do tratamento (TAB. 11).

O presente estudo não demonstrou diferenças de letalidade da LV entre os pacientes infectados e não infectados pelo HIV, embora diversos autores tenham relatado letalidade de 15,6% a 21% (SHARMA *et al.*, 2004; PASQUAU *et al.*, 2005) na co-infecção. Comparações da taxa de letalidade são difíceis devido aos múltiplos fatores que influenciam a evolução de ambas as doenças.

A ausência de resposta terapêutica completa após 10-15 dias de tratamento específico esteve associada à infecção pelo HIV, número de manifestações clínicas igual ou superior a três e presença de esplenomegalia.

Não foram encontradas na literatura relações entre a ocorrência de esplenomegalia e a resposta terapêutica. A variável tempo, que pode se correlacionar com esplenomegalia, não esteve associada à falta de resposta terapêutica precoce. Sabe-se que a plaquetopenia é fator determinante de má evolução (LÓPEZ-VÉLEZ *et al.*, 1998) e está muitas vezes associada à esplenomegalia mas a variável plaquetopenia também não esteve associada à ausência de resposta terapêutica, de maneira que este resultado não pode ser explicado no presente estudo.

6. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

O presente trabalho, como a maioria dos estudos retrospectivos, apresentou limitações inerentes à utilização de informações não sistematizadas. As maiores dificuldades encontradas foram a falta de registro de dados do exame clínico e a difícil interpretação da grafia de alguns profissionais. A grande perda de dados após o término do tratamento (por alta ou por baixa qualidade de registro) invalidou a determinação do êxito terapêutico e da letalidade.

A unidade hospitalar investigada apresenta problemas em relação aos recursos propedêuticos, o que dificulta o diagnóstico etiológico de infecções oportunistas. Muitas doenças receberam diagnóstico presuntivo. Em razão disto, manifestações atribuídas à LV podem se dever a outras enfermidades, posto que é comum a sobreposição de infecções no paciente gravemente imunossuprimido. Por outro lado, o Hospital Eduardo de Menezes conta com corpo clínico experiente e é possivelmente mais resolutivo para o manejo das doenças infecciosas do que a maioria das demais unidades hospitalares públicas da RMBH. Este fato restringe a validade externa do presente estudo.

Muitos pacientes faleceram ou tiveram alta para a continuidade do tratamento e/ou seguimento em unidades próximas aos domicílios deles, não permitindo o acesso a informações adicionais acerca da evolução da doença.

A resposta terapêutica é mais adequadamente definida quando o exame clínico e os exames complementares são realizados após o término de todo o tratamento. A resposta terapêutica precoce foi diferente entre os grupos mas não há evidências que esta variável seja preditora de sucesso terapêutico. Ademais, não houve uniformidade quanto as drogas prescritas e as dosagens, limitando o valor das comparações.

A casuística não foi grande o suficiente para demonstrar ou refutar outras diferenças reportadas em outros estudos, como na sensibilidade do anti-rK39 (ELISA) e do exame parasitológico, além da frequência de febre, linfadenomegalia e esplenomegalia.

A representatividade do Centro de Treinamento e Referência em Leishmanioses / CPqRR foi prejudicada pela pequena amostra procedente deste centro. Apenas uma pequena proporção dos casos possuía resultado de teste anti-HIV, sobretudo naquele centro e este resultado foi critério de inclusão. Deste modo, a validade interna do presente estudo deve ser vista com reservas.

Um viés de seleção pode ter ocorrido pelo o fato de ambas as unidades serem referência em leishmanioses e conduzirem casos mais complicados. A necessidade de se ter resultado anti-HIV também pode ter selecionado os casos mais graves, o que também compromete a validação externa deste estudo.

A categoria de exposição ao HIV não foi sistematicamente registrada em prontuário, com perdas lastimáveis quando à prevalência de uso de drogas injetáveis.

A demonstração do parasito, que é considerado o padrão-ouro do diagnóstico, só foi possível em 61,5% dos pacientes, o que abre a possibilidade de exames sorológicos falso-positivos e erro de diagnóstico, posto que o quadro clínico da LV é semelhante a diversas infecções oportunistas como micobacterioses, histoplasmose disseminada e febre tifóide.

7. CONCLUSÕES

No presente estudo, não houve diferenças da apresentação clínica da leishmaniose visceral entre portadores e não portadores do HIV, sendo considerada típica em todos os casos de co-infecção *Leishmania*/HIV.

Os pacientes co-infectados apresentaram maior frequência alcoolismo, hipergamaglobulinemia, hipoalbuminemia e linfocitopenia em relação aos pacientes não portadores do HIV. A linfocitopenia, além de mais freqüente, foi mais intensa nos pacientes co-infectados.

Os pacientes diagnosticados com a co-infecção *Leishmania*/HIV apresentaram tendência à persistirem sintomáticos após 10 a 15 dias de tratamento.

A infecção pelo HIV, a presença de três ou mais manifestações clínicas e a esplenomegalia estiveram associadas à ausência de resposta clínica completa após 10 a 15 dias de tratamento.

A reação de imunofluorescência indireta apresentou menor positividade nos pacientes infectados pelo HIV, quando comparados com os pacientes não infectados pelo HIV.

As positividades do exame parasitológico e da pesquisa do anticorpo contra o antígeno rK39 não foram diferentes entre os pacientes infectados e não infectados pelo HIV.

A associação da pesquisa do anticorpo anti-rK39 (ELISA) com o exame parasitológico ou com a reação de imunofluorescência indireta foi igualmente sensível entre os pacientes infectados e não infectados pelo HIV.

9- REFERÊNCIAS

1. ABDALLAH, K. A.; NOUR, B. Y.; SCHALLIG, H. D.; MERGANI, A.; HAMID, Z.; ELKARIM, A. A.; SAEED, O. K.; MOHAMADANI, A. A. Evaluation of the direct agglutination test based on freeze-dried *Leishmania donovani* promastigotes for the serodiagnosis of visceral leishmaniasis in Sudanese patients. **Trop. Med. Int. Health**, v. 9, n. 10, p. 1127-1131, 2004.
2. ALAM M.J., RAHMAN K.M., ASNA S.M., MUAZZAM N., AHMED I., CHOWDHURY M.Z. Comparative studies on IFAT, ELISA & DAT for serodiagnosis of visceral leishmaniasis in Bangladesh. **Bangladesh Med Res Counc Bull**, 22(1):27-32, 1996.
3. ALLAN, J. S.; COLIGAN, J. E.; BARIN, F.; MCLANE, M. F.; SODROSKI, J. G.; ROSEN, C. A.; HASELTINE, W. A. LEE, T. H.; ESSEX, M. Major glycoprotein antigens that induce antibodies in AIDS patients are encoded by HTLV-III. **Science**, v. 228, p. 1091-1094, 1985.
4. ALVAR, J.; CAÑAVATE, C.; GUTIÉRREZ-SOLAR, B.; JIMÉNEZ, M. I.; LAGUNA, F.; LÓPEZ-VÉLEZ, R. *et al.* Leishmania and human immunodeficiency virus coinfection: the first 10 years. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 10, p. 298-319, 1997.
5. ALVAR, J.; GUTIÉRREZ-SOLAR, B.; MOLINA, R.; LÓPEZ-VÉLEZ, R.; GARCÍA-CAMACHO, A.; MARTÍNEZ, P. *et al.* Prevalence of *Leishmania* infection among AIDS patients. **Lancet**, v. 339, p. 264-265, 1992.
6. ANDRADE C.R., NASCIMENTO A.E., MOURA P.M., ANDRADE P.P. *Leishmania donovani donovani* and *Leishmania donovani chagasi* as antigens in a direct agglutination assay for the diagnosis of kala-azar. **Braz J Med Biol Res**;22(5):611-5, 1989.
7. ARONSON, N. E.; WORTMAN, G. W.; JOHNSON, S. C. *et al.* Safety and efficacy of intravenous sodium Stibogluconate in the treatment of leishmaniasis: recent US Military experience. **Clin Infect Dis**, v. 27, p. 1457-1464, 1998.
8. AUTRAN, B.; CARCELAIN, G.; LI, T. S.; BLANC, C.; MATHEZ, D.; TUBIANA, R. *et al.* Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4+ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. **Science**, v. 277, p. 112-116, 1997.
9. BADARÓ R, BENSON D, EULALIO MC, FREIRE M, CUNHA S, NETTO EM, *et al.* rK39: a cloned antigen of *Leishmania chagasi* that predicts active visceral leishmaniasis. **J Infect Dis**, v. 173, v. 758-761, 1996.
10. BADARÓ, R.; DUARTE, M. I. S. Leishmaniose visceral (Calazar). In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. (Eds). *Tratado de Infectologia*. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2002.
11. BADARÓ, R.; FALCOFF, E.; BADARO, F. S.; CARVALHO, E. M.; PEDRAL-SAMPAIO, D.; BARRAL, A. *et al.* Treatment of visceral leishmaniasis with pentavalent antimony and interferon. **N. Engl. J. Med.**, v. 322, p. 16-21, 1990.
12. BADARÓ, R.; JONES, T. C.; CARVALHO, E. M. *et al.* New perspectives on a subclinical form of visceral leishmaniasis. **J Infect Dis**, v. 154, n. 6, p. 1003-1011, 1986.

13. BADARÓ, R.; JONES, T. C.; LORENCO, R.; CERF, B. J.; SAMPAIO, D.; CARVALHO, E. M.; ROCHA, H.; TEIXEIRA, R.; JOHNSON JR, W. D. A prospective study of visceral leishmaniasis in a endemic area of Brazil. **J Infect Dis**, p[v. 154, n. 4, p. 639-648, 1986.
14. BARRE-SINOUSI, F.; CHERMANN, J. C.; REY, F.; NUGEYRE, M. T.; CHAMARET, S.; GRUEST, J.; DAUGUET, C.; AXLER-BLIN, C.; VEZINET-BRUN, F.; ROUZIOUX, C.; ROZENBAUM, W.; MONTAGNIER, L. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science**, v. 220, n. 4599, p. 868-871, May 1983.
15. BARTLETT, J. G.; GALLANT, J. E. **Tratamento Clínico da Infecção pelo HIV**. Baltimore: Johns Hopkins Medicine Health Publishing Business Group, 2004. 406p.
16. BERENGUER, J.; COSIN, J.; MIRALLES, P.; LOPEZ, J. C.; PADILLA, B. Discontinuation of secondary anti-Leishmania prophylaxis in HIV-infected patients who have responded to highly active antiretroviral therapy. **AIDS**, v. 14, n. 18, p. 2946-2948, 2000.
17. BERHE, N. ; WOLDAY, D. ; HAILU, A. ; ABRAHAM, Y. ; ALI, A. ; GEBRE-MICHAEL, T. et al. HIV viral load and response to antileishmanial chemotherapy in co-infected patients. **AIDS**, v. 13, p. 1921-1925, 1999.
18. BERMAN, J. D. Human leishmaniasis: Clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. **Clin Infect Dis**, v. 24, p. 684-703, Apr. 2005.
19. BERN C.; JHA S. N., JOSHI A. B., THAKUR G. D., BISTA M. B. Use Of The Recombinant K39 Dipstick Test And The Direct Agglutination Test In A Setting Endemic For Visceral Leishmaniasis In Nepal. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 63(3, 4):153-157, 2000.
20. BERNIER, R.; TURCO, S. J.; OLIVIER, M.; TREMBLAY, M. Activation of human immunodeficiency virus type 1 in monocytoid cells by the protozoan parasite *Leishmania donovani*. **J. Virol.**, v. 69, p. 7282-7285, 1995.
21. BORGES, A. S.; MACHADO, A. A.; FERREIRA, M. S.; FIGUEIREDO, J. F. C.; SILVA, G. F.; CIMERMAN, S.; BACHA, H. A.; TEIXEIRA, M. C. L. Concurrent leishmaniasis and human immunodeficiency virus (HIV) infection: a study of four cases. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 32, n. 6, p. 713-719, Nov./Dec. 1999.
22. BOSSOLASCO, S.; GAIERA, G.; OLCINI, D.; GULLETTA, M.; MARTELLO, L.; BESTETTI, A. *et al.* Real-time PCR assay for clinical management of human immunodeficiency virus-infected patients with visceral leishmaniasis. **J. Clin. Microbiol.**, v.41, p. 5080-5084, 2003.
23. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Nota técnica – Vacina Anti-leishmaniose visceral canina – Leishmune. Brasília, 2005.
24. _____ Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN). Disponível em: <<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/index.php?name=Tnet>>. Acesso em 23/02/07.

25. _____ Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília, 2006. (a)
26. _____ Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Leishmaniose Visceral Grave: Normas e Condutas**. Brasília, 2006. (b)
27. _____ Ministério da Saúde. Programa Nacional de DST/AIDS. Disponível em <<http://www.aids.gov.br/data/Pages/LUMIS13F4BF21PTBRIE.htm>>. Acesso em: 28/11/2006. (c)
28. _____ Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico Aids e DST – ano III – nº 1. Janeiro a junho de 2006. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/data/Pages/LUMISD3352823PTBRIE.htm>>. Acesso em: 19/12/2006. (d)
29. _____ Ministério da Saúde. **Recomendações para Terapia Anti-Retroviral em Adultos e Adolescentes Infectados pelo HIV, 2006**. Disponível em:<[Twww.aids.gov.br/final/biblioteca/adulto_2006/consenso.doc](http://www.aids.gov.br/final/biblioteca/adulto_2006/consenso.doc)>. Acesso em 12/11/2006. (e)
30. _____ Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema Nacional de Agravos de Notificação. Disponível em: <<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/index.php?name=Tnet>>. Acesso em 23/02/07.
31. _____ Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Recomendações para o Diagnóstico, Tratamento e Acompanhamento da Co-infecção *Leishmania*/HIV (2005). Disponível em: <http://dtr2001.saude.gov.br/editora/produtos/livros/pdf/04_0005_M.pdf>. Acesso em 22/11/2006.
32. BRAZ, R. F.; NASCIMENTO, E. T.; MARITNS, D. R.; WILSON, M. E.; PEARSON, R. D.; REED, S. G.; JERONIMO, S. M. The sensitivity and specificity of *Leishmania chagasi* recombinant K39 antigen in the diagnosis of American visceral Leishmaniasis and in differentiating active from subclinical infection. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 67, n. 4, p. 344-348, 2002.
33. BRITTO, N.; GADELHA, P.; NUÑES, R.; GOLDSCHMIDT, R. *et al.* Leônidas Deane: adventures in research. **Hist. Cienc. Saúde-Manguinhos**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, 1994. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-59701994000100016&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 16/12/06.
34. BURNS J.M.JR., SHREFFLER W. G., BENSON D. R., GHALIB H.W., BADARÓ R. , REED S.G. Molecular Characterization of a Kinesin-Related Antigen of *Leishmania chagasi* that Detects. **PNAS** 1993;90;775-779.
35. BYERS JR, R. H.; MORGAN, W. M.; DARROW, W. W.; DOLL, L.; JAFFE, H. W.; RUTHERFORD, G.; HESSOL, N.; O'MALLEY, P. M. Estimating aids infection rates in the San Francisco cohort. **AIDS**, v. 2, n. 3, p. 207-210, Jun. 1988.

36. CACOPARDO, B.; NIGRO, L.; PREISER, W.; FAMA, A.; SATARIANO, M. I.; BRANER, J. *et al.* Prolonged Th2 cell activation and increased viral replication in HIV-Leishmania co-infected patients despite treatment. **Transactions of Royal Society and Tropical Medicine & Hygiene**, v. 90, p. 434-435, 1996.
37. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Current Trends Update on Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) --United States. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001163.htm>>. Acesso em 23/11/07.
38. _____ **1993 Revised Classification System for HIV Infection and Expanded Surveillance Case Definition**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/MMWR/preview/MMWRhtml/00018871.htm>>. Acesso em 06/12/2006.
39. _____ **Pneumocystis Pneumonia – Los Angeles. MMWR Epidemiologic notes and Reports**. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/june_5.htm>. Acesso em: 22/01/07.
40. _____ **Opportunistic Infections and Kaposi's Sarcoma among Haitians in the United States**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001123.htm>>. Acesso em 02/12/2006.
41. _____ **Treating Opportunistic Infection among HIV-infected Adults and Adolescents. MMWR Recommendations and Reports**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5315a1.htm>> . Acesso em 20/11/2006.
42. CHICHARRO, C.; JIMÉNEZ, M. I.; ALVAR, J. Iso-enzymatic variability of *Leishmania infantum* in Spain. **Trop Med Parasitol**, v. 97, p. S57-S64, 2003.
43. CHULAY, J. D.; ADOYO, M. A.; GITHURE, J. I. *Leishmania donovani* parasitemia in Kenyan visceral Leishmaniasis. **Trans. Rev. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 79, p. 218-222, 1985.
44. CLAVEL, F.; GUETARD, D.; BRUN-VEZINET, F.; CHAMARET, S.; REY, M.; SANTOS-FERREIRA, M. O.; LAURENT, A. G.; DAUGUET, C.; KATLAMA, C.; ROUZIOUX, C. *et al.* Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. **Science**, v. 233, n. 4761, p. 343-346, 1986.
45. CLEVENBERGH, P.; OKOME, M. N.; BENOIT, S.; BENDINI, J. C.; DE SALVADOR, F.; ELBEZE, M. *et al.* Acute renal failure as initial presentation of visceral leishmaniasis in an HIV-1-infected patient. **Scand. J. Infect. Dis.**, v. 34, p. 546-547, 2002.
46. COLLIER, A. C.; COOMBS, R. W.; SCHOENFELD, D. A.; BASSETT, R. L.; TIMPONE, J.; BARUCH, A.; JONES, M.; FACEY, K.; WHITACRE, C.; MCAULIFFE, V. J.; FRIEDMAN, H. M.; MERIGAN, T. C.; REICHMAN, R. C.; HOOPER, C.; COREY, L. Treatment of human immunodeficiency virus infection with saquinavir, zidovudine and zalcitabine. AIDS Clinical Trials Group. **N. Engl. J. Med.**, v. 334, n. 16, p. 1011-1016, Apr. 1996.
47. COURA, J. R.; CASTRO, B. G.; GRIMALDI, G. Disseminated American Cutaneous Leishmaniasis in a Patient with AIDS. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v. 82, n. 4, p. 581-582, 1987.

48. CROFT, S. L.; COOMBS, G. H. Leishmaniasis– current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. **Trends Parasitol**, v. 19, n. 11, 2003.
49. CRUZ I., NIETO J., MORENO J., CAÑAVATE C., DESJEUX P. & ALVAR J. *Leishmania*/HIV co-infections in the second decade. **Indian J Med Res** v.123, p.357-388, 2006.
50. CRUZ, I.; MORALES, M. A.; NOGUER, I. *et al.* Leishmania in discarded syringes from intravenous drug users. **Lancet**, v. 359, p. 1124-1125, 2002.
51. DA-CRUZ A.M., MACHADO E.S., MENEZES J.A., RUTOWITSCH M.S., COUTINHO S.G. Cellular and humoral immune responses of a patient with American cutaneous leishmaniasis and AIDS. **Trans R Soc Trop Med Hyg** 1992; 86 : 511-2.
52. DAVIDSON, R. N.; DIMARTINO, L.; GRADONI, L.; GIACCHINO, R.; RUSSO, R.; GAETA, G. B. *et al.* Liposomal amphotericin B (AmBisome) in mediterranean visceral leishmaniasis: a multi-centre trial. **Quaterly J. Med.**, v. 87, p. 75-81, 1994.
53. DE LA ROMA, A.; ALVAR, J.; MARTÍNEZ-GALIANO, E.; BLÁZQUEZ, J.; ALCALÁ-MUÑOZ, A.; NÁJERA, R. Leishmaniasis or AIDS? **Rev. Soc. Trop. Méd. Hyg.**, v. 79, p. 421-422, 1985.
54. DE LA ROSA, R.; PIÑEDA, J. A.; DELGADO, J.; MACÍAS, J.; MORILLAS, F.; MIRA, J. A.; *et al.* Incidence of and risk factors for symptomatic visceral leishmaniasis among human immunodeficiency virus type 1-infected patients from Spain in the era of highly active antiretroviral therapy. **J. C. Microbiol.**, v. 40, p. 762-767, 2002.
55. DEL GIUDICE P, MARY-KRAUSE M, PRADIER C, GRABAR S, DELLAMONICA P, MARTY P, *ET AL.* Impact of highly active antiretroviral therapy on the incidence of visceral leishmaniasis in a French cohort of patients infected with human immunodeficiency virus. **J Infect Dis** 2002; 186: 1366-70.
56. DELGADO, J.; MACÍAS, J.; PIÑEDA, J. A.; CORZO, J. A.; GONZÁLEZ-MORENO, M. P.; DE LA ROSA R. *et al.* High frequency of serious side effects from meglumine antimoniate given without an upper limit dose for the treatment of visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus type-1-infected patients. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 61, p. 766-769, 1999.
57. DENIAU M., CAÑAVATE C., FARAUT-GAMBARELLI F., MARTY P. The biological diagnosis of leishmaniasis in HIV-infected patients. **AnnTrop Med Parasitol.** V. 97 (1), p115-134, 2003.
58. DESJEUX, P.; ALVAR, J. Leishmania/HIV co-infections: epidemiology in Europe. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v. 97, p. S3-S15, 2003.
59. DISCH J., MACIEL F.C., DE OLIVEIRA M.C., ORSINI M., RABELLO A. Detection of circulating *Leishmania chagasi* DNA for the non-invasive diagnosis of human infection. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 97(4), p.391-5, 2003.
60. DISCH J., OLIVEIRA M.C., ORSINI M., RABELLO A. Rapid clearance of circulating *Leishmania* kinetoplast DNA after treatment of visceral leishmaniasis. **Acta Trop**, v.92(3):279-83, 2004.

61. DISCH, J.; MACIEL, F. C.; OLIVEIRA, M. C.; ORSINI, M.; RABELLO, A. Detection of circulating *Leishmania chagasi* DNA for the non-invasive diagnosis of human infection. **Transactions of the Royal Institute of Tropical Medicine and Hygiene**, 2003.
62. DOURADO, I.; VERAS, M. A.; BARREIRA, D.; BRITO, A. M. Tendências da epidemia de AIDS no Brasil após a terapia anti-retroviral. **Rev. Saúde Pública**, v. 40, supl., p. 9-17, 2006.
63. DUARTE, M. I.; DA MATTA, V. L.; CORBETT, C. E.; LAURENTI, M. D.; CHEBABO, R.; GOTO, H. Interstitial pneumonitis in human visceral leishmaniasis. **Trans R Trop Med Hyg**, v. 83, n. 1, p. 73-76, Jan./Feb. 1989.
64. DUTRA, M.; MARTINELLI, R.; CARVALHO, M.; RODRIGUES, L.; BRITO, E.; ROCHA, H. Renal involvement in visceral leishmaniasis. **Am. J. Kidney Dis**, v. 6, p. 22-27, 1985.
65. DUXBURY, R. E.; SADUN, E. H. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of visceral Leishmaniasis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 13, p. 525-529, 1964.
66. DYBUL, M. ; CONNORS, M. ; FAUCI, S. A. ; MANDELL, G. L. BENNETT, J. E.; DOLI, R. A imunologia da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana. In: NADLER, J. **Princípios e Práticas em Doenças Infecciosas**. 6. ed. Editora Elsevier, 2006.
67. EL HARITH A., KOLK A., LEEUWENBURG J., MUIGAI R., HUIGEN E., JELSMA T., KAGER P.A.. Improvement of a direct agglutination test for field studies of visceral leishmaniasis. **J Clin Microbiol**, v. 26(7), p.1321-5, 1998.
68. FAUCI, A. S. HIV and AIDS: 20 years of science. **Nat Med**, v. 9, n.7, p. 839-843, 2003.
69. FAUCI, A. S.; PANTALEO, G.; STANLEY, S.; WEISSMAN, D. Immunopathogenic mechanisms of HIV infection. **Ann. Intern. Med.**, v. 124, p. 654-663, 1996.
70. FERNÁNDEZ COTARELO, M. J.; ABELLÁN MARTINEZ, J.; GUERRA VALES, J. M. *et al.* Effect of Highly Active Antiretroviral Therapy on the Incidence and Clinical Manifestations of Visceral Leishmaniasis in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients. **Clin Infect Dis**, v. 37, p. 973-977, 2003.
71. FERNANDEZ-GUERRERO M.L., ROBLES P., RIVAS P., MOJER F., MUNIZ G., DE GORGOLAS M. Visceral leishmaniasis in immunocompromised patients with and without AIDS: a comparison of clinical features and prognosis. **Acta Trop**, v. 90(1), p.11-6, 2004.
72. FISCHL, M. A.; RICHMAN, D. D.; GRIECO, M. H.; GOTTLIEB, M. S.; VOLBERDING, P. A.; LASKIN, O. L.; LEEDOM, J. M.; GROOPMAN, J. E.; MILDVAN, D. SCHOOLEY, R. T. *et al.* The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial. **N. Engl. J. Med.**, v. 317, n. 4, p. 185-191, 1987.

73. FISSORE, C.; DELAUNAY, P.; FERRUA, B.; ROSENTHAL, E.; DEL GIUDICE, P.; AUFEUVRE, J. P.; LE FICHOUX, Y.; MARTY, P. Convenience of Serum for Visceral Leishmaniasis Diagnosis by PCR. **Clin. Microbiol.**, v. 42, n. 11, p. 5332-5333, 2004.
74. FOGLIA MANZILLO V., OLIVA G., PAGANO A., MANNA L., MAROLI M., GRADONI L. Deltamethrin-impregnated collars for the control of canine leishmaniasis: evaluation of the protective effect and influence on the clinical outcome of Leishmania infection in kennelled stray dogs. **Vet Parasitol**, v. 142(1-2):142-5, 2006.
75. GABRIEL, R.; BARBOSA, D.A; VIANNA, L.A. Epidemiological profile of outpatients with HIV/AIDS at a school hospital: São Paulo city. **Rev. Latino-Am. Enfermagem.**, Ribeirão Preto, v. 13, n. 4, 2005.
76. GALLO, R. C. ; MONTAGNIER, J. L. The Discovery of HIV as the Cause of AIDS. **N. Engl. J. Med.**, v. 349, v. 24, p. 2283-2285, 2003.
77. GALLO, R.C. Historical essay. The early years of HIV/AIDS. **Science**, v. 298, p. 1728-1730, 2002.
78. GARRETT, L. A próxima peste: Novas doenças num mundo em desequilíbrio. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira, 1995. 708p.
79. GEA-BANACLOCHE, J. C.; LANE, H. C. Lymphocyte turnover in the setting of HIV infection. **Immunologist.**, v. 7, p. 124-131, 1999.
80. GENARO O, DA COSTA CA, WILLIAMS P, SILVA JE, ROCHA NM, LIMA SL, MAYRINK W. Occurrence of kala-azar in the urban area of Grande Belo Horizonte, Minas Gerais. **Rev. Soc. Bras. Med. Tropical**, v. 23, n. 2, p. 121, 1990.
81. GENARO, O. Leishmaniose visceral. In: NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. (Eds.). *Parasitologia humana*. 10. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2000. p. 56-72.
82. GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.
83. GORDIS L. Avaliação da validade e da confiabilidade dos testes diagnósticos e de rastreamento. In: Gordis L. (ed.). *Epidemiologia, segunda edição*. Rio de Janeiro: Livraria e Editora Revinter Ltda., 2004, pp. 63-81.
84. GOTTLIEB G.S, SOW P.S, HAWES S.E., NDOYE I, REDMAN M, COLL-SECK A.M., FAYE-NIANG M.A., DIOP A., KUYPERS L.M., CRITCHLOW C.W., RESPESS R., MULLINS J.I., KIVIAT N.B. Equal plasma viral loads predict a similar rate of [CD4.sup.+] T cell decline in human immunodeficiency virus (HIV) Type 1- and HIV-2-infected individuals from senegal, West Africa. **J Infect Dis**, v. 185 (7), p. 905(10), 2002.
85. GOUGEON, M. L.; MONTAGNIER, L. Programmed cell death as a mechanism of CD4 and CD8 T cell deletion in AIDS: Molecular control and effect of highly active anti-retroviral therapy. **Annals NY Academy of Science**, v. 887, p. 199-212, 1999.

86. GRAMICCIA, M.; SCALONE, A.; GRADONI, L. HIV-Leishmania coinfections in Italy: serological data as an indication of the sequence of acquisition of the two infections. **Transactions of Royal Society and Tropical Medicine & Hygiene**, v. 87, p. 94-96, 1993.
87. GRIMALDI, G.; TESH, R. B.; MACMAHON-PRATT, D. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the new world. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 41, n. 6, p. 687-725, 1989.
88. GUIMARÃES DE CARVALHO S.F. XXI Reunião Anual de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas e Leishmanioses, realizada de 21 a 23 de outubro de 2005, em Uberaba – MG. Informação verbal.
89. GURTLER, L. Difficulties and strategies of HIV diagnosis. **Lancet**, v. 348, n. 9021, p. 176-179.
90. HAILU, A.; BERHE, N. The performance of direct agglutination tests (DAT) in the diagnosis of visceral leishmaniasis among Ethiopian patients with HIV co-infection. **Ann Trop Med Parasitol**, v. 96, n. 1, p. 25-30, 2002.
91. HAILU, A.; PATER, J. M.; KAGER, P. A.; VAN DER POLL, T. Increased expression of HIV co-receptor CXCR4 on CD4+ T-cells in patients with active visceral leishmaniasis. **Scand J Infect Dis**, v. 36, p. 56-58, 2004.
92. HANNA, G. J.; HIRSCH, M. S. Antiretroviral therapy in Infection Caused by Human Immunodeficiency Virus. In: MANDEL, G. L.; BENNETT, J. E.; DOLIN, R. Principles and Practices of Infectious Diseases. 6. ed. Churchill Livingstone, 2005.
93. HO, M.; LEEUWENBURG, J.; MBUGUA, G.; WAMACHI, A.; VOLLER, A. An enzyme-linked immunosorbente assay (ELISA) for field diagnosis of visceral Leishmaniasis. **Am J Trop Med Hyg**, v. 32, n. 5, p. 943-946, 1983.
94. HOUGHTON, R. L.; PETRESCU, M.; BENSON, D. R.; SKEIKY, Y. A.; SCALONE, A.; BADARO, R.; REED, S. G.; GRADONI, L. A cloned antigen (recombinant K39) of *Leishmania chagasi* diagnostic for visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus type 1 patients and a prognostic indicator for monitoring patients undergoing drug therapy. **J Infect Dis**, v. 177, n. 5, p. 1339-1344, 1998.
95. JHA, T. K.; SUNDAR, S.; THAKUR, C. P.; BACHMANN, P.; KARBWANG, J.; FISCHER, C. *et al.* Miltefosine, an oral agent, for the treatment of Indian visceral leishmaniasis. **N Engl J Med**, v. 341, p. 1795-1800, 1999.
96. KALINKOVICH, A.; WEISMAN, Z.; BENTWICH, Z. Chemokines and chemokine receptors: role in HIV infection. **Immunol Lett.**, v. 68, p. 281-287, 1999
97. KAR, K. Serodiagnosis of Leishmaniasis. **Crit Rev Microbiol**, v. 21, n. 2, p. 123-152, 1995.
98. KUBAR, J.; MARTY, P.; LELIEVRE, A.; QUARANTA, J. F.; STACCINI, P.; CAROLI-BOSC, C. *et al.* Visceral leishmaniasis in HIV positive patients: primary infection, reactivation and latent infection. Impact of the CD4+ T-lymphocyte counts. **AIDS**, v. 12, n. 16, p. 2147-2153, 1998.

99. LACHAUD, L.; DEREURE, J.; CHABBERT, E.; REYENES, J.; MAUBOUSSIN, J. M.; OZIOL, E.; DEDET, J. P.; BASTIEN, P. Optimized PCR using patient blood samples for diagnosis and follow-up of visceral Leishmaniasis, with special reference to AIDS patients. **J Clin Microbiol**, v. 38, n. 1, p. 236-240, 2000.
100. LACHAUD, L.; DEREURE, J.; CHABBERT, E.; REYNES, J.; MAUBOUSSIN, J. M.; OZIOL, E. *et al.* Optimized PCR using patient blood samples for diagnosis and follow-up of visceral leishmaniasis, with special reference to AIDS patients. **J Clin Microbiol**, v. 38, p. 236-240, 2000.
101. LAGUNA, F. Treatment of leishmaniasis in HIV-positive patients. **Ann Trop Med Parasitol**, v. 37, n. 1, p. S135-S142, 2003.
102. LAGUNA, F.; GARCÍA-SAMANIEGO, J.; SORIANO, V.; VALENCIA, E.; REDONDO, C.; ALONSO, M. J. *et al.* Gastrointestinal leishmaniasis in human immunodeficiency virus-infected patients: report of five cases and review. **Clin Infect Dis**, v. 19, p. 48-53, 1994.
103. LAGUNA, F.; LÓPEZ-VÉLEZ, R.; PULIDO, F.; SALAS, A.; TORRE-CISNEROS, J.; TORRES, E. *et al.* Treatment of visceral leishmaniasis in HIV infected patients: a randomized trial comparing meglumine antimoniate with amphotericin B. Spanish HIV-Leishmania Study Group. **AIDS**, v. 13, p. 1063-1069, 1999.
104. LAINSON, R.; RANGEL, E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – A review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 8, p. 811- 827, 2005.
105. LEDERMAN, M. M.; PENN-NICHOLSON, A.; CHO, M.; MOSIER, D. Biology of CCR5 and Its Role in HIV Infection and Treatment. **JAMA**, v. 296, n. 7, p. 815- 825, 2006.
106. LEMP, G. F.; PAYNE, S. F.; RUTHERFORD, G. W.; HESSOL, N. A.; WINKELSTEIN JR, W.; WILEY, J. A.; MOSS, A. R.; CHAISSON, R. E.; CHEN, R.T.; FEIGAL JR, D. W. *et al.* Projections of AIDS morbidity and mortality in San Francisco. **JAMA**, v. 263, n. 11, p. 1538-1539, 1990.
107. LÓPEZ-VÉLEZ, R. The impact of highly active antiretroviral therapy (HAART) on visceral leishmaniasis in Spanish patients who are co-infected with HIV. **Ann Trop Med Parasitol**, v. 97, p. S143-S147, 2003.
108. LÓPEZ-VÉLEZ, R.; CASADO, J. L.; PINTADO, V. Decline of a visceral leishmaniasis epidemic in HIV-infected patients after the introduction of highly active antiretroviral therapy (HAART). **Clin Microbiol Infect**, v. 7, p. 394-395, 2001.
109. LÓPEZ-VÉLEZ, R.; LAGUNA, F.; ALVAR, J.; PÉREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, R.; MARTÍNEZ, P.; *et al.* Parasitic culture of buffy coat for diagnosis of visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus-infected patients. **J Clin Microbiol**, v. 33, p. 937-939, 1995.
110. LÓPEZ-VÉLEZ, R.; PEREZ-MOLINA J. A.; GUERRERO, A.; BAQUERO, F.; VILLARRUBIA, J.; ESCRIBANO, L.; BELLAS, C.; PEREZ-CORRAL, F.; ALVAR, J. Clinicoepidemiologic Characteristics, Prognostic Factors, and Survival Analysis of Patients Coinfected with Human Immunodeficiency Virus and Leishmania in an Area of Madrid, Spain. **Am J Trop Med Hyg**, v. 58, n. 4, p. 436-443, 1998.

111. LOPEZ-VELEZ, R.; VIDELA, S.; MARQUEZ, M.; BOIX, V.; JIMENEZ-MEJIAS, M. E.; GORGOLAS, M. *et al.* Spanish HIV- Leishmania Study Group. Amphotericin B lipid complex versus no treatment in the secondary prophylaxis of visceral leishmaniasis in HIV-infected patients. **J Antimicrob Chemother**, v. 53, p. 540-543, 2004.
112. LUZ, Z. M. P; RABELLO, A.; PIMENTA, D. N. *et al.* A urbanização das leishmanioses e a baixa resolatividade diagnóstica em municípios da região metropolitana de Belo Horizonte. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 34, n. 3, p. 249-254, 2001.
113. MALIK, A. N. J.; LAWRENCE, J.; BRYCESON, D. M. *et al.* Changing pattern of Visceral Leishmaniasis, United Kingdom, 1985-2004. **Emerg Infect Dis**, v. 12, n. 8, 2006.
114. MANSON-BAHR, P. E. C. Diagnosis. In: PETERS, W.; KILLICK-KENDRICK, E. (Eds.). The Leishmaniasis in Biology and Medicine: Clinical aspects and Control. London and New York: Academic Press, 1987. v. 2, p. 703-729.
115. MARSELLA R., RUIZ DE GOPEGUI R. Leishmaniasis: a re-emerging zoonosis. **Int J Dermatol**, v. 37(11):801-14,1998.
116. MARSELLA, R.; DE GOPENGUI, R. R. Leishmaniasis: a re-emerging zoonosis. **Int J Dermatol**, v. 37, p. 801-814, 1998.
117. MARY, C.; FARAUT, F.; LASCOMBE, L.; DUMON, H. Quantification of Leishmania infantum DNA by Real-time PCR assay with high sensitivity. **J Clin Microbiol**, v. 42, p. 5249-5255, 2004.
118. MARY, C.; LAMOUREUX, D.; DUNAN, S.; QUILICI, M. Western blot analysis of antibodies to Leishmania infantum antigens: potential of the 14-kD and 16-kD antigens for diagnosis and epidemiologic purposes. **Am J Trop Med Hyg**, v. 47, p. 764-771, 1992.
119. MEDRANO, F. J.; CANAVATE, C.; LEAL, M.; REY, C.; LISSEN, E.; ALVAR, J. The role of serology in the diagnosis and prognosis of visceral leishmaniasis in patients coinfecting with human immunodeficiency virus type-1. **Am J Trop Med Hyg**, v. 59, n. 1, p. 155-162, 1998.
120. MEDRANO, F. J.; HERNÁNDEZ-QUERO, J.; JIMÉNEZ, E.; PINEDA, J. A.; RIVERO, A.; SÁNCHEZ-QUIJANO A, *et al.* Visceral leishmaniasis in HIV-1-infected individuals: a common opportunistic infection in Spain? **AIDS**, v. 6, p. 1499-1503, 1992.
121. MEDRANO, F. J.; JIMÉNEZ-MEJÍAS, E.; CALDERÓN, E.; REGORDÁN, C.; LEAL, M. An easy and quick method for the diagnosis of visceral leishmaniasis in HIV-1-infected individuals. **AIDS**, v. 7, p. 1399, 1993.
122. MEREDITH S.E., KROON N.C., SONDORP E., SEAMAN J., GORIS M.G., VAN INGEN C.W., OOSTING H., SCHOONE G.J., TERPSTRA W.J., OSKAM L. Leish-KIT, a stable direct agglutination test based on freeze-dried antigen for serodiagnosis of visceral leishmaniasis. **J Clin Microbiol**, v.33(7):1742-5, 1995.

123. MIRA, J. A.; CORZO, J. E.; RIVERO, A.; MACÍAS, J.; DE LEÓN, F. L.; TORRE-CISNEROS, J. *et al.* Frequency of visceral leishmaniasis relapses in human immunodeficiency virus infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. **Am J Trop Med Hyg**, v. 70, p. 298-301, 2004.
124. MITTAL V., BHATIA R., SEHGAL S. Serodiagnosis of Indian kala-azar: evaluation of IFA, ELISA and CIEP tests. **J Commun Dis**, v.23(2), p.131-4, 1991..
125. MOLINA, R.; CAÑAVATE, C.; CERCENADO, E.; LAGUNA, F.; LÓPEZ-VÉLEZ, R.; ALVAR, J. Indirect xenodiagnosis of visceral leishmaniasis in 10 HIV-infected patients using colonized *Phlebotomus perniciosus*. **AIDS**, v. 8, p. 277-279, 1994.
126. MOLINA, R.; GRADONI, L.; ALVAR, J. HIV and the transmission of *Leishmania*. **Ann Trop Med Parasitol**, v. 97, p. S29-S45, 2003.
127. MOLINA, R.; LOHSE, J. M.; PULIDO, F. *et al.* Infection of sandflies by humans coinfecting with *Leishmania infantum* and human immunodeficiency virus. **Am J Trop Med Hyg**, v. 60, n. 1, p. 51-53, 1999.
128. MONDAIN-MITON, V.; TOUSSAINT-GARI, M.; HOFMAN, P.; MARTY, P.; CARLES, M.; SALVADOR, F. *et al.* Atypical leishmaniasis in a patient infected with human immunodeficiency virus. **Clin Infect Dis**, v. 21, p. 663-665, 1995.
129. MONTAGNIER, L. Historical essay: A History of HIV Discovery. **Science**, v. 298, n. 5599, p. 1727-1728, 2002.
130. MONTALBÁN, C.; CALLEJA, J. L.; ERICE, A.; LAGUNA, F.; CLOTET, B.; PODZAMCZER, D.; *et al.* Visceral leishmaniasis in patients infected with human immunodeficiency virus. Co-operative Group for the Study of Leishmaniasis in AIDS. **J. Infect Dis**, v. 21, p. 161-170, 1990.
131. MORENO, J.; CAÑAVATE, C.; CHAMIZO, C.; LAGUNA, F.; ALVAR, J. HIV-*Leishmania infantum* co-infection: humoral and cellular immune responses to the parasite after chemotherapy. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 94, p. 328-332, 2000.
132. MURRAY, H. W. Treatment of visceral leishmaniasis in 2004. **Am J Trop Med Hyg**, v. 71, n. 6, p. 787-794, 2004.
133. NADLER, J. AIDS – Etiopatogenia. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. (Eds). **Tratado de Infectologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2004.
134. NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH. Department of Human Health Services. Guidelines for the use of antiretrovirus agents in HIV-1 infected adults and Adolescents. Disponível em: <<http://aidsinfo.nih.gov>>. Acesso em 30/10/2006.
135. NEGA, B.; DAWIT, W.; ASRAT, H. *et al.* HIV viral load and response to antileishmanial chemotherapy in co-infected patients. **AIDS**, v. 13, p. 1921-1925, 1999.

136. OLIVIER, M.; BADARÓ, R.; MEDRANO, F. J.; MORENO, J. The pathogenesis of Leishmania/HIV co-infection: cellular and immunological mechanisms. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 97, p. S79-S98, 2003.
137. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Leishmaniasis**. Disponível em: <<http://www.who.int/tdr/diseases/leish/default.htm>>. Acesso em 27/11/2006. (a)
138. _____ **WHO Library Cataloguing-in-Publication Data- UNAIDS, AIDS epidemic update: 2006**. Disponível em: <www.unaids.org/wad2004/EPIupdate2004_html_en>. Acesso em: 20 Nov. 2006. (b)
139. _____ **The leishmaniasis and Leishmania/HIV co-infections**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs116/en/>>. Acesso em 05/11/2006. (c)
140. _____ **Leishmania/HIV co-infection in south-western Europe 1990-1998: Retrospective analysis of 965 cases**. Disponível em: <http://www.who.int/leishmaniasis/burden/hiv_coinfection/en/Who_leish_2000.42.pdf>. Acesso em 06/12/2006.
141. ORSINI, M. A. Estudo da co-infecção Leishmania/HIV no Brasil e avaliação da infecção pela Leishmania spp em portadores da infecção pelo HIV. 2003. 137 f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical), Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
142. OSMAN O.F., OSKAM L., ZIJLSTRA E.E., KROON N.C., SCHOONE G.J., KHALIL E.T., EL-HASSAN A.M., KAGER P.A.. Evaluation of PCR for diagnosis of visceral leishmaniasis. **J Clin Microbiol**, v.35, n. 10, p. 2454-2457, 1997.
143. PALATNIK-DE-SOUZA, C. B.; SANTOS, W. R.; FRANÇA-SILVA, J. C. *et al.* Impacto f canine controlo n the epidemiology of canine and human visceral leishmaniasis in Brazil. **Am J Trop Med Hyg**, v. 65, n. 5, p. 510-517, 2001.
144. PALELLA JR, F. J.; BAKER, R. K.; MOORMAN, A. C.; CHMIEL, J. S.; WOOD, K. C.; BROOKS, J. T.; HOLMBERG, S. D.; HIV Outpatient Study Investigators. Mortality in the highly active antiretroviral therapy era: changing causes of death and disease in the HIV outpatient study. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 43, n. 1, p. 27-34, 2006.
145. PALELLA JR, F. J.; DELANEY, K. M.; MOORMAN, A. C. *et al.* Declining morbidity among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. **N Engl J Med**, v. 338, p. 853-860, 1998.
146. PANTALEO, G.; GRAZIOSI, C.; DEMAREST, J. F.; BUTINI, L.; MONTRONI, M.; FOX, C. H.; ORENSTEIN, J. M.; KOTLER, D. P.; FAUCI, A. S. HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease. **Nature**, v. 362, p. 355-358, 1993.

147. PASQUAU, F.; ENA, J.; SANCHEZ, R. *et al.* Leishmaniasis as an opportunistic infection in HIV-infected patients: determinants of relapse and mortality in a collaborative study of 228 episodes in a Mediterranean region. **Eur J Clin Microbiol**, v. 24, n. 6, p. 411-418, 2005.
148. PEARSON, R. D.; SOUSA, A. Q.; JERONIMO, S. M. B. Leishmania Species: Visceral, cutaneous and mucosal leishmaniasis. In: MANDELL, D.; BENNETT, S. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5. ed. W. B. Saunders, 2000.
149. PIARROUX, R.; GAMBARELLI, F.; DUMON, H.; FONTES, M.; DUNAN, S.; MARY, C.; TOGA, B.; QUILICI, M. Comparison of PCR with direct examination of bone marrow aspiration, myeloculture and serology for diagnosis of visceral leishmaniasis in immunocompromised patients. **J Clin Microbiol**, v. 32, p. 746-749, 1994.
150. PIÑEDA, J. A.; MARTÍN-SÁNCHEZ, J.; MACÍAS, J.; MORILLAS, F. Leishmania spp infection in injecting drug users. **Lancet**, v. 360, p. 950-951, 2002.
151. PINTADO, V.; MARTÍN-RABADÁN, P.; RIVERA, M. L.; MORENO, S.; BOUZA, E. Visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non HIV infected patients. **Medicine**, v. 80, p. 54-73, 2001.
152. PIZZUTO, M.; PIAZZA, M.; SENESE, D.; SCALAMOGNA, C.; CALATTINI, S.; CORSICO, L., *et al.* Role of PCR in diagnosis and prognosis of visceral leishmaniasis in patients coinfecting with human immunodeficiency virus type 1. **J Clin Microbiol**, v. 39, p. 357-361, 2001.
153. PRATLONG, F.; DEREURE, J.; DENIAU, M.; MARTY, P.; FARAUT-GAMBARELLI, F.; DEDET, J. P. Enzymatic polymorphism during Leishmania/HIV co-infection: a study of 381 *Leishmania* strains received between 1986 and 2000 at the 376 international cryobank in Montpellier, France. **Ann Trop Med Parasitol**, v. 97, p. S47-S56, 2003.
154. PREFEITURA DE BELO HORIZONTE. Plano Municipal De Saúde De Belo Horizonte 2005-2008. Disponível em: <<http://www.pbh.gov.br/smsa/montapagina.php?pagina=biblioteca/mostrarquivo.php&documento=536>>. Acesso em 23/02/2007.
155. RABELLO, A.; ORSINI, M.; DISCH, J. Leishmania/HIV co-infection in Brazil: an appraisal. **Ann Trop Med Parasitol**, v. 97, p. S17-S28, 2003.
156. RATH, S.; TRIVELIN, L. A.; IMBRUNITO, T. R. *et al.* Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. **Quím Nova**, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 550-555, 2003.
157. REQUEJO, H. I. Z. Worldwide molecular epidemiology of HIV. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 40, n. 2, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102006000200023&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 05/12/2006.
158. RIBERA E., OCANA I., DE OTERO J., CORTES E., GASSER I., PAHISSA A.. Prophylaxis of visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus-infected patients. **Am J Med**, v. 100(5), p. 496-501, 1996.

159. RITMEIJER, K.; DEJENIE, A.; ASSEFA, Y.; HUNDIE, T. B.; MESURE, J.; BOOTS, G.; DEN BOER, M.; DAVIDSON, R. N. A Comparison of Miltefosine and Sodium Stibogluconate for Treatment of Visceral Leishmaniasis in an Ethiopian Population with High Prevalence of HIV. **Clin Infect Dis**, v. 43, p. 357-364, 2006.
160. ROSENTHAL E.; MARTY P.; POIZOT-MARTIN I. et al, Visceral leishmaniasis and HIV-1 co-infection in southern France. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 89, n. 2, p. 159-162, 1995.
161. RUSSO, R.; LAGUNA, F.; LÓPEZ-VÉLEZ, R.; MEDRANO, F. J.; ROSENTHAL, E.; CACOPARDO, B, *et al*. Visceral leishmaniasis in those infected with HIV: clinical aspects and other opportunistic infections. **Ann Trop Med Parasitol**, v. 97, p. S99-S105, 2003.
162. RUSSO, R.; NIGRO, L. C.; MINNITI, S.; MONTINERI, A.; GRADONI, L.; CLADEIRA, L, *et al*. Visceral leishmaniasis in HIV infected patients with high dose liposomal amphotericin B (AmBisome). **J Infect**, v. 32, p. 133-137, 1996.
163. RUSSO, R.; NIGRO, L.; PANARELLO, G.; MONTINERI, A. Clinical survey of Leishmania/HIV co-infection in Catania, Italy: the impact of highly active antiretroviral therapy (HAART). **Ann Trop Med Parasitol**, v. 97, p. S149-S155, 2003.
164. RUTHERFORD, G. W. Long term survival in HIV-1 infection: some people may remain free of AIDS 25 years after initial infection. **BMJ**, v. 309, n. 6950, Jul. 1994, p. 283.
165. SALOTRA P., SREENIVAS G., POGUE G.P., LEE N., NAKHASI H.L., RAMESH V., NEGI N.S. Development of a Species-Specific PCR Assay for Detection of Leishmania donovani in Clinical Samples from Patients with Kala-Azar and Post-Kala-Azar Dermal Leishmaniasis. **J Clin Microbiol**, v.39, p. 849-854, 2001.
166. SANTOS, J.; RIVERO, A.; MARQUEZ, M. Acute pancreatitis with a fatal evolution due to antimonials in patients with visceral leishmaniasis and HIV infection. **Ann. Intern Med.**, v. 7, p. 562-563, 2000.
167. SARAVOLATZ, L. D.; WINSLOW, D. L.; COLLINS, G.; HODGES, J. S.; PETTINELLI, C.; STEIN, D. S.; MARKOWITZ, N.; REVES, R.; LOVELESS, M. O.; CRANE, L.; THOMPSON, M.; ABRAMS, D.; Zidovudine alone or in combination with didanosine or zalcitabine in HIV-infected patients with the acquired immunodeficiency syndrome or fewer than 200 CD4 cells per cubic millimeter. Investigators for the Terry Bein Community Programs for Clinical Research on AIDS. **N Engl J Med**, v. 335, n. 15, p. 1099-1106, 1996.
168. SIDDIG, M.; GHALIB, H.; SHILLINGTON, D. C.; PETERSEN, E. A. Visceral Leishmaniasis in the Sudan: Comparative methods of diagnosis. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 82, p. 66-68, 1988.
169. SILVA, E. S.; PACHECO, R. S.; GONTIJO, C. M.; CARVALHO, I. R.; BRAZIL, R. P. Visceral leishmaniasis caused by Leishmania (Viannia) braziliensis in a patient infected with human immunodeficiency virus. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 44, p. 145-149, 2002.
170. SILVA, E. S.; SCHOONE, G. J.; GONTIJO, C. M. F.; BRAZIL, R. P.; PACHECO, R. S.; SCHALLIG, H. Application of Direct Agglutination Test (DAT) and Fast Agglutination Screening Test (FAST) for sero-

diagnosis of visceral leishmaniasis in endemic area of Minas Gerais, Brazil. **Kinetoplastid Biol Dis**, v. 14, n. 4, p. 4, Jun. 2005.

171. SINDERMANN, H.; ENGEL, K. R.; FISCHER, C.; BOMMER, W. Miltefosine Compassionate Use Program. Oral miltefosine for leishmaniasis in immunocompromised patients: compassionate use in 39 patients with HIV infection. **Clin Infect Dis**, v. 39, p. 1520-1523, 2004.
172. SINGH, S. New developments in diagnosis of leishmaniasis. **Indian J Med Res**, v. 123, p. 311-330, 2006.
173. SINGH, S.; KUMARI, V.; SINGH, N. Predicting calazar disease manifestations in asymptomatic patients with latent *Leishmania donovani* infection by detection of antibody against recombinant K39 antigen. **Clin Diagn Lab Immunol**, v. 34, p. 568-572, 2002.
174. SINHA, K.; PANDEY, K.; BHATTACHARYA, S. K. Diagnosis & management of leishmania/HIV co-infection. **Indian J Med Res**, v. 121, p. 407-414, 2005.
175. SINHA, P. K.; BIMAL, S.; SINGH, S. K. *et al.* Pre & post-treatment evaluation of immunological features in Indian visceral leishmaniasis (VL) patients with HIV co-infection. **Indian J Med Res**, v. 123, p. 197-202, 2006.
176. SINHA, P. K.; RABIDAS, V. N.; PANDEY, K.; VERMA, N.; GUPTA, A. K.; RANJAN, A. *et al.* Visceral leishmaniasis and HIV coinfection in Bihar, India. **J. Acquir Immune Defic Syndr**, v. 32, p. 115-116, 2003.
177. SORIANO, V.; DONA, C.; RODRÍGUEZ-ROSADO, R.; BARREIRO, P.; GONZÁLEZ-LAHOZ, J. Discontinuation of secondary prophylaxis for opportunistic infections in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. **AIDS**, v. 14, n. 4, p. 383-386, 2000.
178. SUNDAR, S.; AGRAWAL, G.; RAI, M.; MAKHARIA, M. K.; MURRAY, H. W. Treatment of Indian visceral leishmaniasis with single or daily infusions of low dose liposomal amphotericin B: randomised trial. **BMJ**, v. 323, p. 419-422, 2001.
179. SUNDAR, S.; CHATTERJEE, M. Visceral leishmaniasis - current therapeutic modalities. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 100, Suppl. 1, p. S26-S33, 2006.
180. SUNDAR, S.; JHA, T. K.; THAKUR, C. P.; BHATTACHARYA, S. K.; RAI, M. Oral miltefosine for the treatment of Indian visceral leishmaniasis. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 100, suppl. 1, p. S26-S33, 2006.
181. SUNDAR, S.; JHA, T. K.; THAKUR, C. P.; ENGEL, J.; SINDERMANN, H.; FISCHER, C.; JUNGE, K.; BRYCESON, A.; BERMAN, J. Oral Miltefosine for Indian Visceral Leishmaniasis. **N Engl J Med**, v. 347, p. 1739-1746, 2002.
182. SUNDAR, S.; MAKHARIA, A.; MORE, D. K.; AGRAWAL, G.; VOSS, A.; FISHER, C. *et al.* Short-course of oral miltefosine treatment of visceral leishmaniasis. **Clin. Infect Dis**, v. 31, n. 4, p. 1110-1113, 2000.

183. SUNDAR, S.; MAURYA, R.; SINGH, R. K.; BHARTI, K.; CHAKRAVARTY, J.; PAREKH, A.; RAI, M.; KUMAR, K.; MURRAY, H. W. Rapid, Noninvasive Diagnosis of Visceral Leishmaniasis in India: Comparison of Two Immunochromatographic Strip Tests for Detection of Anti-K39 Antibody. **J Clin Microbiol**, p. 251-253, 2006.
184. SUNDAR, S.; REED, S. G.; SINGH, V. P.; KUMAR, P. C.; MURRAY, H. W. Rapid accurate field diagnosis of Indian Leishmaniasis. **Lancet**, v. 351, p. 563-565, 1995.
185. TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2001.
186. THAKUR, C. P.; SINHA, P. K.; SINGH, R. K.; HASSAN, S. M.; S. SUNSTHAN, S. N. B. U.; Miltefosine in a case of visceral leishmaniasis with HIV co-infection; and rising incidence of this disease in India. **Transac R Soc Trop Med Hyg**, v. 94, p. 696-697, 2000.
187. TREMBLAY, M.; OLIVIER, M.; BERNIER, R. Leishmania and the pathogenesis of HIV infection. **Parasitol Today**, v. 12, p. 257-261, 1996.
188. UNAIDS. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. Disponível em <http://www.unaids.org/en/HIV_data/epi2006/default.asp>. Acesso em 27/11/2006.
189. VEUGELERS, P. J.; PAGE, K. A.; TINDALL, B.; SCHECHTER, M. T.; MOSS, A. R.; WINKELSTEIN JR, W. W.; COOPER, D. A.; CRAIB, K. J.; CHARLEBOIS, E.; COUTINHO, R. A. *et al*. Determinants of HIV disease progression among homosexual men registered in the Tricontinental Seroconverter Study. **Am J Epidemiol**, v. 140, n. 8, p. 747-758, 1994.
190. VIANA, L.G. Avaliação dos métodos sorológicos na abordagem diagnóstica da infecção humana por *Leishmania (Leishmania) chagasi*. 2006. Tese (Doutorado em Biologia Celular). Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.
191. WAINBERG, M. A. HIV-1 subtype distribution and the problem of drug Resistance. **AIDS**, v. 18, suppl. 3, p. S63-S68, 2004.
192. WOLDAY, D.; AKUFFO, H.; BRITTON, S.; HATHAWAY, A.; SANDER, B. HIV-1 inhibits Leishmania-induced cell proliferation but not production of interleukin-6 and tumour necrosis factor alpha. **Scand J Immunol**, v. 39, p. 380-386, 1994.
193. WOLDAY, D.; AKUFFO, H.; DEMISSE, A. *et al*. Role of Leishmania donovani and Its Lipophosphoglycan in CD4+ T-cell Activation-Induced Human Immunodeficiency Virus Replication. **Infect. Immun.**, v. 67, n. 10, p. 5258-5264, 1999.
194. WOLDAY, D.; BERHE N.; BRITTON, S.; AKUFFO, H. HIV-1 alters T helper cytokines, interleukin-12 and interleukin-18 responses to the protozoan parasite Leishmania donovani. **AIDS**, v. 14, p. 921-929, 2000.

195. ZHU, T.; KORBER, B. T.; NAHMIAS, A. J.; HOOPER, E.; SHARP, P. M.; HO, D. D. An African HIV-1 sequence from 1959 and implications for the origin of the epidemic. **Nature**, v. 391, p. 594-597, 1998.

196. ZIJLSTRA, E. E.; ALI, M. S.; EL-HASSAN, A. M.; EL-TOUM, I. A.; SATTI, M.; GHALIB, H. W.; SONDORP, E.; WINKLER, A. Kala-azar in displaced people from southern Sudan: epidemiological, clinical and therapeutic findings. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 85, n. 3, p. 365-369, 1991.

197. ZIJLSTRA, E. E.; ALI, M. S.; EL-HASSAN, A. M.; EL-TOUM, I. A.; SATTI, M.; GHALIB, H. W.; KAGER, PA. Kala-azar: a comparative study of parasitological methods and the direct agglutination test in diagnosis. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 86, p. 505-507, 1992.

198. ZIJLSTRA, E. E.; ALI, M. S.; EL-HASSAN, A. M.; EL-TOUM, I. A.; SATTI, M.; GHALIB, H. W.; KAGER, P. A. Direct agglutination test for diagnosis and sero-epidemiological survey of kala-azar in the Sudan. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 85, n. 4, p. 474-476, 1991.

199. ZIJLSTRA, E. E.; EL-HASSAN, A. M. Leishmaniasis in Sudan. Visceral leishmaniasis. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 95, Suppl. 1, p. S2.

Anexo 1

Condições incluídas na definição de caso de AIDS, de acordo com o CDC, em 1993.

- Candidíase dos brônquios, traquéia ou pulmões
- Candidíase
- Câncer cervical invasivo
- Coccidioomicose disseminada ou extrapulmonar
- Criptococose extrapulmonar
- Criptosporidiose crônica e intestinal (com duração superior a um mês)
- Citomegalovirose disease (exceto em fígado, baço e linfonodos)
- Retinite por Cytomegalovirus (com perda da visão)
- Encefalopatia pelo HIV
- Herpes simples: úlcera crônica (duração superior a um mês), bronquite, pneumonia ou esofagite.
- Histoplasmose disseminada ou extrapulmonar
- Isosporiase crônica intestinal (duração superior a um mês)
- Sarcoma de Kaposi
- Linfoma de Burkitt
- Linfoma imunoblástico
- Linfoma primário do cérebro
- Micobacteriose por Complexo *Mycobacterium avium* ou *M. kansasii*, disseminada ou extrapulmonar
- Tuberculose em qualquer sítio (pulmonar ou extrapulmonar)
- Micobacterioses, outras espécies ou espécies não identificadas, disseminadas ou extrapulmonar
- Pneumonia por *Pneumocystis carinii*
- Pneumonia recorrente
- Leucoencefalopatia multifocal progressiva
- Septicemia por *Salmonella*, recidivante
- Toxoplasmose do cérebro
- Síndrome *Wasting* devido ao HIV

**Comparação de métodos diagnósticos para a leishmaniose visceral
entre pacientes infectados e não infectados com o vírus da imunodeficiência
humana.**

1) Dados de Identificação	<input style="width: 30px; height: 25px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 25px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 25px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 25px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 25px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 25px; border: 1px solid black;" type="text"/>
Número do prontuário	
Data do início do acompanhamento: ____/____/____ Data da alta / óbito: ____/____/____	
Nome: _____	
Serviço: _____	
2) Dados sócio-demográficos	
Sexo: Masc (<input type="checkbox"/>) Fem (<input type="checkbox"/>) .Data de nascimento: (dia/mês/ano) ____/____/____	
Idade : ____ (anos)	
Anos de estudos concluídos:	
Nenhum <input type="checkbox"/> de 1 a 3 <input type="checkbox"/> de 4 a 7 <input type="checkbox"/> de 8 a 11 <input type="checkbox"/> de 12 ou mais <input type="checkbox"/> Ignorado <input type="checkbox"/>	
Ocupação: _____ Cidade de procedência / estado: _____	
Uso de drogas [<input type="checkbox"/>] 0-não 1- sim 9-ignorado	
Qual(is) _____	
Uso de droga injetável [<input type="checkbox"/>] 0-não 1- sim 2- não se aplica 9-ignorado	
Abuso de bebidas alcoólicas [<input type="checkbox"/>] 0-não 1- sim 9-ignorado	

3) Dados clínicos à admissão (considerar os dados até cinco dias após a internação)					
Sintomas/Sinais					
	Sim	Não	Ignorado	Tempo do sintomas:	Observações
Febre					
Emagrecimento					
Tosse					
Diarréia					
Dor abdominal					
Sangramento					
Outros					
<p>Detalhar história de outras infecções: doença de Chagas, tuberculose, leishmaniose visceral ou tegumentar, malária, hanseníase, outras.</p>					
Exame clínico					
	Sim	Não	Observações/ detalhamento		
Febre			Temperatura axilar:		
Palidez					
Edema					
Sangramentos					
Icterícia					
Esplenomegalia			Medida em centímetros:		
Hepatomegalia			Medida em centímetros:		
Linfadenomegalia					
Outros:					

4) Dados Laboratoriais (considerar os primeiros dados disponíveis até 72 horas após a internação)

Data: ___/___/___

Hemograma	Resultado	Observação
Hemácias (cels/mm ³)		
Hemoglobina (g/dL)		
Hematócrito (%)		
VHM		
HCM		
CHCM		
Leucócitos (cels/mm ³)		
Bastonetes (%)		
Segmentados (%)		
Linfócitos (%)		
Monócitos (%)		
Basófilos (%)		
Eosinófilos (%)		
Plaquetas (cels/mm ³)		
Atividade de Protrombina		
Proteínas Totais (g/dL)		
Globulina (g/dL)		
Albumina (g/dL)		
Uréia		
Creatinina		
AST (TGO)		
ALT (TGP)		
Bilirrubinas Totais		
Bilirrubina Direta		
Amilase		
Lípase		

5) Diagnóstico Específico - Leishmaniose Visceral				
Exame	Resultado			Local de Realização
	Positivo	Negativo	NR / Ign	
Pesquisa de amastigotas em esfregaço corado Medula Óssea Data: ____/____/____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Pesquisa de amastigotas em esfregaço corado em amostra não medular Amostra: Data: ____/____/____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Pesquisa de promastigotas em cultivo Medula Óssea Data: ____/____/____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Pesquisa de promastigotas Cultivo de mat. não medular Amostra: Data: ____/____/____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
RIFI <input type="text"/> Data: ____/____/____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Outro Data: ____/____/____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

6) Conclusão diagnóstica (resumo clínico)**7) Informações da terapia**

Data de início de tratamento: ___/___/___ Data de término de tratamento: ___/___/___

Droga inicial: [___] AP- antimonial pentavalente AN – anfotericina deoxicolato

AL – anfotericina lipossomal PE – pentamidina Outras : _____

Dose: _____ mg / Kg Dose: _____ ml/dia Dias de tratamento _____ Dose acumulada+ _____

Via de administração: [___] IM - intra-muscular IV – intravenosa

*AP +AB ou NA

8) Dados clínicos após 10 dias de tratamento (até 15 dias após tratamento)

Data: ___/___/___

	Sim	Não	Sintomas/Sinais	Observações
Febre				
Emagrecimento				
Tosse				
Diarréia				
Dor abdominal				
Sangramento				
Outros				
Exame clínico				
	Sim	Não	Observações/ detalhamento	
Febre			Temperatura axilar:	
Palidez				
Edema				

Sangramentos			
Icterícia			
Esplenomegalia			Medida em centímetros:
Hepatomegalia			Medida em centímetros:
Linfadenomegalia			
Outros:			

9) Primeiros dados laboratoriais após 10 dias de tratamento Data: __/__/__

Hemograma	Resultado	Observação
Hemácias (cels/mm ³)		
Hemoglobina (g/dL)		
Hematócrito (%)		
VHM		
HCM		
CHCM		
Leucócitos (cels/mm ³)		
Bastonetes (%)		
Segmentados (%)		
Linfócitos (%)		
Monócitos (%)		
Basófilos (%)		
Eosinófilos (%)		
Plaquetas (cels/mm ³)		
Atividade de Protrombina		
Proteínas Totais (g/dL)		
Globulina (g/dL)		
Albumina (g/dL)		
Uréia		
Creatinina		
AST (TGO)		
ALT (TGP)		
Bilirrubinas Totais		
Bilirrubina Direta		
Amilase		
Lípase		

10) Dados clínicos após término de tratamento (até 5 dias após o término)				
Data: ___/___/___				
Sintomas/Sinais				
	Sim	Não	Ignorado	Observações
Febre				
Emagrecimento				
Tosse				
Diarréia				
Dor abdominal				
Sangramento				
Outros				
Exame clínico				
	Sim	Não	Observações/ detalhamento	
Febre			Temperatura axilar:	
Palidez				
Edema				
Sangramento				
Icterícia				
Esplenomegalia			Medida em centímetros:	
Hepatomegalia			Medida em centímetros:	
Linfadenomegalia				
Outros:				

11) Primeiros dados laboratoriais até 5 dias após término de tratamento		
Data: ___/___/___		
Hemograma	Resultado	Observação
Hemácias (cels/mm ³)		
Hemoglobina (g/dL)		
Hematócrito (%)		
VHM		
HCM		
CHCM		
Leucócitos (cels/mm ³)		
Bastonetes (%)		
Segmentados (%)		
Linfócitos (%)		

Monócitos (%)		
Basófilos (%)		
Eosinófilos (%)		
Plaquetas (cels/mm ³)		
Atividade de Protrombina		
Proteínas Totais (g/dL)		
Globulina (g/dL)		
Albumina (g/dL)		
Uréia		
Creatinina		
AST (TGO)		
ALT (TGP)		
Bilirrubinas Totais		
Bilirrubina Direta		
Amilase		
Lípase		

12) Descreva a(s) intercorrência(s) infecciosa(s) ocorrida(s) ao longo do tratamento, se este for o caso.

- a)
- b)
- c)
- d)
- e)

Microorganismo(s) isolado(s) / amostra

- a)
- b)
- c)
- d)

13) Descreva efeitos colaterais atribuídos à terapia anti-leishmânia

Efeito colateral	Data
	___/___/___
	___/___/___
	___/___/___
	___/___/___

14) Anticorpos Anti-HIV

Data do exame	Método (s)	Resultado

15) Se houve indicação de troca de terapia para leishmaniose visceral, descreva os motivos.

--

16) Tratamento secundário (somente para os casos em que houve de mudança de tratamento)

Data de início de tratamento secundário: ___/___/___

Data de término de tratamento secundário: ___/___/___

Droga secundária: [___] AP- antimonial pentavalente AN – anfotericina desoxicolato

AL – anfotericina lipossomal PE – pentamidina Outras : _____

Dose: _____ mg / Kg Dias de tratamento _____ Dose acumulada _____

Via de administração: [___] IM - intra-muscular IV – intravenosa

17) Tratamento terciário (somente para os casos em que houve de mudança de tratamento)

Data de início de tratamento terciário: ___/___/___

Data de término de tratamento terciário: ___/___/___

Droga secundária: [___] AP- antimonial pentavalente AN – anfotericina desoxicolato

AL – anfotericina lipossomal PE – pentamidina Outras : _____

Dose: _____ mg / Kg Dias de tratamento _____ Dose acumulada _____

Via de administração: [___] IM - intra-muscular IV – intravenosa

18) Evolução do caso ao término do tratamento

[___]

1 - Cura clínica / resolução completa dos sinais e sintomas da doença. 2 - Resolução parcial dos sinais e sintomas, porém com significativa melhora clínica. 3 - Falha terapêutica - persistência de pelo menos 2 das três manifestações maiores (citopenia, febre e visceromegalia) após um curso de terapia específica. 4 - Óbito 9 - Ignorado

19) Em caso de óbito, descreva a *causa mortis* como no atestado de óbito

_____ como consequência de

_____ como consequência de

_____ como consequência de

Fatores associados

Módulo a ser preenchido apenas nos casos de co-infecção <i>Leishmania</i>/HIV	Número do prontuário <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
<div style="text-align: center;"> <input type="text"/> <input type="text"/> </div> <p>Categoria CDC, 1993</p>	
<p>Histórico de Infecções Oportunistas e Condições Definidoras de AIDS</p>	
<p>Descreva as quimioprofilaxias em uso</p>	
<p>Uso regular de anti-retrovirais nos últimos 6 meses ? <input type="checkbox"/></p> <p>1- sim 0 - não 2- não se aplica 9 - ignorado</p> <p>Esquema anti-retroviral prescrito: _____ Data da Prescrição: Data: ___/___/___(dd/mm/aa)</p>	
<p>Contagem de CD4 mais próxima do diagnóstico da LV: _____ Data: ___/___/___(dd/mm/aa)</p>	
<p>Menor contagem de CD4 _____ Data: ___/___/___(dd/mm/aa)</p>	
<p>Carga Viral mais recente _____ Log _____ Data: ___/___/___(dd/mm/aa)</p> <p>Método:</p>	
<p>Categoria de Exposição ao HIV</p>	
<p>Relações sexuais</p> <p><input type="checkbox"/> 1- Só com homens 2 – Só com mulheres 3- Com homens e mulheres 4- Não se aplica</p> <p>9- Ignorado</p>	
<p>Se história de transfusão de sangue/derivados, a transfusão foi considerada causa da transmissão do HIV ?</p> <p><input type="checkbox"/> 1- Sim 2 - Não 9 – Ignorado</p>	
<p>Uso de drogas injetáveis</p> <p><input type="checkbox"/> 1- Sim 2 - Não 9 – Ignorado</p>	
<p>Acidente com material biológico e soroconversão após 6 meses</p> <p><input type="checkbox"/> 1- Sim 2 - Não 9 – Ignorado</p>	