

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

FABRÍCIO CLAUDINO ESTRELA TERRA THEODORO

Diferenciação entre as formas cutânea e mucosa da Leishmaniose Tegumentar Americana a partir de características clínico epidemiológicas e exames imunológicos em área endêmica de
L. (V.) braziliensis.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Raimunda Nonata Ribeiro Sampaio

BRASÍLIA-DF

2016

FABRÍCIO CLAUDINO ESTRELA TERRA THEODORO

Diferenciação entre as formas cutânea e mucosa da Leishmaniose Tegumentar Americana a partir de características clínico epidemiológicas e exames imunológicos em área endêmica de *L. (V.) braziliensis*.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.

Banca examinadora:

Presidente:

Prof.^a Dr.^a Raimunda Nonata Ribeiro Sampaio ó Universidade de Brasília ó UnB

Membros

Prof.^a Dr.^a Simone Karst Soares Passos ó professora aposentada FEPECS/SES/DF

Dr. Gerson Oliveira Penna ó FIOCRUZ

Suplente:

Prof.^a Dr.^a Carmen Déa Ribeiro de Paula ó Hospital Universitário de Brasília - HUB

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES
TRABALHOS, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO PARA
FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

TT388d Theodoro, Fabrício Claudino Estrela Terra
Diferenciação entre as formas cutânea e mucosa da
Leishmaniose Tegumentar Americana a partir de
características clínico epidemiológicas e exames
imunológicos em área endêmica de *L. (V.)*
braziliensis. / Fabrício Claudino Estrela Terra
Theodoro; orientador Raimunda Nonata Ribeiro
Sampaio. -- Brasília, 2016.
109 p.

Dissertação (Mestrado - Mestrado em Ciências
Médicas) -- Universidade de Brasília, 2016.

1. Leishmaniose Tegumentar Americana. 2.
Diagnóstico. 3. Intradermoreação de Montenegro. 4.
Imunofluorescência indireta. 5. Leishmaniose mucosa.
I. Sampaio, Raimunda Nonata Ribeiro, orient. II.
Título.

DEDICATÓRIA:

A Deus, pela minha vida.

AGRADECIMENTOS:

À **Profa. Dra. Raimunda Nonata Ribeiro Sampaio**, meus profundos agradecimentos pela orientação, confiança e contribuição para meu desenvolvimento intelectual.

Ao **Dr. Ciro Martins Gomes**, pela co-orientação, paciência e amizade. Sem seu apoio e incentivo não teria iniciado e concluído este projeto.

Ao **Prof. Dr. Pedro Luiz Tauil**, pelas discussões e perspectivas do conteúdo deste trabalho.

À **Profa. Dra. Carmen Déa Ribeiro de Paula**, pelo incentivo na realização do projeto, assim como pelo aceite em integrar essa banca.

Às **Profa. Dr.^a Jorgeth De Oliveira Carneiro Da Motta** e **Profa. Dr.^a Claudia Porto** pelo apoio no ambulatório de Leishmaniose.

Aos alunos **Larissa Akamine** e **Guilherme Bächtold** pela ajuda na coleta dos dados.

À **Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília** e ao **Hospital Universitário de Brasília** por me acolher em seus corredores por estes 8 anos.

À minha esposa **Profa. Clarissa dos Santos Goldenberg Terra Theodoro**, pelo amor, compreensão nos momentos difíceis e ajuda na revisão linguística, e por gerar o nosso filho **Davi**.

Aos meus pais **Abadio Admir Theodoro** e **Misia Regina Terra Estrela Theodoro**, pela dedicação, carinho, amor e esforço em minha criação.

Aos meus irmãos **Prof. Dr. Phellipe Norato Estrela Terra Theodoro** e **Phábio Claudino Estrela Terra Theodoro**, pela amizade, carinho, discussões, dicas, revisão crítica e incentivo a concluir este projeto.

Ao meu avô **Manoel Inácio Terra** (*in memoriam*) por sempre ser a fonte de inspiração, valores e força para vencer as batalhas diárias.

Pelas vezes em que não agradei, o meu muito obrigado...

Diferenciação entre as formas cutânea e mucosa da Leishmaniose Tegumentar Americana a partir de características clínico epidemiológicas e exames imunológicos em área endêmica de *L. (V.) braziliensis*.

RESUMO:

Introdução: a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é uma doença negligenciada tanto em relação a métodos diagnósticos de baixa complexidade como em relação ao tratamento pelo uso de medicação extremamente tóxica e sem esquemas terapêuticos com associações medicamentosas há mais de 100 anos. O diagnóstico preciso das formas clínicas de LTA é importante porque a forma mucosa requer maior tempo de tratamento com drogas tóxicas, tem uma evolução crônica, uma alta taxa de recorrência, podendo gerar deformidades e morte.

Métodos: nosso objetivo foi estudar o perfil clínico e exames laboratoriais de pacientes tratados em clínica de referência para LTA no HUB-UnB, no Centro-Oeste do Brasil entre 2001-2014, para diferenciar a forma mucosa (LM) da cutânea (LC), utilizando análise multivariada.

Resultados: de 1019 pacientes com lesões suspeitas, 737 tiveram LTA. A análise univariada mostrou que os pacientes com LM, quando comparado aos LC, tinham maior idade média ($p < 0,001$), maior duração da doença ($p < 0,001$), menor número de lesões ($p < 0,001$), maior diâmetro no teste de Montenegro (IDRM) e maiores títulos na imunofluorescência indireta (IFA) ($p = 0,001$). A análise multivariada mostrou que um fator de confusão pode ter influenciado os resultados da análise univariada e os valores tornaram-se não significativos.

Conclusões: maior diâmetro da IDRM, títulos elevados da IFA, bem como os pacientes de maior duração idade e da doença, estão associados à forma LM, mas não podem ser utilizados como único critério para diferenciação.

Palavras chave: Leishmaniose Tegumentar Americana, Diagnóstico; Intradermorreação de Montenegro, Imunofluorescência Indireta; Leishmaniose mucosa.

Differentiation between the cutaneous and mucosal forms of American Tegumentary Leishmaniasis from clinical epidemiological features and immunological tests in an endemic area of *L. (V.) braziliensis*.

ABSTRACT:

Introduction: the American Cutaneous Leishmaniasis (ACL) is a neglected disease both in relation to low-complexity diagnostic methods as compared to treatment by the use of highly toxic drug with no therapeutic regimens in combination therapy for over 100 years. The accurate diagnosis of the clinical forms of ATL is important because the mucosal form requires longer treatment with toxic drugs, has a chronic evolution, a high recurrence rate and cause disfiguring scars and death.

Methods: Our objective was to study the clinical profile and laboratory tests from patients treated at a referral clinic for ATL at HUB-UnB in Midwest Brazil from 2001 to 2014 to differentiate mucosal (ML) from cutaneous (CL) forms using a multivariate analysis.

Results: Of 1019 patients with suspicious lesions, 737 had ATL. Univariate analysis showed that patients with ML, when compared to CL, were older ($p < 0.001$), had longer disease duration ($p < 0.001$), lower number of lesions ($p < 0.001$), higher values of Montenegro skin test (MST) ($p = 0.042$) and titles of indirect immunofluorescence assay (IFA) ($p = 0.001$). Multivariate analysis showed that a confounder influenced the univariate analysis result.

Conclusions: High titles of MST and IFA, as well as patients with higher age and disease duration, could be associated with the form ML, but this information cannot be used as the sole criterion for differentiation.

Keywords: American Tegumentary Leishmaniasis; Diagnosis; Montenegro Skin Test; Indirect Immunofluorescence; Mucosal Leishmaniasis

LISTA DE FIGURAS:

Título:	página
Figura 1	14
Huaco mochica exibindo mutilação do nariz e lábio superior, lesões sugestivas de espúndia. Conforme Ashmead (1900), Rabello (1925), Tello (1938), Herrer (1956), Pessoa (1958), e outros (apud ALTAMIRANO-ENCISO, AJ <i>et al</i> , 2003).	
Figura 2	18
Evolução do número total de casos de Leishmaniose Tegumentar Americana nas regiões do Brasil entre os anos de 1990 e 2012. Fonte: SINAN.	
Figura 3	18
Evolução do coeficiente de incidência de Leishmaniose Tegumentar Americana nas regiões do Brasil entre os anos de 1990 e 2012. Fonte: SINAN.	
Figura 4	20
Distribuição das espécies de <i>Leishmania</i> no território brasileiro. Fonte: MS 2006.	
Figura 5	21
Fêmea do flebotomíneo engurgitada após repasto sanguíneo. FONTE: MS 2006.	
Figura 6	21
Distribuição das principais espécies de flebotomíneos vetores de Leishmaniose Tegumentar Americana no Brasil em 2005. Fonte: MS 2006.	
Figura 7	22
Ciclo de vida da <i>Leishmania</i> . Fonte: CDC, traduzido. Disponível em http://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html .	
Figura 8	23
Forma flagela ou promastigota da <i>Leishmania</i> . Fonte: MS 2006.	
Figura 9	23
Forma aflagelada ou amastigota da <i>Leishmania</i> . Fonte: MS 2006.	
Figura 10	22
Figura 10 ó Espectro clínico e imunopatológico da Leishmaniose Tegumentar Americana modulada pelas competências imunopatogênicas das espécies de <i>Leishmania</i> dentro do subgênero <i>Viannia</i> and <i>Leishmania</i> .	
Figura 11	41
Fluxograma dos pacientes do estudo.	
Figura 12	46
Curva <i>Receiver Operating Characteristic</i> (ROC) da intradermoreação de Montenegro no diagnóstico da Leishmaniose Tegumentar Americana e ponto de corte com maior acurácia (Sensibilidade 87,73% [84,9-90,2]; especificidade 63,87% [54,6-72,5]; Razão de Verossimilhança do Teste Positivo: 2,43 [1,9-3,1]; Razão de Verossimilhança do teste Negativo: 0,19 [0,2-0,2]; área sob a Curva (AUC)=0,846 [0,819-0,871]).	

LISTA DE TABELAS:

Título:		página
Tabela 1	Distribuição das características epidemiológicas entre os grupos Leishmaniose tegumentar Americana e controles.	42
Tabela 2	Distribuição das características clínicas entre os grupos Leishmaniose Tegumentar Americana e controles.	44
Tabela 3	Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN), acurácia (A) e índice Youden dos testes diagnósticos. N (número de casos), HLP (histioliinfoplasmocitário).	45
Tabela 4	Distribuição das características epidemiológicas entre os grupos Leishmaniose cutânea e mucosa.	47
Tabela 5	Distribuição das características clínicas entre os grupos Leishmaniose cutânea e mucosa.	49
Tabela 6	Distribuição de valores positivos aos testes diagnósticos entre os grupos LC e LM. IC (intervalo de confiança). HLP (histioliinfoplasmocitário). IDR (intradermorreação de Montenegro). IFA (imunofluorescência indireta).	50
Tabela 7	Análise univariada da relação entre características dos grupos Leishmaniose cutânea e mucosa. DP (desvio padrão).	50
Tabela 8	Análise univariada e multivariada entre os grupos de Leishmaniose cutânea e mucosa. RC (razão de chances), IC (intervalo de confiança).	51

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS:

ca. - cerca de;

A.C. - antes de Cristo;

D.C. - depois de Cristo;

HUB - Hospital Universitário de Brasília;

IDRM - Intradermorreação de Montenegro;

IFI - Imunofluorescência indireta;

LC - Leishmaniose cutânea;

LM - Leishmaniose mucosa;

LTA - Leishmaniose tegumentar americana;

PCR - reação em cadeia de polimerase;

TCLE - termo de consentimento livre e esclarecido;

UnB - Universidade de Brasília;

VIH ó Vírus da Imunodeficiência Adquirida.

ATL ó *American Cutaneous Leishmaniasis*

CL ó *Cutaneous Leishmaniasis*

ML ó *Mucous Leishmaniasis*

MST ó *Montenegro Skin Test*

IFA ó *Indirect Immunofluorescence Assay*

WHO ó *World Health Organization*

MS ó Ministério da Saúde

SVS ó Secretaria de Vigilância em Saúde

WMA ó *World Medical Assembly*

SINAN ó Sistema de Informação de Agravos de Notificação

CDC - *Centers for Disease Control and Prevention*

NNN ó meio de cultura Novy-MacNeal-Nicolle

OMS ó Organização Mundial da Saúde

FIOCRUZ ó Fundação Oswaldo Cruz

SPSS ó *software Statistical Package for the Social Sciences*

SUMÁRIO:

1.	INTRODUÇÃO	13
1.1	HISTÓRICO	14
1.2	EPIDEMIOLOGIA	16
1.3	ESPÉCIES DE <i>LEISHMANIA</i>	19
1.4	VETORES	20
1.5	CICLO DA <i>LEISHMANIA</i>	22
1.6	FORMAS CLÍNICAS DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA ...	23
1.6.1	Leishmaniose Cutânea Localizada	24
1.6.2	Leishmaniose Cutânea Disseminada	25
1.6.3	Leishmaniose Cutânea Difusa	25
1.6.4	Leishmaniose Recidiva Cutis	26
1.6.5	Leishmaniose Mucosa	26
1.7	IMUNOLOGIA	26
1.8	DIAGNÓSTICO	29
1.9	TRATAMENTO	31
1.9.1	Antimoniais	32
1.9.2	Medicações de Segunda Escolha	33
2.	OBJETIVOS	35
2.1	OBJETIVO GERAL	35
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	36
3.1	LOCAL E DELINEAMENTO DO ESTUDO	36
3.2	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	36
3.3	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO NO GRUPO LTA	36
3.4	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO NO GRUPO CONTROLE	37
3.5	EXAME DIRETO	37
3.6	CULTURA	37
3.7	HISTOPATOLOGIA	38
3.8	INTRADERMORREAÇÃO DE MONTENEGRO	38
3.9	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA	38
3.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
3.11	ÉTICA	39

4.	RESULTADOS	41
5.	DISCUSSÃO	52
6.	CONCLUSÃO	60
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
8.	ANEXOS	73
8.1	ANEXO I	73
8.2	ANEXO II	75
8.3	ANEXO III	76

1. INTRODUÇÃO:

A leishmaniose acompanha a humanidade desde a antiguidade. Cerâmicas pré-colombianas, de 400 a 900 anos a.C. já mostravam reproduções humanas com mutilações nasais e no lábio superior sugestivas de leishmaniose (COX, 2002; UL BARI, 2006).

A *Leishmania* é um protozoário que vive alternadamente em hospedeiros vertebrados e insetos vetores (flebotomíneos), sendo estes responsáveis pela transmissão do parasito entre seus hospedeiros-reservatórios através do repasto sanguíneo de fêmeas infectadas pelas formas promastigotas (ALVAR et al., 2012; WHO, 2015).

A interação das diferentes subespécies do parasito com o ser humano produz diversas manifestações clínicas sendo as principais a leishmaniose visceral (LV) e a leishmaniose tegumentar (LT). A leishmaniose tegumentar Americana (LTA) considerada uma doença reemergente de transmissão vetorial está presente em 18 países das Américas, sendo 82,6% dos casos concentrados no Brasil e países andinos, especialmente Colômbia e Peru. Mais de 350 milhões de pessoas estão expostas ao risco de contrair a Leishmaniose e 12 milhões já estão infectadas segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) (ALVAR et al., 2012; WHO, 2015).

O diagnóstico da leishmaniose tegumentar Americana (LTA) é realizado pelo quadro clínico associado à epidemiologia e testes laboratoriais. As lesões apresentam ampla variedade de aspectos como pápulas, nódulos, úlceras, tubérculos ou placas infiltradas, o que abre amplo leque de outras doenças como diagnóstico diferencial. A identificação do parasito por esfregaço e cultura são métodos de certeza, mas apresentam baixa sensibilidade. Testes imunológicos, como a intradermoreação de Montenegro (IDRM) e a reação de imunofluorescência indireta (IFI) são técnicas com adequada sensibilidade, mas apresentam reação cruzada com outras doenças. Métodos moleculares como a reação em cadeia de polimerase (PCR *Polymerase Chain Reaction*) apresentam alta sensibilidade e especificidade, contudo são técnicas com elevado custo (FARIAS et al., 2016; GOMES et al., 2014a; GOTO; LINDOSO, 2010; RASTI et al., 2016a; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010).

A LTA apresenta como formas principais a leishmaniose cutânea (LC) e a leishmaniose mucosa (LM). A LC geralmente se manifesta como lesão ulcerada localizada única ou múltipla, com boa resposta ao tratamento. Já a LM se manifesta por infiltração da oro e nasofaringe com lesões vegetantes, ulceradas e destrutivas, tem caráter crônico e de difícil tratamento (GOTO; LAULETTA LINDOSO, 2012; MINISTÉRIO; VIGILÂNCIA, 2010).

A literatura mostra que a LM apresenta maior tempo de doença e testes imunológicos (IDRM e IFI) com valores mais elevados (CUBA CUBA et al., 1980). A identificação de características clínico laboratoriais que diferenciem a LC da LM seria útil no tratamento e preveniria reinfecção e recidiva.

1.1 HISTÓRICO:

No Velho Mundo, há relatos na biblioteca do Rei Assurbanipal da Assíria (ca. 690 - 627 a.C.) em Neinava (atual Mosul, Iraque) de lesões cutâneas que caracterizam a ãoriental soreö (Botão do Oriente), estes textos são baseados em relatos mais antigos de 1.500 a 2.000 a.C. da região da bacia dos rios Tigre e Eufrates na Mesopotâmia (COX, 2002; UL BARI, 2006). Descrições detalhadas de lesões cutâneas compatíveis com leishmaniose foram realizadas por diversos médicos árabes no século X. Gorgani (ca. 1042-1136 d.C.) e Avicenna (ca. 980 - 1037 d.C) caracterizaram a õbalkh soreö do Norte do Afeganistão, chamada na língua persa de õPashegazideguiö (botão da picada do inseto) ou õSalakö (botão de um ano). (AKHOUNDI et al., 2016; RAFATI; MODABBER, 2014)

No Novo Mundo cerâmicas pré-colombianas, de 400 a 900 anos a.C. (huacos peruanos) mostram reproduções humanas sadias e com diferentes doenças, destacam-se figuras com mutilações faciais semelhantes a lesões cutâneas (*uta*) e mucosas (*espundia*) de leishmaniose. Estudos em múmias no Chile demonstraram lesões de pele e mucosas características de leishmaniose. O espanhol Pedro Pizarro, irmão caçula de Francisco Pizarro o -Conquistador do Peruø relata em 1533 ao adentrar nos vales dos Andes a presença de muitos índios com a ãdoença dos narizesö apresentando deformidades faciais. (ANIS RASSI JR, ANIS RASSI, 2015; COX, 2002; FURTADO; DO VALE, 2005; RABELLO, 1925a)



Figura 1 ó Huaco mochica exibindo mutilação do nariz e lábio superior, lesões sugestivas de espundia, conforme Ashmead (1900), Rabello (1925), Tello (1938), Herrer (1956), Pessoa (1958), e outros (apud ALTAMIRANO-ENCISO, AJ et al, 2003).

No Brasil um dos primeiros relatos de leishmaniose vem da citação na tese de doutorado de Júlio Cesar Tello de 1908, "Antigüedad de la syphilis en el Perú", proveniente da viagem do frei Dom Hipólito Sanches de Fayas y Quiros em 1827 da cidade de Tabatinga (AM) até o Peru. Em sua viagem ele percorreu regiões do vale do rio Amazonas onde encontrou indivíduos com úlceras nos braços e pernas, além de lesões destrutivas na boca e nariz, registrando a possível relação com a picada de insetos (FURTADO; DO VALE, 2005; FURUSAWA; BORGES, 2014).

O crédito pela descoberta do parasita é controverso, pois muitos pesquisadores estudaram o tema simultaneamente no final do século XIX e início do século XX. O escocês David Cunningham em 1885 em Alepo, Síria, visualizou corpos nucleóides de igual tamanho no tecido e sugeriu serem fungos. O russo P. F. Borovsky em 1898 descreveu a anatomia do parasita e seu kinetoplasto, classificando-o como protozoário; estes achados foram publicados em um periódico local russo em 1898 e esta informação apenas se tornou disponível fora da Rússia em traduções depois de 1938. O inglês William Leishman, em 1901 com amostras de fígado, e Charles Donovan, em 1903 com amostras do baço, descobriram de maneira independente o microorganismo e atribuíram a etiologia da doença indiana òkala azarö (leishmaniose visceral) a este parasita. Posteriormente, Ronald Ross explorou a conexão entre a doença e o microorganismo e criou o gênero *Leishmania* em 1903. James Homer Wright em 1903 levou o crédito pela identificação do parasita em lesões cutâneas de uma criança da Armênia com suspeita de botão do Oriente. A cultura da *Leishmania* foi realizada pela primeira vez na Tunísia por Nicolle, que usou um meio modificado de Novy-MacNeal (onde sabidamente cresce *Tripanossoma* spp), hoje muito utilizado e conhecido como meio Novy-MacNeal-Nicolle (NNN). (COX, 2002; RAFATI; MODABBER, 2014)

O médico baiano Alexandre Evangelista de Castro Cerqueira em 1885 descreveu lesões cutâneas na Faculdade de Medicina da Bahia compatíveis com LTA. Juliano Moreira, em 1894, publicou artigo com o título "Existe na Bahia o botão de Biskra?: estudo clínico"; e fez relação entre a picada do inseto muruim com a presença de lesões. Ambos contribuíram para a avaliação do "botão do oriente" no Brasil. (ANIS RASSI JR, ANIS RASSI, 2015; FURTADO; DO VALE, 2005; FURUSAWA; BORGES, 2014)

Em 1908 ocorreu uma epidemia de casos que foram acompanhadas na Santa Casa de São Paulo de pacientes oriundos de áreas de desmatamento da estrada de Ferro Noroeste do Brasil na região de Bauru-SP, ficando conhecido como úlcera de Bauru. Em 1909 Adolpho Lindemberg identificou "corpúsculos de Leishman-Donovan" em lesões de trabalhadores de

rodovias no interior de São Paulo, confirmadas no ano seguinte por Carini e Paranhos (FURTADO; DO VALE, 2005; FURUSAWA; BORGES, 2014).

Gaspar Viana investigou, em 1911, um paciente de Além Paraíba-MG e encontrou formas amastigotas e a denominou *Leishmania brasilienses* (posteriormente corrigido por Alfredo da Matta em 1916 para *L. braziliensis*). Em 1912 comunicou à Sociedade Brasileira de Dermatologia no 7º Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia os primeiros casos de cura de LTA com o emprego do tártaro emético (FURTADO; VALE, 2005; FURUSAWA; BORGES, 2014).

Eduardo Rabelo, em 1925, publicou no primeiro e segundo fascículos do volume um dos *Annaes Brasileiros de Dermatologia e Syphilographia*, o trabalho "Contribuições ao estudo da leishmaniose tegumentar no Brasil" onde revisou a leishmaniose no Brasil até aquela data e sugeriu o nome leishmaniose tegumentar. Neste trabalho destaca-se modelos encontrados no Museu da Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, datados de 1882 a 1884, que representam casos de pacientes com leishmaniose tegumentar; casos diagnosticados em 18 imigrantes italianos de São Paulo que retornaram à Itália e foram descritos por Achille Breda em 1884 como "Bouba brasiliana" e reproduções em aquarela de 1879 de casos de úlceras no nariz de uma família de Uberaba nas Minas Gerais apresentados à Sociedade Brasileira de Dermatologia em Junho de 1912 por Carneiro da Cunha (FURTADO; DO VALE, 2005; FURUSAWA; BORGES, 2014; RABELLO, 1925b).

1.2 EPIDEMIOLOGIA

A leishmaniose é uma doença infecciosa adquirida pelo homem a partir de repasto sanguíneo de vetores flebótomos que transmitem protozoários do gênero *Leishmania*. Ela causa lesões em órgãos internos, na pele e mucosas do homem e em diferentes espécies de animais silvestres e domésticos. É considerada um grande problema de saúde nos países da zona tropical, atingindo mais de 90 países em cinco continentes (MINISTÉRIO; VIGILÂNCIA, 2010; WHO, 2015; WHO TECHNICAL REPORT SERIES, 2010).

Segundo a OMS 1.3 milhões de novos casos da enfermidade ocorrem por ano, sendo 300 mil de formas viscerais (tendo 90% dos casos distribuídos entre os países Bangladesh, Brasil, Etiópia, Índia, Nepal e Sudão) e 1 milhão de formas tegumentares (maioria no

Afganistão, Argélia, Brasil, Colômbia, República Islâmica do Iran, Paquistão, Peru, Arábia Saudita, Síria e Tunísia). A cada 20 segundos ocorre um caso de Leishmaniose tegumentar no mundo e ela está entre as seis doenças infecto-parasitárias mais prevalentes no mundo, sendo uma doença prioritária para controle pela OMS. A subforma mucosa da leishmaniose tegumentar é predominante no Brasil, Peru e Bolívia (SAVOIA, 2015; WHO, 2015; WHO TECHNICAL REPORT SERIES, 2010).

Nos últimos vinte anos houve aumento do número de casos e maior distribuição das leishmanioses no mundo. Contribuem para esta expansão os seguintes fatores: baixas condições socioeconômicas, desnutrição, alterações climáticas e ambientais, fluxo migratório, guerras, aumento de condições imunossupressoras (como a co-infecção HIV) e derrubada de florestas para urbanização (WHO TECHNICAL REPORT SERIES, 2010).

No Brasil a LTA inicialmente se restringia às regiões florestais e acometia populações que eventualmente penetravam nas matas. Houve mudança deste perfil com a derrubada de áreas de floresta para a expansão das cidades que levou ao contato próximo com o vetor e à adaptação deste ao ambiente peri-domiciliar. Animais como cães e roedores passaram a atuar como reservatórios da doença (MINISTÉRIO; VIGILÂNCIA, 2010).

Na década de 80 a LTA estava presente em 19 Estados, já em 2003 é considerada autóctone em todo o território brasileiro (MINISTÉRIO; VIGILÂNCIA, 2010). Conforme a figura 2 criada a partir de dados do Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN), entre os anos de 1980 e 2010 ocorreram 702.839 casos de LTA no Brasil. Na década de 80 ocorreram 153.289 casos; na década de 90 ocorreram 300.716 casos, com aumento de 49,02% em relação à década anterior. Entre os anos 2001 a 2010 ocorreram 248.834 casos, com queda de 17,25% em relação à década anterior (SAÚDE, 2016).

No Brasil, os dados analisados de 1990 a 2012 mostraram que as taxas de incidência de LTA tem evoluído variando entre 10,6 e 22,9 casos para cada 100.000 habitantes. As Regiões com maiores níveis de incidência são o Norte e Centro-Oeste, que durante todo o período se encontram acima da média nacional conforme figura 3 (SAÚDE, 2016).

Os principais focos endêmicos da LTA localizam-se longe dos grandes centros urbanos, dificultando a realização dos exames subsidiários que necessitam de capacitação técnica. Tal fato é preocupante, já que o perfil de toxicidade das drogas existentes é elevado e necessita do diagnóstico preciso (DE LIMA et al., 2007; MINISTÉRIO DA SAÚDE; DE, 2007; SILVA; MUNIZ, 2009)

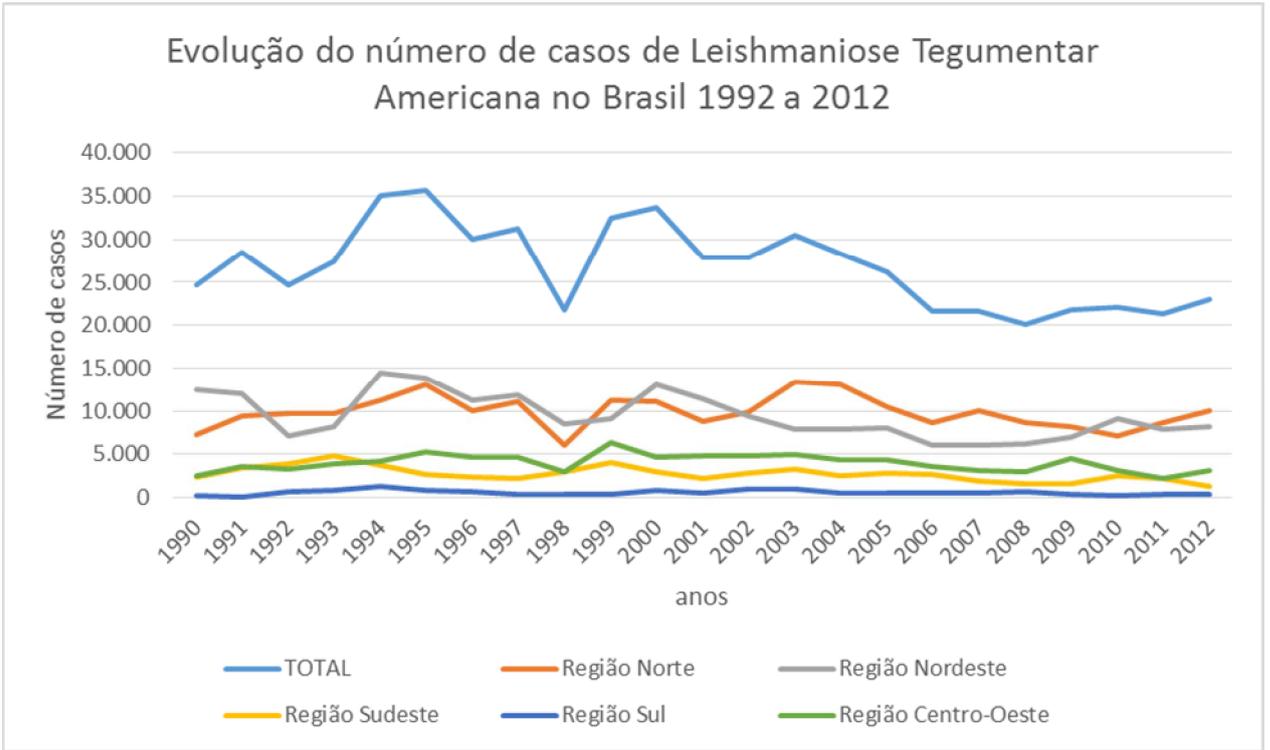


Figura 2 - Evolução do número total de casos de Leishmaniose Tegumentar Americana nas regiões do Brasil entre os anos de 1990 e 2012. Fonte: SINAN

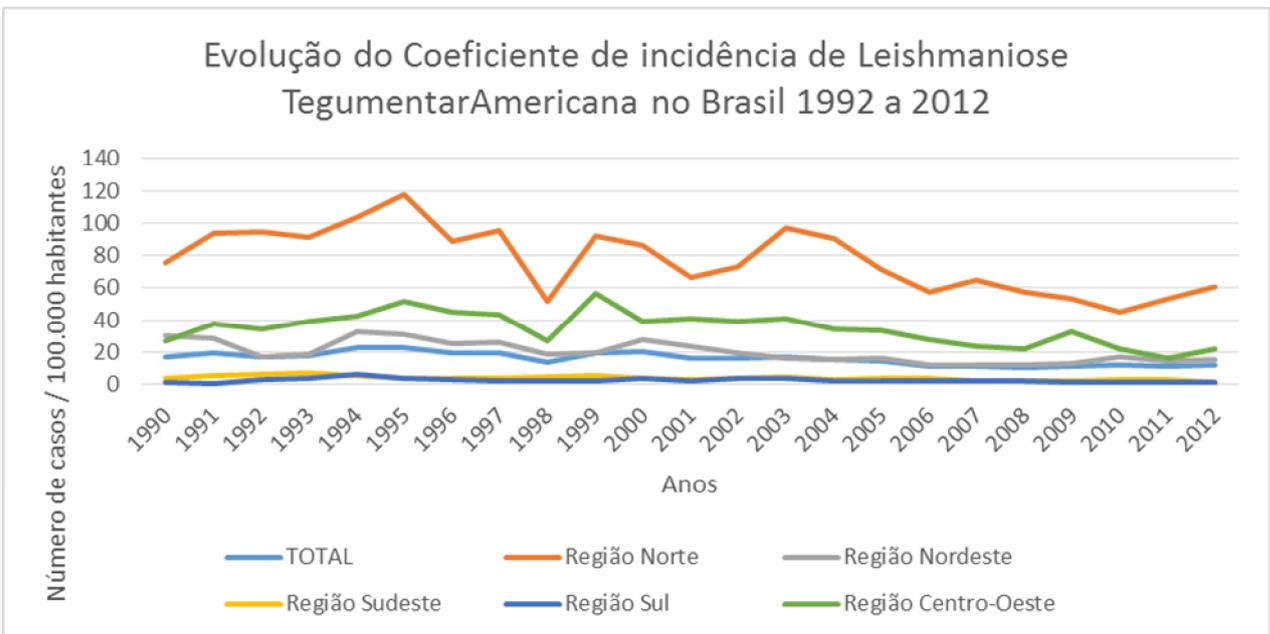


Figura 3 - Evolução do coeficiente de incidência de Leishmaniose Tegumentar Americana nas regiões do Brasil entre os anos de 1990 e 2012. Fonte: SINAN.

1.3 ESPÉCIES DE *LEISHMANIA*

A classificação simplificada do gênero *Leishmania* é descrita abaixo (AKHOUNDI et al., 2016; LEVINE et al., 1980; TUON; AMATO NETO; SABBAGA AMATO, 2008):

Reino: PROTISTA Haeckel, 1866

Sub-reino: PROTOZOA Goldfuss, 1817

Filo: SARCOMASTIGOPHORA Honigberg & Balamuth, 1963

Sub-filo: MASTIGOPHORA Desing, 1866

Classe: ZOOMASTIGOPHOREA Calkins, 1909

Ordem: KINETOPLASTIDA Honigberg, 1963, emend. Vickerman, 1976

Sub-ordem: TRYPANOSOMATINA Kent, 1880

Família: TRYPANOSOMATIDAE Doflein, 1901, emend. Grobden, 1905

Gênero: LEISHMANIA Ross, 1903

Subgênero: LEISHMANIA Ross, 1903

Subgênero: VIANNIA Lainson & Shaw, 1987

Este gênero foi dividido em dois subgêneros, *Leishmania* e *Viannia*. As formas promastigotas desenvolvem-se no intestino médio e anterior do inseto na *Leishmania*. Já na *Viannia* a porção posterior do intestino é o local onde inicia o desenvolvimento e migram para o intestino médio e anterior. Esta classificação está em constante atualização com a inclusão de novas formas, auxiliam na classificação os caracteres morfológicos, biológicos, imunológicos, enzimáticos e de DNA de núcleo e cinetoplasto. (AKHOUNDI et al., 2016; SHAW, 1994).

Há cerca de 20 espécies de *Leishmania spp* que podem causar a doença em humanos. Nas Américas são 11 espécies. No subgênero *Viannia* temos as espécies: *L.(V.) braziliensis*, *L.(V.) guyanensis*, *L.(V.) panamensis*, *L.(V.) peruviana*, *L.(V.) shawi*, *L.(V.) lainson*, *L.(V.) lindenberg*. No subgênero *Leishmania* temos as espécies *L.(L.) amazonensis*, *L.(L.) mexicana*, *L.(L.) pifanoi* e *L.(L.) venezuelensis*. A figura 4 mostra a distribuição das espécies de

Leishmania no Brasil em 2006 (BASANO; CAMARGO, 2004; GOTO; LAULETTA LINDOSO, 2012; MINISTÉRIO DA SAÚDE; DE, 2007; RAMANATHAN et al., 2011).



Figura 4 ó Distribuição das espécies de *Leishmania* no território brasileiro. Fonte: SVS/MS 2007.

1.4 VETORES

As espécies do gênero *Leishmania* são transmitidas pela picada de fêmeas infectadas de insetos da Ordem Díptera, Família *Psychodidae*, Subfamília *Phlebotominae*, pertencentes aos gêneros *Lutzomyia* (no Novo Mundo), e *Phlebotomus* (no Velho Mundo). A espécie *Lutzomyia longipalpis* é o principal vetor e é encontrada nas cinco regiões do Brasil. A figura 5 mostra o popularmente conhecido tatuquiras, birigui ou mosquito palha (BRASIL, 2008; MAIA-ELKHOURY et al., 2008).



Figura 5 ó Fêmea do flebotômico engurgitada. FONTE: *Public Health Library*.

Outras espécies envolvidas na transmissão da LTA são: *Lutzomyia flaviscutellata*, *L. whitmani*, *L. umbratilis*, *L. intermedia*, *L. wellcomei*, *L. migonei*. A presença de *Leishmania* no intestino desses insetos o caracterizam como vetor. *L. neivai* e *L. fisheri* também são encontrados com frequência no peridomicílio de áreas com LTA. A figura 6 mostra a distribuição das principais espécies de flebotômicos vetores de LTA no Brasil.

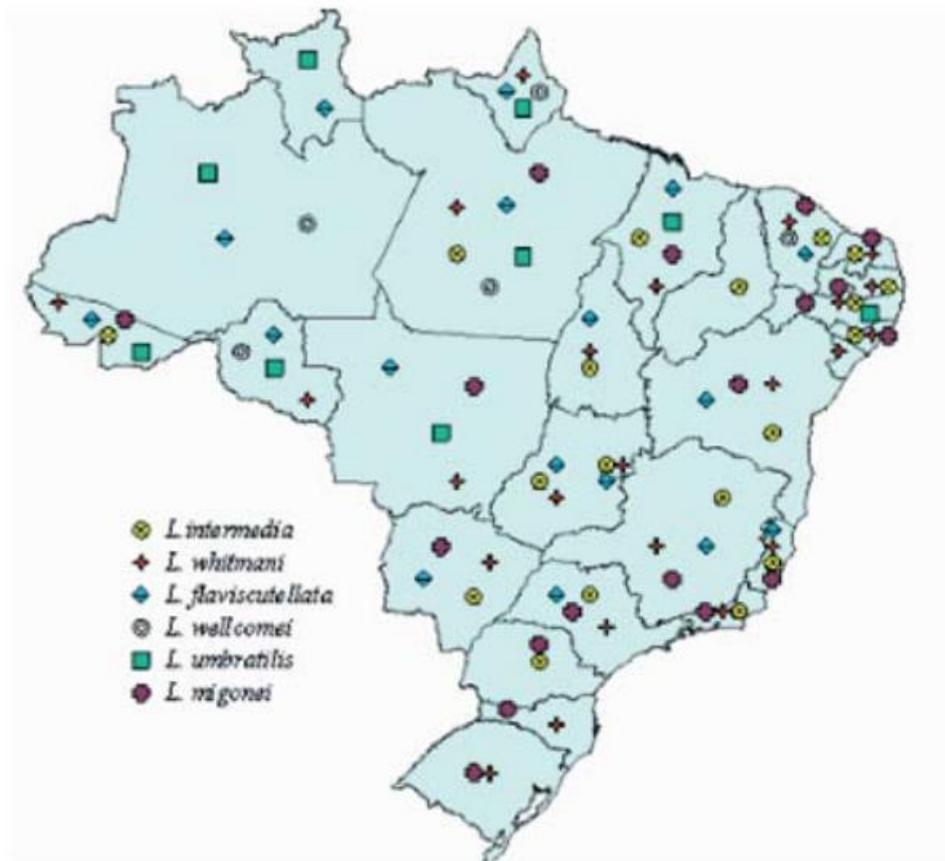


Figura 6 ó Distribuição das principais espécies de flebotômicos vetores de Leishmaniose Tegumentar Americana no Brasil em 2005. Fonte: SVS/MS 2007.

1.5 CICLO DA *LEISHMANIA*

As leishmanioses são zoonoses de mamíferos silvestres (roedores, marsupiais, desdentados, primatas) e mais raramente domésticos (cães, cavalos e mulas). O homem é um hospedeiro acidental e não tem papel importante na manutenção dos parasitas na natureza (BRASIL. et al., 2007).

O ciclo (figura 7) se inicia quando fêmeas de flebotomíneo realizam seu repasto sanguíneo em animais doentes e ingerem macrófagos contendo formas amastigotas. No intestino do inseto passam por diversos estágios de desenvolvimento e divisão e se transformam em promastigotas que migram para a faringe. A inoculação determina a lesão cutânea da porta de entrada, de aspecto pápulo-vesiculososo, que pode evoluir para regressão espontânea. Cerca de 90% dos parasitas inoculados na pele são destruídos pelo sistema complemento. As formas promastigotas são fagocitadas por macrófagos, células dendríticas e neutrófilos. Dentro do fagossoma os promastigotas se transformam em amastigotas e passam a multiplicação por divisão simples até a rotura da célula. Um novo repasto sanguíneo do vetor reinicia o ciclo (WHO TECHNICAL REPORT SERIES, 2010).

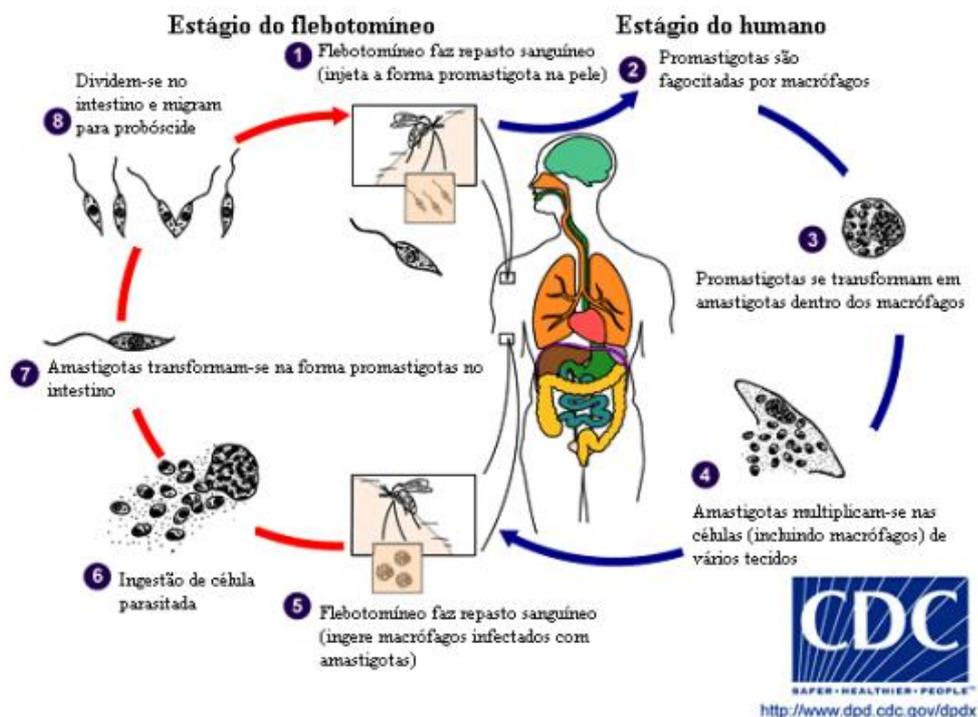


Figura 7 ó Ciclo de vida da *Leishmania*. Fonte: *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), traduzido. Disponível em <http://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>.

No trato digestivo dos flebotomíneos a forma flagelada ou promastigota (figura 8) tem cerca de 16-40 por 1,5-3 micrômetros. (AKHOUNDI et al., 2016; SHAW, 1994).

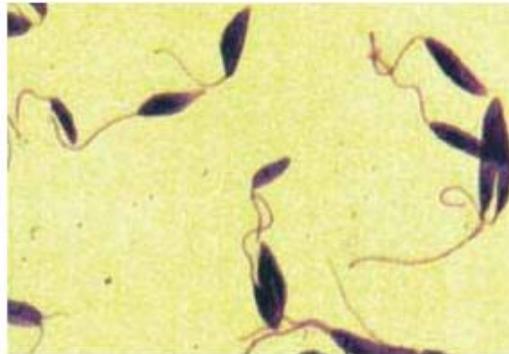


Figura 8 ó Forma flagela ou promastigota da *Leishmania*. Fonte: MS 2006.

Nos hospedeiros mamíferos a forma aflagelada ou amastigota (figura 9) tem entre 1,5-3 por 3-5,5 micrômetros, é arredondada e imóvel, e se multiplica obrigatoriamente dentro de células do sistema monocítico fagocitário (SMF) (AKHOUNDI et al., 2016; SHAW, 1994).

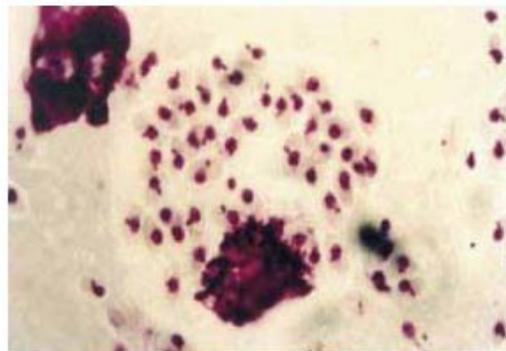


Figura 9 ó Forma aflagelada ou amastigota da *Leishmania*. Fonte: MS 2006.

Acredita-se que não há transmissão de pessoa a pessoa da LTA. O período de incubação da doença no ser humano é, em média, de dois a três meses, podendo variar de duas semanas a dois anos (GONTIJO, 2003; MINISTÉRIO; VIGILÂNCIA, 2010; WHO TECHNICAL REPORT SERIES, 2010)

1.6 FORMAS CLÍNICAS DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA

As lesões de LTA apresentam-se com uma ampla variedade de aspectos clínicos (pápulas, nódulos, úlceras, tubérculos ou placas infiltradas) o que dificulta seu diagnóstico. A

lesão clássica em moldura consiste em uma úlcera com fundo com tecido de granulação e bordas elevadas endurecidas. Linfonomegalia regional pode estar presente em 12 a 30% dos casos. A doença pode progredir para outras apresentações surgindo lesões disseminadas na pele e/ou a invasão da mucosa oral e nasofaríngea por via linfática e/ou hematogênica ou mesmo por múltiplas picadas do vetor. Pode ainda evoluir de maneira silenciosa sem lesões cutâneas, mas com positividade aos testes diagnósticos (BRYCESON, 1970; FOLLADOR et al., 2002; GOTO; LINDOSO, 2010; HANDLER et al., 2015).

Os protozoários que causam leishmaniose cutânea (LC) e leishmaniose cutânea mucosa (LM) no Novo Mundo estão agrupados no complexo *L. (V.) braziliensis* e *L. (L.) mexicana*. A LC quando causada por *L. braziliensis* apresenta-se com úlcera única ou múltipla, sendo a lesão com maior profundidade e diâmetro. Quando a LC é causada pela *L. (V.) guyianensis*, as lesões apresentam maior número e menor diâmetro; há mais parasitas e a linfadenomegalia é mais presente. Quando causada pela *L. (L.) amazonensis*, geralmente a úlcera é única com borda mais infiltrada. Parasitas do subgênero *Viannia* geralmente causam LC e LM, enquanto que aqueles do subgênero *Leishmania* geralmente não estão envolvidos com manifestações mucosas, causando apenas lesões cutâneas restritas e autolimitadas. Acreditava-se que a *L. (L.) amazonensis*, causava apenas lesões cutâneas localizadas. Hoje são associadas com alguns casos de LM e leishmaniose visceral (LV) (BITTENCOURT; BARRAL, 1991; NEVES et al., 2011; SAMPAIO; LUCAS; COSTA FILHO, 2009; SILVEIRA; LAINSON; CORBETT, 2005).

1.6.1 LEISHMANIOSE CUTÂNEA LOCALIZADA

A leishmaniose cutânea (LC) caracteriza-se por apresentar lesão única ou múltipla (até 10 lesões) ulcerada indolor autolimitada que se desenvolve em áreas do corpo expostas (membros, face) no local de inoculação de qualquer espécie de *Leishmania* pelo vetor (GONTIJO; DE CARVALHO, 2003; HASHIGUCHI et al., 2016).

Apresenta-se como placa verrucosa e pode fazer diagnóstico diferencial com micoses profundas e micobacterioses, classicamente referidas pelo acrônimo PLECT (paracoccidioidomicose, leishmaniose, esporotricose, cromomicose e tuberculose). É descrita a presença ocasional de intensa linfangite o que pode confundir com esporotricose cutânea. A IDRm frequentemente é positiva (FAGUNDES; SILVA, 2007; GONTIJO, 2003).

1.6.2 LEISHMANIOSE CUTÂNEA DISSEMINADA

A forma de leishmaniose cutânea disseminada é uma forma rara (2%) e ocorre com mínimo de 10 lesões. Alguns pacientes podem apresentar mais de 700 lesões. Esta forma clínica é caracterizada por múltiplas lesões papulares acneiformes formando ulcerações em várias regiões do corpo. A explicação pelo elevado número de lesões é atribuída à disseminação hematogênica ou linfática do parasito (HASHIGUCHI et al., 2016; ROSA; MACHADO, 2011).

Manifestações sistêmicas (febre, mal estar, mialgia e perda de peso) podem estar associadas e acometimento mucoso ocorre em 30% dos pacientes. A imunodeficiência celular contribui para esta apresentação. Esta forma pode ser causada por *L. (V.) braziliensis* e *L. (L.) amazonensis* e tem sido descrita em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana (VIH). Os exames parasitológicos como a cultura raramente visualizam o protozoário, já os testes imunológicos podem apresentar resultados negativos ou fortemente positivos. A resposta ao tratamento é variável e não cronifica (BITTENCOURT; BARRAL, 1991; MINISTÉRIO; VIGILÂNCIA, 2010; ROSA; MACHADO, 2011).

1.6.3 LEISHMANIOSE CUTÂNEA DIFUSA

América Central, América do Sul (especialmente no Brasil) e Etiópia são locais onde foi reportada a rara leishmaniose cutânea difusa. Geralmente é causada por *L. aetiopica*, *L. (L.) mexicana* e *L. (L.) amazonensis*. Consiste em uma forma grave acometendo pacientes com anergia e deficiência específica na resposta imune celular a antígenos de *Leishmania*. Apresenta início insidioso com lesão única e má resposta ao tratamento. Seguem-se múltiplos nódulos, papulas e placas com infiltração e sem ulceração acometendo principalmente áreas expostas. Pode simular hanseníase Virchoviana com infiltração difusa na face. Em relação aos exames complementares temos abundantes protozoários na cultura e esfregaço na maioria dos casos. Apresenta pouca ou nenhuma resposta ao tratamento, geralmente a IDR é negativa e alguns casos podem cronificar (GOTO; LAULETTA LINDOSO, 2012; MINISTÉRIO; VIGILÂNCIA, 2010; ROSA; MACHADO, 2011).

1.6.4 LEISHMANIOSE RECIDIVA CUTIS

A leishmaniose recidiva cutis é caracterizada pelo aparecimento de lesões ativas ao redor da cicatriz de lesão prévia aparentemente curada, frequentemente dentro de 2 anos. No Brasil esta forma tem sido causada tanto por *L. (V.) braziliensis* quanto *L. (L.) amazonensis*. A IDRM é positiva e apresenta pouca resposta ao tratamento (BITTENCOURT et al., 1993; GOMES et al., 2013).

1.6.5 LEISHMANIOSE MUCOSA

Cerca de 3% dos pacientes infectados com *L. (V.) braziliensis* são acometidos por LM nas Américas. Infecções por *L. (V.) guyanensis* e *L. (L.) amazonensis* são mais raras (ALTAMIRANO-ENCISO, A. J.; MARZOCHI; C. A.; MOREIRA, J. S.; SCHUBACH; MARZOCHI, 2003; AMATO et al., 2009a).

O envolvimento da mucosa se desenvolve a partir da lesão primária por disseminação hematogênica do parasita para a mucosa oral, nasofaringe e laringe. Após um período de meses a anos da infecção surgem lesões que causam destruição da mucosa do nariz, boca, faringe, laringe e traquéia. Em casos avançados ocorre risco de pneumonia, asfixia, disfagia, desnutrição e morte. É rara a presença de formas amastigotas na biopsia e há uma resposta exacerbada da IDRM (AMATO et al., 2009a; MACHADO-COELHO et al., 2005; SAMPAIO; MARSDEN, 1997b).

1.7 IMUNOLOGIA

A diversidade da resposta imunológica do hospedeiro frente à infecção por *Leishmania* é altamente complexa e, embora possam acelerar a cura, algumas respostas podem exacerbar a doença. A resposta imune é dependente da interação de múltiplos fatores como: a variação genética do hospedeiro mamífero, variação genética dos parasitas entre as diferentes espécies, da localização da lesão, do número de picadas e da quantidade do inoculo recebido (BRYCESON, 1970; DE OLIVEIRA; BRODSKYN, 2012).

A imunidade inata é mediada por células *natural killer* (NK), citocinas e fagócitos (mononucleares e polimorfonucleares), bem como as proteínas do complemento. A partir da entrada para dentro do corpo do hospedeiro promastigotas são fagocitadas por células dendríticas e macrófagos, mas são resistentes à proteólise e na degradação dentro dos fagossomas. A proteína de complemento C3b é uma das opsoninas imunes mais potentes, ela se liga à *Leishmania* resultando em fagocitose acelerada pelas células do sistema fagocítico. A glicoproteína de superfície da *Leishmania* gp63 converte C3b em iC3b e isso favorece a fagocitose ao invés da lise. Uma vez dentro do fagócito a *Leishmania* é muito resistente à degradação. Através de um receptor *toll-like-9* (TLR-9) da via dependente, macrófagos infectados e células dendríticas (DC) desempenham um papel importante na produção de IL-12 que conduz à ativação de células NK, a produção de IFN- γ e a subsequente ativação Th1. A ativação precoce de células NK, também é induzida por quimiocinas (IP-10, MCP-1 e linfotactina). Células NK ativadas induzem a citólise de macrófagos infectados com o protozoário, e a liberação de IFN- γ tem papel importante na defesa do hospedeiro através da ativação de espécies reativas de oxigênio (ROI) e nitrogênio (RNI) nos macrófagos para matar o parasita intracelular. O fator de necrose tumoral- α (TNF- α) é um cofator com óxido nítrico (NO) e é importante na sinergia com IFN- γ para ativar macrófagos infectados. A ativação de polimorfonucleares mata os parasitas por mecanismos oxidativos. Assim, na leishmaniose, os macrófagos desempenham uma dupla função; eles representam uma importante célula responsável pela morte do parasita e também o principal local da replicação do parasita (DE OLIVEIRA; BRODSKY, 2012; DUTRA et al., 2011; SAVOIA, 2015).

A imunidade humoral produz anticorpos (AC) contra a *Leishmania*. Estes AC são produzidos em menor quantidade na LC e em um nível muito elevado na LM, mas não desempenham qualquer papel na proteção na LTA. A análise de AC durante a doença mostra populações de imunoglobulina (Ig) dos tipos IgG, IgM, IgE e IgG (MUTISO et al., 2013; SILVEIRA et al., 2009).

Após a infecção, na pele, células de Langerhans fagocitam e transportam a *Leishmania* para os linfonodos regionais, onde eles induzem uma resposta de células T (BRYCESON, 1970; DUTRA et al., 2011; SILVEIRA et al., 2009).

Mostrou-se uma dicotomia na interação entre essas espécies de *Leishmania* e a resposta imunológica produzida pelo linfócito-T humano; enquanto a *L. (V.) braziliensis* mostra uma clara tendência para levar a infecção como leishmaniose cutânea localizada (LCL), uma forma moderada de hipersensibilidade de células T no centro do espectro, e em

direção a um polo de hipersensibilidade de linfócitos T a forma da leishmaniose mucosa (MCL) no polo de hipersensibilidade das células T com uma resposta imunológica do tipo Th1 proeminente. A *L. (L.) amazonenses* mostra uma tendência oposta, conduzindo à infecção anérgica da leishmaniose cutânea difusa (ADCL) no pólo de hipossensibilidade das células T e com uma marcada resposta imune do tipo Th2. Entre o LCL central e os dois MCL polar e ADCL, a infecção pode apresentar uma forma intermediária conhecida como leishmaniose cutânea disseminada, caracterizada por uma inibição da hipersensibilidade incompleta das células T, mas com uma supremacia evidente da resposta Th1 sobre Th2. Esta dicotomia do sistema imunológico modula a infecção humana por estes parasitas do gênero *Leishmania*. A figura 10 ilustra esta interação (DE OLIVEIRA; BRODSKY, 2012; MUTISO et al., 2013; SAVOIA, 2015; SILVEIRA et al., 2009).

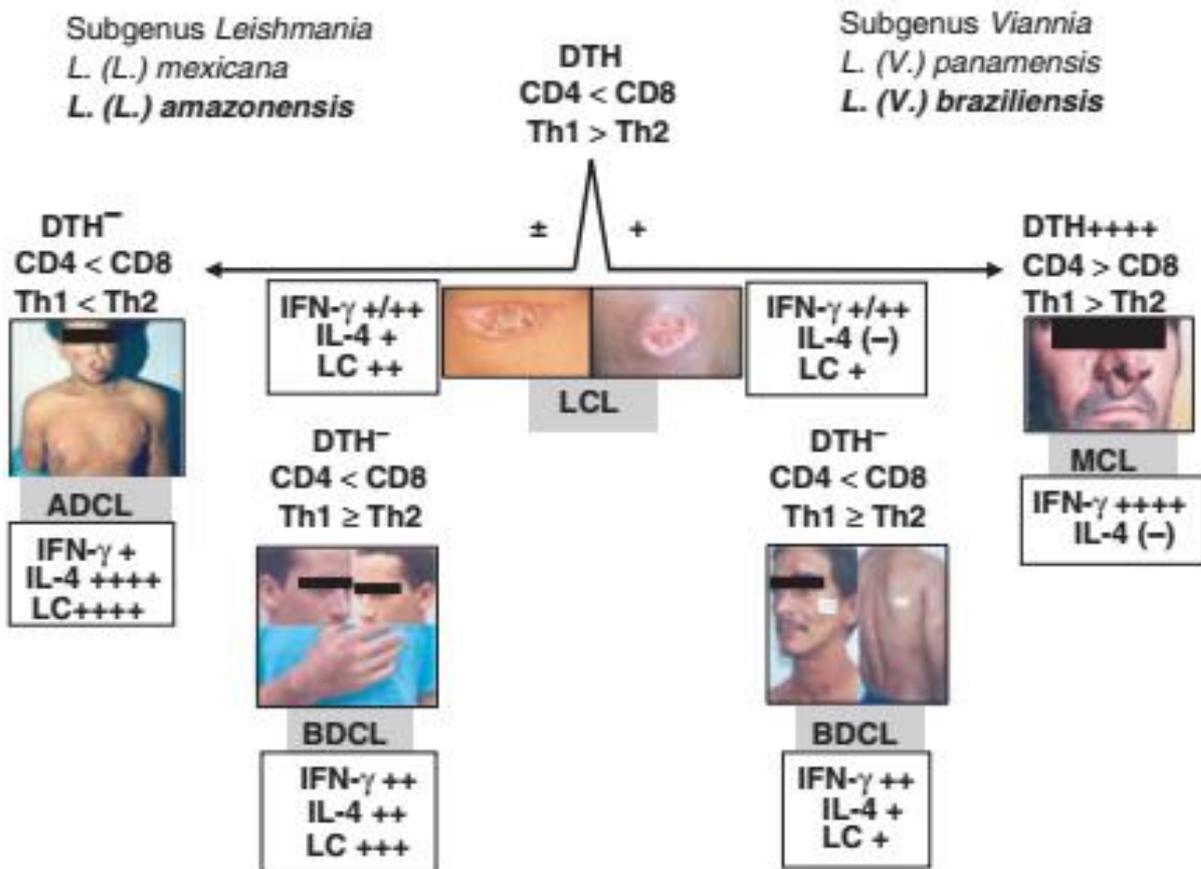


Figura 10 ó Espectro clínico e imunopatológico da Leishmaniose Tegumentar Americana modulada pelas competências imunopatogênicas das espécies de *Leishmania* dentro do subgênero *Viannia* and *Leishmania*. ADCL, leishmaniose cutânea difusa anérgica (nodular and infiltrated cutaneous lesions on the thorax, face and ears); LCL, leishmaniose cutânea localizada [*L. (L.) amazonensis*: lesão ulcerada com grande infiltrado na borda]; [*L. (V.) braziliensis*: lesão ulcerada com discreto infiltrado na borda]; MCL, leishmaniose mucosa: lesão ulcerada infiltrada no nariz e na mucosa do septo nasal; BDCL, leishmaniose cutânea disseminada borderline [*L. (L.) amazonenses*: lesão no dorso da mão (lesão primária) e nas

orelhas e região frontal (lesão secundária)]; [*L. (V.) braziliensis*: lesão papulo ulcerada disseminada na face, orelhas, tronco e braços]. DTH, reação de hipersensibilidade retardada; CD4 = linfócitos T CD4+; CD8 = linfócitos T CD8+; Th1 = resposta imunológica do tipo Th1; Th2 = resposta imunológica do tipo Th2; IFN- γ = interferon gamma; IL-4 = interleucina 4; LC = célula de Langerhans. FONTE: Silveira *et al* 2009.

1.8 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico é realizado pelo quadro clínico associado à epidemiologia e exames parasitológicos (pesquisa direta do parasita na lesão, cultura em meio NNN (Neal, Novy e Nicolle), isolamento *in vivo* por inoculação em animais, biópsia e histopatologia), exames moleculares (reação de cadeia de polimerase - PCR) e exames imunológicos (intradermorreação de Montenegro - IDRM, imunofluorescência indireta - IFI) (GOMES et al., 2015a; MINISTÉRIO; VIGILÂNCIA, 2010; WHO TECHNICAL REPORT SERIES, 2010).

O diagnóstico diferencial pela manifestação da lesão compreende diversas doenças infecciosas ou não, como: paracoccidiodomicose, carcinoma epidermóide, carcinoma basocelular, linfomas, rinofima, rinosporidiose, entomoforomicose, hanseníase virchowiana, sífilis terciária, perfuração septal traumática ou por uso de drogas, rinite alérgica, sinusite, sarcoidose, granulomatose de Wegner e outras doenças (BRASIL. et al., 2007; HANDLER et al., 2015).

O exame parasitológico direto é um exame rápido, de baixo custo e de fácil realização. O encontro do parasita é mais frequente em lesões recentes, sendo raro em lesões com mais de um ano de evolução. Deve-se tratar a infecção secundária pois esta diminui a sensibilidade do método. A sensibilidade varia de 15 a 90% e depende do tempo de evolução da lesão, sendo menor após 3 meses de evolução, nas formas crônicas e hiperérgicas (FARIAS et al., 2016; MINISTÉRIO DA SAÚDE; DE, 2007; REIS et al., 2008a; SZARGIKI et al., 2009).

A cultura é um dos métodos de confirmação do agente etiológico com sensibilidade variando de 40 a 75%. Permite a posterior identificação da espécie de *Leishmania* envolvida por PCR. Após o quinto dia em meio NNN já podem ser encontradas em exame à fresco formas promastigotas. Novos testes de mini e micro cultivo apresentam sensibilidade de 98,4% e tempo de conclusão do teste de 2 dias. Contudo, produzem pequena quantidade de

formas promastigotas, o que dificulta a realização de testes posteriores para identificação da espécie (BRASIL. et al., 2007; FARIAS et al., 2016; PAGHEH et al., 2014).

A histopatologia estuda fragmento do tecido retirado da borda ativa da lesão e corado pela técnica de Hematoxilina & Eosina (HE). Outras técnicas para o diagnóstico diferencial com micobacterioses (Ziehl-Neelsen) e com micoses (PAS ácido periódico de Schiff e impregnação pela prata de Grocott) podem ser utilizadas. A visualização das formas amastigotas é rara. O uso de técnicas de imuno-histoquímica ou imunocitoquímica podem melhorar a sensibilidade (ALVES et al., 2013; GOTO; LINDOSO, 2010). As alterações dérmicas da LTA produzem padrões histopatológicos distintos. Vários autores classificaram estes padrões. Entre eles destacam-se Azulay em 1960 com 7 tipos; Ridley *et al* com 5 grupos em 1983; Magalhães *et al* com 5 tipos em 1982; e Bittencourt e Barral em 1991 simplificaram a classificação com três padrões histopatológicos (BITTENCOURT; BARRAL, 1991; GOTO; LINDOSO, 2010; MAGALHÃES et al., 1986; RIDLEY et al., 1980).

A intradermoreação de Montenegro que é um dos principais exames imunológicos que auxiliam no diagnóstico da LTA em áreas endêmicas. Consiste em uma reação de hipersensibilidade celular tardia para o antígeno da *Leishmania* com sensibilidade que varia de 30% a 100% e especificidade em torno de 75%. O teste tende a positivar a partir de 3 meses de infecção. Pode ocorrer reação cruzada com doença de Chagas, esporotricose, hanseníase virchowiana, tuberculose, cromomicose e indivíduos curados de leishmaniose visceral. Resultados falsos negativos também têm sido descritos quando a infecção é precoce, ou em casos em que a doença cutânea seja causada por *L. (V.) amazonensis* (FAGUNDES et al., 2007, 2012; GOMES et al., 2014b; MINISTÉRIO DA SAÚDE; DE, 2007; PINEDA et al., 2001; REIS et al., 2008a).

Os testes sorológicos buscam antígenos circulantes no sangue dos pacientes. A imunofluorescência indireta (IFI) e o teste imunoenzimático (ELISA) têm sensibilidade e especificidade dependentes da técnica empregada. Ambos apresentam sensibilidade amplamente variável, com resultados entre 30% e próximo a 100%, dependendo da espécie envolvida. Estes testes são mais sensíveis em infecções causadas pela *L. (V.) braziliensis* em comparação à doença causada pela *L. (L.) amazonensis*. Casos com múltiplas lesões e com lesões mucosas apresentam títulos elevados. Pode ocorrer reação falso negativa em LTA e reação falso positiva com doenças diversas (leishmaniose visceral, doença de Chagas, pênfigo foliáceo, paracoccidiodomicose, esporotricose e outras) (BRASIL. et al., 2007; GOMES et

al., 2014b; RASTI et al., 2016a; REIS et al., 2008b; SZARGIKI et al., 2009; WHO TECHNICAL REPORT SERIES, 2010).

Os exames moleculares, como o PCR, apresentam sensibilidade e especificidade elevados quando comparados aos outros testes diagnósticos. Consiste na extração do DNA a partir de amostra (biópsia da lesão, esfregaço da lesão, *in print*), amplificação do material genético e posterior visualização em gel de agarose ou poliacrilamida por eletroforese. Apresenta sensibilidade entre 60 e 100% e especificidade próxima de 100%. Ele utiliza iniciadores de sequências específicas do DNA de espécies conhecidas de *Leishmania*, o que possibilita a identificação da espécie. Entretanto, é um método que necessita de material específico, tem custo elevado e está disponível de maneira restrita em grandes centros urbanos (BRASIL. et al., 2007; GOMES et al., 2014a; POMARES et al., 2012).

A compreensão da interação parasita-hospedeiro com enfoque no métodos diagnósticos é essencial para a elucidação dos mecanismos de infecção e patogênese da doença, principalmente nos fatores envolvidos no desenvolvimento do diagnóstico precoce e preciso das diversas formas de LTA.

Apesar da forte influência da resposta imune na apresentação clínica e na resposta ao tratamento da LTA, não se conhece a exata extensão da relação entre as espécies de *Leishmania* e os limiares dos exames diagnósticos para detecção e diferenciação das diferentes formas clínicas.

Com enfoque na praticidade e no custo, a IDRM e a IFI destacam-se como métodos de baixa complexidade, pouco invasivos, de fácil execução, com resultado rápido, baixo custo, elevada sensibilidade e especificidade e estão acessíveis nos serviços e laboratórios que dão suporte ao Sistema Único de Saúde (SUS).

1.9 TRATAMENTO

Os tratamentos disponíveis possuem sérias limitações em termos de segurança, resistência, estabilidade e custo. Apresentam baixa tolerabilidade, longa duração e são difíceis de administrar. Além disso, muitos dos regimes de tratamento disponíveis apresentam taxas significativas de falha terapêutica e são muito tóxicos. A ocorrência de recaídas e relatos de resistência medicamentosa são cada vez mais frequentes (COPELAND; ARONSON, 2015).

A crescente resistência do parasita aos medicamentos leishmanicidas sugere que a monoterapia usada atualmente precisa ser revista. A lógica da poliquimioterapia é o aumento da atividade por meio do uso de compostos sinérgico atuando em diferentes locais, menor duração da terapia e menor dose necessária, reduzindo assim as chances de efeitos colaterais tóxicos e de custos, leva ainda a diminuição do surgimento de resistência (SUNDAR; CHAKRAVARTY, 2015).

1.9.1 ANTIMONIAIS

Gaspar Vianna identificou a atividade anti-*Leishmania* dos tártaros eméticos (antimoniais trivalentes) em 1912 sendo um marco na história da Leishmaniose. Atualmente, o tratamento possui opções de drogas de primeira e segunda escolha. A determinação da droga a ser utilizada depende da forma clínica da doença, do fármaco, do estado geral de saúde do paciente e da existência ou não, de doenças associadas. O tratamento é influenciado pela resposta clínica de cada paciente, da espécie do parasita, do estado imunológico do indivíduo e da forma clínica da doença. Recentemente tem se discutido estratégias para ter um tratamento seguro, eficaz, de curta duração e de baixo custo. Esta nova abordagem combinaria um agente antiparasitário e um imunomodulador, ou outras associações à semelhança da poliquimioterapia na tuberculose e na hanseníase (COTA et al., 2016; LIMA et al., 2007; PELISSARI et al., 2011; VAN GRIENSVEN et al., 2016).

A primeira escolha são os antimoniais pentavalentes (SbV) há mais de sessenta anos. A resposta terapêutica em casos de LM é baixa e variável, e possui taxa de cura que varia de 30% a 90% e também depende da dosagem utilizada. Os antimoniais podem ser utilizados em duas formas: o antimoniato de N-metilglucamina (meglumina) e o estibogluconato de sódio. Este último não é comercializado no Brasil e foi pouco eficaz contra a LM. A dose preconizada é de 20 mg/kg/dia (EV ou IM) por 20 dias para a LC e 28 dias para a LM segundo o Ministério da Saúde (AMATO et al., 2007; DAVIES et al., 1997; GOTO; LINDOSO, 2010; MINISTÉRIO DA SAÚDE; DE, 2007; NOGUEIRA; SOTTO; CUCÉ, 2008).

Os SbV apresentam diversos efeitos colaterais. Pode ocorrer: artralgia, mialgia, inapetência, náusea, vômito, sensação de plenitude gástrica, pirose, dor abdominal, prurido, febre, astenia, cefaléia, tontura, insônia, edema. Hepatite com aumento de transaminases e fosfatase alcalina, pancreatite, insuficiência renal aguda também ocorrem. As alterações dose-

dependente no eletrocardiograma, tais como alteração da repolarização ventricular com inversão do segmento ST-T, aumento do intervalo QT, alterações isquêmicas e extra-sístoles bigeminadas, polimorfos e polifocais. Esta medicação também atravessa a barreira transplacentária, é eliminada em pequenas quantidades no leite materno e pode impregnar o tecido nervoso fetal. Seu uso é contraindicado em gestantes, cardiopatas, nefropatas ou hepatopatas. (LIMA et al., 2007; MINISTÉRIO DA SAÚDE; DE, 2007; OLIVEIRA et al., 2011).

1.9.2 MEDICAÇÕES DE SEGUNDA ESCOLHA

Na ausência de resposta terapêutica satisfatória com os SbV ou devido à intolerância medicamentosa, resistência do parasita ou a existência de contraindicações ao seu uso podem ser usadas drogas de segunda escolha. Destacam-se a anfotericina B e as pentamidinas (sulfato de pentamidina e mesilato de pentamidina) (LIMA et al., 2007; MINISTÉRIO DA SAÚDE; DE, 2007; SUNDAR; CHAKRAVARTY, 2015).

A anfotericina B desoxicolato é considerada a droga de primeira escolha no tratamento de gestantes. É efetiva contra a LC e LM e contraindicada em pacientes cardiopatas, hepatopatas e nefropatas. São efeitos adversos de seu uso anafilaxia, trombocitopenia, dor generalizada, convulsões, calafrios, febre, flebite, anemia, anorexia, diminuição da função tubular renal e hipocalcemia em até um terço dos doentes. A anfotericina B lipossomal é uma droga com maior tolerância devido à menor quantidade de efeitos colaterais. A dose recomendada para a LM é de 1 a 4 mg/kg/dia por infusão venosa, em dose única, sem limite de dose diária, até atingir a dose total de 2,5 a 3 gramas. No Brasil, a anfotericina B lipossomal mostrou-se eficaz no tratamento da LM em pacientes refratários ao SbV (SAMPAIO; MARSDEN, 1997a). A maior limitação para o seu emprego em grande escala é devida ao custo elevado e necessidade de infusão venosa (LIMA et al., 2007; MINISTÉRIO DA SAÚDE; DE, 2007; WHO TECHNICAL REPORT SERIES, 2010).

A pentamidina, por sua vez, vem sendo amplamente utilizada como segunda opção no tratamento da LCL e LM na região Norte do país. Esta droga deve ser utilizada na dose de 4mg/kg/dia, em três aplicações, com dois dias de intervalo entre elas. Destacam como vantagens o seu custo geral em relação aos SbV, além do menor tempo de tratamento. (AMATO et al., 2007; BRASIL. et al., 2007; NEVES et al., 2011).

Miltefosine tem sido usado nas Américas para tratamento da LTA. Estudo de pacientes com LC na Colômbia (FERNÁNDEZ et al., 2014), controlado por placebo o uso de miltefosine (2,5 mg / kg / dia por via oral durante 28 dias) atingiu taxas de cura de 91%. Estudo de Costa Filho *et al* (COSTA FILHO; LUCAS; SAMPAIO, 2008) mostrou que o miltefosine teve eficácia semelhante, senão maior que o N-metil glucamina no tratamento da leishmaniose cutânea experimental causada por *Leishmania amazonensis* em camundongos. Limitações são o seu custo relativamente elevado, necessidade de monitorização dos efeitos colaterais gastrointestinais, toxicidade hepática ocasional e nefrotoxicidade. É medicação teratogênica e mulheres de idade fértil tem que observar a contracepção para a duração do tratamento e por mais três meses, devido à sua longa meia-vida de aproximadamente 1 semana, o que também o torna vulnerável ao rápido desenvolvimento de resistência aos medicamentos (SOTO et al., 2004).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar o perfil clínico, epidemiológico e laboratorial de pacientes com LTA e avaliar estas características nas formas clínicas LC e LM.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o perfil clínico e epidemiológico dos pacientes com LTA atendidos no Hospital Universitário de Brasília (HUB);

Identificar a diversidade dos quadros clínicos;

Analisar os dados clínico, epidemiológicos e exames laboratoriais de pacientes com LC e LM visando estabelecer a diferença entre as duas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 LOCAL E DELINEAMENTO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo analítico, retrospectivo e transversal.

Foram selecionados, de forma consecutiva, pacientes que tinham lesões tegumentares suspeitas de LTA que foram atendidos no ambulatório de Dermatologia do HUB/UnB, Brasília-DF, entre Janeiro de 2001 e Dezembro de 2014.

O DF por estar no centro das três principais Regiões com maior número de casos é um bom local para buscar maiores informações a respeito desta patologia. Destaca-se o serviço de Dermatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília que há mais de 30 anos faz estudos com LTA e tem no ambulatório de Dermatologia do Hospital Universitário de Brasília um dos centros de referência na doença no país.

A coleta dos dados de prontuários iniciou-se em Dezembro de 2014 após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

3.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Os critérios de exclusão contemplam condições que cursam com imunossupressão (Ex: Síndrome da imunodeficiência humana, gestantes) e populações especiais (indígenas).

3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO NO GRUPO LTA

Os critérios de inclusão abrangem pacientes que tiveram seu diagnóstico de LTA confirmado de acordo com o padrão estabelecido por grupo de pesquisa em LTA da dermatologia da UnB desde a década de 80 (CUBA CUBA et al., 1980; SAMPAIO; MARSDEN, 1997a; SAMPAIO; PAULA, 1999).

Foi utilizada a associação de dados epidemiológicos, clínicos (lesão cutânea e/ou mucosa suspeita), exame direto com presença de parasita, cultura *in-vitro* positiva para

Leishmania e histopatologia com padrão típico ou visualização do parasito, intradermorreação de Montenegro positiva (maior ou igual a 5mm) e imunofluorescência indireta positiva (título maior ou igual a 1:40).

Como rotina, toda a pele e mucosa foi examinada por um dermatologista. Casos com lesões mucosas suspeitas foram examinados e encaminhados para biopsia por um otorrinolaringologista no ambulatório específico do HUB.

Posteriormente, os pacientes alocados no grupo LTA foram subdivididos em: 1) LTA cutânea (LC), 2) LTA mucosa (LM). Os portadores de leishmaniose cutânea localizada e outras formas especiais como leishmaniose recidiva cútis, leishmaniose esporotricóide, leishmaniose disseminada e leishmaniose difusa foram incluídos no grupo LC. Todos os pacientes que apresentavam lesão mucosa, associada ou não a lesão em outras partes da pele, formaram o grupo LM.

3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO NO GRUPO CONTROLE

O grupo controle incluiu pacientes em que a infecção por *Leishmania* foi excluída e tiveram um diagnóstico de certeza de outra doença dermatológica.

3.5 EXAME DIRETO

Foi realizado *in print* de fragmentos de biópsia em lâmina. Estas foram coradas com Giemsa e observadas no microscópio ótico para pesquisa de formas amastigotas (DANESHBOD et al., 2011; RASTI et al., 2016b).

3.6 CULTURA

A cultura foi realizada pelo aspirado na borda da lesão clínica com seringa estéril de 1ml contendo 200 L de solução fisiológica estéril e gentamicina a 0,2%. O conteúdo foi dividido em 2 tubos com 150 L do meio sólido NNN. Os meios foram incubados em estufa

24-26°C. Após o quinto dia era possível visualizar em exame a fresco de amostras da fase líquida ao microscópio as formas promastigotas. Esse exame foi realizado em intervalos de sete dias durante 30 dias. O exame foi considerado positivo quando da visualização do protozoário em qualquer período da observação (GONTIJO; DE CARVALHO, 2003; GOTO; LINDOSO, 2010; RASTI et al., 2016a; SOARES et al., 2015).

3.7 HISTOPATOLOGIA

O fragmento tecidual extraído da borda ativa da lesão foi fixado em formol neutro a 10%, embebido em parafina. Com o auxílio de micrótomo rotativo foram obtidos cortes finos corados pela técnica de Hematoxilina & Eosina (HE). Considerou-se positivo os laudos com descrição do parasita ou a presença de achado de infiltrado histiolinfoplasmocitário compatível com LTA (BITTENCOURT; BARRAL, 1991; GOTO; LINDOSO, 2010).

3.8 INTRADERMORREAÇÃO DE MONTENEGRO

A IDRM foi realizada segundo descrição de Reed *et al.* Foi realizada assepsia do local da aplicação (face anterior do antebraço esquerdo), seguida da injeção de 0,1mL do antígeno por via intradérmica. A medição da induração, em milímetros, foi realizada após 48 horas com caneta esferográfica com ângulo de 45° com a pele em sentido centrípeto a partir de um ponto a cerca de 3cm do limite determinado pela palpação. O antígeno foi fornecido pelo Centro de Pesquisa e Produção de Imunobiológicos (CPPI, Paraná-Brasil) e consistiu em uma solução de fragmentos de formas promastigotas de *L.(L.) amazonensis* mortas (cepa de referência na OMS MHOM/BR/73/PH8) com proteínas nitrogenadas a uma concentração de 40mg/mL, fenol 0,005g/mL, cloreto de sódio 0,0098g/mL e diluído em água 1mL. Uma induração de 5mm ou mais em seu maior diâmetro é considerada positiva (BRASIL. et al., 2007; GONTIJO; DE CARVALHO, 2003; REED et al., 1986; SOARES, 1999).

3.9 IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA

A reação de imunofluorescência indireta foi realizada de acordo com as instruções indicadas no kit de IFI para diagnóstico da Leishmaniose humana (BIO-Manguinhos Rio de Janeiro/FIOCRUZ/MS). Uma amostra de 10mL de sangue venoso teve seu plasma separado. O material após diluições progressivas é adicionado às lâminas recobertas com formas promastigotas de *Leishmania* fixadas [MHOM/BR/PH8 *L.(L.) amazonensis*]. Anticorpos policlonais anti-IgG humano conjugado com isotiocianato de fluoresceína são adicionados às lâminas para revelação da reatividade dos anticorpos IgG presentes no soro. A reação é observada pelo isotiocianato de fluoresceína que absorve a luz azul (comprimento de onda de 490nm) e emite uma intensa fluorescência amarelo-esverdeada considerada positiva. Para ser considerado positivo o teste deve apresentar títulos maiores ou iguais a 1:40 (BRASIL. et al., 2007; CUBA CUBA et al., 1980; FIOCRUZ (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ); IMUNOBIOLOGICOS), [s.d.]; GOMES et al., 2014b; GOTO; LINDOSO, 2010).

3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada por meio de banco de dados criado em ambiente SPSS versão 23.0 (*Statistical Package for Social Sciences, IBM Company, Chicago, Illinois US*). Para as variáveis contínuas com distribuição Gaussiana utilizou-se o teste *t* de *Student* e onde a distribuição normal não estava presente foi utilizado o teste de Mann-Whitney. O teste de *qui-quadrado* ou exato de Fisher foi empregado para as variáveis qualitativas. O índice de Youden (Sensibilidade - especificidade + 1) foi analisado nos testes diagnósticos para determinar aqueles que tivessem menor soma de proporções de erros de classificação.

Análise univariada foi realizada para detectar o efeito individual de cada variável entre os grupos e possíveis confundidores. Baseando-se no critério de Akaike, foi montado um modelo de regressão logística multivariado a fim de melhor distinguir as formas cutânea e mucosa da LTA. Significância estatística foi definida em $p < 0.05$ e IC95%.

3.11 ÉTICA

Em relação aos aspectos éticos a pesquisa foi aprovada no Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília sob o número do parecer

908.061 em 10 de dezembro de 2014. A inclusão foi feita por meio de termo de consentimento livre e esclarecido e, quando necessário, pela solicitação de dispensa do termo de consentimento livre e esclarecido conforme Resolução No 466, de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde e Declaração de Helsinki revisada em 2013 (WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013).

4. RESULTADOS

No período de 2001 a 2014 foram examinados 1331 pacientes. Foram localizados 1024 prontuários nos arquivos do HUB, os outros 307 prontuários não estavam disponíveis no arquivo por diversos motivos (desativado, extravio, indisponível para consulta).

Entre os 1024 pacientes suspeitos foram excluídos quatro pacientes com o VIH e uma gestante totalizando uma amostra de 1019. Foi confirmado LTA em 737 pacientes que se distribuíram nas seguintes formas: LTA cutânea: 617 casos (83,7%, sendo a frequência de formas especiais: recidiva cutis: 29 casos; esporotricóide: sete casos; disseminada: três casos; e difusa: um caso); LTA mucosa: 120 casos (16,3%).

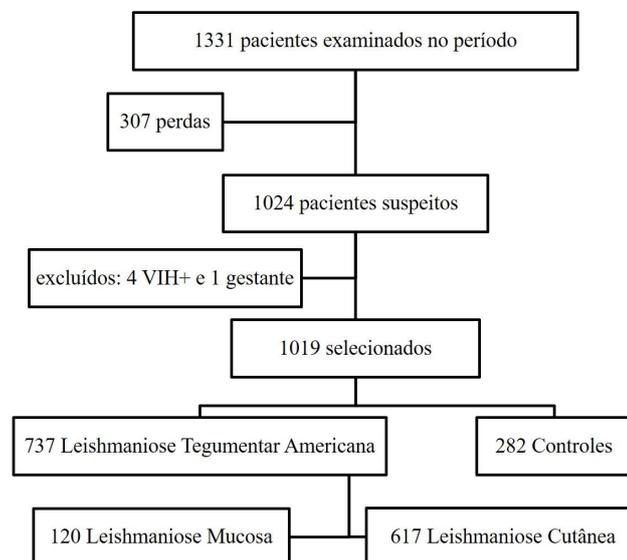


Figura 11 ó Fluxograma dos pacientes do estudo.

Os outros 282 casos investigados formaram o grupo controle e tiveram como diagnóstico final: piodermite (25,53%), trauma (19,86%), úlcera vascular (14,89%), esporotricose (9,93%), carcinoma espinocelular (5,67%), carcinoma basocelular (3,90%), cromomicose (3,90%), tuberculose cutânea (3,55%), hanseníase (3,55%), pioderma gangrenoso (2,48%), farmacodermia (2,13%), paracoccidioidomicose (1,77%), lúpus discoide (1,06%), histoplasmose (0,71%), feohifomicose (0,35%), leishmaniose visceral com lesão cutânea (0,35%), pênfigo vulgar (0,35%), linfoma (0,35%).

As características epidemiológicas dos pacientes com LTA e controles estão descritas na tabela 1:

Tabela 1- Distribuição das características epidemiológicas entre os grupos Leishmaniose tegumentar Americana e controles. N (número de casos).

Característica		Leishmaniose		Controles	
		N	%	N	%
Gênero	Masculino	514	69,7	182	64,5
	Feminino	223	30,3	100	35,5
Faixa etária					
(anos)	0 a 10	32	4,3	7	2,5
	11 a 20	92	12,5	11	3,9
	21 a 30	118	16,0	17	6,0
	31 a 40	139	18,9	13	4,6
	41 a 50	122	16,6	14	5,0
	51 a 60	106	14,4	11	3,9
	61 a 70	78	10,6	16	5,7
	Mais 70	43	5,8	9	3,2
	Dado não disponível	7	0,9	184	65,2
Escolaridade					
	Analfabeto	41	5,6	4	1,4
	Fundamental	34	4,6	4	1,4
	Fundamental	59	8,0	1	0,4
	Médio incompleto	29	3,9	3	1,1
	Médio completo	82	11,1	3	1,1
	Superior completo	45	6,1	2	0,7
	Superior incompleto	17	2,3	0	0,0
	Dado não disponível	430	58,3	265	94,0
Estado civil					
	Solteiro	223	30,3	17	6,0
	Casado	276	37,4	30	10,6
	Viuvo(a)	17	2,3	0	0,0
	Divorciado	19	2,6	2	0,7
	União estável	6	0,8	1	0,4
	Dado não disponível	196	26,6	232	82,3
Local					
do contágio	DF	180	24,4	45	16,0
	Centro-Oeste (sem	241	32,7	22	7,8
	Nordeste	129	17,5	11	3,9
	Norte	51	6,9	3	1,1
	Sudeste	73	9,9	6	2,1
	Fora país	2	0,3	0	0,0
	Dado não disponível	61	8,3	195	69,1

Os pacientes com dados válidos e diagnóstico final de LTA tiveram como características epidemiológicas o predomínio do sexo masculino com 69,7%; a idade variou de 1 a 94 anos, com média de 40,38 anos (desvio padrão $\pm 18,895$). A faixa etária prevalente foi a entre 31 e 40 anos. Crianças com menos de 10 anos totalizaram 4,3% da amostra. Pacientes com baixa escolaridade (analfabetos e primário incompleto) totalizaram 24,5% da amostra válida, mas esta informação estava indisponível em 58,3% da amostra. O estado civil predominante foi o de casados.

A maioria dos casos válidos atendidos tiveram provável origem do contágio de LTA no Centro-Oeste (62,3%). A distribuição dos casos válidos entre os Estados ocorreu da seguinte forma: 32,3% no Goiás; 26,6% no Distrito Federal; 10,9% na Bahia; 10,5% em Minas Gerais; 4,6% do Maranhão; 3,1% do Pará; 3,0% no Tocantins; 2,7% no Mato Grosso; 1,2% no Ceará; 1,0% no Piauí; 0,7% no Mato Grosso do Sul; 0,9% no Amazonas; 0,6% no Sergipe; 0,4% no Acre; 0,4% em Roraima; 0,3% na Paraíba; e 0,1% para São Paulo, Espírito Santo e Pernambuco. Ocorreram ainda, 2 casos (0,3%) provenientes da Venezuela e Bolívia. Não houve casos dos Estados da região Sul.

Os pacientes com dados disponíveis no grupo controle tiveram características epidemiológicas semelhantes merecendo destaque maior incidência em pacientes do sexo masculino, predomínio de pacientes com baixa escolaridade (analfabetos e ensino fundamental incompleto) e mais de 70% dos casos válidos provenientes da região Centro-Oeste.

A tabela 2 mostra a relação entre as características clínicas dos pacientes válidos com LTA. Apresentaram tempo de doença variando de 1 a 600 meses (50 anos), com média de 20,61 meses (desvio padrão $\pm 62,546$). A distribuição do tempo de doença mostrou que procuraram atendimento até 3 meses (39,8%), entre 3 e 6 meses (22,0%), entre 7 e 9 meses (8,6%) e entre 10 e 12 meses (9,2%). Após o primeiro ano tivemos relatos de tempo de doença no 2º ano (8,0%), no 3º ano (2,6%), no 4º ano (2,6%), no 5º ano (1,1%) e mais de 6 anos (6,0%).

A distribuição corporal das lesões entre os pacientes válidos predominou nos membros inferiores em 40,7% dos casos de LTA. Múltiplas lesões acometendo 2 sítios (5,4%), 3 ou mais sítios (1,4%) e lesões difusas (0,1%) também foram encontrados. O número de lesões ao diagnóstico variou de zero a 26 lesões, com moda de 1 e média de 1,52

lesões (desvio padrão $\pm 1,774$). A distribuição das características clínicas entre os grupos LTA e controles estão presentes na tabela 2 abaixo.

Tabela 2 ó Distribuição das características clínicas entre os grupos Leishmaniose Tegumentar Americana e controles. N (número de casos).

Característica	Leishmaniose		Controles	
	N	%	N	%
Tempo de				
0 a 3 meses	259	35,1	45	16,0
4 a 6 meses	143	19,4	11	3,9
7 a 9 meses	56	7,6	4	1,4
10 a 12 meses	60	8,1	10	3,5
1 a 2 anos	52	7,1	7	2,5
2 a 3 anos	17	2,3	0	0,0
3 a 4 anos	17	2,3	3	1,1
4 a 5 anos	7	0,9	1	0,4
+ 5 anos	39	5,3	4	1,4
Dado não disponível	87	11,8	197	69,9
Local da lesão				
Segmento cefálico	180	24,4	15	5,3
Membro superior	151	20,5	18	6,4
Tronco	46	6,2	4	1,4
Membro inferiore	293	39,8	38	13,5
2 partes do corpo	39	5,3	6	2,1
3 partes do corpo	10	1,4	2	0,7
4 ou mais partes do	1	0,1	0	0,0
Dado não disponível	17	2,3	199	70,6
Número de				
00	7	0,9	2	0,7
01	580	78,7	63	22,3
02	61	8,3	9	3,2
03	37	5,0	3	1,1
04	15	2,0	3	1,1
05	4	0,5	1	0,4
06	5	0,7	1	0,4
07	6	0,8	0	0,0
08	2	0,3	1	0,4
09	2	0,3	1	0,4
10 ou mais	7	0,9	2	0,7
Dado não disponível	11	1,5	196	69,5

Os pacientes do grupo controle tiveram características clínicas com predomínio de tempo de doença nos seis primeiros meses de doença. Considerando o total de casos de LTA de 737 e de controles de 282 pacientes, tivemos grande número de informações não localizadas. A maioria das lesões acometeu o membro inferior. A maior parte das lesões foi única.

As propriedades dos testes diagnósticos de exames complementares comparando o grupo controle e grupo LTA são descritoas na tabela 3.

Tabela 3 - Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN), acurácia (A) e índice Youden dos testes diagnósticos. N (número total de pacientes que tinham informação do resultado do exame), HLP (histiolinfoplasmocitário). IDR (intradermorreação de Montenegro). IFA (reação de imunofluorescência indireta).

Exames laboratoriais	Controles LTA		Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	A	Índice Youden
	N	N						
Exame direto positivo	105	521	30.3	100	100	22.4	41,5	30,3
Cultura positiva	108	514	31.9	100	100	23.6	43,7	31,9
Histopatologia com <i>Leishmania</i>	101	667	10.5	100	100	14.5	22,3	10,5
Histopatologia com infiltrado HLP	101	597	84.7	81.2	96.3	44.6	82,7	64,1
IDRM × 5mm	119	644	87.7	63.9	92.9	49.0	84,0	51,6
IFA × 1/40	79	534	56.7	77.2	94.4	20.9	54,4	34,0

Os testes diagnósticos do grupo controle com resultados positivos ocorreram na histopatologia de padrão histiolinfoplasmocitário em 18,8% dos casos. Na IDR com título maior ou igual a 5mm foi positivo nesta população em 36,1%. Já na IFA com título maior ou igual a 1:40 esteve presente em 22,8%. Estes testes são considerados falsos positivos. Os exames de esfregaço, cultura e histopatologia mostrando a *Leishmania* no tecido não tiveram falsos positivos.

O teste de Montenegro apresentou diferentes valores de sensibilidade e especificidade para variados pontos de corte como 4mm (89,7%, 57,1%), 5mm (87,7%, 63,9%), e 6mm (84,3%, 73,1 %) de acordo com a curva ROC na figura 11.

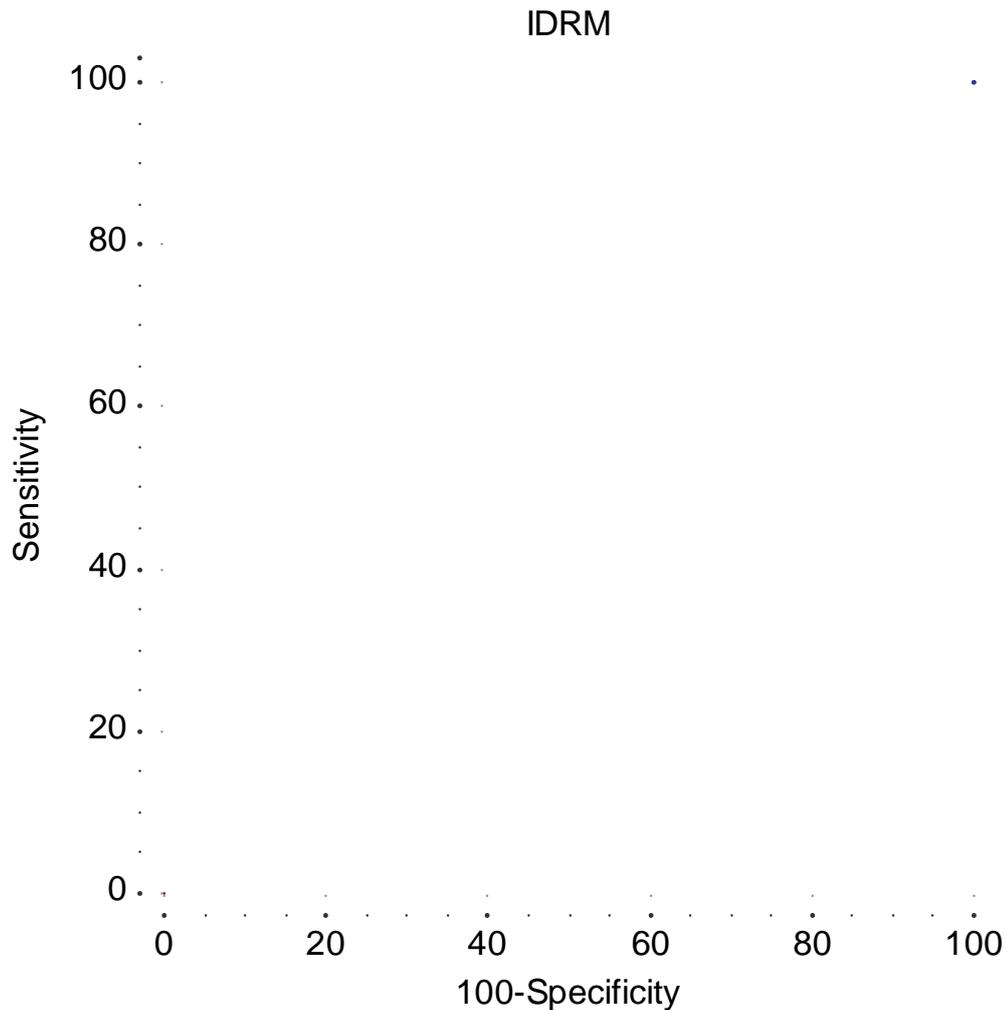


Figura 12 - Curva *Receiver Operating Characteristic* (ROC) da intradermorreação de Montenegro no diagnóstico da Leishmaniose Tegumentar Americana e ponto de corte com maior acurácia (Sensibilidade 87,73% [84,9-90,2]; especificidade 63,87% [54,6-72,5]; Razão de Verossimilhança do Teste Positivo: 2,43 [1,9-3,1]; Razão de Verossimilhança do teste Negativo: 0,19 [0,2-0,2]; área sob a Curva (AUC)=0,846 [0,819-0,871]). Sensivity (sensibilidade), Specificity (especificidade).

Na tabela 4 estão descritas as características epidemiológicas entre os grupos LC e LM. Destaca-se o predomínio do sexo masculino em ambas as amostras. Entre os dados válidos, no grupo LC há predomínio dos casos na faixa etária entre 20 e 40 anos. Já no grupo LM há uma maior frequência de pacientes com faixa etária acima de 40 anos. Mais de 60% dos casos válidos em ambos os grupos tiveram como região provável do contágio o Centro-Oeste.

Tabela 4 - Distribuição das características epidemiológicas entre os grupos Leishmaniose cutânea e mucosa. DF (Distrito Federal). N (número de casos).

Característica		Leishmaniose		Leishmaniose	
		N	%	N	%
Gênero	Masculino	428	69,4	86	71,7
	Feminino	189	30,6	34	28,3
Faixa etária					
(anos)	0 a 10	30	4,9	2	1,7
	11 a 20	86	13,9	6	5,0
	21 a 30	105	17,0	13	10,8
	31 a 40	119	19,3	20	16,7
	41 a 50	99	16,0	23	19,2
	51 a 60	86	13,9	20	16,7
	61 a 70	53	8,6	25	20,8
	Mais 70	32	5,2	11	9,2
	Dado não disponível	7	1,1	0	0,0
Escolaridade					
	Analfabeto	32	5,2	9	7,5
	Fundamental	31	5,0	3	2,5
	Fundamental	46	7,5	13	10,8
	Médio incompleto	24	3,9	5	4,2
	Médio completo	71	11,5	11	9,2
	Superior incompleto	16	2,6	1	0,8
	Superior completo	37	6,0	8	6,7
	Dado não disponível	360	58,3	70	58,3
Estado civil					
	Solteiro	195	31,6	28	23,3
	Casado	217	35,2	59	49,2
	Viuvo(a)	11	1,8	6	5,0
	Divorciado	18	2,9	1	0,8
	União estável	5	0,8	1	0,8
	Dado não disponível	171	27,7	25	20,8
Local					
do contágio	DF	151	24,5	29	24,2
	Centro-Oeste (sem	197	31,9	44	36,7
	Nordeste	101	16,4	26	21,7
	Norte	50	8,1	3	2,5
	Sudeste	58	9,4	15	12,5
	Fora País	1	0,2	1	0,8
	Dado não disponível	59	9,6	2	1,7

As características clínicas dos pacientes dos grupos LC e LM estão descritas na tabela 5. Entre os dados válidos destaca-se o tempo de doença no grupo LC predominando antes de 6 meses de doença (70,8%). Já no grupo LM a maioria dos casos (79,3%) tem mais de 6 meses de evolução, destacando-se 20,7% dos casos com mais de 5 anos de evolução da doença. A distribuição das lesões tem o membro inferior como segmento mais frequentemente acometido no grupo LC, seguindo-se membro superior; já no grupo LM as mucosas do segmento cefálico são mais acometidos e 10% tem acometimento extra-mucoso. Lesão única é a mais frequente em ambos os grupos.

A tabela 6 descreve a positividade dos exames diagnósticos nas formas LC e LM de LTA. Destaca-se a positividade maior da forma LC nos testes de exame direto, cultura e histopatologia com visualização da *Leishmania*. Já a forma LM apresentou valores mais elevados na histopatologia com padrão histiolinfoplasmocitário, na IDRМ e na IFA. Contudo apenas o resultado positivo nos testes de histopatologia com identificação do protozoário e do título da IFA foram significantes entre os grupos.

A análise univariada descrita na tabela 7 mostrou que os pacientes com LM eram mais velhos, tinham menor número de lesões e maior tempo de doença quando comparados com o grupo LC. Comparando-se os testes diagnósticos entre os grupos, LM apresentou valores maiores de diâmetro da IDRМ e dos títulos da IFA. Mesmo retirando as formas especiais da análise, algumas delas consideradas altamente reativas, esta diferença permaneceu positiva na IDRМ ($p=0.045$; 95%CI=0.70-6.696) e na IFA ($p=0.001$; 95% CI 13.229-52.625). Os valores de IDRМ e títulos de IFA nas formas especiais (recidiva cútis, esporotricóide, difusa e disseminada) não foram diferentes quando comparados às formas LC e LM.

Tabela 5 - Distribuição das características clínicas entre os grupos Leishmaniose cutânea e mucosa. N (número de casos).

Característica	Leishmaniose		Leishmaniose Mucosa	
	N	%	N	%
Tempo de				
0 a 3 meses	249	40,4	10	8,3
4 a 6 meses	129	20,9	14	11,7
7 a 9 meses	48	7,8	8	6,7
10 a 12 meses	40	6,5	20	16,7
+1 a 2 anos	31	5,0	21	17,5
+2 a 3 anos	10	1,6	7	5,8
+3 a 4 anos	10	1,6	7	5,8
+4 a 5 anos	2	0,3	5	4,2
+ 5 anos	15	2,4	24	20,0
Dado não disponível	83	13,5	4	3,3
Local da lesão				
Segmento cefálico	73	11,8	107	89,2
Membro superior	150	24,3	1	0,8
Tronco	46	7,5	0	0,0
Membro inferior	291	47,2	2	1,7
2 partes do corpo	33	5,3	6	5,0
3 partes do corpo	6	1,0	4	3,3
4 ou mais partes do	1	0,2	0	0,0
Dado não disponível	17	2,8	0	0,0
Número de				
00	6	1,0	1	0,8
01	472	76,5	107	89,2
02	54	8,8	7	5,8
03	35	5,7	2	1,7
04	14	2,3	1	0,8
05	4	0,6	0	0,0
06	5	0,8	0	0,0
07	6	1,0	0	0,0
08	1	0,2	1	0,8
09	2	0,3	0	0,0
10 ou mais	7	1,1	0	0,0
Dado não disponível	11	1,8	1	0,8

Tabela 6 ó Distribuição de valores positivos aos testes diagnósticos entre os grupos Leishmaniose cutânea e mucosa. IC (intervalo de confiança). HLP (histiolinfoplasmocitário). IDR (intradermorreação de Montenegro). IFA (imunofluorescência indireta).

Exames laboratoriais	Leishmaniose Cutânea			Leishmaniose Mucosa			Teste Qui-quadrado	
	Positivo	Total	%	Positivo	Total	%	p-valor	IC 95%
Exame direto positivo	148	473	31,3	10	38	20,8	0,1557	-5,654 - 23,009
Cultura positiva	153	467	32,8	11	36	23,4	0,2625	-8,527 - 22,107
Histopatologia com <i>Leishmania</i>	68	556	12,2	2	109	1,8	0,0005	6,117 - 14,147
Histopatologia com infiltrado HLP	402	488	82,3	93	109	85,3	0,4637	-5,886 - 10,370
IDRM × 5mm	471	541	87,0	94	103	91,2	0,2586	-3,754 - 9,683
IFA × 1/40	230	425	54,1	73	109	67,0	0,0154	2,109 - 22,877

Tabela 7 ó Análise univariada da relação entre características dos grupos Leishmaniose cutânea e mucosa. DP (desvio padrão).

Exames laboratoriais	Leishmaniose Cutânea		Leishmaniose Mucosa		p-valor
	Média	DP	Média	DP	
Número de lesões	1.59	±1.904	1.17	± 0.771	<0.001
Idade (anos)	38.88	± 18.777	48.01	± 17.678	<0.001
Tempo de doença (meses)	10.59	± 28.924	66.75	± 124.845	<0.001
IDRM (mm)	13.88	±10.131	17.3	± 16.339	0.042
IFA (1:x)	46.92	± 63.693	79.27	± 98.655	=0.001

Em busca de diferenças entre os grupos LC e LM foi realizado cruzamento entre os dados clínicos e laboratoriais a partir de análise multivariada. Esta mostrou a existência de algum fator confundidor na análise de dados e os mesmos passaram a não ser significativos (tabela 8).

Tabela 8 - Análise univariada e multivariada entre os grupos de Leishmaniose cutânea e mucosa. RC (razão de chances), IC (intervalo de confiança).

Característica	Análise univariada		Análise multivariada	
	RC (95% IC)	p-valor	RC (95% IC)	p-valor
Mais de 1 lesão	25.51 (11.18-58.18)	0.00	144.17 (12.44-1670.71)	0.04
Idade	1.03 (1.02-1.04)	0.00	1.03 (0.99-1.07)	0.33
Tempo de doença	1.02 (1.00-1.03)	0.00	1.02 (1.00-1.03)	0.20
IDRM	1.02 (1.01-1.03)	0.01	0.89 (0.84-1.09)	0.05
IFA	1.01 (1.00-1.001)	0.00	1.01 (1.00-1.02)	0.09

5. DISCUSSÃO

Este estudo descreveu características clínicas, epidemiológicas e laboratoriais de pacientes com LTA atendidos no HUB entre os anos de 2001 e 2014.

O diagnóstico de LTA pode ser extremamente difícil devido à grande variedade de apresentações que as lesões podem assumir, tais como: pápulas, nódulo, úlcera, placa verrucosa e cicatriz (GOTO; LAULETTA LINDOSO, 2012). Em nosso estudo a minoria (5,4%) dos diagnósticos foram de formas clínicas especiais (esporotricóide, disseminada, recidiva cútis e difusa), Bari A e Rahman SB (BARI; RAHMAN, 2008) relatam em 718 pacientes do Paquistão diversos padrões morfológicos de Leishmaniose cutânea desde lesão típica com úlcera emoldurada, que predominou na amostra, até outras com padrões atípicos (lupóide, esporotricóide, erisepolóide, psoriasiforme, zosteriforme) que totalizaram 5,7%.

Devido a este polimorfismo das lesões várias doenças fazem parte do diagnóstico diferencial. Em nosso estudo outras doenças infecciosas, inflamatórias e neoplásicas mimetizaram LTA em cerca de um quarto dos casos. importante, pois possuem tratamentos diferentes (medicações e tempo variados), exames de acompanhamento distintos e o prognóstico irá ser influenciado por estes fatores associados à precocidade da identificação da doença. (GOTO; LINDOSO, 2010).

Estudo de grupo da UnB (SAMPAIO et al., 1989) entre 1975 e 1983 com pacientes atendidos no DF descreveu 114 casos de LTA onde mostrou predomínio de homens (71,9%) e da faixa etária de 21-30 anos. Outro estudo de grupo da UnB (NAME et al., 2005) identificou, no período de 1994 a 1998, 240 casos de LTA onde predominaram homens (66,2%), faixa etária entre 20-39 anos (38,8%). Estudo de Silva N.S. e Muniz V.D. (SILVA; MUNIZ, 2009), no período de 2001 a 2006 no Acre, avaliou 8.516 casos de LTA onde os homens totalizaram 68,8%, a média de idade dos pacientes foi de 26,3 anos e 62,2% tinham sete anos ou menos de estudo. Estudo em Alagoas (ROCHA et al., 2015), entre 2007 e 2013, com 547 casos teve

predomínio de homens (67,28%) e da faixa etária entre 20 a 34 anos. Há descrição em uma dissertação de mestrado (SILVA, 2008) que estudou população do Estado do Ceará entre os anos de 2003 e 2005 em que a cidade de Juazeiro do Norte-CE se destaca pelo predomínio de mulheres (57,5%) e em Barbalha-CE foram iguais as frequências em relação ao sexo. Estudo do Paraná (CURTI et al., 2009) entre 1986 e 2005 com 1656 pacientes destacou-se predomínio do sexo masculino (72,6%) e da faixa etária entre 30 a 49 anos (41,4%).

Em nossa amostra os pacientes do sexo masculino predominaram (69,7%) e a faixa etária mais prevalente foi entre 31-40 anos (19,0%) e 24,5% tinham sete anos ou menos de escolaridade. Nossos dados corroboram a característica epidemiológica da LTA de ser uma doença que acomete homens na faixa etária economicamente ativa, justificada por estes fazem maior quantidade de atividades ao ar livre e estão expostos ao ambiente do vetor (SAÚDE; FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2000). A maior escolaridade de nossos casos difere de outros estudos, este fato pode ser atribuído ao fato de pesquisadores da UnB que se contaminam em atividades de campo procuram o HUB para tratamento; outro fato é o Distrito Federal ter uma renda *per capita* superior a outros Estados da região Norte e Nordeste.

O HUB por contar com um ambulatório de referência para LTA e fazer parte do sistema público de saúde recebe pacientes do DF, de outros Estados do Brasil e até mesmo de outros Países ocasionalmente. No estudo entre 1975 e 1983 (SAMPAIO et al., 1989) os casos eram procedentes de Goiás (32%), Bahia (22%), Minas Gerais (18%), Ceará (9%) e os outros 19% de outros Estados, o DF teve apenas um caso neste estudo. Estudo entre 1994 e 1998 (NOGUEIRA; SAMPAIO, 2001) com 240 pacientes a procedência era do Goiás (23%), Minas Gerais (20%), Bahia (16,7%), Distrito Federal (10,4%), Maranhão (6%) e outros estados com 23,9%. Em nossa amostra a distribuição dos casos se deu nos estados de Goiás (32,3%), Distrito Federal (26,6%), Bahia (10,9%), Minas Gerais (10,5%). O aumento do número de casos autóctones no Distrito Federal mostra mudança no perfil epidemiológico em

comparação com estudos prévios devido ao aumento populacional e a ocupação de áreas de cerrado para habitação.

Estudo no Paraná de Castro EC *et al* (CASTRO *et al.*, 2002) com 332 pacientes mostrou predomínio de lesões de LTA nos membros inferiores (47,7%), seguido por membros superiores (26,7%) e face (16%); com 67% das lesões únicas e 31% eram múltiplas (2 ou mais) e apenas 2% de pacientes com forma mucosa. Estudo do Sampaio RNR *et al* de 1989 (SAMPAIO *et al.*, 1989) com 114 casos também mostrou que a maioria das lesões eram nos membros inferiores (57,6%) e a presença de lesão única em 52%; e 52,6% de casos de LM. Name *et al* em 2005 com população do DF (NAME *et al.*, 2005) mostrou que a maioria das lesões eram nos membros inferiores (56,5%), seguido de membros superiores (28,4%) e cabeça (13,6%); e 40,8% eram LM. Em nosso estudo o predomínio foi de lesões em áreas expostas (membros inferiores, face e membros superiores) e a maioria dos casos foi de lesão única, estando em concordância com a literatura por serem regiões mais suscetíveis à picada do vetor.

Nogueira LSC e Sampaio RNR (NOGUEIRA; SAMPAIO, 2001) avaliaram os métodos diagnósticos da LTA e mostrou positividade do exame direto (35,4%), da cultura (44,6%), exame histopatológico com amastigotas (18,8%), exame histopatológico com padrão compatível com LTA (50,4%) e IFI (64,7%). Name RQ *et al* (NAME *et al.*, 2005) mostrou positividade dos testes de exame direto (47,5%), cultura (47,6%), exame histopatológico visualizando amastigota ou padrão compatível com LTA (65,6%), IFI (67,6%) e IDRM (96%). Em estudo no Acre (OLIART-GUZMÁN *et al.*, 2012) a positividade do exame direto em 396 pacientes foi de 10,2%; o histopatológico foi avaliado em 354 pacientes (7,1% com visualização de formas amastigotas e 53,7% com padrão típico de LTA); já a IDRM foi realizada em 523 pacientes e positiva em 90,3% destes. Estudo no Paraná (SZARGIKI *et al.*,

2009) com 87 pacientes de LTA mostrou positividade no exame direto e/ou cultura em 79,3%; a IFI foi testada em 81 pacientes e positiva em 80,2%.

Em nossa amostra os testes para visualização do parasita (exame direto, cultura e histopatologia mostrando amastigota) tiveram menor índice de positividade. O exame direto e cultura se destacam como testes extremamente específicos mas apresentam baixa sensibilidade. Contribui para isso a dificuldade de identificação do parasita pela menor quantidade presente na lesão, a dificuldade de visualização na lâmina sob o microscópio e o trabalhoso cultivo do protozoário em laboratório.

O exame histopatológico conseguiu identificar a *Leishmania* no tecido em apenas 10,5% dos casos e a identificação do padrão de infiltrado linfocitoplasmocitário esteve presente em 84,7% dos casos, o que está de acordo com estudos prévios realizados. Persiste a dificuldade de obtenção de exame com adequado valor de sensibilidade e especificidade para o diagnóstico.

A IDRM foi o teste com maior sensibilidade (87,7%) auxiliando na triagem de LTA para excluir outras doenças. O exame de IFI teve sensibilidade menor (56,7%) quando comparado a outros estudos prévios do mesmo grupo na UnB e de outros Estados.

A análise do índice de Youden entre os estudos mostrou que apenas o exame histopatológico mostrando infiltrado histiolinfoplasmocitário e a IDRM com resultado maior que 5mm tiveram valores com índice acima de 50% se mostrando como testes satisfatórios. No entanto, na prática clínica, a limitada especificidade destes exames pode resultar em diagnósticos errôneos e exposição desnecessária às drogas de escolha para o tratamento da LTA.

Estudo do Paraná (SKRABA et al., 2015) mostrou similaridades entre os valores de 4mm, 5mm e 6mm. Estudo analisando população do Oriente Médio (SADEGHIAN et al., 2013), onde casos de leishmaniose mucosa são raros, houve reafirmação do ponto de corte de

5mm Os valores da IDRM em nosso trabalho tiveram ponto de corte com maior sensibilidade e especificidade com diâmetros maiores ou iguais a 5mm, outros pontos como 4 e 6mm tiveram valores inferiores.

O uso de técnicas modernas como PCR e micro-cultivo de *Leishmania* (ESPIR et al., 2016; GOMES et al., 2015a; RASTI et al., 2016b) apresentam elevada sensibilidade mas os altos custos aliados à dificuldade de realização dos métodos inviabilizam sua realização na prática diária das maiorias das cidades do país. Este fato que fica ainda pior ao se notar que a maioria dos casos descritos neste estudo e nos dados presentes no SINAN ocorrem em regiões com menor disponibilidade de técnicas diagnósticas avançadas como o Norte, Nordeste e Centro-Oeste brasileiro.

Esses dados dos exames diagnósticos reforçam a necessidade de outros referenciais para a correta identificação da LTA e das doenças que à mimetizam, assim como a busca por outros parâmetros que possam diferenciar as formas clínicas de LTA.

Estudo no Acre (OLIART-GUZMÁN et al., 2012) comparou características entre os grupos LC e LM, onde este último correspondeu a 29,5% dos casos; o número de lesões do grupo LC (1,46 lesões) foi maior que no grupo LM (1,10) e estatisticamente significativa ($p=0,021$). Avaliação de 80 casos de LTA por grupo da UnB (SAMPAIO et al., 1980) mostrou que 60% tinham a forma LM; o tempo de evolução da doença foi menor que 1 ano em 71,9% dos casos de LC e 6,2% dos casos de LM. Estudo de Name RQ *et al* em 2005 (NAME et al., 2005) mostrou 40,8% de formas LM; o tempo de doença na LC foi inferior a 6 meses em 75,6% dos casos e 14,6% no grupo LM, sendo esta diferença estatisticamente significativa ($p<0,001$). Avaliação de Curti MC *et al* mostrou que 88,9% dos pacientes foram classificados como LC e 11,1% como LM. Avaliação de casos em Alagoas (ROCHA et al., 2015) mostrou que a forma LC foi predominante com 95,06% dos casos. Em nossa amostra a forma LM correspondeu a 16,3% dos casos; o número de lesões foi

significativamente maior no grupo LC; e o tempo de doença foi maior no grupo LM. Evolutivamente notamos uma melhora no tempo de diagnóstico da forma LM quando comparado com estudos prévios.

Estudo de Cuba C *et al.* (CUBA et al., 1984) com 239 pacientes na Bahia buscou caracterizar melhor a LM presente em 24% dos casos; identificando que esta forma apresenta maior tempo de doença. Machado-Coelho G.L.L. *et al* (MACHADO-COELHO et al., 2005) estudou 2820 pacientes com LTA e identificou que os pacientes com LM eram mais velhos, maioria do sexo masculino e tempo de doença mais prolongado (maior que 4 meses); não foram significantes o número de lesões ou a localização das lesões.

Em nossa amostra a comparação entre as características clínicas de pacientes com as formas principais de LTA avaliada por meio da análise univariada mostrou que os pacientes que sofriam com a forma LM eram mais velhos, tinham maior tempo de doença e menor número de lesões ao diagnóstico. Estes fatos podem ser justificados pela interação da *Leishmania* com o tecido da orofaringe que pode necessitar de longo tempo para gerar lesões mucosas (S et al., 2012).

Em relação aos testes imunológicos os valores de IDRM e títulos de IFI foram maiores nos pacientes com a forma ML. O mesmo ocorreu em estudo de Cuba C *et al*(CUBA et al., 1984). A base imunológica pode ser explicada pelo predomínio de resposta Th1 que é ineficaz na eliminação total do parasita e o mantém no tecido exposto ao sistema imunológico por tempo prolongado. A presença constante deste antígeno pode estimular uma inflamação crônica que serve de mantenedor da produção de anticorpos o que levaria a maiores títulos de exames imunológicos. Todas estas características justificam a dificuldade de resposta terapêutica na forma ML (CUMMINGS; TULADHAR; SATOSKAR, 2010; GURUNG; KANNEGANTI, 2015; NYLÉN; EIDSMO, 2012).

Buscou-se um ponto de corte preciso nos valores de IDRM e títulos de IFI que pudesse diferenciar de maneira prática os pacientes com as formas clínicas LC e LM. Contudo esta ideia original deste grupo de pesquisa não foi alcançada nesta amostra ficando esta hipótese para trabalhos posteriores.

A análise multivariada não confirmou as diferenças encontradas pela univariada nas características clínicas e nos testes laboratoriais entre as formas LC e LM. A única diferença que persistiu foi o menor número de lesões no grupo LM. Contudo, esta diferença não foi significativa o suficiente para diferenciar as formas clínicas principais. O tempo prolongado de exposição ao antígeno da *Leishmania* presente no tecido nas formas de LM e o tempo de evolução da doença podem atuar como fatores confundidores levando a altos títulos de IDRM e IFI. Possivelmente a maior IDRM na LM relatada em diversos estudos é efeito do tempo prolongado da doença e não de uma característica própria dessa forma clínica.

A visualização de lesões mucosas pode ser difícil a olho nu e um erro no diagnóstico é muito prejudicial ao paciente. Outro aspecto que dificulta o diagnóstico é a falta de especialistas, como otorrinolaringologistas e dermatologistas, e a falta de equipamentos adequados em áreas remotas do país. A identificação incorreta de forma ML e o posterior tratamento inadequado desta com doses e tempo inferiores à necessária pode resultar em maior recorrência e persistência do parasita na lesão (SAMPAIO; MARSDEN, 1997a).

Estudos recentes mostram que pacientes com LC que tiveram a mucosa da região cefálica examinada e aparentemente não apresentava lesões clinicamente perceptíveis de LTA podem apresentar traços de material genético (DNA) de *Leishmania* o que sugeriria uma infecção subclínica que se não diagnosticada precocemente levará a avanço da doença e destruição da região (FIGUEROA et al., 2009; GOMES et al., 2014a).

A destruição progressiva da mucosa oro e nasofaríngea gera com o tempo casos avançados e mutilantes desta região. O estigma psicossocial no paciente pela deformidade

leva à marginalização, o afasta do convívio da sociedade e dificuldade de encontrar trabalho(COSTA et al., 1987).

Atualmente o Brasil passa por restrições orçamentárias que levaram o principal laboratório de produção do antígeno utilizado no teste de Montenegro a suspender sua produção. Além disso, novas normas sanitárias estão sendo criadas pelo órgão regulador do Governo Federal para adequação desta substância. Com este trabalho espera-se estimular os órgãos competentes a buscar soluções mais rápidas para este teste fundamental no diagnóstico diferencial das lesões cutâneas.

Em áreas remotas do País concentram-se a maioria dos casos de LTA. Nestas regiões sugere-se explorar ao máximo métodos pouco complexos, tais como a anamnese, intradermorreação de Montenegro e a IFI.

6. CONCLUSÃO

O uso de métodos da anamnese e exames imunológicos mais simples devem ser estimulados na prática clínica diária.

As características de idade avançada, maior tempo de doença, maior diâmetro da IDRМ e títulos elevados da IFI devem ser valorizados e indicar uma suspeita diagnóstica da forma LM, mas não são suficientes para distinguir as formas clínicas.

Recomenda-se o exame da mucosa com técnicas avançadas como o PCR de todos os pacientes suspeitos para buscar o diagnóstico precoce da forma mucosa da Leishmaniose Tegumentar Americana.

Com esta prática será possível detectar precocemente e tratar de maneira adequada esta forma devastadora de doença, o que permitiria a prevenção de sua recidiva.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Azulay RD. Histopatologia da Leishmaniose Tegumentar. *Dermatologia Ibero Latino-Americana* 2:7-15,1960. Apud: Bittencourt AL, Barral A. Evaluation of histopathological classifications of American Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 86: 51-56, 1991

AKHOUNDI, M. et al. A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 3, p. e0004349, mar. 2016.

ALTAMIRANO-ENCISO, A. J.; MARZOCHI, M.; C. A.; MOREIRA, J. S.; SCHUBACH, A. O. E; MARZOCHI, K. B. F. Sobre a origem e dispersão das leishmanioses cutânea e mucosa com base em fontes históricas pré e pós-colombianas. **História, Ciências, Saúde - FIOCRUZ**, p. 853682, 2003.

ALVAR, J.; VÉLEZ, I. D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANO, J.; JANNIN, J.; DE BOER, M. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, 2012.

ALVES, C. F.; ALVES, C. F.; FIGUEIREDO, M. M.; SOUZA, C. C.; MACHADO-COELHO, G. L. L.; MELO, M. N.; TAFURI, W. L. American Tegumentary Leishmaniasis: Effectiveness of an Immunohistochemical Protocol for the Detection of Leishmania in Skin. **PLoS ONE**, v. 8, n. 5, p. e63343, 21 maio 2013.

AMATO, V. S.; TUON, F. F.; SIQUEIRA, A. M.; NICODEMO, A. C. Treatment of Mucosal Leishmaniasis in Latin America: Systematic Review. **Am J Trop Med Hyg.** 2007 Aug;77(2):266-74.

AMATO, V.; TUON, F.; IMAMURA, R.; ABEGÃO DE CAMARGO, R.; DUARTE, M.; NETO, V. Mucosal leishmaniasis: description of case management approaches and analysis of risk factors for treatment failure in a cohort of 140 patients in Brazil. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 23, n. 9, p. 102661034, set. 2009.

ANIS RASSI JR, ANIS RASSI, J. A. M.-N. Neglected Tropical Diseases - Latin America and the Caribbean. p. 11644, 2015.

BARI, A. U.; RAHMAN, S. B. Many faces of cutaneous leishmaniasis. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, v. 74, n. 1, p. 23627, 2008.

BASANO, S. DE A.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 3286337, set. 2004.

BITTENCOURT, A. L.; COSTA, J. M.; CARVALHO, E. M.; BARRAL, A. Leishmaniasis recidiva cutis in American cutaneous leishmaniasis. **International journal of dermatology**, v. 32, n. 11, p. 80265, nov. 1993.

BITTENCOURT, A. L.; BARRAL, A. Evaluation of the histopathological classifications of American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, n. 1, p. 51656, 1991.

BRASIL. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2007.

BRYCESON, A. D. Immunological aspects of clinical leishmaniasis. **Proceedings of the Royal Society of Medicine**, v. 63, n. 10, p. 1056660, out. 1970.

CASTRO, E. A. de; SOCCOL, V. T.; MEMBRIVE, N.; LUZ, E. Estudo das características epidemiológicas e clínicas de 332 casos de leishmaniose tegumentar notificados na região norte do Estado do Paraná de 1993 a 1998. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, n. 5, p. 4456452, out. 2002.

COPELAND, N. K.; ARONSON, N. E. Leishmaniasis: treatment updates and clinical practice guidelines review. **Current opinion in infectious diseases**, v. 28, n. 5, p. 426637, out. 2015.

COSTA, J. M. L.; VALE, K. C.; CECÍLIO, I. N.; OSAKI, N. K.; NETTO, E. M.; TADA, M. S.; FRANÇA, F.; BARRETO, M. do C.; MARSDEN, P. D. Aspectos psicossociais e estigmatizantes da leishmaniose cutâneo-mucosa. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 20, n. 2, p. 77682, jun. 1987.

COSTA FILHO, A. V. DA; LUCAS, Í. C.; SAMPAIO, R. N. R. Estudo comparativo entre miltefosina oral e antimoniato de N-metil glucamina parenteral no tratamento da leishmaniose

experimental causada por Leishmania (Leishmania) amazonensis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 4, p. 4246427, ago. 2008.

COTA GF, DE SOUSA MR, FEREGUETTI TO, SALEME PS, ALVARISA TK, RABELLO A. The Cure Rate after Placebo or No Therapy in American Cutaneous Leishmaniasis: A Systematic Review and Meta-Analysis. **PloS one**, v. 11, n. 2, p. e0149697, 2016.

COX, F. E. G. **History of human parasitology** *Clinical Microbiology Reviews*, 2002.

CUBA, C. C.; LLANOS-CUENTAS, E. A.; BARRETO, A. C.; MAGALHÃES, A. V.; LAGO, E. L.; REED, S. G.; MARSDEN, P. D. Human mucocutaneous leishmaniasis in Três Braços, Bahia - Brazil: an area of Leishmania braziliensis braziliensis transmission. I. Laboratory diagnosis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 17, n. 4, p. 1616167, dez. 1984.

CUBA CUBA, C. A.; MARSDEN, P. D.; BARRETO, A. C.; ROCHA, R.; SAMPAIO, R. R.; PATZLAFF, L. Diagnostico Parasitologico E Immunologico De Leishmaniasis Tegumentar Americana. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, v. 89, n. 3, p. 1956208, 1980.

CUMMINGS, H. E.; TULADHAR, R.; SATOSKAR, A. R. Cytokines and their STATs in cutaneous and visceral leishmaniasis. **Journal of biomedicine & biotechnology**, v. 2010, p. 294389, 2010.

CURTI, M. C. .; SILVEIRA, T. G. .; ARRAES, S. M. A. .; BERTOLINI, D. .; ZANZARINI, P. .; VENZAZZI, E. A. .; FERNANDES, A. C. .; TEIXEIRA, J. J. .; LONARDONI, M. V. . Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana na região Noroeste do Estado do Paraná. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, v. 30, n. 1, p. 63668, 2009.

DANESHBOD, Y.; ORYAN, A.; DAVARMANESH, M.; SHIRIAN, S.; NEGAHBAN, S.; ALEDAVOOD, A.; DAVARPANAH, M. A.; SOLEIMANPOOR, H.; DANESHBOD, K. Clinical, histopathologic, and cytologic diagnosis of mucosal leishmaniasis and literature review. **Archives of pathology & laboratory medicine**, v. 135, n. 4, p. 478682, abr. 2011.

DAVIES, C. R.; LLANOS-CUENTAS, E. A.; SHARP, S. J.; CANALES, J.; LEON, E.; ALVAREZ, E.; RONCAL, N.; DYE, C. Cutaneous leishmaniasis in the Peruvian Andes: factors associated with variability in clinical symptoms, response to treatment, and parasite isolation rate. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 25, n. 2, p. 302610, ago. 1997. Disponível em:

DE LIMA, M. V. N.; CERINO, D. A.; DE OLIVEIRA, R. Z.; SILVEIRA, T. G. V; DE LIMA, A. P. American cutaneous leishmaniasis with fatal outcome during pentavalent antimonial treatment. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, n. 3, p. 2696271, 2007.

DE OLIVEIRA, C. I.; BRODSKY, C. I. The immunobiology of *Leishmania braziliensis* infection. **Frontiers in immunology**, v. 3, p. 145, 2012.

DUTRA WO, DE FARIA DR, LIMA MACHADO PR, GUIMARÃES LH, SCHRIEFER A, CARVALHO E, GOLLOB KJ. Immunoregulatory and Effector Activities in Human Cutaneous and Mucosal Leishmaniasis: Understanding Mechanisms of Pathology. **Drug development research**, v. 72, n. 6, p. 4306436, set. 2011.

ESPIR, T. T.; GUERREIRO, T. S.; NAIFF, M. de F.; FIGUEIRA, L. de P.; SOARES, F. V.; DA SILVA, S. S.; FRANCO, A. M. R. Evaluation of different diagnostic methods of American Cutaneous Leishmaniasis in the Brazilian Amazon. **Experimental parasitology**, v. 167, p. 166, ago. 2016.

FAGUNDES, A.; MARZOCHI, M. C. A.; PEREZ, M.; SCHUBACH, A.; FERREIRA, A.; SILVA, J. P.; SCHUBACH, T.; MARZOCHI, K. B. F. Skin reactivity to thimerosal and phenol-preserved Montenegro antigen in Brazil. **Acta Tropica**, v. 101, n. 1, p. 25630, 2007.

FAGUNDES, A.; ANTÔNIO, L.; SCHUBACH, A.; MARZOCHI, K. B. F. Comparison between in vivo measurement of the Montenegro skin test and paper recording. **International Journal of Dermatology**, v. 51, n. 5, p. 6186619, maio 2012.

FERNÁNDEZ OL, DIAZ-TORO Y, OVALLE C, VALDERRAMA L, MUVDI S, RODRÍGUEZ I, GOMEZ MA, SARAVIA NG. Miltefosine and Antimonial Drug Susceptibility of *Leishmania Viannia* Species and Populations in Regions of High Transmission in Colombia. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 5, p. e2871, 22 maio 2014.

FIGUEROA RA, LOZANO LE, ROMERO IC, CARDONA MT, PRAGER M, PACHECO R, DIAZ YR, TELLEZ JA, SARAVIA NG. Detection of *Leishmania* in unaffected mucosal tissues of patients with cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania* (*Viannia*) species. **The Journal of infectious diseases**, v. 200, n. 4, p. 638646, 15 ago. 2009.

FIOCRUZ (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ); IMUNOBIOLOGICOS. **Imunofluorescência Indireta para diagnóstico da Leishmaniose humana.**

FOLLADOR, I.; ARAÚJO, C.; BACELLAR, O.; ARAÚJO, C. B.; CARVALHO, L. P.; ALMEIDA, R. P.; CARVALHO, E. M. Epidemiologic and immunologic findings for the subclinical form of *Leishmania braziliensis* infection. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 34, n. 11, p. E546E58, 2002.

FURTADO, T.; VALE, E. C. S. Leishmaniose tegumentar no Brasil: revisão histórica da origem, expansão e etiologia. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 80, n. 4, p. 4216428, 2005.

FURUSAWA, G. P.; BORGES, M. F. COLABORAÇÃO PARA O CONHECIMENTO DO HISTÓRICO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO BRASIL: POSSÍVEIS CASOS ENTRE ESCRAVOS NA VILA DE VASSOURAS-RJ, NOS ANOS 1820 A 1880. **Rev Patol Trop**, v. 43, n. 1, p. 7625, 2014.

GOMES, C. M.; DAMASCO, F. dos S.; MORAIS, O. O. de; PAULA, C. D. R. de; SAMPAIO, R. N. R. Recurrent cutaneous leishmaniasis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 88, n. 3, p. 4626464, 2013.

GOMES, C. M.; DE MORAIS, O. O.; ROSELINO, A. M.; DE PAULA, N. A.; SOARES, K. A.; SAMPAIO, R. N. R. Complementary exams in the diagnosis of American tegumentary leishmaniasis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 89, n. 5, p. 7016709, 2014a.

GOMES, C. M.; DE PAULA, N. A.; CESETTI, M. V.; ROSELINO, A. M.; SAMPAIO, R. N. R. Mucocutaneous leishmaniasis: Accuracy and molecular validation of noninvasive procedures in a *L. (V.) braziliensis*-endemic area. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 79, n. 4, p. 4136418, 2014b.

GOMES, C. M.; MAZIN, S. C.; DOS SANTOS, E. R.; CESETTI, M. V.; BÄCHTOLD, G. A. B.; CORDEIRO, J. H. F.; THEODORO, F. C. E. T.; DAMASCO, F. S.; CARRANZA, S. A. V.; SANTOS, A. O.; ROSELINO, A. M.; SAMPAIO, R. N. R. Accuracy of mucocutaneous leishmaniasis diagnosis using polymerase chain reaction: Systematic literature review and meta-analysis. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 2, 2015.

GOMES CM, CESETTI MV, DE MORAIS OO, MENDES MS, ROSELINO AM, SAMPAIO RN. The influence of treatment on the development of leishmaniasis recidiva cutis: A 17-year case-control study in Midwestern Brazil. **Journal of the European**

Academy of Dermatology and Venereology, v. 29, n. 1, p. 1096114, 2015b.

GONTIJO, B. Leishmaniose tegumentar americana American cutaneous leishmaniasis. **Medicina Tropical**, v. 36, n. 13, p. 71680, 2003.

GONTIJO, B.; DE CARVALHO, M. DE L. R. Leishmaniose tegumentar Americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 1, p. 71680, 2003.

GOTO, H.; LAULETTA LINDOSO, J. A. Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 2936307, 2012.

GOTO, H.; LINDOSO, J. A. Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Expert Rev Anti Infect Ther**, v. 8, n. 4, p. 4196433, 2010.

LH GUIMARÃES, PRL MACHADO, EL LAGO, DJ MORGAN, A SCHRIEFER, O BACELLAR, EM CARVALHO. Atypical manifestations of tegumentary leishmaniasis in a transmission area of *Leishmania braziliensis* in the state of Bahia, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 7, p. 71265, jul. 2009.

GURUNG, P.; KANNEGANTI, T.-D. Innate immunity against *Leishmania* infections. **Cellular microbiology**, v. 17, n. 9, p. 1286694, set. 2015.

HALDAR, A. K.; SEN, P.; ROY, S. Use of Antimony in the Treatment of Leishmaniasis : Current Status and Future Directions. **Molecular Biology International**, vol. 2011, Article ID 571242, 23 pages, 2011.

HANDLER MZ, PATEL PA, KAPILA R, AL-QUBATI Y, SCHWARTZ RA. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis: Differential diagnosis, diagnosis, histopathology, and management. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 73, n. 6, p. 911-2668, dez. 2015.

HASHIGUCHI Y, GOMEZ EL, KATO H, MARTINI LR, VELEZ LN, UEZATO H. Diffuse and disseminated cutaneous leishmaniasis: clinical cases experienced in Ecuador and a brief review. **Tropical medicine and health**, v. 44, p. 2, 2016.

IBM. **IBM SPSS-IBM Analytics**. Disponível em: <http://www.ibm.com/analytics/us/en/technology/spss/>

JAVA. Declaration of Helsinki World Medical Association Declaration of Helsinki. **Bulletin of the world health organization.**, v. 79, n. 4, p. 3736374, 2013.

LEVINE ND, CORLISS JO, COX FE, DEROUX G, GRAIN J, HONIGBERG BM, LEEDALE GF, LOEBLICH AR 3RD, LOM J, LYNN D, MERINFELD EG, PAGE FC, POLJANSKY G, SPRAGUE V, VAVRA J, WALLACE FG. A Newly Revised Classification of the Protozoa. **The Journal of Protozoology**, v. 27, n. 1, p. 37658, fev. 1980.

LIMA, E. B. De; PORTO, C.; MOTTA, J. O. C. Da; SAMPAIO, R. N. R. Tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, n. 2, p. 1116124, 2007.

MACHADO-COELHO, G. L. L.; CAIAFFA, W. T.; GENARO, O.; MAGALHÃES, P. A.; MAYRINK, W. Risk factors for mucosal manifestation of American cutaneous leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 99, n. 1, p. 55661, jan. 2005.

MAGALHÃES, A.; LLANOS, A.; CUBA, C.; ARAUJO, F.; PARREIRAS, B.; MEDEIROS, J.; BARRETO, A.; MARSDEN, P.; RAICK, N. Histopatologia da leishmaniose tegumentar por *Leishmania braziliensis braziliensis*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 28, n. 6, p. 4216430, 1986.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. 2. ed. Brasília: : Editora do Ministério da Saúde, 2007.

MUTISO, J.M.; MACHARIA, J.C; KIIO, M.N.; ICHAGICHU, J.M.; RIKOI, H.; GICHERU, M.M. Immunology of leishmaniasis. **Sci Parasitol**, v. 14, n. 2, p. 51661, 2013.

NAME, R. Q.; SAMPAIO, J. H. D.; BORGES, K. T.; TAUIL, P. L.; NOGUEIRA, L. S. C.; SAMPAIO, R. N. R. Estudo clínico, epidemiológico e terapêutico de 402 pacientes com leishmaniose tegumentar americana atendidos no Hospital Universitário de Brasília, DF, Brasil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 80, n. 3, p. 2496254, 2005.

NEVES, L. O.; TALHARI, A. C.; GADELHA, E. P. N.; SILVA JÚNIOR, R. M. da; GUERRA, J. A. de O.; FERREIRA, L. C. de L.; TALHARI, S. Estudo clínico randomizado comparando antimoniato de meglumina, pentamidina e anfotericina B para o tratamento da leishmaniose cutânea ocasionada por *Leishmania guyanensis*. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 6, p. 109261101, dez. 2011a.

NOGUEIRA, L. S. C.; SAMPAIO, R. N. R. Estudo hospitalar de leishmaniose tegumentar americana (LTA): epidemiologia e tratamento. **An Bras Dermatol**, p. 51662, 2001.

NOGUEIRA, M. F.; SOTTO, M. N.; CUCÉ, L. C. American tegumentary leishmaniasis: Langerhans cells in Montenegro skin test. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 50, n. 5, p. 2836286, 2008.

NYLÉN, S.; EIDSMO, L. Tissue damage and immunity in cutaneous leishmaniasis. **Parasite immunology**, v. 34, n. 12, p. 551661, dez. 2012.

OLIART-GUZMÁN, H.; CAMARGO MARTINS, A.; AUGUSTO SILVA MANTOVANI, S.; MUNIZ BRAÑA, A.; MATOS DELFINO, B.; MORAES PEREIRA, T.; PAULA SANTOS, A.; ALCÂNTARA FILGUEIRA JÚNIOR, J.; LUIZ CUNHA CASTELO BRANCO, F.; GARDINALI CAMPOS, R.; SÉRGIO MENEZES DE OLIVEIRA, C.; TORRES MUNIZ MÔNICA DA SILVA-NUNES, P. Características Epidemiológicas Da Leishmaniose Tegumentar Americana Na Fronteira Amazônica: Estudo Retrospectivo Em Assis Brasil, Acre. **Rev Patol Trop 188 Rev Patol Trop**, v. 42, n. 422, p. 1876200, 2012.

OLIVEIRA, L. F.; SCHUBACH, A. O.; MARTINS, M. M.; PASSOS, S. L.; OLIVEIRA, R. V.; MARZOCHI, M. C.; ANDRADE, C. A. Systematic review of the adverse effects of cutaneous leishmaniasis treatment in the New World. **Acta Tropica**, v.118,n.2, p.87696,2011.

PAGHEH, A.; FAKHAR, M.; MESGARIAN, F.; GHOLAMI, S.; AHMADPOUR, E. An improved microculture method for diagnosis of cutaneous leishmaniasis. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 38, n. 4, p. 3476351, 7 dez. 2014.

PELLISSARI, D. M.; CECHINEL, M. P.; SOUSA-GOMES, M. L. De; LIMA JÚNIOR, F. E. F. De. Tratamento da Leishmaniose Visceral e Leishmaniose Tegumentar Americana no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 20, n. 1, p. 1076110, 2011.

PINEDA, J. A.; MACÍAS, J.; MORILLAS, F.; FERNÁNDEZ-OCHOA, J.; CARA, J.; DE LA ROSA, R.; MARTÍN-SÁNCHEZ, J.; GONZÁLEZ, M.; GARCÍA-BRIONES, E.; DELGADO, J.; LISSEN, E. False-positive results of leishmanin skin test due to phenol-containing diluent. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 2, p. 1736174, mar. 2001.

POMARES, C.; DESPIERRES, L.; DEL GIUDICE, P.; DELAUNAY, P.; MICHEL, G.; FERRUA, B.; MARTY, P. Western blot analysis as an aid for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania major*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 106, n. 7, p. 45264, jul. 2012.

RABELLO, E. Contribuições ao Estudo da Leishmaniose Tegumentar no Brasil 1. **An Bras**

Dermatol, v. 1, n. 1, p. 1612, 1925.

RAFATI, S.; MODABBER, F. Cutaneous Leishmaniasis in Middle East and North Africa. In: **Neglected Tropical Diseases-Middle East and North Africa**. [s.l: s.n.]. p. 1176139.

RAMANATHAN, R.; TALAAT, K. R.; FEDORKO, D. P.; MAHANTY, S.; NASH, T. E. A species-specific approach to the use of non-antimony treatments for cutaneous leishmaniasis. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 84, n. 1, p. 109617, jan. 2011.

RASTI, S.; GHORBANZADEH, B.; KHEIRANDISH, F.; MOUSAVI, S. G.; PIROZMAND, A.; HOOSHYAR, H.; ABANI, B. Comparison of Molecular , Microscopic , and Culture Methods for Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis. **J Clin Lab Anal**. 2016 Sep;30(5):610-5

REED, S. G.; BADARÓ, R.; MASUR, H.; CARVALHO, E. M.; LORENCO, R.; LISBOA, A.; TEIXEIRA, R.; JOHNSON, W. D.; JONES, T. C. Selection of a skin test antigen for American visceral leishmaniasis. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 35, n. 1, p. 79685, jan. 1986.

REIS, L. D. C.; DE BRITO, M. E. F.; DE ALMEIDA, E.L.; FÉLIX, S. M.; MEDEIROS, A.C.R.; SILVA, C. J.; PEREIRA, V. R. A. Clinical, epidemiological and laboratory aspects of patients with American cutaneous leishmaniasis in the State of Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 5, p. 4396443, 2008.

RIDLEY, D. S.; MARSDEN, P. D.; CUBA, C. C.; BARRETO, A. C. A histological classification of mucocutaneous leishmaniasis in Brazil and its clinical evaluation. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 74, n. 4, p. 5086 514, jan. 1980.

ROCHA, T.; BARBOSA, A.; SANTANA, E.; CALHEIROS, C. Aspectos epidemiológicos dos casos humanos confirmados de leishmaniose tegumentar americana no Estado de Alagoas, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 6, n. 4, p. 49654, 2015.

ROSA, M. E. A.; MACHADO, P. R. L. Disseminated Leishmaniasis: Clinical, immunological, and therapeutic aspects. **Drug Development Research**, v. 72, n. 6, p. 4376 441, set. 2011.

SADEGHIAN, G. et al. Evaluation of leishmanin skin test reaction in different variants of cutaneous leishmaniasis. **Indian journal of dermatology**, v. 58, n. 3, p. 239, maio 2013.

SAMPAIO, R.; MARSDEN, P.D.; FURTADO, T; BARRETO, A.; CUBA, C.C., GLADYS,

CAMPBELL, G.A.M. Avaliação clínica e laboratorial de 114 casos hospitalares de leishmaniose cutâneo ó mucosa. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 64, p. 2016206, 1989.

SAMPAIO, R. N.; MARSDEN, P. D. Treatment of the mucosal form of leishmaniasis without response to glucantime, with liposomal amphotericin B. **Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, n. 2, p. 1256128, 1997a.

SAMPAIO, R. N. R.; ROCHA, R.; MARSDEN, P.; CUBA, C.; BARRETO, A. Leishmaniose tegumentar americana ó Casuística do hospital escola da UnB. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 55, n. 2, p. 69676, 1980.

SAMPAIO, R. N. R.; LUCAS, Í. C.; COSTA FILHO, A. V. DA. O uso da associação azitromicina e N-metil glucamina no tratamento da leishmaniose cutânea causada por *Leishmania (Leishmania) amazonensis* em camundongos C57BL6. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 2, p. 1256128, abr. 2009.

SAMPAIO, R. N. R.; PAULA, C. D. R. DE. Leishmaniose tegumentar americana no Distrito Federal. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 5, p. 5236528, out. 1999.

SAÚDE, M. DA. **Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN)**. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?idb2012/d0204.def>>. Acesso em: 1 ago. 2016.

SAÚDE; FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. Manual de controle da Leishmaniose tegumentar americana. **Ministério da Saúde**, p. 1662, 2000.

SAVOIA, D. Recent updates and perspectives on leishmaniasis. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 9, n. 6, p. 5886596, 4 jul. 2015.

SHAW, J. J. Taxonomy of the genus *Leishmania*: present and future trends and their implications. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, n. 3, p. 4716478, 1994.

SILVA, J. C. F. DA. **Leishmaniose tegumentar americana (Ita) nos municípios de Crato, Juazeiro do Norte e Barbalha, Estado do Ceará, Brasil, 2003 ó 2005**. [s.l.] Dissertação. Universidade Federal do Ceará, 2008.

SILVA, N. S. DA; MUNIZ, V. D. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana no Estado do Acre , Amazônia brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 6, p. 13256 1336, 2009.

SILVEIRA, F. T. LAINSON R, DE CASTRO GOMES CM, LAURENTI MD, CORBETT CE. Immunopathogenic competences of *Leishmania* (*V.*) *braziliensis* and *L. (L.) amazonensis* in American cutaneous leishmaniasis. **Parasite immunology**, v. 31, n. 8, p. 423631, ago. 2009.

SILVEIRA, F. T.; LAINSON, R.; CORBETT, C. E. Further observations on clinical, histopathological, and immunological features of borderline disseminated cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 5, p. 5256534, ago. 2005.

SKRABA, C. M. DE MELLO TF, PEDROSO RB, FERREIRA ÉC, DEMARCHI IG, ARISTIDES SM, LONARDONI MV, SILVEIRA TG. Evaluation of the reference value for the Montenegro skin test. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. 4, p. 4376444, 2015.

SOARES, K. A. URDAPILLETA AA, SANTOS GM, CARNEIRO AL, GOMES CM, ROSELINO AM, SAMPAIO RN. Field validation of a *Leishmania (Leishmania) mexicana* exo-antigens ELISA for diagnosing tegumentary leishmaniasis in regions of *Leishmania (Viannia)* predominance. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 19, n. 3, p. 3026307, 2015.

SOARES, L.; ABAD-FRANCH, F.; FERRAZ, G. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in central Amazonia: a comparison of sex-biased incidence among rural settlers and field biologists. **Tropical medicine & international health : TM & IH**, v. 19, n. 8, p. 988695, ago. 2014.

SOARES, S. K. P. **Estudo de testes cutâneos de hipersensibilidade tardia à diferentes antígenos nas formas cutânea e mucosa da Leishmaniose tegumentar americana.** [s.l.] Universidade de Brasília, 1999.

SOTO, J. ARANA BA, TOLEDO J, RIZZO N, VEGA JC, DIAZ A, LUZ M, GUTIERREZ P, ARBOLEDA M, BERMAN JD, JUNGE K, ENGEL J, SINDERMAN H.. Miltefosine for new world cutaneous leishmaniasis. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 38, n. 9, p. 1266672, 1 maio 2004.

SUNDAR, S.; CHAKRAVARTY, J. **Antimony Toxicity.** **Int J Environ Res Public Health**. 2010 Dec; 7(12): 426764277.

SUNDAR, S.; CHAKRAVARTY, J. An update on pharmacotherapy for leishmaniasis.

Expert opinion on pharmacotherapy, v. 16, n. 2, p. 237652, fev. 2015.

SZARGIKI, R.; ALCÂNTARA DE CASTRO, E.; LUZ, E.; KOWALTHUK, W.; MACHADO, A. M.; THOMAZ-SOCCOL, V. Comparison of serological and parasitological methods for cutaneous leishmaniasis diagnosis in the state of Paraná, Brazil. **Bjid**, v. 12, n. 1, p. 47652, 2009.

TELES, C. B. G. et al. Epidemiological aspects of American cutaneous leishmaniasis and phlebotomine sandfly population, in the municipality of Monte Negro, State of Rondônia, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 1, p. 60666, jan. 2013.

TUON, F. F.; AMATO NETO, V.; SABBAGA AMATO, V. Leishmania: origin, evolution and future since the Precambrian. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 54, n. 2, 2008.

UL BARI, A. Chronology of cutaneous leishmaniasis: An overview of the history of the disease. **Journal of Pakistan Association of Dermatologists**, v. 16, n. 1, p. 24627, 2006.

VAN GRIENSVEN, J. GADISA E, ASEFFA A, HAILU A, BESHAM AM, DIRO E. Treatment of Cutaneous Leishmaniasis Caused by *Leishmania aethiopia*: A Systematic Review. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 3, p. e0004495, mar. 2016.

WHO. Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases. p. 191, 2015.

WHO TECHNICAL REPORT SERIES. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases, Geneva, 22-26 March 2010. **World Health Organization technical report series**, v. 949, n. March, p. 202, 2010.

WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control of the leishmaniasis. **World Health Organization technical report series**, n. 949, p. 22626, 2010.

8. ANEXOS

8.1 ANEXO I 6 PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA -
UNB



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: VALIDAÇÃO DA INTRADERMORREAÇÃO DE MONTENEGRO E IMUNOFLOUORESCÊNCIA INDIRETA NA DIFERENCIAÇÃO DAS FORMAS CLÍNICAS DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA.

Pesquisador: Ciro Martins Gomes

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 37190914.0.0000.5558

Instituição Proponente: Hospital Universitário de Brasília - HUB

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 908.061

Data da Relatoria: 25/11/2014

Apresentação do Projeto:

Vide parecer prévio

Objetivo da Pesquisa:

Vide parecer prévio

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Vide parecer prévio

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Vide parecer prévio

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os pesquisadores acrescentaram o TCLE correspondente para a situação em que haverá a oportunidade de abordagem dos participantes prospectivamente.

Recomendações:

Nenhuma

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nenhuma

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-1918 **E-mail:** fmd@unb.br

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA -
UNB



Continuação do Parecer: 908.061

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Parecer aprovado pelo Colegiado, que, à unanimidade, acolheu o voto do(a) Relator(a). A sessão ocorreu em 10 de dezembro de 2014.

BRASILIA, 10 de Dezembro de 2014

Assinado por:
Diaulas Costa Ribeiro
(Coordenador)

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-1918 **E-mail:** fmd@unb.br

8.2 ANEXO II 6 PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS

PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS

Número do prontuário: Sexo: masculino (1), feminino (2);

Nome: Idade:

Estado civil: ignorado (0), solteiro (1), casado (2), viúvo (3), divorciado (4), união estável (5)

Escolaridade: ignorado (0), analfabeto (1), primário incompleto (2), primário completo (3), secundário incompleto (4), secundário completo (5), superior incompleto (6), superior completo (7), pós-graduação (8)

Estado onde se contaminou: ignorado (0), DF (1), GO (2), MS (3), MT (4), MG (5), SP (6), ES (7), RJ (8), PR (9), SC (10), RS (11), BA (12), SE (13), AL (14), PE (15), PB (16), RN (17), CE (18), PI (19), MA (20), PA (21), TO (22), AM (23), AP (24), RR (25), AC (26), RO (27), OUTRO (28)

Tempo de doença em meses:

Local da lesão: ignorado (0), face (1), MMSS (2), tronco (3), MMII (4), mãos (5), pés (6), mais 2 sítios (7), difusa (8)

Número de lesões:

Teve doença prévia: ignorado (0), sim (1), não (2)

Teve tratamento prévio: ignorado (0), sim (1), não (2)

Qual tratamento prévio: ignorado (0), antimoniato de meglumina 21 dias (1), antimoniato de meglumina 30 dias (2), anfotericina B (3), anfotericina B lipossomal (4), pentamidina (5), antimoniato+anfotericina (6), antimoniato+anfotericina+pentamidina (7), nenhum (10)

Efeito colateral do tratamento: ignorado (0), sim (1), não (2)

Recidiva: ignorado (0), sim (1), não (2)

Quanto tempo ocorreu recidiva: ignorado (0), menos 3 meses (1), entre 3-6 meses (2), entre 6-9 meses (3), entre 9-12 meses (4), 2º ano (5), 3º ano (6), 4º ano (7), 5º ano (8), mais 5 anos (9)

Diagnóstico final: ignorado (0), LT cutânea (1), LT cutânea-mucosa (2), LT mucosa (3), LT difusa (4), LT anérgica (5), LT sem lesão (6), piodermite (7), esporotricose (8), cromomicose (9), micetoma (10), paracoccidiodomicose (11), LT recidiva cútis (12), trauma (13), LTA cutânea disseminada com viscerilização (14), histoplasmose (15), farmacodermia (16), pioderma gangrenoso (17), feohifomicose (18), carcinoma basocelular (19), carcinoma espinocelular (20), Hanseníase (21), ulcera venosa (22), LES (23), TB (24), HIV (25), leishmaniose visceral (26), pênfigo (27), linfoma (28)

Exame parasitológico direto (esfregaço): ignorado (0), positivo (1), negativo (2), outro agente (3)

Cultura: ignorado (0), positivo (1), negativo (2), outro agente (3)

Biopsia realizada: ignorado (0), sim (1), não (2),

Histopatológico: ignorado (0), encontro do parasita (1), compatível (2), não compatível (3), negativo (4), não realizado (5)

Maior valor do Montenegro em mm:

Menor valor do Montenegro em mm:

Resultado da imunofluorescência para Leishmania:

Resultado do PCR para leishmania: ignorado (0), positivo (1), negativo (2), não realizado (3)

Espécie determinada: ignorado (0), L L braziliensis (1), L V amazonenses (2), não realizado (9)

8.2 ANEXO III ó ARTIGO SUBMETIDO

Artigo enviado à Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo

(Journal of the São Paulo Institute of Tropical Medicine).

Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo



Practice diagnosis between the mucosal and cutaneous forms of American Tegumentary Leishmaniasis by clinical, epidemiological characteristics and immunological tests of low cost and high effectiveness.

Journal:	Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Brief Communication
Keyword:	American Tegumentary Leishmaniasis, Diagnosis, Montenegro Skin Test, Mucosal Leishmaniasis

SCHOLARONE™
Manuscripts

Only

Practice diagnosis between the mucosal and cutaneous forms of American Tegumentary Leishmaniasis by clinical, epidemiological characteristics and immunological tests of low cost and high effectiveness.

ABSTRACT

The accurate diagnosis of the clinical forms of American Tegumentary Leishmaniasis (ATL) is important because the mucosal form requires longer treatment with toxic drugs, has a chronic evolution, a high recurrence rate and cause disfiguring scars and death.

Our objective was to study the clinical profile and laboratory tests from patients treated at a referral clinic for ATL in Midwest Brazil from 2001 to 2014 to differentiate mucosal (ML) from cutaneous (CL) forms using a multivariate analysis.

Of 1019 patients with suspicious lesions, 737 had ATL. Univariate analysis showed that patients with ML, when compared to CL, were older ($p < 0.001$), had longer disease duration ($p < 0.001$), lower number of lesions ($p < 0.001$), higher values of Montenegro skin test ($p = 0.042$) and titers of IFA ($p = 0.001$). Multivariate analysis showed that a confounder influenced the univariate analysis result.

High titers of MST and IFA, as well as patients with higher age and disease duration, could be associated with the form ML, requiring a study with a longer and larger sample to show statistical significance.

Keywords: American Tegumentary Leishmaniasis; Diagnosis; Montenegro Skin Test; Indirect Immunofluorescence; Mucosal Leishmaniasis

The most prevalent species that cause Mucosal Leishmaniasis (ML) in Brazil is *L.(V.) braziliensis*. The disease can rarely be caused by *L.(V.) guyanensis* and exceptionally *L.(L.)*

amazonensis. The correct diagnosis between Cutaneous Leishmaniasis (CL) and ML is important because the last one needs more time of treatment with a toxic drug, has a chronic evolution, leading a high recurrence rate and causing facial deformities and death (AMATO et al., 2007; BRASIL. et al., 2007; GOTO; LAULETTA LINDOSO, 2012; HALDAR; SEN; ROY, 2011; NAME et al., 2005; REVEIZ et al., 2013; SUNDAR; CHAKRAVARTY, 2010). Studies have shown that the presence of the parasite in the healthy mucosa of patients with CL diagnosis, indicating that mucous lesion can occur before the first sign or symptom of mucous involvement (FIGUEROA et al., 2009; GOMES et al., 2014a). This justifies why the early diagnosis of ML is so important although defiant.

ATL laboratorial diagnosis can be done by the search for the parasite (smear, culture, histopathology), detection of their DNA (polymerase chain reactions - PCRs) or by the search for immunological host response (Montenegro skin test - MST, indirect immunofluorescence assay - IFA, ELISA). These tests have a great variation in the accuracy and clinical epidemiological profile could help at the correct diagnosis (GOMES et al., 2014b; GOTO; LINDOSO, 2010; SOARES et al., 2015; WHO TECHNICAL REPORT SERIES, 2010).

The aim of this study was to test if quantitative MST and IFA adjusted for the main clinical epidemiologic characteristics can differentiate the main forms of ATL, CL and ML, by using a multivariate model.

We selected, in a consecutive form, patients who had tegumentary lesions suspicious for ATL who attended a consultation at the Dermatology, at HUB, UnB- Brasilia-DF, Brazil, from January 2001 to December 2014.

Patients were diagnosed according to criteria previously established using a composite reference standard formed by the association of epidemiology, clinical suggestive lesions,

direct examination, culture and histopathology (BRASIL. et al., 2007; HANDLER et al., 2015).

Patients were divided into groups: 1) CL, 2) ML and 3) control (*Leishmania* infection was excluded). All patients with mucosal lesion with or without skin lesions formed the mucosal group. We excluded patients with the human immunodeficiency syndrome, indigenous and pregnant women.

Smear, culture, histopathology, MST and IFA tests were performed according to the reference standard (BRASIL. et al., 2007; FAGUNDES et al., 2012; GOMES et al., 2014b; GOTO; LINDOSO, 2010; WHO TECHNICAL REPORT SERIES, 2010).

The statistical analysis was performed using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 23.0 (IBM, 2016). Continuous variables with Gaussian distribution were processed by the Student's t-test, and Mann-Whitney test was used where no normal distribution was observed.

A univariate logistic regression model was performed in order to detect the individual effect of each variable among groups and possible confounders. With the significant variables in the univariate model, based on the Akaike criteria, a multivariate logistic regression model was defined to better distinguish the two diseases. The level of significance was set at 0.05.

The current investigation was approved by the Research Ethics Committee of the Medical School of the UnB (Protocol 908,061/2014) and it is in line with the 1964 Declaration of Helsinki (DoH) as revised in 2013 (JAVA, 2013).

The Figure 1 describes the flowchart of the patients. We observed in the CL group rare forms: 29 recidiva cutis (RCL), seven sporotrichoid (SCL), three disseminated (DL) and one diffuse cutaneous leishmaniasis (DCL).

The 282 control cases patients had the diagnosis: bacterial infections (25.53%), trauma (19.86%), vascular ulcers (14.89%), sporotrichosis (9.93%), squamous cell carcinoma (5.67%), basal cell carcinoma (3.90%), chromomycosis (3.90%), cutaneous tuberculosis (3.55%), leprosy (3.55%). Others diseases amounted 9.2% (pyoderma gangrenosum, drug-induced skin disorders, paracoccidioidomycosis, discoid lupus, histoplasmosis, phaeohyphomycosis, pemphigus vulgaris, lymphoma).

The diagnostic tests in the patient with ATL showed sensitivity and specificity respectively for smear (30.3% and 100%), culture (31.9% and 100%), histopathology showing *Leishmania* (10.5% and 100%), MST \times 5mm (87.7% and 63.9%) and IFA \times 1/40 (54.7% and 77.2%).

Patients with ATL were male in 69.74% (CL = 69.37%, ML = 71.67%, $p=0.617$), a mean age of 40.38 years and a mean time of disease of 20.61 months. A single lesion in skin was seen in 77.9% of CL cases. ML group had 10% active skin lesion or scar at the diagnosis. The univariate model shows that ML patients presented higher age (CL 38.88 years \pm 18.777 and ML 48.01 years \pm 17.678 $p<0.001$), fewer lesions (CL 1.59 \pm 1.904 and ML 1.17 \pm 0.771, $p<0.001$) and longer time of disease (CL 10.59 months \pm 28.924 and ML 66.75 months \pm 124.845, $p<0.001$).

In the univariate analysis, MST and IFA presented higher values in ML. MST presented 13.88mm \pm 10.131 in CL and 17.3mm \pm 16.339 in ML, $p=0.042$. IFA titles (1:x) presented 46.92 \pm 63.693 in CL and 79.27mm \pm 98.655 in ML, $p=0.001$. The average size of the MST and the titles of IFA analyzing special forms like RCL, SCL, DL and DCL were not different compared to CL and ML.

Multivariate analysis (Table 1) showed that these results were influenced by confounder and the only characteristic that remained statistical significance was the fewer skin lesions in ML group.

The lesions in ATL may present as a papule, nodule, ulcer, verrucous and scar that mimics others skin diseases(GUIMARÃES et al., 2009). Inflammatory, neoplastic and infectious diseases presented cutaneous lesions similar to those in ATL in a quarter of our patients. The MST was the test with higher sensitivity (87.7%) for the identification of cases of ATL and is fundamentally useful for the differential diagnosis and therefore an adequate treatment.

In this sample, the search for *Leishmania* through parasitological tests (smear, culture and amastigote presence in histopathology) shows low sensitivity, which demonstrates the difficulty of finding the parasite in lesions using these classical methods, especially for *L.(V.) braziliensis*. The three tests depend on trained personal with experience and culture is time-consuming needing weeks to give a result(GOTO; LINDOSO, 2010). This data reinforces the need for other parameters to diagnosis the disease and to differentiate the clinical forms of ACL.

In this sample, patients with ATL were mostly men in the economically active age group. This group is more likely to perform outdoor activities in vector habitat as seen in others studies (NAME et al., 2005; REIS et al., 2008b; SOARES; ABAD-FRANCH; FERRAZ, 2014; TELES et al., 2013).

Comparing the clinical characteristics of patients with the major forms of ATL, we found in the univariate analysis that patients with ML were older and have a longer disease duration; however, this was not confirmed by the multivariate analysis. This fact leads to a possibility that the interaction of *Leishmania* with the tissue of the oropharynx requires a long time to generate lesions. The immunological basis is explained by the predominance of a T-helper 2 response that does not suppress the parasite in the ML cases, which would generate a chronic inflammatory response causing the destruction of the tissue(CUMMINGS; TULADHAR; SATOSKAR, 2010; GURUNG; KANNEGANTI, 2015; NYLÉN; EIDSMO, 2012; SAVOIA,

2015; SILVEIRA et al., 2009). This finding justifies the greatest difficulty of therapeutic response of ML.

Multivariate analysis did not confirm any difference in MST and IFA values comparing ML and CL despite ML group presented higher titres. A long time of exposition to the antigen from *Leishmania* and this could work as a confounder leading to greater titres of MST and IFA in ML cases. However, this difference in this study was not great enough to differentiate ML from CL. The only difference that remains after this analysis was the fewest number of skin lesion in the ML form.

The visualization of mucosal lesions can be difficult with the naked eye in remote regions without adequate equipment where this disease is more frequent (GOMES et al., 2015c). A wrong treatment of ML with a lower dose than what is expected, corresponding to treatment of CL form, can result in recurrence and subsequent mucosal destruction (AMATO et al., 2009b; GOMES et al., 2015b; GOTO; LAULETTA LINDOSO, 2012). Therefore, quantitative immunological diagnostic methods can be very helpful, since it is known that ML has a cellular response significantly more intense than other forms as localized CL.

At this time in our Country, we face in a situation of difficulty due to lack of supply of antigen Montenegro by Ministry of Health. With this text, we hope to sensitize competent organs for a more agile solution.

Concludes by the reaffirmation of the importance of MST in the differential diagnosis of ATL with other confounding diseases. The fewer lesions, high values of IDR and IFA and the greatest period of evolution of the disease may be associated with LM.

AKHOUNDI, M, KUHLS K, CANNET A, VOTÝPKA J, MARTY P, DELAUNAY P, SERENO D. A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of

Leishmania Parasites and Sandflies. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 3, p. e0004349, mar. 2016.

ALTAMIRANO-ENCISO, A. J.; MARZOCHI, M.; C. A.; MOREIRA, J. S.; SCHUBACH, A. O. E; MARZOCHI, K. B. F. Sobre a origem e dispersão das leishmanioses cutânea e mucosa com base em fontes históricas pré e pós-colombianas. **História, Ciências, Saúde - FIOCRUZ**, p. 853682, 2003.

ALVAR, J.; VÉLEZ, I. D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANO, J.; JANNIN, J.; DE BOER, M. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, 2012.

ALVES, C. F.; ALVES, C. F.; FIGUEIREDO, M. M.; SOUZA, C. C.; MACHADO-COELHO, G. L. L.; MELO, M. N.; TAFURI, W. L. American Tegumentary Leishmaniasis: Effectiveness of an Immunohistochemical Protocol for the Detection of Leishmania in Skin. **PLoS ONE**, v. 8, n. 5, p. e63343, 21 maio 2013.

AMATO, V. S.; TUON, F. F.; SIQUEIRA, A. M.; NICODEMO, A. C. Treatment of Mucosal Leishmaniasis in Latin America: Systematic Review. **Am J Trop Med Hyg**. 2007 Aug;77(2):266-74.

AMATO, V.; TUON, F.; IMAMURA, R.; ABEGÃO DE CAMARGO, R.; DUARTE, M.; NETO, V. Mucosal leishmaniasis: description of case management approaches and analysis of risk factors for treatment failure in a cohort of 140 patients in Brazil. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 23, n. 9, p. 102661034, set. 2009.

ANIS RASSI JR, ANIS RASSI, J. A. M.-N. Neglected Tropical Diseases - Latin America and the Caribbean. p. 11644, 2015.

BARI, A. U.; RAHMAN, S. B. Many faces of cutaneous leishmaniasis. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, v. 74, n. 1, p. 23627, 2008.

BASANO, S. DE A.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p.

3286337, set. 2004.

BITTENCOURT, A. L.; COSTA, J. M.; CARVALHO, E. M.; BARRAL, A. Leishmaniasis recidiva cutis in American cutaneous leishmaniasis. **International journal of dermatology**, v. 32, n. 11, p. 80265, nov. 1993.

BITTENCOURT, A. L.; BARRAL, A. Evaluation of the histopathological classifications of American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, n. 1, p. 51656, 1991.

BRASIL. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Brasília: : Editora do Ministério da Saúde, 2007.

BRYCESON, A. D. Immunological aspects of clinical leishmaniasis. **Proceedings of the Royal Society of Medicine**, v. 63, n. 10, p. 1056660, out. 1970.

CASTRO, E. A. de; SOCCOL, V. T.; MEMBRIVE, N.; LUZ, E. Estudo das características epidemiológicas e clínicas de 332 casos de leishmaniose tegumentar notificados na região norte do Estado do Paraná de 1993 a 1998. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, n. 5, p. 4456452, out. 2002.

COPELAND, N. K.; ARONSON, N. E. Leishmaniasis: treatment updates and clinical practice guidelines review. **Current opinion in infectious diseases**, v. 28, n. 5, p. 426637, out. 2015.

COSTA, J. M. L.; VALE, K. C.; CECÍLIO, I. N.; OSAKI, N. K.; NETTO, E. M.; TADA, M. S.; FRANÇA, F.; BARRETO, M. do C.; MARSDEN, P. D. Aspectos psicossociais e estigmatizantes da leishmaniose cutâneo-mucosa. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 20, n. 2, p. 77682, jun. 1987.

COSTA FILHO, A. V. DA; LUCAS, Í. C.; SAMPAIO, R. N. R. Estudo comparativo entre miltefosina oral e antimoniato de N-metil glucamina parenteral no tratamento da leishmaniose experimental causada por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Revista da Sociedade**

Brasileira de Medicina Tropical, v. 41, n. 4, p. 4246427, ago. 2008.

COTA GF, DE SOUSA MR, FEREGUETTI TO, SALEME PS, ALVARISA TK, RABELLO A. The Cure Rate after Placebo or No Therapy in American Cutaneous Leishmaniasis: A Systematic Review and Meta-Analysis. **PloS one**, v. 11, n. 2, p. e0149697, 2016.

COX, F. E. G. **History of human parasitology***Clinical Microbiology Reviews*, 2002.

CUBA, C. C.; LLANOS-CUENTAS, E. A.; BARRETO, A. C.; MAGALHÃES, A. V.; LAGO, E. L.; REED, S. G.; MARSDEN, P. D. Human mucocutaneous leishmaniasis in Três Braços, Bahia - Brazil: an area of *Leishmania braziliensis braziliensis* transmission. I. Laboratory diagnosis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 17, n. 4, p. 1616167, dez. 1984.

CUBA CUBA, C. A.; MARSDEN, P. D.; BARRETO, A. C.; ROCHA, R.; SAMPAIO, R. R.; PATZLAFF, L. Diagnostico Parasitologico E Inmunologico De Leishmaniasis Tegumentar Americana. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, v. 89, n. 3, p. 1956208, 1980.

CUMMINGS, H. E.; TULADHAR, R.; SATOSKAR, A. R. Cytokines and their STATs in cutaneous and visceral leishmaniasis. **Journal of biomedicine & biotechnology**, v. 2010, p. 294389, 2010.

CURTI, M. C. .; SILVEIRA, T. G. .; ARRAES, S. M. A. .; BERTOLINI, D. .; ZANZARINI, P. .; VENZAZZI, E. A. .; FERNANDES, A. C. .; TEIXEIRA, J. J. .; LONARDONI, M. V. . Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana na região Noroeste do Estado do Paraná. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, v. 30, n. 1, p. 63668, 2009.

DANESHBOD, Y.; ORYAN, A.; DAVARMANESH, M.; SHIRIAN, S.; NEGAHBAN, S.; ALEDAVOOD, A.; DAVARPANAH, M. A.; SOLEIMANPOOR, H.; DANESHBOD, K. Clinical, histopathologic, and cytologic diagnosis of mucosal leishmaniasis and literature review. **Archives of pathology & laboratory medicine**, v. 135, n. 4, p. 478682, abr. 2011.

DAVIES, C. R.; LLANOS-CUENTAS, E. A.; SHARP, S. J.; CANALES, J.; LEON, E.; ALVAREZ, E.; RONCAL, N.; DYE, C. Cutaneous leishmaniasis in the Peruvian Andes: factors associated with variability in clinical symptoms, response to treatment, and parasite isolation rate. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 25, n. 2, p. 302610, ago. 1997. Disponível em:

DE LIMA, M. V. N.; CERINO, D. A.; DE OLIVEIRA, R. Z.; SILVEIRA, T. G. V; DE LIMA, A. P. American cutaneous leishmaniasis with fatal outcome during pentavalent antimonial treatment. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, n. 3, p. 2696271, 2007.

DE OLIVEIRA, C. I.; BRODSKY, C. I. The immunobiology of *Leishmania braziliensis* infection. **Frontiers in immunology**, v. 3, p. 145, 2012.

DUTRA WO, DE FARIA DR, LIMA MACHADO PR, GUIMARÃES LH, SCHRIEFER A, CARVALHO E, GOLLOB KJ. Immunoregulatory and Effector Activities in Human Cutaneous and Mucosal Leishmaniasis: Understanding Mechanisms of Pathology. **Drug development research**, v. 72, n. 6, p. 4306436, set. 2011.

ESPIR, T. T.; GUERREIRO, T. S.; NAIFF, M. de F.; FIGUEIRA, L. de P.; SOARES, F. V.; DA SILVA, S. S.; FRANCO, A. M. R. Evaluation of different diagnostic methods of American Cutaneous Leishmaniasis in the Brazilian Amazon. **Experimental parasitology**, v. 167, p. 166, ago. 2016.

FAGUNDES, A.; MARZOCHI, M. C. A.; PEREZ, M.; SCHUBACH, A.; FERREIRA, A.; SILVA, J. P.; SCHUBACH, T.; MARZOCHI, K. B. F. Skin reactivity to thimerosal and phenol-preserved Montenegro antigen in Brazil. **Acta Tropica**, v. 101, n. 1, p. 25630, 2007.

FAGUNDES, A.; ANTÔNIO, L.; SCHUBACH, A.; MARZOCHI, K. B. F. Comparison between in vivo measurement of the Montenegro skin test and paper recording. **International Journal of Dermatology**, v. 51, n. 5, p. 6186619, maio 2012.

FAGUNDES, A.; SILVA, D. A. A REAÇÃO INTRADÉRMICA DE MONTENEGRO NA CLÍNICA E NA EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE. 2007.

FERNÁNDEZ OL, DIAZ-TORO Y, OVALLE C, VALDERRAMA L, MUVDI S, RODRÍGUEZ I, GOMEZ MA, SARAVIA NG. Miltefosine and Antimonial Drug Susceptibility of *Leishmania Viannia* Species and Populations in Regions of High Transmission in Colombia. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 5, p. e2871, 22 maio 2014.

FIGUEROA RA, LOZANO LE, ROMERO IC, CARDONA MT, PRAGER M, PACHECO R, DIAZ YR, TELLEZ JA, SARAVIA NG. Detection of *Leishmania* in unaffected mucosal tissues of patients with cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania* (*Viannia*) species. **The**

Journal of infectious diseases, v. 200, n. 4, p. 638646, 15 ago. 2009.

FIOCRUZ (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ); IMUNOBIOLOGICOS.
Imunofluorescência Indireta para diagnóstico da Leishmaniose humana.

FOLLADOR, I.; ARAÚJO, C.; BACELLAR, O.; ARAÚJO, C. B.; CARVALHO, L. P.; ALMEIDA, R. P.; CARVALHO, E. M. Epidemiologic and immunologic findings for the subclinical form of *Leishmania braziliensis* infection. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 34, n. 11, p. E546E58, 2002.

FURTADO, T.; DO VALE, E. C. S. Leishmaniose tegumentar no Brasil : revisão histórica da related to the origin , expansion and etiology *. **An Bras Dermatol**, v. 80, n. 4, p. 4216428, 2005.

FURTADO, T.; VALE, E. C. S. Leishmaniose tegumentar no Brasil: revisão histórica da origem, expansão e etiologia. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 80, n. 4, p. 4216428, 2005.

FURUSAWA, G. P.; BORGES, M. F. COLABORAÇÃO PARA O CONHECIMENTO DO HISTÓRICO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO BRASIL: POSSÍVEIS CASOS ENTRE ESCRAVOS NA VILA DE VASSOURAS-RJ, NOS ANOS 1820 A 1880. **Rev Patol Trop**, v. 43, n. 1, p. 7625, 2014.

GOMES, C. M.; DAMASCO, F. dos S.; MORAIS, O. O. de; PAULA, C. D. R. de; SAMPAIO, R. N. R. Recurrent cutaneous leishmaniasis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 88, n. 3, p. 4626464, 2013.

GOMES, C. M.; DE MORAIS, O. O.; ROSELINO, A. M.; DE PAULA, N. A.; SOARES, K. A.; SAMPAIO, R. N. R. Complementary exams in the diagnosis of American tegumentary leishmaniasis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 89, n. 5, p. 7016709, 2014a.

GOMES, C. M.; DE PAULA, N. A.; CESETTI, M. V.; ROSELINO, A. M.; SAMPAIO, R. N. R. Mucocutaneous leishmaniasis: Accuracy and molecular validation of noninvasive procedures in a *L. (V.) braziliensis*-endemic area. **Diagnostic Microbiology and Infectious**

Disease, v. 79, n. 4, p. 4136418, 2014b.

GOMES, C. M.; MAZIN, S. C.; DOS SANTOS, E. R.; CESETTI, M. V.; BÄCHTOLD, G. A. B.; CORDEIRO, J. H. F.; THEODORO, F. C. E. T.; DAMASCO, F. S.; CARRANZA, S. A. V.; SANTOS, A. O.; ROSELINO, A. M.; SAMPAIO, R. N. R. Accuracy of mucocutaneous leishmaniasis diagnosis using polymerase chain reaction: Systematic literature review and meta-analysis. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 2, 2015.

GOMES CM, CESETTI MV, DE MORAIS OO, MENDES MS, ROSELINO AM, SAMPAIO RN. The influence of treatment on the development of leishmaniasis recidiva cutis: A 17-year case-control study in Midwestern Brazil. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 29, n. 1, p. 1096114, 2015b.

GONTIJO, B. Leishmaniose tegumentar americana American cutaneous leishmaniasis.

Medicina Tropical, v. 36, n. 13, p. 71680, 2003.

GONTIJO, B.; DE CARVALHO, M. DE L. R. Leishmaniose tegumentar Americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 1, p. 71680, 2003.

GOTO, H.; LAULETTA LINDOSO, J. A. Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis.

Infectious Disease Clinics of North America, v. 26, n. 2, p. 2936307, 2012.

GOTO, H.; LINDOSO, J. A. Current diagnosis and treatment of cutaneous and

mucocutaneous leishmaniasis. **Expert Rev Anti Infect Ther**, v. 8, n. 4, p. 4196433, 2010.

GUIMARÃES LH, MACHADO PRL, EL LAGO, MORGAN MJ, SCHRIEFER A, BACELLAR O, CARVALHO EM. Atypical manifestations of tegumentary leishmaniasis in a transmission area of *Leishmania braziliensis* in the state of Bahia, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 7, p. 71265, jul. 2009.

GURUNG, P.; KANNEGANTI, T.-D. Innate immunity against *Leishmania* infections.

Cellular microbiology, v. 17, n. 9, p. 1286694, set. 2015.

HALDAR, A. K.; SEN, P.; ROY, S. Use of Antimony in the Treatment of Leishmaniasis :

Current Status and Future Directions. v. 2011, 2011.

HANDLER MZ, PATEL PA, KAPILA R, AL-QUBATI Y, SCHWARTZ RA. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis: Differential diagnosis, diagnosis, histopathology, and management. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 73, n. 6, p. 911-2668, dez. 2015.

HASHIGUCHI Y, GOMEZ EL, KATO H, MARTINI LR, VELEZ LN, UEZATO H. Diffuse and disseminated cutaneous leishmaniasis: clinical cases experienced in Ecuador and a brief review. **Tropical medicine and health**, v. 44, p. 2, 2016.

IBM. **IBM SPSS-IBM Analytics.** Disponível em:
<http://www.ibm.com/analytics/us/en/technology/spss/>

<<http://www.ibm.com/analytics/us/en/technology/spss/>>.

JAVA. Declaration of Helsinki World Medical Association Declaration of Helsinki. **Bulletin of the world health organization.**, v. 79, n. 4, p. 3736374, 2013.

LEVINE ND, CORLISS JO, COX FE, DEROUX G, GRAIN J, HONIGBERG BM, LEEDALE GF, LOEBLICH AR 3RD, LOM J, LYNN D, MERINFELD EG, PAGE FC, POLJANSKY G, SPRAGUE V, VAVRA J, WALLACE FG. A Newly Revised Classification of the Protozoa. **The Journal of Protozoology**, v. 27, n. 1, p. 37658, fev. 1980.

LIMA, E. B. De; PORTO, C.; MOTTA, J. O. C. Da; SAMPAIO, R. N. R. Tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, n. 2, p. 1116124, 2007.

MACHADO-COELHO, G. L. L.; CAIAFFA, W. T.; GENARO, O.; MAGALHÃES, P. A.; MAYRINK, W. Risk factors for mucosal manifestation of American cutaneous leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 99, n. 1, p. 55661, jan. 2005.

MAGALHÃES, A.; LLANOS, A.; CUBA, C.; ARAUJO, F.; PARREIRAS, B.; MEDEIROS, J.; BARRETO, A.; MARSDEN, P.; RAICK, N. Histopatologia da leishmaniose tegumentar por *Leishmania braziliensis braziliensis*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 28, n. 6, p. 4216430, 1986.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, S. DE V. EM S.-; DE, D. DE V. E. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. 2. ed. Brasília: : Editora do Ministério da Saúde, 2007.

MUTISO, J.M.; MACHARIA, J.C; KIIO, M.N.; ICHAGICHU, J.M.; RIKOI, H.; GICHERU, M.M. Immunology of leishmaniasis. **Sci Parasitol**, v. 14, n. 2, p. 51661, 2013.

NAME, R. Q.; SAMPAIO, J. H. D.; BORGES, K. T.; TAUIL, P. L.; NOGUEIRA, L. S. C.; SAMPAIO, R. N. R. Estudo clínico, epidemiológico e terapêutico de 402 pacientes com leishmaniose tegumentar americana atendidos no Hospital Universitário de Brasília, DF, Brasil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 80, n. 3, p. 2496254, 2005.

NEVES, L. O.; TALHARI, A. C.; GADELHA, E. P. N.; SILVA JÚNIOR, R. M. da; GUERRA, J. A. de O.; FERREIRA, L. C. de L.; TALHARI, S. Estudo clínico randomizado comparando antimoniato de meglumina, pentamidina e anfotericina B para o tratamento da leishmaniose cutânea ocasionada por *Leishmania guyanensis*. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 6, p. 109261101, dez. 2011.

NOGUEIRA, L. S. C.; SAMPAIO, R. N. R. Estudo hospitalar de leishmaniose tegumentar americana (LTA): epidemiologia e tratamento. **An Bras Dermatol**, p. 51662, 2001.

NOGUEIRA, M. F.; SOTTO, M. N.; CUCÉ, L. C. American tegumentary leishmaniasis: Langerhans cells in Montenegro skin test. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 50, n. 5, p. 2836286, 2008.

NYLÉN, S.; EIDSMO, L. Tissue damage and immunity in cutaneous leishmaniasis. **Parasite immunology**, v. 34, n. 12, p. 551661, dez. 2012.

OLIART-GUZMÁN, H. et al. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NA FRONTEIRA AMAZÔNICA: ESTUDO RETROSPECTIVO EM ASSIS BRASIL, ACRE. **Rev Patol Trop 188 Rev Patol Trop**, v. 42, n. 422, p. 1876200, 2012.

OLIVEIRA, L. F.; SCHUBACH, A. O.; MARTINS, M. M.; PASSOS, S. L.; OLIVEIRA, R.

- V.; MARZOCHI, M. C.; ANDRADE, C. A. Systematic review of the adverse effects of cutaneous leishmaniasis treatment in the New World. **Acta Tropica**, v.118,n.2, p.87696,2011.
- PAGHEH, A.; FAKHAR, M.; MESGARIAN, F.; GHOLAMI, S.; AHMADPOUR, E. An improved microculture method for diagnosis of cutaneous leishmaniasis. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 38, n. 4, p. 3476351, 7 dez. 2014.
- PELLISSARI, D. M.; CECHINEL, M. P.; SOUSA-GOMES, M. L. De; LIMA JÚNIOR, F. E. F. De. Tratamento da Leishmaniose Visceral e Leishmaniose Tegumentar Americana no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 20, n. 1, p. 1076110, 2011.
- PINEDA, J. A.; MACÍAS, J.; MORILLAS, F.; FERNÁNDEZ-OCHOA, J.; CARA, J.; DE LA ROSA, R.; MARTÍN-SÁNCHEZ, J.; GONZÁLEZ, M.; GARCÍA-BRIONES, E.; DELGADO, J.; LISSEN, E. False-positive results of leishmanin skin test due to phenol-containing diluent. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 2, p. 1736174, mar. 2001.
- POMARES, C.; DESPIERRES, L.; DEL GIUDICE, P.; DELAUNAY, P.; MICHEL, G.; FERRUA, B.; MARTY, P. Western blot analysis as an aid for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania major*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 106, n. 7, p. 45264, jul. 2012.
- RABELLO, E. Contribuições ao Estudo da Leishmaniose Tegumentar no Brasil 1. **An Bras Dermatol**, v. 1, n. 1, p. 1612, 1925a.
- RAFATI, S.; MODABBER, F. Cutaneous Leishmaniasis in Middle East and North Africa. In: **Neglected Tropical Diseases-Middle East and North Africa**. [s.l: s.n.]. p. 1176139.
- RAMANATHAN, R.; TALAAT, K. R.; FEDORKO, D. P.; MAHANTY, S.; NASH, T. E. A species-specific approach to the use of non-antimony treatments for cutaneous leishmaniasis. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 84, n. 1, p. 109617, jan. 2011.
- RASTI, S.; GHORBANZADEH, B.; KHEIRANDISH, F.; MOUSAVI, S. G.; PIROZMAND, A.; HOOSHYAR, H.; ABANI, B. Comparison of Molecular , Microscopic , and Culture Methods for Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis. **J Clin Lab Anal**. 2016 Sep;30(5):610-5
- REED, S. G.; BADARÓ, R.; MASUR, H.; CARVALHO, E. M.; LORENCO, R.; LISBOA, A.; TEIXEIRA, R.; JOHNSON, W. D.; JONES, T. C. Selection of a skin test antigen for

American visceral leishmaniasis. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 35, n. 1, p. 79685, jan. 1986.

REIS, L. D. C.; DE BRITO, M. E. F.; DE ALMEIDA, E.L.; FÉLIX, S. M.; MEDEIROS, A.C.R.; SILVA, C. J.; PEREIRA, V. R. A. Clinical, epidemiological and laboratory aspects of patients with American cutaneous leishmaniasis in the State of Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 5, p. 4396443, 2008a.

REVEIZ, L. MAIA-ELKHOURY AN, NICHOLLS RS, ROMERO GA, YADON ZE.

Interventions for American Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis: A Systematic Review Update. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, p. e61843, 29 abr. 2013.

RIDLEY, D. S.; MARSDEN, P. D.; CUBA, C. C.; BARRETO, A. C. A histological classification of mucocutaneous leishmaniasis in Brazil and its clinical evaluation. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 74, n. 4, p. 5086 514, jan. 1980.

ROCHA, T.; BARBOSA, A.; SANTANA, E.; CALHEIROS, C. Aspectos epidemiológicos dos casos humanos confirmados de leishmaniose tegumentar americana no Estado de Alagoas, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 6, n. 4, p. 49654, 2015.

ROSA, M. E. A.; MACHADO, P. R. L. Disseminated Leishmaniasis: Clinical, immunological, and therapeutic aspects. **Drug Development Research**, v. 72, n. 6, p. 4376 441, set. 2011.

SADEGHIAN, G. et al. Evaluation of leishmanin skin test reaction in different variants of cutaneous leishmaniasis. **Indian journal of dermatology**, v. 58, n. 3, p. 239, maio 2013.

SADEGHIAN, G. et al. Evaluation of leishmanin skin test reaction in different variants of cutaneous leishmaniasis. **Indian journal of dermatology**, v. 58, n. 3, p. 239, maio 2013.

SAMPAIO, R.; MARSDEN, P.D.; FURTADO, T; BARRETO, A.; CUBA, C.C., GLADYS, CAMPBELL, G.A.M. Avaliação clínica e laboratorial de 114 casos hospitalares de leishmaniose cutâneo ó mucosa. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 64, p. 2016206, 1989.

SAMPAIO, R. N.; MARSDEN, P. D. Treatment of the mucosal form of leishmaniasis without response to glucantime, with liposomal amphotericin B. **Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, n. 2, p. 1256128, 1997a.

SAMPAIO, R. N. R.; ROCHA, R.; MARSDEN, P.; CUBA, C.; BARRETO, A. Leishmaniose tegumentar americana ó Casuística do hospital escola da UnB. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 55, n. 2, p. 69676, 1980.

SAMPAIO, R. N. R.; LUCAS, Í. C.; COSTA FILHO, A. V. DA. O uso da associação azitromicina e N-metil glucamina no tratamento da leishmaniose cutânea causada por *Leishmania (Leishmania) amazonensis* em camundongos C57BL6. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 2, p. 1256128, abr. 2009.

SAMPAIO, R. N. R.; PAULA, C. D. R. DE. Leishmaniose tegumentar americana no Distrito Federal. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 5, p. 5236528, out. 1999.

SAÚDE, M. DA. **Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN)**. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?idb2012/d0204.def>>. Acesso em: 1 ago. 2016.

SAÚDE, F. N. DE; FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. Manual de controle da Leishmaniose tegumentar americana. **Ministério da Saúde**, p. 1662, 2000.

SAVOIA, D. Recent updates and perspectives on leishmaniasis. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 9, n. 6, p. 5886596, 4 jul. 2015.

SHAW, J. J. Taxonomy of the genus *Leishmania*: present and future trends and their implications. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, n. 3, p. 4716478, 1994.

SILVA, J. C. F. DA. **Leishmaniose tegumentar americana (Ita) nos municípios de Crato, Juazeiro do Norte e Barbalha, Estado do Ceará, Brasil, 2003 ó 2005**. [s.l.] Universidade Federal do Ceará, 2008.

SILVA, N. S. DA; MUNIZ, V. D. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana no Estado do Acre , Amazônia brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 6, p. 13256

1336, 2009.

SILVEIRA, F. T. LAINSON R, DE CASTRO GOMES CM, LAURENTI MD, CORBETT CE. Immunopathogenic competences of *Leishmania* (V.) *braziliensis* and *L. (L.) amazonensis* in American cutaneous leishmaniasis. **Parasite immunology**, v. 31, n. 8, p. 423-631, ago. 2009.

SILVEIRA, F. T.; LAINSON, R.; CORBETT, C. E. Further observations on clinical, histopathological, and immunological features of borderline disseminated cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 5, p. 525-6534, ago. 2005.

SKRABA, C. M. DE MELLO TF, PEDROSO RB, FERREIRA ÉC, DEMARCHI IG, ARISTIDES SM, LONARDONI MV, SILVEIRA TG. Evaluation of the reference value for the Montenegro skin test. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. 4, p. 437-6444, 2015.

SOARES, K. A. URDAPILLETA AA, SANTOS GM, CARNEIRO AL, GOMES CM, ROSELINO AM, SAMPAIO RN. Field validation of a *Leishmania (Leishmania) mexicana* exo-antigens ELISA for diagnosing tegumentary leishmaniasis in regions of *Leishmania (Viannia)* predominance. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 19, n. 3, p. 302-6307, 2015.

SOARES, L.; ABAD-FRANCH, F.; FERRAZ, G. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in central Amazonia: a comparison of sex-biased incidence among rural settlers and field biologists. **Tropical medicine & international health : TM & IH**, v. 19, n. 8, p. 988-695, ago. 2014.

SOARES, S. K. P. **Estudo de testes cutâneos de hipersensibilidade tardia à diferentes antígenos nas formas cutânea e mucosa da Leishmaniose tegumentar americana**. [s.l.] Universidade de Brasília, 1999.

SOTO, J. ARANA BA, TOLEDO J, RIZZO N, VEGA JC, DIAZ A, LUZ M, GUTIERREZ P, ARBOLEDA M, BERMAN JD, JUNGE K, ENGEL J, SINDERMANN H.. Miltefosine for

new world cutaneous leishmaniasis. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 38, n. 9, p. 1266672, 1 maio 2004.

SUNDAR, S.; CHAKRAVARTY, J. **Antimony Toxicity. Int J Environ Res Public Health**. 2010 Dec; 7(12): 426764277.

SUNDAR, S.; CHAKRAVARTY, J. An update on pharmacotherapy for leishmaniasis.

Expert opinion on pharmacotherapy, v. 16, n. 2, p. 237652, fev. 2015.

SZARGIKI, R.; ALCÂNTARA DE CASTRO, E.; LUZ, E.; KOWALTHUK, W.; MACHADO, A. M.; THOMAZ-SOCCOL, V. Comparison of serological and parasitological methods for cutaneous leishmaniasis diagnosis in the state of Paraná, Brazil. **Bjid**, v. 12, n. 1, p. 47652, 2009.

TELES, C. B. G. et al. Epidemiological aspects of American cutaneous leishmaniasis and phlebotomine sandfly population, in the municipality of Monte Negro, State of Rondônia, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 1, p. 60666, jan. 2013.

TUON, F. F.; AMATO NETO, V.; SABBAGA AMATO, V. Leishmania: origin, evolution and future since the Precambrian. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 54, n. 2, 2008.

UL BARI, A. Chronology of cutaneous leishmaniasis: An overview of the history of the disease. **Journal of Pakistan Association of Dermatologists**, v. 16, n. 1, p. 24627, 2006.

VAN GRIENSVEN, J. et al. Treatment of Cutaneous Leishmaniasis Caused by *Leishmania aethiopica*: A Systematic Review. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 3, p. e0004495, mar. 2016.

WHO. Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases. p. 191, 2015.

WHO TECHNICAL REPORT SERIES. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases, Geneva, 22-26 March 2010.

World Health Organization technical report series, v. 949, n. March, p. 202, 2010.

WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control of the leishmaniases. **World Health Organization technical report series**, n. 949, p. 22626, 2010.

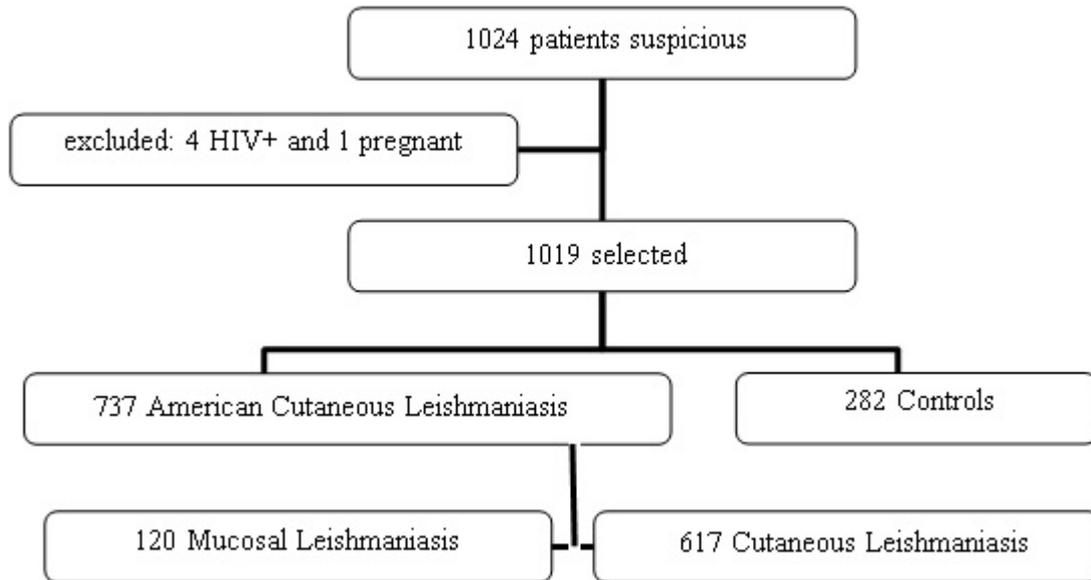


Fig. 2. Inclusion flowchart for ATL cases and controls. HIV (Human Immunodeficiency Virus).

Table 1 ó Odds ratios (OR) from univariate and multivariate analysis of the differences of CL and ML.

Characteristic	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	OR (95% CI)	P-value	OR (95% CI)	P-value
Age	1.03 (1.02-1.04)	0.00	1.03 (0.99-1.07)	0.33
More than 1 lesion	25.51 (11.18-58.18)	0.00	144.17 (12.44-1670.71)	0.04
Time of disease	1.02 (1.00-1.03)	0.00	1.02 (1.00-1.03)	0.20
Montenegro skin test	1.02 (1.01-1.03)	0.01	0.89 (0.84-1.09)	0.05
Indirect immunofluorescence assay	1.01 (1.00-1.001)	0.00	1.01 (1.00-1.02)	0.09

- AKHOUNDI, M. et al. A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 3, p. e0004349, mar. 2016.
- ALTAMIRANO-ENCISO, A. J.; MARZOCHI, M.; C. A.; MOREIRA, J. S.; SCHUBACH, A. O. E; MARZOCHI, K. B. F. Sobre a origem e dispersão das leishmanioses cutânea e mucosa com base em fontes históricas pré e pós-colombianas. **História, Ciências, Saúde - FIOCRUZ**, p. 853682, 2003.
- ALVAR, J. et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, 2012.
- ALVES, C. F. et al. American Tegumentary Leishmaniasis: Effectiveness of an Immunohistochemical Protocol for the Detection of Leishmania in Skin. **PLoS ONE**, v. 8, n. 5, p. e63343, 21 maio 2013.
- AMATO, V. et al. Mucosal leishmaniasis: description of case management approaches and analysis of risk factors for treatment failure in a cohort of 140 patients in Brazil. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 23, n. 9, p. 102661034, set. 2009a.
- AMATO, V. S. et al. Treatment of Mucosal Leishmaniasis in Latin America : Systematic Review. v. 77, n. 2, p. 2666274, 2007.
- AMATO, V. S. et al. Mucosal leishmaniasis: description of case management approaches and analysis of risk factors for treatment failure in a cohort of 140 patients in Brazil. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV**, v. 23, n. 9, p. 1026634, set. 2009b.
- ANIS RASSI JR, ANIS RASSI, J. A. M.-N. Neglected Tropical Diseases - Latin America and the Caribbean. p. 11644, 2015.
- BARI, A. U.; RAHMAN, S. B. Many faces of cutaneous leishmaniasis. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, v. 74, n. 1, p. 23627, 2008.
- BASANO, S. DE A.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 3286337, set. 2004.
- BITTENCOURT, A. L. et al. Leishmaniasis recidiva cutis in American cutaneous

leishmaniasis. **International journal of dermatology**, v. 32, n. 11, p. 80265, nov. 1993.

BITTENCOURT, A. L.; BARRAL, A. Evaluation of the histopathological classifications of American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, n. 1, p. 51656, 1991.

BRASIL. et al. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Brasília: : Editora do Ministério da Saúde, 2007.

BRYCESON, A. D. Immunological aspects of clinical leishmaniasis. **Proceedings of the Royal Society of Medicine**, v. 63, n. 10, p. 1056660, out. 1970.

CASTRO, E. A. DE et al. Estudo das características epidemiológicas e clínicas de 332 casos de leishmaniose tegumentar notificados na região norte do Estado do Paraná de 1993 a 1998. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, n. 5, p. 4456452, out. 2002.

COPELAND, N. K.; ARONSON, N. E. Leishmaniasis: treatment updates and clinical practice guidelines review. **Current opinion in infectious diseases**, v. 28, n. 5, p. 426637, out. 2015.

COSTA, J. M. L. et al. Aspectos psicossociais e estigmatizantes da leishmaniose cutâneo-mucosa. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 20, n. 2, p. 77682, jun. 1987.

COSTA FILHO, A. V. DA; LUCAS, Í. C.; SAMPAIO, R. N. R. Estudo comparativo entre miltefosina oral e antimoniato de N-metil glucamina parenteral no tratamento da leishmaniose experimental causada por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 4, p. 4246427, ago. 2008.

COTA, G. F. et al. The Cure Rate after Placebo or No Therapy in American Cutaneous Leishmaniasis: A Systematic Review and Meta-Analysis. **PloS one**, v. 11, n. 2, p. e0149697, 2016.

COX, F. E. G. **History of human parasitology** **Clinical Microbiology Reviews**, 2002.

CUBA, C. C. et al. Human mucocutaneous leishmaniasis in Três Braços, Bahia - Brazil: an area of *Leishmania braziliensis braziliensis* transmission. I. Laboratory diagnosis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 17, n. 4, p. 1616167, dez. 1984.

CUBA CUBA, C. A. et al. Diagnostico Parasitologico E Imunologico De Leishmaniasis

Tegumentar Americana. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, v. 89, n. 3, p. 1956-208, 1980.

CUMMINGS, H. E.; TULADHAR, R.; SATOSKAR, A. R. Cytokines and their STATs in cutaneous and visceral leishmaniasis. **Journal of biomedicine & biotechnology**, v. 2010, p. 294389, 2010.

CURTI, M. C. . et al. Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana na região Noroeste do Estado do Paraná. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, v. 30, n. 1, p. 63668, 2009.

DANESHBOD, Y. et al. Clinical, histopathologic, and cytologic diagnosis of mucosal leishmaniasis and literature review. **Archives of pathology & laboratory medicine**, v. 135, n. 4, p. 478682, abr. 2011.

DAVIES, C. R. et al. Cutaneous leishmaniasis in the Peruvian Andes: factors associated with variability in clinical symptoms, response to treatment, and parasite isolation rate. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 25, n. 2, p. 302610, ago. 1997.

DE LIMA, M. V. N. et al. American cutaneous leishmaniasis with fatal outcome during pentavalent antimoniate treatment. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, n. 3, p. 2696271, 2007.

DE OLIVEIRA, C. I.; BRODSKY, C. I. The immunobiology of *Leishmania braziliensis* infection. **Frontiers in immunology**, v. 3, p. 145, 2012.

DUTRA, W. O. et al. Immunoregulatory and Effector Activities in Human Cutaneous and Mucosal Leishmaniasis: Understanding Mechanisms of Pathology. **Drug development research**, v. 72, n. 6, p. 4306436, set. 2011.

ESPIR, T. T. et al. Evaluation of different diagnostic methods of American Cutaneous Leishmaniasis in the Brazilian Amazon. **Experimental parasitology**, v. 167, p. 166, ago. 2016.

FAGUNDES, A. et al. Skin reactivity to thimerosal and phenol-preserved Montenegro antigen in Brazil. **Acta Tropica**, v. 101, n. 1, p. 25630, 2007.

FAGUNDES, A. et al. Comparison between in vivo measurement of the Montenegro skin test and paper recording. **International Journal of Dermatology**, v. 51, n. 5, p. 6186619, maio

2012.

FAGUNDES, A.; SILVA, D. A. A REAÇÃO INTRADÉRMICA DE MONTENEGRO NA CLÍNICA E NA EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE. 2007.

FARIAS, M. DE et al. Experimental Parasitology Evaluation of different diagnostic methods of American Cutaneous Leishmaniasis in the Brazilian Amazon. **Experimental Parasitology**, v. 167, p. 166, 2016.

FERNÁNDEZ, O. L. et al. Miltefosine and Antimonial Drug Susceptibility of Leishmania Viannia Species and Populations in Regions of High Transmission in Colombia. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 5, p. e2871, 22 maio 2014.

FIGUEROA, R. A. et al. Detection of Leishmania in unaffected mucosal tissues of patients with cutaneous leishmaniasis caused by Leishmania (Viannia) species. **The Journal of infectious diseases**, v. 200, n. 4, p. 638646, 15 ago. 2009.

FIOCRUZ (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ); IMUNOBIOLOGICOS), B.-M. (INSTITUTO DE T. EM. **Imunofluorescência Indireta para diagnóstico da Leishmaniose humana**, [s.d.].

FOLLADOR, I. et al. Epidemiologic and immunologic findings for the subclinical form of Leishmania braziliensis infection. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 34, n. 11, p. E546E58, 2002.

FURTADO, T.; DO VALE, E. C. S. Leishmaniose tegumentar no Brasil : revisão histórica da related to the origin , expansion and etiology *. **An Bras Dermatol**, v. 80, n. 4, p. 4216428, 2005.

FURTADO, T.; VALE, E. C. S. Leishmaniose tegumentar no Brasil: revisão histórica da origem, expansão e etiologia. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 80, n. 4, p. 4216428, 2005.

FURUSAWA, G. P.; BORGES, M. F. COLABORAÇÃO PARA O CONHECIMENTO DO HISTÓRICO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO BRASIL: POSSÍVEIS CASOS ENTRE ESCRAVOS NA VILA DE VASSOURAS-RJ, NOS ANOS 1820 A 1880. **Rev Patol Trop**, v. 43, n. 1, p. 7625, 2014.

GOMES, C. M. et al. Recurrent cutaneous leishmaniasis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 88, n. 3, p. 4626464, 2013.

- GOMES, C. M. et al. Mucocutaneous leishmaniasis: Accuracy and molecular validation of noninvasive procedures in a L. (V.) braziliensis-endemic area. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 79, n. 4, p. 4136418, 2014a.
- GOMES, C. M. et al. Complementary exams in the diagnosis of American tegumentary leishmaniasis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 89, n. 5, p. 7016709, 2014b.
- GOMES, C. M. et al. Accuracy of mucocutaneous leishmaniasis diagnosis using polymerase chain reaction: Systematic literature review and meta-analysis. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 2, 2015a.
- GOMES, C. M. et al. The influence of treatment on the development of leishmaniasis recidiva cutis: A 17-year case-control study in Midwestern Brazil. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 29, n. 1, p. 1096114, 2015b.
- GOMES, C. M. et al. Accuracy of mucocutaneous leishmaniasis diagnosis using polymerase chain reaction: systematic literature review and meta-analysis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 2, p. 157665, abr. 2015c.
- GONTIJO, B. Leishmaniose tegumentar americana American cutaneous leishmaniasis. **Medicina Tropical**, v. 36, n. 13, p. 71680, 2003.
- GONTIJO, B.; DE CARVALHO, M. DE L. R. Leishmaniose tegumentar Americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 1, p. 71680, 2003.
- GOTO, H.; LAULETTA LINDOSO, J. A. Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 2936307, 2012.
- GOTO, H.; LINDOSO, J. A. Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Expert Rev Anti Infect Ther**, v. 8, n. 4, p. 4196433, 2010.
- GUIMARÃES, L. H. et al. Atypical manifestations of tegumentary leishmaniasis in a transmission area of Leishmania braziliensis in the state of Bahia, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 7, p. 71265, jul. 2009.
- GURUNG, P.; KANNEGANTI, T.-D. Innate immunity against Leishmania infections. **Cellular microbiology**, v. 17, n. 9, p. 1286694, set. 2015.
- HALDAR, A. K.; SEN, P.; ROY, S. Use of Antimony in the Treatment of Leishmaniasis : Current Status and Future Directions. v. 2011, 2011.

HANDLER, M. Z. et al. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis: Differential diagnosis, diagnosis, histopathology, and management. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 73, n. 6, p. 911-2668, dez. 2015.

HASHIGUCHI, Y. et al. Diffuse and disseminated cutaneous leishmaniasis: clinical cases experienced in Ecuador and a brief review. **Tropical medicine and health**, v. 44, p. 2, 2016.

IBM. **IBM SPSS - IBM Analytics**. Disponível em:
<<http://www.ibm.com/analytics/us/en/technology/spss/>>.

JAVA. Declaration of Helsinki World Medical Association Declaration of Helsinki. **Bulletin of the world health organization.**, v. 79, n. 4, p. 3736374, 2013.

LEVINE, N. D. et al. A Newly Revised Classification of the Protozoa*. **The Journal of Protozoology**, v. 27, n. 1, p. 37658, fev. 1980.

LIMA, E. B. DE et al. Tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana *. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, n. 2, p. 1116124, abr. 2007.

MACHADO-COELHO, G. L. L. et al. Risk factors for mucosal manifestation of American cutaneous leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 99, n. 1, p. 55661, jan. 2005.

MAGALHÃES, A. et al. HISTOPATOLOGIA DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR POR LEISHMANIA BRAZILIENSIS BRAZILIENSIS. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 28, n. 6, p. 4216430, 1986.

MINISTÉRIO, B.; VIGILÂNCIA, S. DE. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. [s.l: s.n.].

MINISTÉRIO DA SAÚDE, S. DE V. EM S.-; DE, D. DE V. E. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. 2. ed. Brasília: : Editora do Ministério da Saúde, 2007.

MUTISO, J. M. et al. Immunology of leishmaniasis. **Sci Parasitol**, v. 14, n. 2, p. 51661, 2013.

NAME, R. Q. et al. Estudo clínico, epidemiológico e terapêutico de 402 pacientes com leishmaniose tegumentar americana atendidos no Hospital Universitário de Brasília, DF, Brasil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 80, n. 3, p. 2496254, jun. 2005.

NEVES, L. O. et al. Estudo clínico randomizado comparando antimoniato de meglumina, pentamidina e anfotericina B para o tratamento da leishmaniose cutânea ocasionada por *Leishmania guyanensis*. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 6, p. 1092-1101, dez. 2011.

NOGUEIRA, L. S. C.; SAMPAIO, R. N. R. Estudo hospitalar de leishmaniose tegumentar americana (LTA): epidemiologia e tratamento. **An Bras Dermatol**, p. 51-62, 2001.

NOGUEIRA, M. F.; SOTTO, M. N.; CUCÉ, L. C. American tegumentary leishmaniasis: Langerhans cells in Montenegro skin test. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 50, n. 5, p. 283-286, 2008.

NYLÉN, S.; EIDSMO, L. Tissue damage and immunity in cutaneous leishmaniasis. **Parasite immunology**, v. 34, n. 12, p. 551-661, dez. 2012.

OLIART-GUZMÁN, H. et al. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NA FRONTEIRA AMAZÔNICA: ESTUDO RETROSPECTIVO EM ASSIS BRASIL, ACRE. **Rev Patol Trop 188 Rev Patol Trop**, v. 42, n. 422, p. 187-200, 2012.

OLIVEIRA, L. F. et al. Systematic review of the adverse effects of cutaneous leishmaniasis treatment in the New World. **Acta Tropica**, v. 118, n. 2, p. 87-96, 2011.

PAGHEH, A. et al. An improved microculture method for diagnosis of cutaneous leishmaniasis. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 38, n. 4, p. 347-351, 7 dez. 2014.

PELLISSARI, D. M. et al. Tratamento da Leishmaniose Visceral e Leishmaniose Tegumentar Americana no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 20, n. 1, p. 107-110, 2011.

PINEDA, J. A. et al. False-positive results of leishmanin skin test due to phenol-containing diluent. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 2, p. 173-174, mar. 2001.

POMARES, C. et al. Western blot analysis as an aid for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania major*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 106, n. 7, p. 452-64, jul. 2012.

RABELLO, E. Contribuições ao Estudo da Leishmaniose Tegumentar no Brasil 1. **An Bras Dermatol**, v. 1, n. 1, p. 1-12, 1925a.

- RABELLO, E. D. Contribuição ao estudo da leishmaniose tegumentar no Brasil 2. **An Bras Dermatol**, v. 1, n. 2, p. 1617, 1925b.
- RAFATI, S.; MODABBER, F. Cutaneous Leishmaniasis in Middle East and North Africa. In: **Neglected Tropical Diseases-Middle East and North Africa**. [s.l: s.n.]. p. 1176139.
- RAMANATHAN, R. et al. A species-specific approach to the use of non-antimony treatments for cutaneous leishmaniasis. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 84, n. 1, p. 109617, jan. 2011.
- RASTI, S. et al. Comparison of Molecular , Microscopic , and Culture Methods for Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis. v. 6, n. October 2015, p. 166, set. 2016a.
- RASTI, S. et al. Comparison of Molecular, Microscopic, and Culture Methods for Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v. 30, n. 5, p. 6106 615, set. 2016b.
- REED, S. G. et al. Selection of a skin test antigen for American visceral leishmaniasis. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 35, n. 1, p. 79685, jan. 1986.
- REIS, L. D. C. et al. Clinical, epidemiological and laboratory aspects of patients with American cutaneous leishmaniasis in the State of Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 5, p. 4396443, 2008a.
- REIS, L. DE C. et al. Clinical, epidemiological and laboratory aspects of patients with American cutaneous leishmaniasis in the State of Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 5, p. 4396443, out. 2008b.
- REVEIZ, L. et al. Interventions for American Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis: A Systematic Review Update. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, p. e61843, 29 abr. 2013.
- RIDLEY, D. S. et al. A histological classification of mucocutaneous leishmaniasis in Brazil and its clinical evaluation. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 74, n. 4, p. 5086514, jan. 1980.
- ROCHA, T. et al. Aspectos epidemiológicos dos casos humanos confirmados de leishmaniose tegumentar americana no Estado de Alagoas, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 6, n. 4, p. 49654, 2015.
- ROSA, M. E. A.; MACHADO, P. R. L. Disseminated Leishmaniasis: Clinical,

immunological, and therapeutic aspects. **Drug Development Research**, v. 72, n. 6, p. 4376-441, set. 2011.

S, A. M. et al. Aspectos Imunológicos e Clínicos da Leishmaniose Tegumentar Americana : UMA REVISÃO . p. 30639, 2012.

SADEGHIAN, G. et al. Evaluation of leishmanin skin test reaction in different variants of cutaneous leishmaniasis. **Indian journal of dermatology**, v. 58, n. 3, p. 239, maio 2013.

SAMPAIO, R. et al. Avaliação clínica e laboratorial de 114 casos hospitalares de leishmaniose cutânea ó mucosa. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 64, p. 2016206, 1989.

SAMPAIO, R. N.; MARSDEN, P. D. [Treatment of the mucosal form of leishmaniasis without response to glucantime, with liposomal amphotericin B]. **Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, n. 2, p. 1256128, 1997a.

SAMPAIO, R. N. R. et al. Leishmaniose tegumentar americana ó Casuística do hospital escola da UnB. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 55, n. 2, p. 69676, 1980.

SAMPAIO, R. N. R.; LUCAS, Í. C.; COSTA FILHO, A. V. DA. O uso da associação azitromicina e N-metil glucamina no tratamento da leishmaniose cutânea causada por *Leishmania (Leishmania) amazonensis* em camundongos C57BL6. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 2, p. 1256128, abr. 2009.

SAMPAIO, R. N. R.; MARSDEN, P. D. Tratamento da forma mucosa de leishmaniose sem resposta a glucantime, com anfotericina B liposomal. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, n. 2, p. 1256128, abr. 1997b.

SAMPAIO, R. N. R.; PAULA, C. D. R. DE. Leishmaniose tegumentar americana no Distrito Federal. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 5, p. 5236528, out. 1999.

SAÚDE, M. DA. **Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN)**. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?idb2012/d0204.def>>. Acesso em: 1 ago. 2016.

SAÚDE, F. N. DE; FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. Manual de controle da Leishmaniose tegumentar americana. **Ministério da Saúde**, p. 1662, 2000.

SAVOIA, D. Recent updates and perspectives on leishmaniasis. **Journal of Infection in**

Developing Countries, v. 9, n. 6, p. 5886596, 4 jul. 2015.

SHAW, J. J. Taxonomy of the genus *Leishmania*: present and future trends and their implications. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, n. 3, p. 4716478, 1994.

SILVA, J. C. F. DA. **Leishmaniose tegumentar americana (Ita) nos municípios de Crato, Juazeiro do Norte e Barbalha, Estado do Ceará, Brasil, 2003 ó 2005**. [s.l.] Universidade Federal do Ceará, 2008.

SILVA, N. S. DA; MUNIZ, V. D. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana no Estado do Acre , Amazônia brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 6, p. 13256 1336, 2009.

SILVEIRA, F. T. et al. Immunopathogenic competences of *Leishmania* (V.) *braziliensis* and L. (L.) *amazonensis* in American cutaneous leishmaniasis. **Parasite immunology**, v. 31, n. 8, p. 423631, ago. 2009.

SILVEIRA, F. T.; LAINSON, R.; CORBETT, C. E. Further observations on clinical, histopathological, and immunological features of borderline disseminated cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 5, p. 5256534, ago. 2005.

SKRABA, C. M. et al. Evaluation of the reference value for the Montenegro skin test. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. 4, p. 4376444, 2015.

SOARES, K. A. et al. Field validation of a *Leishmania* (*Leishmania*) *mexicana* exo-antigens ELISA for diagnosing tegumentary leishmaniasis in regions of *Leishmania* (*Viannia*) predominance. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 19, n. 3, p. 3026307, 2015.

SOARES, L.; ABAD-FRANCH, F.; FERRAZ, G. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in central Amazonia: a comparison of sex-biased incidence among rural settlers and field biologists. **Tropical medicine & international health : TM & IH**, v. 19, n. 8, p. 988695, ago. 2014.

SOARES, S. K. P. **Estudo de testes cutâneos de hipersensibilidade tardia à diferentes antígenos nas formas cutânea e mucosa da Leishmaniose tegumentar americana**. [s.l.] Universidade de Brasília, 1999.

SOTO, J. et al. Miltefosine for new world cutaneous leishmaniasis. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 38, n. 9,

p. 1266672, 1 maio 2004.

SUNDAR, S.; CHAKRAVARTY, J. Antimony Toxicity. n. 51, p. 426764277, 2010.

SUNDAR, S.; CHAKRAVARTY, J. An update on pharmacotherapy for leishmaniasis.

Expert opinion on pharmacotherapy, v. 16, n. 2, p. 237652, fev. 2015.

SZARGIKI, R. et al. Comparison of serological and parasitological methods for cutaneous leishmaniasis diagnosis in the state of Paraná, Brazil. **Bjid**, v. 12, n. 1, p. 47652, 2009.

TELES, C. B. G. et al. Epidemiological aspects of American cutaneous leishmaniasis and phlebotomine sandfly population, in the municipality of Monte Negro, State of Rondônia, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 1, p. 60666, jan. 2013.

TUON, F. F.; AMATO NETO, V.; SABBAGA AMATO, V. Leishmania: origin, evolution and future since the Precambrian. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 54, n. 2, 2008.

UL BARI, A. Chronology of cutaneous leishmaniasis: An overview of the history of the disease. **Journal of Pakistan Association of Dermatologists**, v. 16, n. 1, p. 24627, 2006.

VAN GRIENSVEN, J. et al. Treatment of Cutaneous Leishmaniasis Caused by *Leishmania aethiopica*: A Systematic Review. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 3, p. e0004495, mar. 2016.

WHO. Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases. p. 191, 2015.

WHO TECHNICAL REPORT SERIES. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases, Geneva, 22-26 March 2010.

World Health Organization technical report series, v. 949, n. March, p. 202, 2010.

WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control of the leishmaniases. **World Health Organization technical report series**, n. 949, p. 22626, 2010.