

**U.** PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR  
UNIVERSIDADE DO PORTO

*“Co-infecção Leishmaniose/VIH, a Propósito de um Caso  
Clínico”*

Alexandre Rebelo Marques

Dissertação em Mestrado em Medicina

2011/2012

Alexandre Rebelo Marques

“Co-infecção Leishmaniose/VIH, a Propósito de um Caso Clínico”

Dissertação de candidatura ao grau Mestre em  
Medicina submetida ao Instituto de Ciências  
Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto.

*Orientadora – Judit Gándara Fernández*

*Grau Académico – Licenciatura*

*Assistente Hospitalar do Centro Hospitalar do Porto/HSA*

*Co-orientador – Fernando Raphael de Almeida Ferry*

*Grau Académico: Doutorado pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*

*(UFRRJ)*

*Professor Associado II da Escola de Medicina e Cirurgia, Universidade Federal do*

*Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO)*

## LISTA DE ABREVIATURAS

CDC – Centro de Controle de Doenças, Atlanta USA.

HAART – *highly active antirretroviral therapy* (terapia anti-retroviral altamente ativa)

HTLV – Vírus linfotrópico T humano

HUGG - Hospital Universitário Gaffrée e Guinle

LC – Leishmaniose Cutânea

LCD – Leishmaniose Cutânea Disseminada

LCL – Leishmaniose Cutânea Localizada

LDPK – Leishmaniose pós-kala-azar

LDT – Laboratório de Doenças Tropicais

LMC – Leishmaniose Mucocutânea

LV – Leishmaniose Visceral

OMS – Organização Mundial de Saúde

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SK – Sarcoma de Kaposi

SUS – Sistema Nacional de Saúde

TB – Tuberculose

TBP – Tuberculose Pulmonar

TOC – Teste de Cura

UDIV – Usuário de Drogas Intravenosas

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

IM – Intramuscular

IV – Intravenosa

## ÍNDICE

Resumo .....	5
Introdução .....	7
Leishmaniose .....	7
Ciclo de vida .....	9
VIH e SIDA .....	10
Definição e Classificação .....	10
Transmissão .....	11
Co-infecção Leishmaniose/VIH .....	12
Epidemiologia.....	13
Sudoeste Europeu .....	15
Brasil.....	17
Aspetos Clínicos e Diagnóstico .....	20
Diagnóstico Parasitológico .....	20
Diagnóstico Serológico.....	21
Deteção de Antígeno .....	21
Diagnóstico Molecular.....	22
Teste de Cura .....	23
Tratamento e Follow-Up.....	23
Relato de caso (“Case Report”) .....	26
Discussão .....	31
Conclusão .....	33
Bibliografia .....	34

## RESUMO

Leishmaniasis is a poverty-related disease. It affects the poorest of the poor and is associated with malnutrition, displacement, poor housing, illiteracy, gender discrimination, weakness of the immune system and lack of resources. Leishmaniasis is also linked to environmental changes, such as deforestation, building of dams, new irrigation schemes and urbanization, and the accompanying migration of non-immune people to endemic areas.

Until recently, the public health impact of leishmaniasis was grossly underestimated. During the past 10 years, the endemic regions have been spreading and there has been a sharp increase in the number of recorded cases of the disease. In addition, a substantial number of cases are not recorded, as notification of the disease is compulsory in only 32 of the 88 affected countries. An estimated 2 million new cases (1.5 million cases of cutaneous leishmaniasis and 500 000 of visceral leishmaniasis) occur annually, with about 12 million people currently infected.

Despite encouraging news coming from economically developed countries, HIV/AIDS pandemic spread is out of control. The outbreak of HIV/AIDS pandemic during the past 20 years has modified the clinical spectrum of infection by *Leishmania* spp. in co-infected patients at different levels. Visceral leishmaniasis (VL) promotes the development of AIDS defining conditions and clinical progression, as well as diminishes the life expectancy of HIV-infected subjects. On the other hand, HIV infection increases the risk of developing VL by 100-1000 times in endemic areas, reduces the likeliness to therapeutic response and enhances the probability of relapse. Both diseases exert cumulative deficiency of the cellular immune response since both agents damage similar immune resources.

Herein we review the particular aspects of leishmaniasis associated with HIV infection. The purpose is to outline this emerging background as well as to detail the relevant aspects of such co-infections.

The data in this review are mainly from papers identified from PubMed searches and from papers in reference lists of reviewed articles.

In our study, we found that leishmaniasis is one of the most neglected diseases in the world and therefore leishmaniasis co-infection / hiv has gained special attention. Especially in developing countries like Brazil, this co-infection has reached worrying

proportions. In Southern Europe there is a decrease in co-infected patients in all countries except Portugal - by factors not yet explained.

Accordingly, it is crucial to provide and develop specialized services for treating patients infected with HIV and Leishmaniasis in order to strengthen the treatment centers referenced to co-infected patients. It is also extremely important to combat potential reservoirs of both vector and disease.

## INTRODUÇÃO

### LEISHMANIOSE

Os registos iconográficos primariamente conhecidos de leishmaniose cutânea pertencem à cerâmica pré-Inca do Peru e do Equador (400-900 d.C.). Ali, observavam-se as fâcies com narizes mutilados, característicos da leishmaniose mucocutânea (LMC). No Velho Mundo (Ásia, África e Europa) os relatos escritos da doença datam do século I d.C. (1-3).

Apenas mil anos depois, em 1903, o agente da doença foi descrito pela primeira vez e em separado por Leishman e Donovan. Foi identificado um protozoário no tecido esplênico de dois doentes, residentes na Índia, atingidos por uma doença fatal. A doença era a leishmaniose visceral (LV) e o seu agente a espécie agora denominada *Leishmania donovani* (4).

Atualmente sabe-se que a Leishmaniose é uma doença infecciosa, porém não contagiosa de pessoa para pessoa (5). É a doença tropical mais negligenciada do mundo e afeta principalmente os mais pobres, especialmente nos países subdesenvolvidos (5).

Assim, a Leishmaniose é considerada uma “aflição tropical” e, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) e o Laboratório de Doenças Tropicais (LDT), é umas das seis doenças mais importantes do Mundo (4, 6). É endêmica nas zonas tropicais e na bacia mediterrânea, estando disseminada por 88 países em 4 continentes com um total de 12 milhões de infetados, sendo que existem 350 milhões de pessoas em risco (3, 7-9).

As alterações climáticas atuais, nomeadamente, o aumento da temperatura com os invernos menos rigorosos, poderão provocar o aumento da transmissão do parasita, quer ao Homem, quer aos animais, e, concomitantemente, o aumento da incidência da doença (10).

Esta doença caracteriza-se por um vasto espectro de síndromes clínicas causadas pela infeção de protozoários parasitas, intracelulares obrigatórios, do género *Leishmania*, família *Trypanosomatidae*, que têm como reservatório animais, tais como: roedores, cães, lobos, raposas ou mesmo seres humanos (4, 8). Até agora foram identificadas 21 espécies de *Leishmanias* patogénicas para o Homem que são transmitidas por cerca de 30 espécies de vetores – insetos flebotomíneos (4, 11). Deste modo, a Leishmaniose tem tendência a ser endêmica onde se encontram o vetor e os animais que atuam como hospedeiros e reservatórios da doença (10).

São reconhecidas, essencialmente, duas formas de Leishmaniose: a leishmaniose cutânea (LC), capaz de produzir lesões desfigurantes, cicatrizes graves e deficiências sérias; e a leishmaniose visceral (LV), ou kala-azar (“kala-azar”), que é mortal sem tratamento (12). LV é prevalente em 70 países, sendo o seu maior foco no Sul Asiático com cerca de 300.000 casos em 2006 (12). O segundo maior foco de LV fica na África Oriental com aproximadamente 30.000 casos por ano, enquanto o Brasil fica em terceiro lugar com 4.000 casos reportados em 2006. No entanto, existe um alarmante aparecimento de novos focos e aumento da prevalência da LV na África Oriental (13, 14).

A verdadeira incidência da LV é subestimada, uma vez que há falta de sistemas de vigilância e existem frequentemente erros de diagnóstico, devido à “confusão” com a malária, o que provoca falha de tratamento e conseqüente aumento da taxa de letalidade (12, 15).

A LC está presente em 82 países, com uma incidência anual de 1.5 milhões de casos no mundo inteiro (12). Várias formas clínicas são possíveis, dependendo da espécie de *Leishmania* envolvida (12). Assim, podemos ter: leishmaniose cutânea (ou tegumentar) localizada (LCL), que, na maior parte dos casos, cura sem tratamento; leishmaniose cutânea difusa (LCD), com sintomatologia muito semelhante à Lepra e muito difícil de tratar; e por fim, a leishmaniose mucocutânea (LMC), que é a forma mais grave, podendo provocar lesões desfigurantes e mutilações na face (16-18).

A leishmaniose dérmica pós-kala-azar, ou calazar (LDPK), uma forma particular de LV, segundo alguns autores, de LC, segundo outros (3), muitas vezes ocorre após o tratamento aparentemente bem-sucedido da LV. Esta forma de doença requer um tratamento muito prolongado: os pacientes são altamente infecciosos para os flebotomíneos e, portanto, constituem um importante reservatório de infecção (5).

Apesar de existirem muitas características comuns nas Leishmanioses, existem também muitas únicas e específicas para cada síndrome (19). No entanto, uma única espécie de *Leishmania* pode produzir sinais e sintomas característicos de várias síndromes e, do mesmo modo, cada síndrome pode ser causada por várias espécies (19). Assim, a sintomatologia do paciente é resultado dos fatores parasitários (invasão, tropismo e patogenicidade) e das respostas imunes mediadas por células do hospedeiro geneticamente determinadas (19).

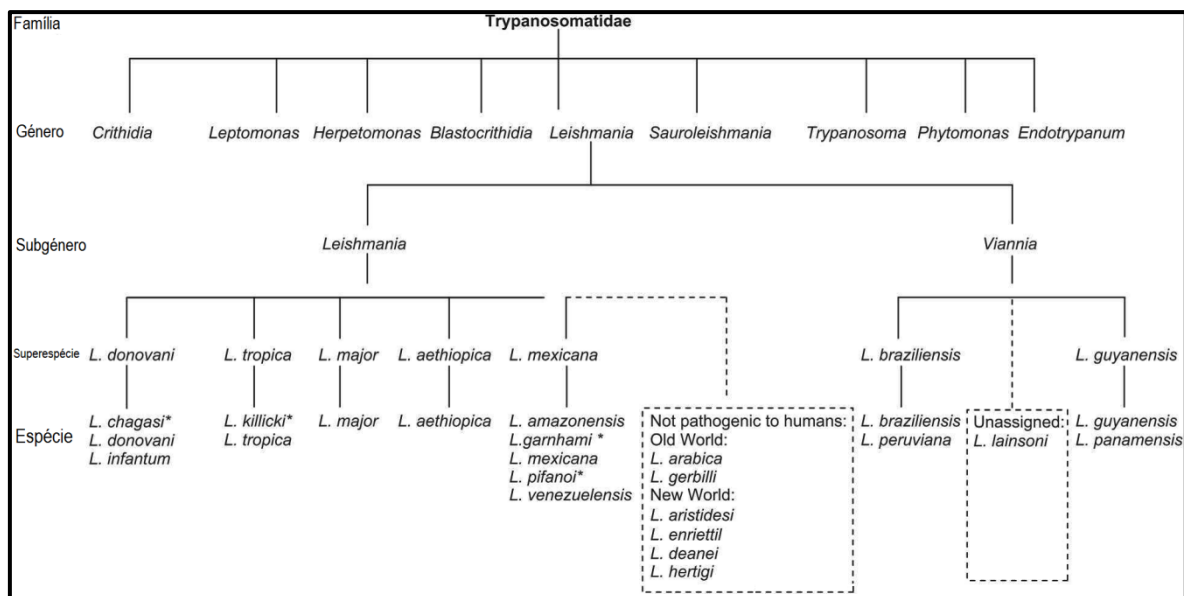


Figura 1 – Taxonomia da *Leishmania* (5). \*Classificação da espécie ainda em discussão. *L. chagasi* no Novo Mundo é a mesma espécie que *L. infantum* (5).

Subgênero	L. ( <i>Leishmania</i> )	L. ( <i>Leishmania</i> )	L. ( <i>Viannia</i> )	L. ( <i>Viannia</i> )
Velho Mundo	L. donovani L. infantum	L. major L. tropica L. killicki <sup>a</sup> L. aethiopica L. infantum		
Novo Mundo	L. infantum	L. infantum L. mexicana L. pifanozil <sup>a</sup> L. venezuelensis L. garnhami <sup>a</sup> L. amazonensis	L. braziliensis L. guyanensis L. panamensis L. shawi L. naiffi L. insoni L. lindenbergi L. peruviana L. colombiensis <sup>b</sup>	L. braziliensis L. panamensis
Principal Tropismo	Visceral	Cutâneo	Cutâneo	Mucocutâneo

Tabela 1- *Leishmania* encontradas em Humanos (5). <sup>a</sup> Classificação da espécie ainda em discussão. <sup>b</sup> Posição taxonômica da espécie ainda em discussão (5).

### Ciclo de vida

Os parasitas *Leishmania* são transmitidos por mosquitos flebotomíneos, que se contaminam com o protozoário ao picar o homem ou outros mamíferos infetados com a doença (20). A principal característica do gênero *Leishmania* é o dimorfismo, isto é, a presença de duas formas evolutivas (19, 20).

O principal alvo dos parasitas são os macrófagos tecidulares. Assim, enquanto o mosquito ingere a sua refeição de sangue, o parasita, na forma flagelada promastigota, é regurgitado e depositado/inoculado na derme do hospedeiro (20). Esta forma promastigota

liga-se aos recetores dos macrófagos, é fagocitada e transforma-se na forma sem flagelo amastigota, dentro do fagolisossoma (20). A forma amastigota, através da divisão binária, multiplica-se rapidamente, levando a lise celular (19). Na corrente sanguínea o parasita infeta novas células, podendo alcançar órgãos do sistema reticuloendotelial, tais como o fígado, baço e medula óssea, onde encontram novos macrófagos, mantendo um ciclo de proliferação celular (19). As formas amastigotas ingeridas pelos flebotomíneos transformam-se de novo em formas infetantes promastigotas (20).

### VIH E SIDA

A síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) é uma doença do sistema imunológico humano causada pelo vírus da imunodeficiência humano (VIH) (21, 22).

Esta foi inicialmente relatada em 1981 quando o Centro para Controlo e Prevenção de Doenças (CDC) dos EUA registou a ocorrência inexplicada de pneumonia por *Pneumocystis jirovecii* (anteriormente *P. carinii*) em cinco homossexuais previamente saudáveis em Los Angeles e Sarcoma de Kaposi (SK) com ou sem *P. jirovecii* em 26 homens homossexuais previamente saudáveis em Nova Iorque e Los Angeles (20, 23).

Desde essa década, a imunodeficiência resultante da infeção do VIH provocou cerca de 22 milhões de mortes no mundo (19, 24). Até Dezembro de 2009, cerca de 34 milhões de pessoas viviam infetadas pelo vírus VIH (25). Em 2010 foram detetados 2.7 milhões de novos casos e registadas 1.8 milhões de mortes associadas ao vírus VIH (25). Hoje a SIDA é considerada uma pandemia (26).

### Definição e Classificação

O VIH é da família *Retroviridae*, ou seja, é um retrovírus – a esta família pertencem também o HTLV-I e HTLV-II (HTLV – vírus linfotrópico T humano). Existem 2 tipos de vírus, o VIH-1 e VIH-2. O VIH-2 prevalece geograficamente na África Ocidental, em países como Cabo Verde ou Guiné-Bissau (27). No entanto, a infeção por este tipo é também alta nos países Europeus que mantêm relações socioeconómicas com os países dessa região, tais como Portugal e França (27). Contudo, o VIH-1 é o principal responsável pela infeção humana.

O atual sistema de classificação do CDC para adultos e adolescentes infetados por VIH categoriza as pessoas com base nas condições clínicas associadas a infeção e na contagem de linfócitos T CD4<sup>+</sup> (20).

O sistema baseia-se em 3 grupos de contagem de linfócitos T CD4<sup>+</sup> e 3 categorias clínicas, sendo representado por uma matriz de 9 categorias mutuamente exclusivas (Tabela 2) (20). Neste sistema, qualquer pessoa com contagem de linfócitos T CD4<sup>+</sup> <200/μL tem SIDA, independentemente dos sintomas ou infecções oportunistas (20) (Tabela 2). Os doentes, após terem tido uma condição categoria B, não podem voltar para a categoria A e o mesmo se passa com a categoria C em relação a B (20).

Categorias células T CD4 <sup>+</sup>	Categorias Clínicas		
	A Assintomático; LGP; Síndrome retroviral aguda;	B Sintomático; Condições não A e não B;	C Doenças definidoras de SIDA;
>500/μL	A1	B1	C1
200-499/μL	A2	B2	C2
<200/μL	A3	B3	C3

Tabela 2 – Classificação da infeção por VIH revista em 1993 (20, 28, 29). LPG, Linfadenopatia generalizada progressiva;

A definição de SIDA é complexa e não foi estabelecida para a prática assistencial dos pacientes, mas para fins de fiscalização. Assim, o médico deve procurar interpretar a doença como um espectro complexo que vai desde a primoinfeção, com ou sem síndrome aguda para a fase assintomática e mais tarde doença avançada (Tabela 3) (20).

<b>Infeção Aguda</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Incubação do VIH; 3 a 6 semanas;</li> <li>• Primeiros sintomas semelhantes a uma gripe: febre e mal estar;</li> </ul>
<b>Assintomática</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Forte interação entre células de defesa e as constantes e rápidas mutações do vírus;</li> <li>• Pode durar muitos anos;</li> </ul>
<b>Sintomática Inicial</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alta redução linfócitos T CD4+ (&lt;200/μL)</li> <li>• Febre, diarreia, sudorese noturna, emagrecimento, etc.</li> </ul>
<b>Doença Avançada</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aparecimento de doenças oportunistas;</li> <li>• SIDA;</li> </ul>

Tabela 3 – Sintomas e fases da infeção por VIH e SIDA (www.aids.gov.br)(20).

### Transmissão

O VIH pode ser transmitido tanto por contato homo como heterossexual, através do sangue e seus derivados, ou por transmissão vertical (intraparto ou no período perinatal

através do leite materno) (20, 22). Na tabela 4 podemos ver uma comparação entre os diferentes métodos de transmissão da doença.

MODO TRANSMISSÃO	CARACTERÍSTICAS PRINCIPAIS
CONTATO SEXUAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Principal forma de contágio no Mundo; EUA e Europa – homossexualidade/bissexualidade masculina; Países Africanos – heterossexualidade;</li> <li>• Transmissão mulher-homem é 8 vezes menor;</li> <li>• Fatores de risco: sexo anal receptivo, maior número de parceiros/as, praticas que lesam mucosa retal/vaginal (ex. ducha retal, DST's, etc.) ; maior carga viral do doente;</li> </ul>
USUÁRIOS DE DROGAS INTRAVENOSAS (UDIV)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Partilha de agulhas, seringas e outros materiais aumenta risco;</li> <li>• Não só a infusão venosa mas também a infusão subcutânea e intramuscular;</li> <li>• Baixa aderência aos cuidados preventivos;</li> </ul>
HEMOTRANSFUÇÃO	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rastreamento obrigatório (anti-VIH-1, anti-VIH-2, sorologia para hepatite B e C, VDRL) e exclusão de qualquer indivíduo pertencente a grupo de risco diminuiu risco de transmissão;</li> <li>• 1:600.000;</li> </ul>
ACIDENTES COM MATERIAL PERFUROCORTEANTE OU AFINS	<ul style="list-style-type: none"> <li>• EUA – 600.000 até 800.000 profissionais sofrem acidentes; Hepatite B e C e VIH são os mais transmitidos;</li> <li>• Baixo risco de contágio por VIH (0,3 – 0,5%), é um risco “moralmente grande” – acontecimento trágico;</li> <li>• Fatores de risco: lesão profunda, presença de sangue visível no material, procedimento que envolva punção venosa profunda do paciente, maior viremia da fonte, entre outros.</li> </ul>
TRANSMISSÃO PERINATAL OU VERTICAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Via Transplacentária ( a partir da 8ª semana); No momento do parto por contacto direto de sangue ou secreção cervico-vaginal materna através da pele, exposição traqueobrônquica ou ingestão por parte do recém-nascido;</li> <li>• Trabalho de parto e o parto - apróx. 65%;</li> <li>• Carga viral materna é o principal fator de risco;</li> </ul>

Tabela 4 – Principais características dos diferentes modos de transmissão do VIH (19, 20, 22, 31).

#### CO-INFEÇÃO LEISHMANIOSE/VIH

A pandemia da co-infecção Leishmaniose/VIH tem modificado a história natural da Leishmaniose como doença (13). A infeção por VIH aumenta o risco de desenvolver LV entre 100 e 1000 vezes, além de reduzir a probabilidade de resposta terapêutica e aumentar consideravelmente o risco de recaída (3, 15, 32). Ao mesmo tempo, a Leishmaniose promove a evolução clínica da infeção por VIH, levando o doente a desenvolver mais rapidamente as condições definidoras de SIDA. Isto é explicado pelo efeito sinérgico, destruidor da resposta imunitária celular, promovido pelas duas doenças, que têm como células-alvo células semelhantes do sistema imunológico (13, 33). Ambos os agentes infetam e multiplicam-se no interior dos macrófagos e podem potencialmente desregular o sistema imunitário. A *Leishmania* pode assim induzir a ativação do VIH latente nas células monocíticas e o VIH, por sua vez, pode induzir o crescimento da *Leishmania* dentro dos macrófagos (34). Apresentações atípicas de Leishmaniose podem também surgir aquando da infeção Leishmaniose/VIH. Existem relatos de atingimento das vísceras com a LC e atingimento da pele com a LV (15).

Até ao início do séc. XXI, a Leishmaniose era considerada na Bacia Mediterrânea uma zoonose, ou seja, uma doença transmitida ao homem a partir de um reservatório

animal (3, 35). A transmissão dava-se classicamente através da picada de um inseto – o vetor. Este inseto, também denominado “mosca de areia”, pertence no Velho Mundo ao género *Phlebotomus* (3, 32, 35-37), no Novo Mundo ao género *Lutzomya* (3).

Neste momento, os utilizadores de drogas intravenosas (UDIV) constituem o principal grupo de risco de co-infecção Leishmaniose/VIH no sudoeste Europeu, constituindo mais de 70% do total de doentes co-infetados (15, 32).

Vários estudos mostraram que esta é uma população de risco privilegiado (35) e provaram a existência de parasitemia por *Leishmania* em dadores de sangue assintomáticos nas zonas endémicas (2, 3). Além disso, foram também detetados parasitas no sangue periférico (38) e na pele (39) de 88% dos doentes imunocomprometidos co-infetados por *Leishmania*/VIH. Achados estes corroborados por xenodiagnóstico (3) – que consiste em fazer um mosquito saudável picar a pele de um indivíduo supostamente infetado e posteriormente analisar o mosquito para despiste de eventual transmissão da infeção. Estes fatos sustentam a hipótese da transmissão parentérica de homem para homem (3).

Deste modo, surgiu então na história da Leishmaniose Mediterrânea uma nova forma de transmissão da doença: a transmissão antroponótica. Esta pode ser natural, pela picada do inseto, ou artificial, por transmissão mecânica através das agulhas e seringas contaminadas (39, 40). Na era atual, a partilha de agulhas e seringas contaminadas com leishmaniose constitui a principal forma de transmissão da doença entre toxicodependentes no sul da Europa (3).

No Brasil, a situação é bem diferente. Os toxicodependentes constituem, até à atualidade, apenas 7% do total de co-infetados (41).

### Epidemiologia

Foram descritos casos de co-infecção Leishmaniose/VIH em 35 países de vários continentes (15, 32), sendo que a maioria deles pertence ao sudoeste Europeu. Isto pode ser explicado pela sobreposição geográfica, cada vez mais frequente, das duas infeções, em parte por disseminação da SIDA às zonas rurais e em parte por urbanização da infeção por *Leishmania* (3, 32).

O primeiro caso descrito de Leishmaniose associada à infeção pelo VIH data de 1985, enquanto os casos de co-infecção começavam a aumentar significativamente no Sul da Europa (12). Em 1994, a Europa começa a monitorar os casos de co-infecção. Contudo, em 1998, a situação torna-se alarmante, de modo que a OMS decide instalar uma nova rede

de vigilância mundial da co-infecção OMS/ONUSIDA, abrangendo 28 instituições, 16 no Sul da Europa (15, 32).

A co-infecção Leishmaniose/VIH é atualmente reportada em 2-12% de todos os casos de LV – proporção que tende a aumentar dramaticamente (15). Em populações selecionadas, como a de Humera, na Etiópia, a proporção de co-infetados é de 15-30% (42). É mundialmente aceite que estas taxas são subestimadas, pelo menos em parte, primeiro, porque a LV ocorre maioritariamente nas populações mais desfavorecidas e segundo, porque a LV não está na lista de infeções oportunistas elaborada pelo Centro de Controle de Doenças (CDC) e por isso raramente é relatado nos sistemas de notificação de SIDA (13, 15). O aumento exponencial do número de casos de co-infecção Leishmania/VIH que se verificou nos últimos anos, principalmente no final da década de 1990, sofreu recentemente modificações (32, 43). A inversão desta tendência deve-se sobretudo à instituição da nova terapêutica HAART (*highly active antiretroviral therapy*) a partir de 1997, período a partir do qual se tornou o tratamento padrão efetivo. No entanto, o acesso a este tratamento é difícil e limitado nos países em desenvolvimento. Adicionalmente, existem ainda muitas questões não resolvidas relacionadas com a conduta dos pacientes co-infetados (12).

Até à data, 90% dos casos de co-infecção, dos 2000 reportados à OMS até 2001, pertencem ao sudoeste Europeu: Espanha, Itália, França e Portugal (44). Contudo, estes números são enganadores, porque uma grande proporção de casos, em muitos países Africanos e Asiáticos, são perdidos, devido à constante falta de diagnóstico e aos fracos sistemas de vigilância e reportagem (15). A maioria das co-infecções do continente Americano vem do Brasil, onde existem bons e eficazes sistemas de vigilância para as duas doenças. O Brasil possui 608.230 pessoas que vivem com VIH (45); os casos de LV aumentaram de 700 casos, em 1980, para 3.500, em 2005 (15). Já a LC aumentou de 4.000 casos, em 1980, para 32.000, em 2005 (15).

Em África, o número de casos vem aumentando dramaticamente em algumas áreas como resultado da agitação social, nomeadamente, a migração massiva e a guerra (15). Na Ásia, as co-infecções são cada vez mais relatadas na Índia – país onde existem muitos problemas relacionados com a alta taxa de resistência aos fármacos utilizados para tratamento da doença (15).

### *Sudoeste Europeu*

A atual rede de vigilância e o registo periódico dos casos de co-infecção mostram-nos os principais países envolvidos, a saber: França, Portugal, Itália e Espanha (46). O maior número de casos vem da Espanha e pode estar relacionado com a reativação de infeções assintomáticas, devido à sobreposição geográfica da leishmaniose e da infeção por VIH. No entanto, também tem sido demonstrado que a maioria das novas infeções adquiridas ocorrem entre utilizadores de drogas intravenosas (11, 70, 186, 187), que partilham seringas, e, nesse aspeto, a Espanha tem 7 vezes mais utilizadores que a média da restante Europa. Porém, a proporção de casos de leishmaniose reativada em pacientes co-infetados assintomáticos e os casos de co-infetados contaminados por seringas ainda não foi estabelecida (12).

Período	Nº de Co-infecções					Referências
	França	Itália	Portugal	Espanha	Total	
Janeiro 1990 – Junho 1998	259	229	117	835	1440	A
Janeiro 1996 – Junho 1998	132	85	88	412	717	B
Janeiro 1990 – Janeiro 2001	318	335	159	1099	1911	C
Janeiro 2001 – Dezembro 2006	29 <sup>a</sup>	42	98	130	299	OMS, info. não publicada

Tabela 5 – Número de co-infecções Leishmaniose/VIH, informação da OMS (12). A –(47); B –(47); C –(32)

<sup>a</sup>Janeiro 2001 – Dezembro 2005

O registo cumulativo dos casos, como mostra a Tabela 5, evidencia um pico de incidência (n= 717) entre janeiro 1996 – junho 1998, o que representa cerca de 50% dos casos registados (n= 1440) entre janeiro 1990 – junho 1998 (47). Até início de 2001, o número cumulativo dos casos registados pela OMS era de 1911, dos quais 57% pertenciam a Espanha (32). Todos os casos registados foram analisados geograficamente, o que mostrou que cerca de 75% dos doentes moravam nas regiões urbanas costeiras, com alta densidade populacional (12). O padrão especial detetado nas regiões litorais vizinhas, tanto no nordeste de Espanha como no sul de França, sugere uma disseminação progressiva dos casos das áreas urbanas para as áreas rurais (32). Um decréscimo bem evidente da incidência da co-infecção pode ser observado no final da década de 90 (48-50), o que pode ser atribuído à utilização como rotina da terapia HAART desde 1997 na maioria das regiões do sul da Europa. Em 1997, foram diagnosticados e registados, nos centros de referência em Madrid, Montpellier e Roma, membros da rede de monitorização da co-

infecção Leishmaniose/VIH, uma média de 35 casos (95% de intervalo de confiança [IC]), (51-54). O número de casos começou a diminuir acentuadamente no período entre 1998-2001, atingindo um platô de baixa incidência por volta de 2006 (média de 12 casos, 95% IC (9, 13, 46, 55-58), excetuando Portugal (59), por razões ainda desconhecidas (12). No entanto, 241 novos casos de infecções primárias foram reportados à OMS, em Espanha (n=95), Portugal (n=64), Itália (n=52) e França (n=30), entre 2001-2006 (12). Outros países, como a Alemanha, Suíça, Reino Unido e Grécia, reportaram casos esporádicos importados (60). Os pacientes co-infetados têm frequentemente vários episódios de LV ativa (12). Mais de 90% destes casos é confirmado, por métodos moleculares, que são recidivas em vez de reinfeções (61). Entre 2001 e 2006, Espanha e Portugal registaram 95 infecções primárias (IP) contra 24 reinfeções (R) – rácio R:IP = 0.36 – e 64 infecções primárias contra 21 reinfeções – rácio R:IP = 0.33 – respetivamente (12, OMS - dados não publicados).

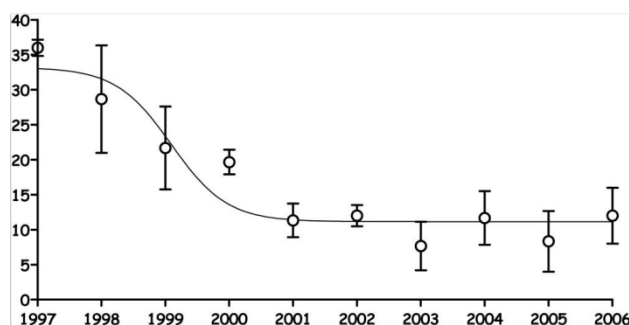


Gráfico 1- Incidência de co-infecção Leishmaniose VIH recolhida nos três centros de referência: França (1997-2005), Portugal e Espanha (1997-2006); Nestes países a terapia HAART foi introduzida como rotina para tratamento do VIH em 1997. Barras – 95% de intervalo de confiança.(12)

Na distribuição dos casos de acordo com o sexo e idade do doente (homens 85%, mulheres 15%, média de idade 38 anos) não houve alterações significativas comparativamente com o período que antecedeu 2001 (12, 15). No entanto, a distribuição pelos grupos de risco sofreu alterações, o que pode refletir a diminuição da infecção pelo VIH nos UDIV (contrastando com o aumento na população heterossexual) no Sul da Europa, em resposta às campanhas educacionais sobre o abuso de drogas intravenosas (12, 15).

Grupo de Risco	1990 – 2000	2001 – 2006
UDIV	72 %	64 %
Heterossexual	13 %	22 %
Homossexual	10 %	9 %

*Tabela 6- Variação da distribuição dos casos de co-infecção pelos grupos de risco (15). Nota: nos dois períodos, os três maiores grupos de risco representam cerca de 95% dos casos.*

A tendência da contagem de células CD4+ nos dois períodos pode ser vista na tabela em baixo (Tabela 7); ela reflete o maior nível de imunidade dos pacientes no período mais recente aquando se apresentam para os cuidados de saúde.

CD4+/mm3	1990 – 2000	2001 – 2006
< 200	789 (92,4%)	113 (88,3%)
200 – 500	59 (6,4%)	13 (10,1%)
> 500	10 (1,2%)	2 (1,6%)

*Tabela 7 – Variação da distribuição dos casos pelos dos valores de CD4<sup>+</sup>, nos dois períodos (15);*

### *Brasil*

Em 2006, a Organização de Saúde Pan-Americana reportou para a região Americana 62.000 casos de LC e 5.000 casos de LV, maioritariamente vindos do Brasil (12). Contudo, ao mesmo tempo, a base de dados do Sistema Nacional de Vigilância no Brasil tinha para o período 2002-2003 um número corretamente estimado de 10.207 casos de LV, o que indica que 40-50% dos casos são subestimados e não registados (12, 15). O número de infeções tanto da LC como da LV cresceu por alguns anos no Brasil; em 2005 foram registados 32.000 (4.75 até 22.94 casos por 100.000 habitantes) e 3.500 (0.96 até 2.66 casos por 100.000 habitantes) de LC e LV respetivamente (12, 15).

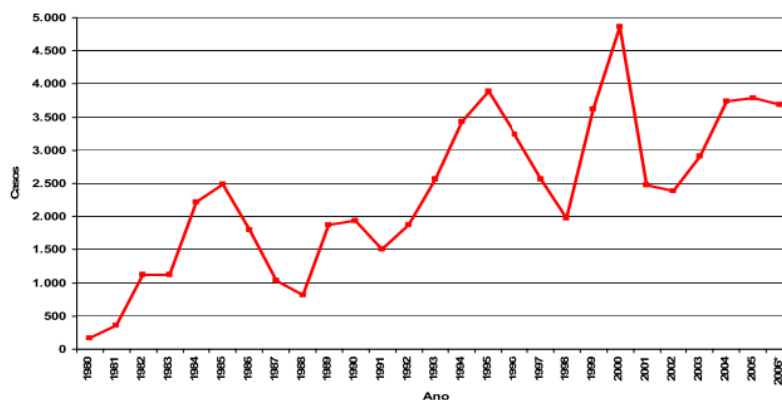


Gráfico 2 – Variação do número de casos de Leishmaniose Visceral no Brasil, período entre 1980-2006 (15).

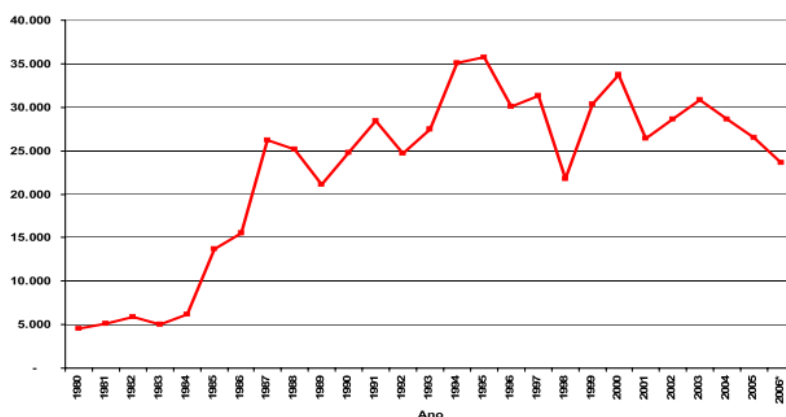


Gráfico 3 – Variação do número de casos de Leishmaniose Cutânea (ou “Tegumentar Americana”) no Brasil, período entre 1980-2006 (15).

A LC é bem distribuída pelo país enquanto a LV é endêmica na região nordeste, contando com cerca de 87% de todos os casos deste tipo de Leishmaniose (12). No entanto, a LV está a expandir-se para a região central, ocidental, norte e sudeste do país e, mais preocupantemente, a expandir-se das zonas rurais para as zonas urbanas, estando já presente em grandes e importantes cidades como o Rio de Janeiro, Belo Horizonte, Santarém, Teresinha, Natal e Fortaleza (62).

O Brasil é o epicentro de epidemia de VIH/SIDA do continente Sul Americano e conta com um terço das pessoas infectadas pelo vírus. O primeiro caso de SIDA foi reportado no Brasil em 1983 e o relatório de 2006 UNAIDS, estima que 620.000 pessoas vivem com o vírus VIH (12). O país enfatiza a prevenção e o tratamento da doença – os serviços de diagnóstico e tratamento da infecção VIH/SIDA são gratuitos no país – o que ajudou a manter a prevalência nacional na população adulta perto de 0.5% desde 2000. As tendências brasileiras nos pacientes com VIH/SIDA são as seguintes: 1) disseminação para locais com menores taxas de urbanização e para as cidades pequenas e médias; 2) aumento da predominância do vírus na faixa de população com níveis baixos de educação; 3)

aumento de SIDA em homens e mulheres heterossexuais; 4) uma marcada diminuição de infeções oportunistas e mortes após a introdução da HAART (15).

Entre 2001 e 2005, foram registados 16.210 casos de LV no Brasil, 315 desses doentes (2%) estavam co-infetados com VIH (63). Dos pacientes co-infetados, 78% eram homens e a média de idade era de 38 anos (86% dos doentes tinha entre 20-49 anos); 56.3% das infeções por VIH foram atribuídas à transmissão heterossexual e 53% e 29% dos casos reportados pertenciam, respetivamente, às regiões nordeste e sudeste (12). Foram encontradas as seguintes formas clínicas nos casos de co-infeção: 43% LMC, 37% LV e 20% LC (41). Estas características clínicas diferem das encontradas no Sul da Europa, onde tipicamente a LV representa 88% das co-infeções (12); 8% dos casos encontrados foram atípicos, uma vez que havia colonização dos intestinos, pulmões ou outro tipo de parasita; 4% de LCD; 0,4% LMC; e uma combinação de LC e LV em 0,3% dos casos (32). Na ausência de HAART, a taxa de fatalidade durante o primeiro tratamento de LV era de aproximadamente 24% (12).

Dos 150.000 casos reportados entre 2001 e 2005, 150 doentes (0.1%) tinham infeção por VIH (63). A LMC é frequentemente observada nos doentes co-infetados no Brasil (43%), uma clínica raramente vista no sudeste da Europa (0.4%) (12).

Em 2002, a rede brasileira de co-infeção Leishmaniose/VIH estabeleceu os objetivos mostrados na tabela seguinte (Tabela 8).

	<b>OBJETIVOS</b>
1	Mapear a distribuição geográfica da coinfeção;
2	Avaliar as características epidemiológicas, clínicas, imunológicas e terapêuticas de cada caso registado;
3	Aumentar e disponibilizar métodos de diagnósticos apropriados para a Leishmaniose;
4	Estabelecer laboratórios de referência para isolamento e caracterização dos parasitas;
5	Desenvolvimento de redes apropriadas para disseminação da informação relevante;
6	Oferecer treino adequado e protocolos apropriados para o sistema de saúde;
7	Ampliar as bases de participação do governo e organizações não-governamentais;
8	Planear e avaliar atividades de intervenção e follow-up para controlo da coinfeção;

Tabela 8 – Objetivos desenvolvidos pelo Governo Brasileiro no combate a co-infeção Leishmaniose/VIH (5).

Os protocolos nacionais para diagnóstico e tratamento de coinfeção Leishmaniose/VIH foram disponibilizados em 2004 pelo Ministério da Saúde Brasileiro.

### Aspetos Clínicos e Diagnóstico

As manifestações clínicas da Leishmaniose em pacientes co-infetados dependem tanto da espécie *Leishmania* que infeta como da resposta imunitária mediada por células do doente (12).

Os estudos sobre a infecção VL-VIH – a mais perigosa combinação – vêm essencialmente do Sul da Europa onde o *L. infantum* é predominante (12). Os estudos fora da Europa são escassos, contudo, existe um aumento muito rápido da incidência da co-infecção (12). As infecções por *Leishmania* podem permanecer assintomáticas, restritas à pele na LCL e LCD, atingir as mucosas na LMC, mas mais comumente tem atingimento sistémico como na LV (12).

Todas as formas de doença, principalmente a LV, tornaram-se doenças infecciosas oportunistas em pacientes imunocomprometidos infetados por VIH (46, 64).

No Sul da Europa, 94% dos doentes com co-infecção Leishmaniose/VIH sofrem de LV e 4% de LC (47). No Brasil, 43% dos co-infetados sofrem de LMC, 37% de LV e 20% de LC (41).

Em pacientes com VIH, o diagnóstico de leishmaniose pode ser difícil, devido à ausência dos principais sintomas e manifestações da doença e à presença de sinais não específicos. Além disso, a esplenomegalia é menos frequente em paciente co-infetados (65) e 42 – 68% desses pacientes têm infecções oportunistas associadas com sintomas semelhantes, o que ainda complica mais o diagnóstico clínico (66).

### *Diagnóstico Parasitológico*

A deteção do parasita “*leishmania*” por microscopia ou cultura nas diferentes amostras de tecido é considerado padrão-ouro ou *gold-standard* no diagnóstico de leishmaniose em pacientes infetados com VIH e poderá ser também uma forma útil de detetar falhas de tratamento (12).

**Microscopia.** O aspirado de medula óssea tem sido a técnica de diagnóstico mais utilizada em pacientes com LV-VIH, apresentando sensibilidades entre 67 – 94% (65, 67-69). A observação de amastigotos em esfregaços de sangue periférico é um método não invasivo que tem uma positividade de 50 – 53% em pacientes co-infetados (70, 71). O aspirado esplénico é considerado o método mais sensível para diagnóstico de LV, contudo o risco de hemorragia não pode ser descartado – 0.1% (12) – e por isso deve ser realizado em locais adequados, com material adequado, e por médicos experientes (72). A

apresentação do parasita em aspirados hepáticos e de nódulos linfáticos é bastante comum em regiões endêmicas e também é utilizado como método de diagnóstico em pacientes co-infetados (42, 73). A aspiração de gânglios linfáticos é menos sensível mas continua a ser utilizada em regiões onde o aumento destes gânglios é comum (pacientes com LV no Sudão, por exemplo) (74, 75). O exame microscópico de biópsias hepáticas mostrou também uma sensibilidade de 87% (67). A presença de amastigotos pode ser vista também em locais menos comuns, como pulmões, laringe, amígdalas, trato digestivo, reto, líquido cefalo-raquidiano, entre outros (40, 46, 76).

**Cultura.** A cultura de aspirado esplênico mostrou alta sensibilidade, de 63 – 100% (65, 77) em pacientes co-infetados. No entanto, devido ao risco de sangramento, o aspirado de medula óssea é recomendado, uma vez que é mais seguro e tem uma sensibilidade semelhante, de 50 – 100% (46, 78). A cultura de células mononucleares de sangue periférico é de 64 – 67% (79, 80).

#### *Diagnóstico Serológico*

Os testes serológicos são métodos simples e não invasivos, porém têm um valor diagnóstico baixo, pois mais de 40% dos pacientes co-infetados não têm níveis de anticorpos detectáveis contra o parasita *Leishmania* (46). De modo a aumentar os níveis de sensibilidade devem ser realizados dois testes serológicos em cada paciente (32). As diferentes sensibilidades de cada método utilizado para diagnóstico serológico, descritas na literatura, são as seguintes: 11 – 67% para a imunofluorescência (81, 82), 76 – 89% para ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay using) (83), 74 – 85% para *immunoblotting* (81-83). Alta sensibilidade (95%) no teste de aglutinação direta foi descrita em pacientes na Etiópia com coinfeção LV/VIH (84).

#### *Deteção de Antígeno*

Numa alta percentagem de pacientes co-infetados podem ser detetados antígenos do *Leishmania* em amostras de urina, através da técnica de aglutinação do latex, com uma sensibilidade de 85.7 – 100% (15). Isto mostra que a presença de antígenos pode ser um marcador de fase ativa, decrescendo após tratamento e tornando-se positivo quando houver recaída (15). No entanto, mais estudos devem ser realizados para confirmação.

## Diagnóstico Molecular

O PCR (*Polymerase chain reaction*) provou ser extremamente útil nos pacientes co-infetados (15). Pode ser utilizado em amostras não invasivas e mostrou uma sensibilidade que vai dos 62 – 100% e 72 – 100% em amostras de sangue periférico e amostras da medula óssea, respetivamente (15). Contudo, necessita de alta tecnologia para ser utilizado, o que não está ao alcance de todos. Esta técnica pode também ser utilizada para identificação do *Leishmania* nos diferentes grupos taxonómicos (espécie, género e família) (15). A utilização em tempo real do PCR (RTQ-PCR) permite a quantificação da carga parasitária em pouco tempo, permitindo a monitorização do paciente e facilitando o follow-up do mesmo (12, 15).

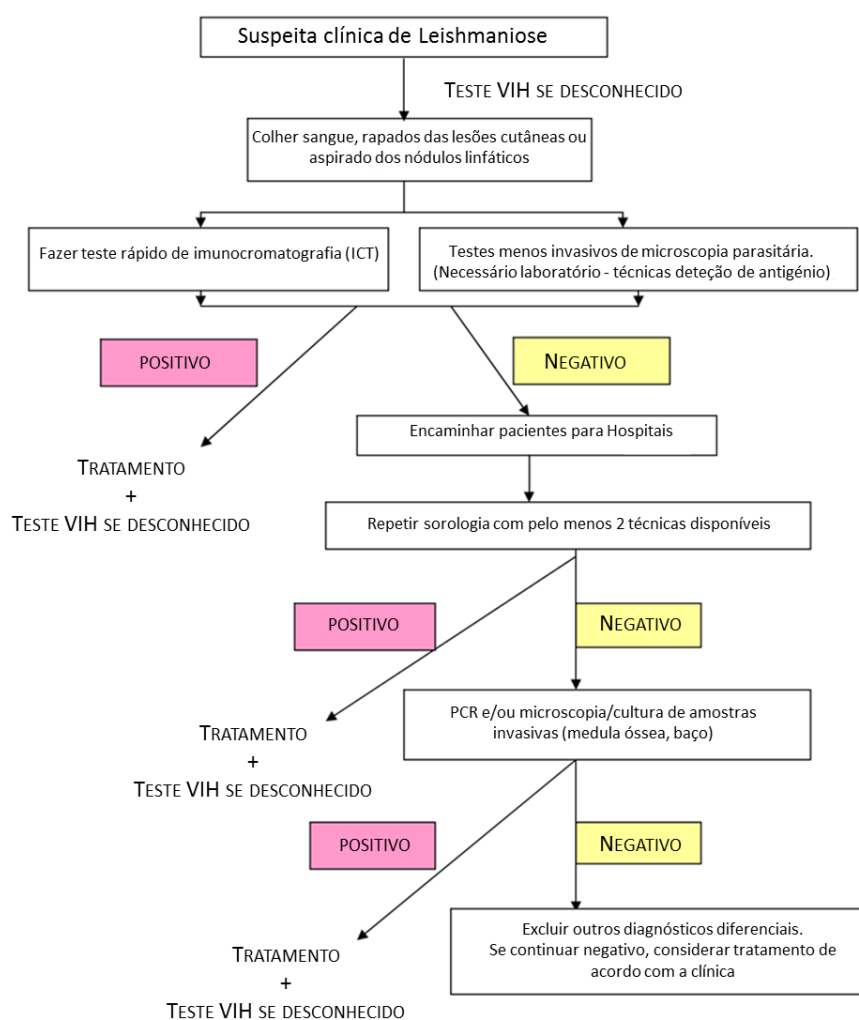


Figura 2 – Algoritmo de diagnóstico (15). Inclusão das instalações de cuidados primários de saúde (15).

### *Teste de Cura*

O teste de cura (TOC) deve ser realizado no final do tratamento, quando não há melhorias relacionadas com o desaparecimento da febre, a redução do baço ou o ganho de peso, ou então, quando se decide parar o tratamento para profilaxia ou recaída (15). Porém, mais pesquisas devem ser realizadas de modo a definir o estado clínico do paciente aquando da cura (15). Os testes de laboratório que determinem a presença ou ausência de parasitas devem ser um preditivo de cura (15).

### *Tratamento e Follow-Up*

O tratamento de pacientes co-infetados é caracterizado por um número reduzido de terapêuticas. Os fármacos são inacessíveis devido ao preço, falta de registo, toxicidade ou ineficácia, ou porque ainda não foram testadas em pacientes (55). Atualmente existem algumas pesquisas analisando a eficácia de alguns esquemas de tratamento em pacientes co-infetados (12). No geral, os pacientes têm baixas taxas de cura, altas taxas de toxicidade pelo fármaco e taxas de fatalidade superiores para a leishmaniose do que para a infeção por VIH (12). Resumindo, a resposta parasitológica do tratamento não indica ausência de novas recaídas no futuro (65, 85, 86), enquanto a melhoria clínica não significa necessariamente a *clearance* parasitológica (77).

Assim, os principais fármacos utilizados são os seguintes:

**Antimoniais Pentavalentes.** Os antimoniais ainda são os fármacos mais utilizados para tratamento de LV, tendo uma taxa de resposta de 85% (15), exceto na região da Índia e Nepal, onde foram registados níveis elevados de resistência (14, 87). Podem ser administrados via IM ou IV com uma dose de 20 mg/kg/dia por 30 dias (15).

Os principais efeitos colaterais são a pancreatite e cardiotoxicidade (prolongamento QT e bloqueio AV) e são mais frequentes em pacientes com *Leishmania*/VIH (15).

**Anfotericina B.** A anfotericina B (AMB) é muito utilizada em casos de falência dos antimoniais pentavalentes. Esta tem sido muito utilizada na Índia, mesmo após 10 anos de uso extensivo, devido à sua eficácia (88). O risco de nefrotoxicidade e hipocalémia necessita hospitalização e de preferência monitorização bioquímica, o que é difícil de obter em países menos desenvolvidos (12). Nos países mais ocidentais, a anfotericina B já foi abandonada em prol de preparações de anfotericina B lipossomal mais eficazes (12). *In vitro*, AMB é mais eficaz que os antimoniais pentavalentes e a sua atividade não depende da resposta imune do paciente (46, 89, 90). Porém, em paciente co-infetados, essa

superioridade não pode ser demonstrada (12). Os níveis de toxicidade dos dois grupos de fármacos mostrou ser semelhante, com a AMB a causar nefrotoxicidade em 18 – 36% dos pacientes (65, 77, 85).

**Miltefosina.** O tratamento com miltefosina tem vindo a ser demonstrado como seguro e eficaz (87, 91). Os efeitos colaterais gastrointestinais são comuns (12). O tempo de semivida da miltefosina é aproximadamente 1 semana, por isso, nas recaídas dos pacientes co-infetados, existe um risco grande de desenvolver resistências (92), como ficou demonstrado *in vitro* (93).

**Pentamidina.** A pentamidina foi essencialmente utilizada para tratar LV na Índia, no entanto a sua utilização foi abandonada, devido aos seus severos efeitos colaterais e fraca eficácia (12). Diabetes *Mellitus* irreversível é uma séria complicação que ocorre em 4 – 12% dos pacientes (88). Após uma década de uso a sua eficácia caiu para <70% (94).

**Sulfato de Paromomicina ou aminosidina.** A paromomicina foi recentemente licenciada para tratamento da Leishmaniose com base na sua alargada fase III de pesquisa, onde mostrou ser tão eficaz como a AMB e muito bem tolerada; os principais efeitos colaterais são a elevação reversível das enzimas hepáticas em aproximadamente 1% dos pacientes e a dor no local da injeção (95). Este fármaco é o mais barato de todos os utilizados para tratar Leishmaniose (12). Contudo, pode ser, facilmente, adquirida resistência (94, 96, 97), como demonstrado *in vitro* (97).

Existe um consenso de que a terapia combinada para tratamento da Leishmaniose deve ser introduzida para minimizar o desenvolvimento de resistências (98, 99). Isto é especialmente verdade para os pacientes co-infetados que, devido a exposição repetida aos fármacos anti-leishmaniose, irão inevitavelmente desenvolver resistências, criando pacientes com LV incurável (100) ou pacientes com Leishmaniose que irão transmitir parasitas com resistências (12).

A infeção por *Leishmania* exacerba a evolução do VIH pois aumenta a replicação viral e diminui o número de linfócitos CD4<sup>+</sup> (12). Na verdade, cerca de metade dos pacientes com co-infeções desenvolvem os critérios de SIDA em aproximadamente 2 meses depois do diagnóstico de LV (12). Além disso, o curso da co-infeção LV/VIH é caracterizado pelo inúmero aparecimento de recaídas, apesar do tratamento correto com anti-leishmanicos (12). A mortalidade nos doentes Europeus durante o primeiro episódio é de 10 a 19% e pode aumentar para 24% no mês seguinte ao fim do tratamento, o que está relacionado com a toxicidade dos fármacos utilizados, as complicações durante o tratamento e as infeções oportunistas concomitantes (12). Após um tratamento inicial

adequado para LV, 25 a 61% dos pacientes vai ter uma recaída entre 6 a 9 meses depois e 79 a 97% vai ter uma recaída durante a sua vida (independentemente do fármaco utilizado para tratamento), com o período entre recaídas a diminuir cada vez mais (65, 77, 78).

Deste modo, o *follow-up* é muito importante nestes doentes. Existem 3 pontos fulcrais a considerar nos doentes com VIH e que recentemente foram diagnosticados e tratados essencialmente para LV (12): (i) necessidade de realizar o teste de cura depois do tratamento e previsão/diagnóstico de recidiva; (ii) início imediato de esquemas terapêuticos eficazes de HAART; (iii) se necessário utilização de profilaxia secundária com anti-leishmanicos como terapia de manutenção (12).

## **RELATO DE CASO (“CASE REPORT”)**

M.C.S.C., sexo feminino, 29 anos, parda, natural de São Benedito – Ceará, ex-lavradora, moradora do Complexo do Alemão, Rio de Janeiro.

Em janeiro de 2004, a paciente, vinda do Ceará, recorre ao Sistema Único de Saúde (SUS) queixando-se de febre alta (não aferida), perda ponderal (não quantificada), sudorese noturna, tosse com secreção de cor amarelada, linfadenomegalia generalizada e dor em hipocôndrio esquerdo. Procurou um Posto de Saúde, onde lhe foi diagnosticada Tuberculose Pulmonar (TBP) e iniciado de imediato o tratamento com rifampicina, isoniazida e pirazinamida.

No último mês do tratamento, em julho de 2004, a paciente retorna ao Posto de Saúde, apresentando lesões puntiformes eritematosas em face, lesões essas não dolorosas e não pruriginosas que estavam associadas a febre, vômitos e diarreia aquosa. Foi realizada sorologia para VIH e terapêutica com sintomáticos. Uma semana após tratamento sintomático, a paciente melhorou da febre, dos vômitos e da diarreia, porém as lesões puntiformes eritematosas persistiam.

De seguida, a paciente iniciou um quadro de cefaléia intensa e incapacitante e, por isso, recorre ao Hospital do Andaraí, onde foi internada para diagnóstico e terapêutica da cefaléia e das lesões em face. Neste período, realizou uma tomografia computadorizada de crânio – que evidenciou lesões cerebrais compatíveis com neurotoxoplasmose, e obteve confirmação da infecção pelo VIH.

Durante o período de internamento, observou-se disseminação das lesões por todo o corpo, havendo até confluência de algumas lesões. Mais tarde, recebeu alta, permanecendo com as lesões dermatológicas e iniciou terapia anti-retroviral com zidovudina, lamivudina e efavirenz.

Em novembro de 2004, a paciente apresenta edema em ambos os pés e tornozelos. Associado a esse quadro ocorreu descamação das lesões, que progressivamente se tornaram papulares e pruriginosas. A principal localização dessas lesões era nos membros inferiores. Mais tarde, as lesões ulceraram, eliminando secreção serosa. Não procurou atendimento médico.

Em março de 2005, a paciente recorre ao Hospital Municipal Salgado Filho, queixando-se de dor intensa e sangramento das lesões cutâneas disseminadas. Foi então

decidida a transferência da paciente para o Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (HUGG) para maior investigação.

No internamento a paciente apresentava lesões descamativas não pruriginosas e dolorosas em toda a superfície corporal (Figura 3, 4).



*Figura 3 – Lesões descamativas não pruriginosas nos membros superiores. Foto cedida pelo Professor Doutor Fernando Ferry.*



*Figura 4 – Lesões descamativas não pruriginosas em face. Foto cedida pelo Professor Doutor Fernando Ferry.*

No entanto, nos membros inferiores as lesões eram ulceradas, de bordas elevadas, com fundo eritematoso e sanguinolento (Figura 5, 6).



*Figura 5 – Lesão ulcerada, com bordas elevadas, fundo eritematoso e sanguinolento em membro inferior. Foto cedida pelo Professor Doutor Fernando Ferry.*



*Figura 6 – Lesão ulcerada, com bordas elevadas, fundo eritematoso e sanguinolento em membro inferior. Foto cedida pelo Professor Doutor Fernando Ferry.*

Para avaliar o comprometimento da mucosa nasal foi realizada uma videolaringoscopia, que não mostrou nenhuma alteração, e uma endoscopia nasal, que identificou o acometimento da mucosa nasal com obstrução bilateral, quadro sugestivo de lesão infiltrativa. A paciente estava em uso da terapia anti-retroviral e a fazer profilaxia secundária para toxoplasmose com sulfadiazina, pirimetamina e ácido fólico.

A contagem de células T CD4<sup>+</sup> era de 51/ml, enquanto que a contagem de células T CD8<sup>+</sup> era de 133/ml. O hemograma mostrou uma anemia importante, com hematócrito de 22,6 %, e uma hemoglobina de 7,5 g/dl. Foi pedida e realizada biópsia das lesões para realização do exame histopatológico e cultura.

No terceiro dia de internamento, o quadro clínico da paciente piorou. A paciente apresentou episódios de dor intensa e sangramentos importantes das lesões, principalmente dos membros inferiores e do tronco. Foi então iniciado itraconazol, 300 mg/dia, e oxacilina, 2 g/dia, enquanto aguardava resultado da biópsia.

No dia seguinte chegaram os resultados dos exames pedidos. O histopatológico revelou inúmeros corpúsculos intracitoplasmáticos (Figura – 7), compatível com um quadro de Leishmaniose; e a cultura identificou a *Leishmania braziliensis* como o agente causador da infecção.

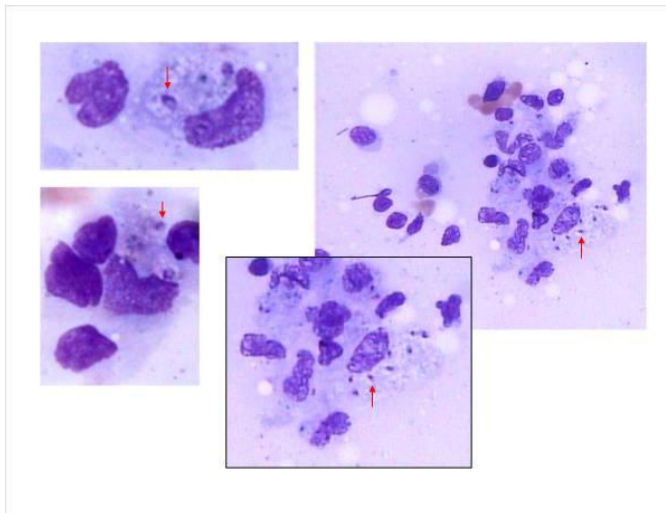
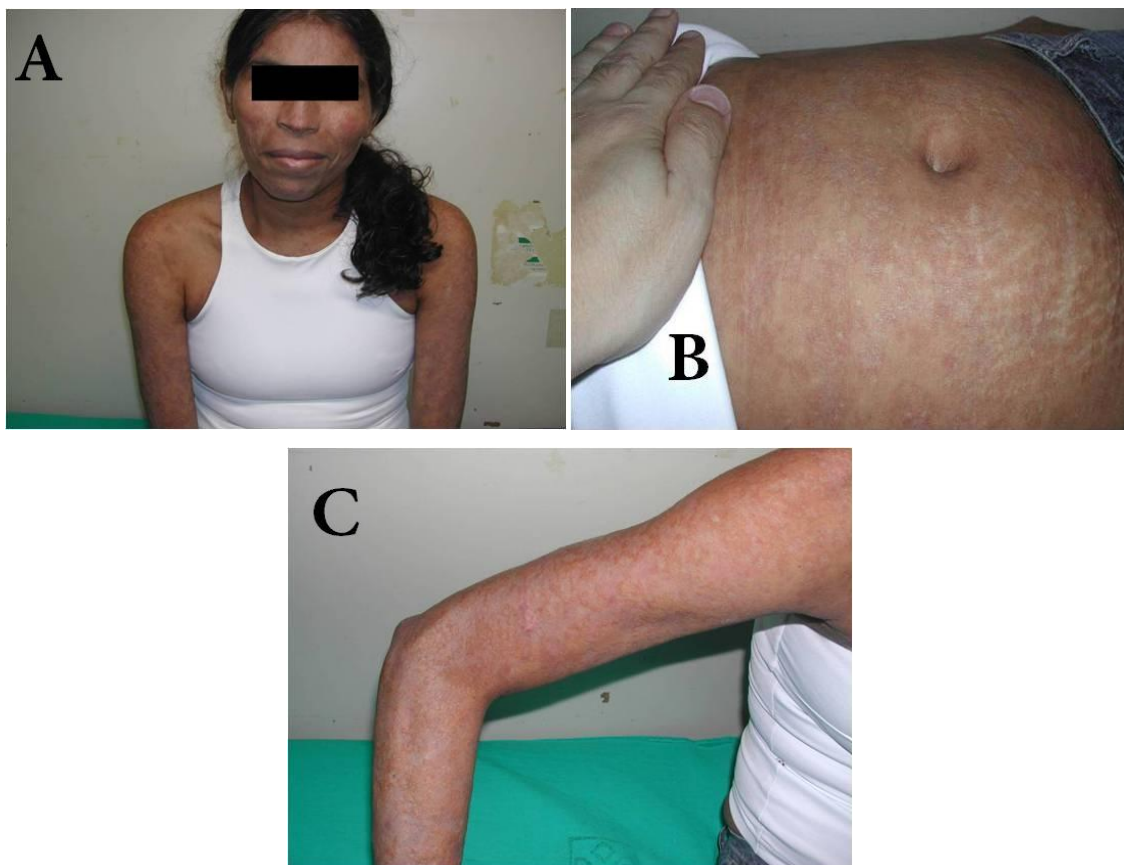


Figura 7 – Inúmeros corpúsculos intracitoplasmáticos (setas vermelhas) identificados no exame histopatológico. Foto cedida pelo Professor Doutor Fernando Ferry.

No quinto dia de internamento, foi iniciado tratamento específico com antimoniatto de N-metil glucamina (glucantime) na dose de 20 mg de antimônio pentavalente (Sb) /kg/dia, cuja dose diária foi de 945 mg de Sb, dapsona 100 mg por dia e metadona 10 mg, 3 vezes por dia, para alívio da dor. Com uma semana de terapia foram perceptíveis as melhoras das lesões cutâneas e a diminuição da secreção serosa. Apesar da evolução favorável das lesões, a sintomatologia algica continuou intensa, incomodando a paciente. A terapia específica estendeu-se por 20 dias, durante a qual apresentou boa resposta clínica e nenhum efeito adverso relacionado com o tratamento. Observou-se melhoria dos índices hematológicos com aumento da hemoglobina, 12 g/dl, e do hematócrito, 34,3%.

No vigésimo sexto dia de internamento, apresentando melhoria clínica e laboratorial, com melhoria significativa das lesões cutâneas (Figura – 8) e diminuição importante da dor, a paciente recebeu alta hospitalar, permanecendo apenas em acompanhamento ambulatorial.



*Figura 8 – Melhoria das lesões corporais visíveis em face (A), abdômen (B) e membro superior (C). Fotos cedidas pelo Professor Doutor Fernando Ferry.*

Até à data, dezembro de 2011, a paciente não apresentou clínica sugestiva de recidiva.

## DISCUSSÃO

A co-infecção Leishmaniose/VIH foi descrita recentemente na literatura, apresentando peculiaridades no que se refere ao comportamento clínico e imunológico dos doentes. Esta é considerada um problema emergente em vários países. No Brasil, assim como em diversos países, o número de casos de co-infecção está a crescer, no entanto, o subdiagnóstico permanece como um problema com importantes implicações clínicas e epidemiológicas.

Apesar da rede de vigilância criada pela OMS, o número de casos continua a ser subestimado, já que a detecção é passiva e a vigilância médica inadequada (4).

No Brasil, a leishmaniose estende-se por vastas áreas das regiões Norte, Nordeste, Sudeste e Centro Oeste. Apesar da ampla expansão da doença nos últimos anos, poucos casos têm sido descritos associados a SIDA.

Relatamos o caso de uma paciente proveniente do nordeste brasileiro, região com maior incidência de leishmaniose (4), que trabalhava como lavradora. Apesar da grande maioria dos casos ocorrer no sexo masculino, descrevemos a co-infecção em uma mulher de 29 anos com grave imunodepressão provocada pelo VIH. A paciente possuía infecção prévia por VIH, assim como descrito em 36% dos casos relatados no Brasil (12).

A resposta ao tratamento com antimoniato pentavalente foi boa, não apresentando recidiva, enquanto acompanhada por 3 meses após o seu internamento. Apesar de muitos relatos de aumento da resistência a esta droga na literatura, a paciente apresentou evolução favorável.

Em países onde a leishmaniose é endêmica, esta tem-se apresentado como doença oportunista em indivíduos infetados pelo VIH. Por esse motivo, diversos autores sugerem que a leishmaniose seja incluída como indicativa de SIDA nessas regiões. Outro aspeto interessante é que diversas espécies de *Leishmania* podem causar doença em pacientes com SIDA, incluindo espécies flageladas, parasitas de animais inferiores, nunca antes descritas no homem; além disso, cepas predominantemente dermatóricas podem “visceralizar” em pacientes imunocomprometidos pelo VIH (40, 46).

Clinicamente os casos de leishmaniose associados à SIDA podem demonstrar aspetos inusitados, desde lesões extensas e destrutivas características até ao ganho de peso inadequado, como descrito por *Silva e col.* (101). As lesões cutâneas disseminadas

predominantemente descamativas, como as lesões apresentadas pela paciente, constituem uma apresentação atípica da co-infecção (5).

A primeira hipótese diagnóstica pensada foi de “farmacodermia”, pois a paciente estava em tratamento por um longo período aquando do início do quadro. O diagnóstico é por vezes difícil, uma vez que, no Brasil, a leishmaniose é raramente diagnosticada em doentes com SIDA; do mesmo modo, lesões ulceradas e infiltrativas disseminadas, em pele, mucosas e hepatoesplenomegalia febril são, em indivíduos VIH positivos, comumente devidas a outras doenças oportunistas. Diversos diagnósticos diferenciais devem ser aventados, pois a suspeita diagnóstica é dificultada pela apresentação atípica do quadro.

A co-infecção leishmaniose/VIH deve ser diferenciada de formas que apresentem numerosas lesões em pacientes sem imunodepressão como a LCD e LDPK. A LCD caracteriza-se por apresentar mais de dez lesões, ter fraca resposta ao tratamento clássico e apresentar como manifestações principais pequenas pápulas e lesões acneiformes. Geralmente 3 dias a 8 semanas após a lesão inicial ocorre a disseminação, surgindo entre 10 a 800 lesões secundárias (102, 103). A LDPK manifesta-se por lesões cutâneas, mais proeminentes na face, que se podem desenvolver durante, ou alguns meses após, o tratamento do Calazar, podendo acometer concomitantemente as vísceras (11).

Embora não possamos afastar a possibilidade de que o caso de leishmaniose aqui descrito tenha decorrido de uma primoinfeção que se disseminou devido à imunossupressão induzida pelo VIH, provavelmente é uma recidiva de uma infeção ocorrida no passado. A reativação ocorre mais comumente quando a contagem de células T CD4<sup>+</sup> cai abaixo de 200 células/mm<sup>3</sup>, à semelhança do que ocorre com outras infeções oportunistas na SIDA (40, 104). Até 90% dos casos possuem menos de 200 células T CD4<sup>+</sup> e, neste caso, a nossa paciente possuía uma contagem de linfócitos T CD4<sup>+</sup> de 51 células.

A mortalidade destes doentes, mesmo adequadamente tratados, é elevada, como já citado. Portanto, é importante a atenção dos médicos e outros profissionais de saúde, particularmente daqueles que trabalham nas regiões endémicas de leishmaniose, para a ocorrência de casos de co-infecção, uma vez que nos próximos anos é possível que haja um aumento progressivo do número de casos desta associação.

O relato deste caso alerta para a diversidade clínica da Leishmaniose em pacientes imunocomprometidos com SIDA. Apesar de esta associação ser pouco descrita,

provavelmente mais casos serão relatados, apresentando importantes consequências socioeconómicas.

## **CONCLUSÃO**

A Leishmaniose é uma das doenças mais negligenciadas do mundo e por isso a co-infecção Leishmaniose/VIH tem ganho atenção especial nos últimos anos. Por diversos fatores vistos anteriormente e, essencialmente nos países em desenvolvimento, como o Brasil, esta co-infecção tem atingido proporções preocupantes.

Como foi visto, no Sul da Europa, existe uma importante diminuição de pacientes co-infetados em todos os países, exceto em Portugal – facto que ainda não foi explicado. Já no Brasil, a urbanização da leishmaniose tem aumentado gravemente o número de pacientes co-infetados, pois a taxa de infeção de VIH é também bastante alta e tende a aumentar.

Os testes utilizados para diagnóstico dependem muito das condições do local onde são feitos, da qualidade do hospital e da disponibilidade de centros de referência. O aspirado de baço está restrito aos hospitais ou locais onde haja equipamento adequado e pessoal treinado para lidar apropriadamente com as possíveis complicações.

Deste modo, é crucial desenvolver e estabelecer serviços especializados para tratamento de pacientes infetados com VIH e Leishmaniose, de modo a fortalecer os centros de tratamento referenciados para pacientes co-infetados com Leishmaniose/VIH. Também de extrema importância é o combate aos potenciais reservatórios tanto do vetor – o mosquito, como da doença.

## BIBLIOGRAFIA

1. Grevelink SA, Lerner EA. Leishmaniasis. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1996;34(2 Pt 1):257-72. Epub 1996/02/01.
2. Choi CM, Lerner EA. Leishmaniasis as an emerging infection. *The journal of investigative dermatology Symposium proceedings / the Society for Investigative Dermatology, Inc [and] European Society for Dermatological Research*. 2001;6(3):175-82. Epub 2002/04/02.
3. Goreti Catorze M. Leishmaniose e SIDA. *Med Cutan Iber Lat Am*. 2005:237-50.
4. Herwaldt BL. Leishmaniasis. *Lancet*. 1999;354(9185):1191-9. Epub 1999/10/08.
5. WHO. Control of the leishmaniasis: Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. World Health Organization, Geneva 2010.
6. Desjeux P. Worldwide increasing risk factors for leishmaniasis. *Medical microbiology and immunology*. 2001;190(1-2):77-9. Epub 2002/01/05.
7. Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*. 2004;27(5):305-18. Epub 2004/07/01.
8. Singh S. New developments in diagnosis of leishmaniasis. *The Indian journal of medical research*. 2006;123(3):311-30. Epub 2006/06/17.
9. Alvar J, Yactayo S, Bern C. Leishmaniasis and poverty. *Trends in parasitology*. 2006;22(12):552-7. Epub 2006/10/07.
10. ONLeish – Observatório Nacional da Leishmaniose. 2008 [cited 2010]; Available from: <http://www.onleish.org/>.
11. Singh S, Sivakumar R. Recent advances in the diagnosis of leishmaniasis. *Journal of postgraduate medicine*. 2003;49(1):55-60. Epub 2003/07/17.
12. Alvar J, Aparicio P, Aseffa A, Den Boer M, Canavate C, Dedet JP, et al. The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. *Clinical microbiology reviews*. 2008;21(2):334-59, table of contents. Epub 2008/04/11.
13. Alvar J, Bashaye S, Argaw D, Cruz I, Aparicio P, Kassa A, et al. Kala-azar outbreak in Libo Kemkem, Ethiopia: epidemiologic and parasitologic assessment. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2007;77(2):275-82. Epub 2007/08/11.
14. Ritmeijer K, Davidson RN. Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene joint meeting with Medecins Sans Frontieres at Manson House, London, 20 March 2003: field research in humanitarian medical programmes. *Medecins Sans Frontieres interventions*

against kala-azar in the Sudan, 1989-2003. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2003;97(6):609-13. Epub 2005/09/02.

15. WHO. Report of the Fifth Consultative Meeting on Leishmania/HIV Coinfection. World Health Organization, Addis Ababa, Ethiopia 2007.

16. WHO/UNAIDS. Leishmaniasis and HIV in gridlock. *WHO/CTD/LEISH/989*. 1998:1-28.

17. WHO. Leishmaniasis. World Health Organization: 2000.

18. Reithinger R, Dujardin JC, Louzir H, Pirmez C, Alexander B, Brooker S. Cutaneous leishmaniasis. *The Lancet infectious diseases*. 2007;7(9):581-96. Epub 2007/08/24.

19. Mandell GL, Bennett, J. E, Dolin, Raphael;. Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases. Seventh Edition ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone; 2010.

20. Braunwald E, Longo, Dan L., Jameson, J. Larry., Fauci, Anthony S., Hauser, Stephen L., Kasper, Dennis L.,. Harrison Medicina Interna: Artmed; 2009.

21. Sepkowitz KA. AIDS--the first 20 years. *The New England journal of medicine*. 2001;344(23):1764-72. Epub 2001/06/09.

22. Goldman L, Ausiello, D.:. Cecil - Tratado de Medicina Interna. 23º Edição ed: Elsevier; 2009.

23. Gottlieb MS. Pneumocystis pneumonia--Los Angeles. 1981. *American journal of public health*. 2006;96(6):980-1; discussion 2-3. Epub 2006/05/23.

24. Ezzati M, Lopez AD, Rodgers A, Vander Hoorn S, Murray CJ. Selected major risk factors and global and regional burden of disease. *Lancet*. 2002;360(9343):1347-60. Epub 2002/11/09.

25. WHO/UNAIDS. World AIDS Day Report. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). 2011.

26. Kallings LO. The first postmodern pandemic: 25 years of HIV/ AIDS. *Journal of internal medicine*. 2008;263(3):218-43. Epub 2008/01/22.

27. Valadas E, Franca L, Sousa S, Antunes F. 20 years of HIV-2 infection in Portugal: trends and changes in epidemiology. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2009;48(8):1166-7. Epub 2009/03/19.

28. CDC revises AIDS case definition. *Clinical pharmacy*. 1993;12(4):254. Epub 1993/04/01.

29. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMWR Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report Recommendations and reports / Centers for Disease Control*. 1992;41(RR-17):1-19. Epub 1992/12/18.
30. From the Centers for Disease Control and prevention. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 1993;269(4):460. Epub 1993/01/27.
31. Anton P, Herold BC. HIV transmission: time for translational studies to bridge the gap. *Science translational medicine*. 2011;3(77):77ps11. Epub 2011/04/08.
32. Desjeux P, Alvar J. Leishmania/HIV co-infections: epidemiology in Europe. *Annals of tropical medicine and parasitology*. 2003;97 Suppl 1:3-15. Epub 2003/12/18.
33. Olivier M, Badaro R, Medrano FJ, Moreno J. The pathogenesis of Leishmania/HIV co-infection: cellular and immunological mechanisms. *Annals of tropical medicine and parasitology*. 2003;97 Suppl 1:79-98. Epub 2003/12/18.
34. Wolday D, Berhe N, Akuffo H, Britton S. Leishmania-HIV interaction: immunopathogenic mechanisms. *Parasitol Today*. 1999;15(5):182-7. Epub 1999/05/14.
35. Campino L. Leishmanioses em Portugal : características emergentes da epidemiologia e do diagnóstico. *Inst. de Higiene e Medicina Tropical: Univ. Nova de Lisboa*; 1998.
36. Vabres P, Marty P, Kauffmann-Lacroix C, Larregue M. [Imported cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* confirmed with immunoassay]. *Annales de dermatologie et de venerologie*. 2001;128(10 Pt 1):1047-50. Epub 2002/03/23. Leishmaniose cutanee autochtone due a *Leishmania infantum* confirmee par immunoempreinte.
37. Campino L, Abranches P. Leishmaniose cutânea. Uma doença rara em Portugal? *Acta medica portuguesa*. 2002;15(5):387-90. Epub 2003/03/21. Leishmaniose cutanea. Uma doença rara em Portugal?
38. Dedet JP, Pratlong F. Leishmaniasis. In: Cook GC, Zumla A, editors. *Manson's Tropical Diseases*. 22<sup>a</sup> ed. ed. London: Saunders Elsevier; 2008.
39. Molina R, Gradoni L, Alvar J. HIV and the transmission of *Leishmania*. *Annals of tropical medicine and parasitology*. 2003;97 Suppl 1:29-45. Epub 2003/12/18.
40. Rosenthal E, Marty P, del Giudice P, Pradier C, Ceppi C, Gastaut JA, et al. HIV and *Leishmania* coinfection: a review of 91 cases with focus on atypical locations of

Leishmania. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2000;31(4):1093-5. Epub 2000/10/26.

41. Rabello A, Orsini M, Disch J. Leishmania/HIV co-infection in Brazil: an appraisal. *Annals of tropical medicine and parasitology*. 2003;97 Suppl 1:17-28. Epub 2003/12/18.
42. Lyons S, Veeken H, Long J. Visceral leishmaniasis and HIV in Tigray, Ethiopia. *Tropical medicine & international health : TM & IH*. 2003;8(8):733-9. Epub 2003/07/19.
43. Desjeux P. *Leishmania/HIV co-infection: the European experience*. Geneva: World Health Organization (WHO); 2004.
44. Desjeux P. Global control and Leishmania HIV co-infection. *Clinics in dermatology*. 1999;17(3):317-25. Epub 1999/06/29.
45. Boletim Epidemiológico - [www.aids.gov.br](http://www.aids.gov.br). 2011.
46. Alvar J, Canavate C, Gutierrez-Solar B, Jimenez M, Laguna F, Lopez-Velez R, et al. Leishmania and human immunodeficiency virus coinfection: the first 10 years. *Clinical microbiology reviews*. 1997;10(2):298-319. Epub 1997/04/01.
47. WHO. *Leishmania/HIV co-infection in south-western Europe 1990-1998: Retrospective analysis of 965 cases*. World Health Organization, Geneva, Switzerland.: 2000.
48. del Giudice P, Mary-Krause M, Pradier C, Grabar S, Dellamonica P, Marty P, et al. Impact of highly active antiretroviral therapy on the incidence of visceral leishmaniasis in a French cohort of patients infected with human immunodeficiency virus. *The Journal of infectious diseases*. 2002;186(9):1366-70. Epub 2002/10/29.
49. Lopez-Velez R. The impact of highly active antiretroviral therapy (HAART) on visceral leishmaniasis in Spanish patients who are co-infected with HIV. *Annals of tropical medicine and parasitology*. 2003;97 Suppl 1:143-7. Epub 2003/12/18.
50. Russo R, Nigro L, Panarello G, Montineri A. Clinical survey of Leishmania/HIV co-infection in Catania, Italy: the impact of highly active antiretroviral therapy (HAART). *Annals of tropical medicine and parasitology*. 2003;97 Suppl 1:149-55. Epub 2003/12/18.
51. Bern C, Chowdhury R. The epidemiology of visceral leishmaniasis in Bangladesh: prospects for improved control. *The Indian journal of medical research*. 2006;123(3):275-88. Epub 2006/06/17.
52. Bernier R, Barbeau B, Tremblay MJ, Olivier M. The lipophosphoglycan of *Leishmania donovani* up-regulates HIV-1 transcription in T cells through the nuclear factor-kappaB elements. *J Immunol*. 1998;160(6):2881-8. Epub 1998/03/24.

53. Berry A, Abraham B, Dereure J, Pinzani V, Bastien P, Reynes J. Two case reports of symptomatic visceral leishmaniasis in AIDS patients concomitant with immune reconstitution due to antiretroviral therapy. *Scandinavian journal of infectious diseases*. 2004;36(3):225-7. Epub 2004/05/04.
54. Bittencourt A, Silva N, Straatmann A, Nunes VL, Follador I, Badaro R. Post-kala-azar dermal leishmaniasis associated with AIDS. *The Brazilian journal of infectious diseases : an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*. 2002;6(6):313-6. Epub 2003/02/15.
55. Alvar J, Croft S, Olliaro P. Chemotherapy in the treatment and control of leishmaniasis. *Advances in parasitology*. 2006;61:223-74. Epub 2006/06/01.
56. Alvar J, Gutierrez-Solar B, Molina R, Lopez-Velez R, Garcia-Camacho A, Martinez P, et al. Prevalence of Leishmania infection among AIDS patients. *Lancet*. 1992;339(8806):1427. Epub 1992/06/06.
57. Amato VS, Nicodemo AC, Amato JG, Boulos M, Neto VA. Mucocutaneous leishmaniasis associated with HIV infection treated successfully with liposomal amphotericin B (AmBisome). *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2000;46(2):341-2. Epub 2000/08/10.
58. Andrade-Narvaez FJ, Medina-Peralta S, Vargas-Gonzalez A, Canto-Lara SB, Estrada-Parra S. The histopathology of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Leishmania) mexicana* in the Yucatan peninsula, Mexico. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 2005;47(4):191-4. Epub 2005/09/03.
59. Campino L, Maia, C. Epidemiologia das Leishmanioses em Portugal. *Acta medica portuguesa*. 2010;23(5):859-64.
60. Albrecht H, Sobottka I, Emminger C, Jablonowski H, Just G, Stoehr A, et al. Visceral leishmaniasis emerging as an important opportunistic infection in HIV-infected persons living in areas nonendemic for *Leishmania donovani*. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 1996;120(2):189-98. Epub 1996/02/01.
61. Morales MA, Cruz I, Rubio JM, Chicharro C, Canavate C, Laguna F, et al. Relapses versus reinfections in patients coinfecting with *Leishmania infantum* and human immunodeficiency virus type 1. *The Journal of infectious diseases*. 2002;185(10):1533-7. Epub 2002/05/07.
62. Ministério da Saúde Brasileiro. Manual de Recomendações para Diagnóstico, Tratamento e Acompanhamento da Co-infecção *Leishmania-HIV* / Manual of recommendations to the diagnosis, treatment and accompaniment of the *Leishmania-HIV*

coinfection. Brasília - DF: Brasília; Ministério da Saúde; jan. 2004. 74 p. ilus, tab. (A. Normas e Manuais Técnicos(Manuais - PNDST/Aids; n.49, 49); 2004.

63. Maia-Elkhoury AN, Alves WA, Sousa-Gomes ML, Sena JM, Luna EA. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. *Cadernos de saude publica / Ministerio da Saude, Fundacao Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saude Publica.* 2008;24(12):2941-7. Epub 2008/12/17.

64. Paredes R, Munoz J, Diaz I, Domingo P, Gurgui M, Clotet B. Leishmaniasis in HIV infection. *Journal of postgraduate medicine.* 2003;49(1):39-49. Epub 2003/07/17.

65. Pintado V, Martin-Rabadan P, Rivera ML, Moreno S, Bouza E. Visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non-HIV-infected patients. A comparative study. *Medicine.* 2001;80(1):54-73. Epub 2001/02/24.

66. Russo R, Laguna F, Lopez-Velez R, Medrano FJ, Rosenthal E, Cacopardo B, et al. Visceral leishmaniasis in those infected with HIV: clinical aspects and other opportunistic infections. *Annals of tropical medicine and parasitology.* 2003;97 Suppl 1:99-105. Epub 2003/12/18.

67. Montalban C, Calleja JL, Erice A, Laguna F, Clotet B, Podzamczar D, et al. Visceral leishmaniasis in patients infected with human immunodeficiency virus. Co-operative Group for the Study of Leishmaniasis in AIDS. *The Journal of infection.* 1990;21(3):261-70. Epub 1990/11/01.

68. Rosenthal E, Marty P, Poizot-Martin I, Reynes J, Pratlong F, Lafeuillade A, et al. Visceral leishmaniasis and HIV-1 co-infection in southern France. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 1995;89(2):159-62. Epub 1995/03/01.

69. Altes J, Salas A, Riera M, Udina M, Galmes A, Balanzat J, et al. Visceral leishmaniasis: another HIV-associated opportunistic infection? Report of eight cases and review of the literature. *AIDS.* 1991;5(2):201-7. Epub 1991/02/01.

70. Martinez P, de la Vega E, Laguna F, Soriano V, Puente S, Moreno V, et al. Diagnosis of visceral leishmaniasis in HIV-infected individuals using peripheral blood smears. *AIDS.* 1993;7(2):227-30. Epub 1993/02/01.

71. Medrano FJ, Jimenez-Mejias E, Calderon E, Regordan C, Leal M. An easy and quick method for the diagnosis of visceral leishmaniasis in HIV-1-infected individuals. *AIDS.* 1993;7(10):1399. Epub 1993/10/01.

72. Kager PA, Rees PH. Splenic aspiration. Review of the literature. *Tropical and geographical medicine.* 1983;35(2):111-24. Epub 1983/06/01.

73. Berhe N, Hailu A, Wolday D, Negesse Y, Cenini P, Frommel D. Ethiopian visceral leishmaniasis patients co-infected with human immunodeficiency virus. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 1995;89(2):205-7. Epub 1995/03/01.
74. Zijlstra EE, Ali MS, el-Hassan AM, el-Toum IA, Satti M, Ghalib HW, et al. Kala-azar: a comparative study of parasitological methods and the direct agglutination test in diagnosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 1992;86(5):505-7. Epub 1992/09/01.
75. Babiker ZO, Davidson R, Mazinda C, Kipngetich S, Ritmeijer K. Utility of lymph node aspiration in the diagnosis of visceral leishmaniasis in Sudan. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2007;76(4):689-93. Epub 2007/04/12.
76. Nigro L, Montineri A, La Rosa R, Zuccarello M, Iacobello C, Vinci C, et al. Visceral leishmaniasis and HIV co-infection: a rare case of pulmonary and oral localization. *Le infezioni in medicina : rivista periodica di eziologia, epidemiologia, diagnostica, clinica e terapia delle patologie infettive*. 2003;11(2):93-6. Epub 2004/03/17.
77. Lopez-Velez R, Perez-Molina JA, Guerrero A, Baquero F, Villarrubia J, Escribano L, et al. Clinicoepidemiologic characteristics, prognostic factors, and survival analysis of patients coinfecting with human immunodeficiency virus and *Leishmania* in an area of Madrid, Spain. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 1998;58(4):436-43. Epub 1998/05/09.
78. Pintado V, Lopez-Velez R. HIV-associated visceral leishmaniasis. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2001;7(6):291-300. Epub 2001/07/10.
79. Mathis A, Deplazes P. PCR and in vitro cultivation for detection of *Leishmania* spp. in diagnostic samples from humans and dogs. *Journal of clinical microbiology*. 1995;33(5):1145-9. Epub 1995/05/01.
80. Lopez-Velez R, Laguna F, Alvar J, Perez-Molina JA, Molina R, Martinez P, et al. Parasitic culture of buffy coat for diagnosis of visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus-infected patients. *Journal of clinical microbiology*. 1995;33(4):937-9. Epub 1995/04/01.
81. Medrano FJ, Canavate C, Leal M, Rey C, Lissen E, Alvar J. The role of serology in the diagnosis and prognosis of visceral leishmaniasis in patients coinfecting with human immunodeficiency virus type-1. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 1998;59(1):155-62. Epub 1998/07/31.

82. Moreno J, Canavate C, Chamizo C, Laguna F, Alvar J. HIV--Leishmania infantum co-infection: humoral and cellular immune responses to the parasite after chemotherapy. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2000;94(3):328-32. Epub 2000/09/07.
83. Deniau M, Canavate C, Faraut-Gambarelli F, Marty P. The biological diagnosis of leishmaniasis in HIV-infected patients. *Annals of tropical medicine and parasitology*. 2003;97 Suppl 1:115-33. Epub 2003/12/18.
84. Hailu A, Berhe N. The performance of direct agglutination tests (DAT) in the diagnosis of visceral leishmaniasis among Ethiopian patients with HIV co-infection. *Annals of tropical medicine and parasitology*. 2002;96(1):25-30. Epub 2002/05/07.
85. Laguna F, Lopez-Velez R, Pulido F, Salas A, Torre-Cisneros J, Torres E, et al. Treatment of visceral leishmaniasis in HIV-infected patients: a randomized trial comparing meglumine antimoniate with amphotericin B. Spanish HIV-Leishmania Study Group. *AIDS*. 1999;13(9):1063-9. Epub 1999/07/09.
86. Laguna F, Videla S, Jimenez-Mejias ME, Sirera G, Torre-Cisneros J, Ribera E, et al. Amphotericin B lipid complex versus meglumine antimoniate in the treatment of visceral leishmaniasis in patients infected with HIV: a randomized pilot study. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2003;52(3):464-8. Epub 2003/07/31.
87. Sundar S, More DK, Singh MK, Singh VP, Sharma S, Makharia A, et al. Failure of pentavalent antimony in visceral leishmaniasis in India: report from the center of the Indian epidemic. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2000;31(4):1104-7. Epub 2000/10/26.
88. Olliaro PL, Guerin PJ, Gerstl S, Haaskjold AA, Rottingen JA, Sundar S. Treatment options for visceral leishmaniasis: a systematic review of clinical studies done in India, 1980-2004. *The Lancet infectious diseases*. 2005;5(12):763-74. Epub 2005/11/29.
89. Escobar P, Yardley V, Croft SL. Activities of hexadecylphosphocholine (miltefosine), AmBisome, and sodium stibogluconate (Pentostam) against *Leishmania donovani* in immunodeficient scid mice. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2001;45(6):1872-5. Epub 2001/05/17.
90. Preiser W, Cacopardo B, Nigro L, Braner J, Nunnari A, Doerr HW, et al. Immunological findings in HIV-Leishmania coinfection. *Intervirology*. 1996;39(4):285-8. Epub 1996/01/01.
91. Sundar S, Makharia A, More DK, Agrawal G, Voss A, Fischer C, et al. Short-course of oral miltefosine for treatment of visceral leishmaniasis. *Clinical infectious*

- diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2000;31(4):1110-3. Epub 2000/10/26.
92. Berman J, Bryceson AD, Croft S, Engel J, Gutteridge W, Karbwang J, et al. Miltefosine: issues to be addressed in the future. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2006;100 Suppl 1:S41-4. Epub 2006/06/06.
93. Seifert K, Matu S, Javier Perez-Victoria F, Castanys S, Gamarro F, Croft SL. Characterisation of *Leishmania donovani* promastigotes resistant to hexadecylphosphocholine (miltefosine). *International journal of antimicrobial agents*. 2003;22(4):380-7. Epub 2003/10/03.
94. Croft SL, Sundar S, Fairlamb AH. Drug resistance in leishmaniasis. *Clinical microbiology reviews*. 2006;19(1):111-26. Epub 2006/01/19.
95. Sundar S, Jha TK, Thakur CP, Sinha PK, Bhattacharya SK. Injectable paromomycin for Visceral leishmaniasis in India. *The New England journal of medicine*. 2007;356(25):2571-81. Epub 2007/06/22.
96. Fong D, Chan MM, Rodriguez R, Gately LJ, Berman JD, Grogl M. Paromomycin resistance in *Leishmania tropica*: lack of correlation with mutation in the small subunit ribosomal RNA gene. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 1994;51(6):758-66. Epub 1994/12/01.
97. Maarouf M, Adeline MT, Solignac M, Vautrin D, Robert-Gero M. Development and characterization of paromomycin-resistant *Leishmania donovani* promastigotes. *Parasite*. 1998;5(2):167-73. Epub 1998/10/01.
98. Bryceson A. A policy for leishmaniasis with respect to the prevention and control of drug resistance. *Tropical medicine & international health : TM & IH*. 2001;6(11):928-34. Epub 2001/11/13.
99. Guerin PJ, Olliaro P, Sundar S, Boelaert M, Croft SL, Desjeux P, et al. Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. *The Lancet infectious diseases*. 2002;2(8):494-501. Epub 2002/08/02.
100. Molina R, Lohse JM, Pulido F, Laguna F, Lopez-Velez R, Alvar J. Infection of sand flies by humans coinfecting with *Leishmania infantum* and human immunodeficiency virus. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 1999;60(1):51-3. Epub 1999/02/13.
101. Silva ES, Pacheco RS, Gontijo CM, Carvalho IR, Brazil RP. Visceral leishmaniasis caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis* in a patient infected with human

immunodeficiency virus. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 2002;44(3):145-9. Epub 2002/08/07.

102. Turetz ML, Machado PR, Ko AI, Alves F, Bittencourt A, Almeida RP, et al. Disseminated leishmaniasis: a new and emerging form of leishmaniasis observed in northeastern Brazil. *The Journal of infectious diseases*. 2002;186(12):1829-34. Epub 2002/11/26.

103. Couppie P, Clyti E, Sainte-Marie D, Dedet JP, Carme B, Pradinaud R. Disseminated cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania guyanensis*: case of a patient with 425 lesions. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2004;71(5):558-60. Epub 2004/12/01.

104. Ferreira MS, Borges AS. Some aspects of protozoan infections in immunocompromised patients- a review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2002;97(4):443-57. Epub 2002/07/16.