

VSP
ANA. LUIZA DE SOUZA RIOS

- CALAZAR -

- Estudo do mielograma antes e após o tratamento -

Trabalho apresentado como
requisito final ao Curso
de Especialização em Hema-
tologia e Hemoterapia.
Convênio MEC/BID III/UPC

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FORTALEZA - CEARÁ

1986

Sinceros agradecimentos aos orientadores. Dra. Maria da Silva Pitombeira e Dr. José Murilo Martins, incansáveis na árdua batalha de bem ensinar.

Um muito obrigado ao Dr. Roberto Cláudio Frota Bezerra, pelo auxílio, atenção e capacidade.

A Norma Carvalho Linhares, o meu obrigado pela colaboração bibliográfica.

A minha dedicação e carinho
aos queridos, Rios, Rafael Igor e Ale
xandre, que souberam entender a minha
ausência durante a realização do curso

ÍNDICE

	pag.
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	2
3. RESULTADOS	3
4. DISCUSSÃO	10
5. CONCLUSÕES	12
6. SUMMARY	13
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

CALAZAR

- ESTUDO DO MIELOGRAMA ANTES E APÓS O TRATAMENTO*-

Ana Luiza de Souza Rios**

Foram analisados do ponto de vista citomorfológico 35 médulas ósseas de pacientes com calazar, antes e após tratamento num período de tempo de 20 dias a 3 meses.

Para análise estatística dos resultados em relação ao tratamento, dividimos os pacientes em 2 grupos.

Grupo 1 - pacientes com até 14 anos de idade.

Grupo 2 - pacientes com mais de 14 anos de idade.

Os achados foram comparados com dados da literatura.

1. INTRODUÇÃO

Leishmaniose visceral ou calazar se constitui uma zoonose metaxênica transmitida pelo díptero criptozóico, Phlebotomus longipalpis, e cujo agente etiológico é a Leishmania donovani, (1-5-6-8-15-20).

Em 1903, a leishmaniose visceral foi descrita na Inglaterra e Índia por Leishmann e Donovan, respectivamente, (29).

O primeiro observador que diagnosticou o calazar pela punção medular foi BANERJI (1922), (22).

* Trabalho apresentado como requisito final ao Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia. Convênio MEC/BIDIII UFC.

** Farmaceutica bioquímica, do Setor de Hematologia do Laboratório Central do Hospital Universitário Professor Walter Cantídio, UFC.

No Brasil, foi Penna, quem descreveu em 1934, os primeiros achados de *Leishmania donovanni* em fragmentos de fígado. E em 1936, Evandro Chagas comprovou e descreveu "in vivo" o 1º caso brasileiro de calazar (9).

A doença é encontrada com relativa frequência na China, Índia, Grécia, Sul da Itália, França, Espanha e norte e Sul da África (23-29-30).

No Brasil, os maiores focos estão localizados na Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Ceará, Piauí e Pará (2-4-29).

É conhecido que o calazar é acompanhado de marcadas alterações hematológicas, principalmente no sangue periférico e medula óssea (7-12-13-19).

Por ser a medula óssea o local onde mais facilmente se encontra o parasito, em torno de 95% dos casos de calazar apresentam positividade no mielograma.

O presente trabalho se propõe a estudar a medula óssea de pacientes com calazar, antes e após a terapêutica, e analisar as alterações citomorfológicas ocorridas nesse período (15-22-24), bem como a observar a regressão dessas alterações.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionadas, considerando as boas condições técnicas para leitura, lâminas de medula óssea de 35 pacientes com calazar, antes e após o tratamento. O material estava arquivado no setor de Hematologia do Laboratório Central do Hospital Universitário Professor Walter Candídio, no período de 1967 a 1984.

A punção havia sido realizada por aspiração esternal, ao nível do 2º espaço intercostal e os esfregaços foram corados pelo May-Grunwald Giemsa.

O estudo citomorfológico da celularidade, em microscópio óptico, constou da avaliação e contagem diferencial, sobre elementos nucleados, obedecendo a ficha anexa.

Não foram consideradas informações como, cor, sexo, procedência, ou dados clínicos. No prontuário do paciente obtivemos informações sobre idade e data do início e fim do tratamento.

Foram separados então 2 grupos etários:

1. Com idade igual ou menor de 14 anos
2. Com mais de 14 anos.

Nos dois grupos foram feitas leituras da médula óssea uma antes e outra após tratamento.

Para avaliação estatística das alterações citológicas quantitativas observadas, foi usado o teste "t para dados emparelhados" com o nível de significância de 0,05, (27).

3. RESULTADOS

O mielograma realizado antes do tratamento, em 35 pacientes portadores de calazar, mostrou inicialmente, a presença de leishmânias em todos os casos. Na avaliação da celularidade observamos, antes do tratamento - médula óssea hipercelular em 13 casos (37,2%), normocelular, em 7 casos (20,0%) e hipocelular em 15 casos (42,8%).

O material obtido após o tratamento variou de 20 dias a 3 meses; classificamos 20 casos (57,1%) como hipercelular, 11 casos (31,4%) como normocelular e 4 casos (11,5%) como hipocelular (tabela I).

Dos 13 pacientes com mielograma inicial hipercelular, 9 (69,2%) deles continuaram hipercelulares após o tratamento e 4 (30,7%) mostraram normocelularidade, as médulas ósseas inicialmente normocelulares 3 (43%) permaneceram como tal e 4 (57%) foram classificadas como hipercelulares; dos 15 casos hipocelulares antes do tratamento apenas 3 (20%) continuaram hipocelulares, 5 (33,3%) passaram a normocelulares e 7 (46,6%) foram consideradas hipercelulares.

Os 35 pacientes foram divididos em 2 grupos de acordo com a idade:

Grupo 1 - 22 pacientes com idade igual ou menor de 14 anos.

Grupo 2 - 13 pacientes com idade maior que 14 anos.

Na tabela II estão expressos os resultados das leituras do grupo 1, antes e após o tratamento, na tabela III expressamos os resultados das leituras do grupo 2, antes e após o tratamento.

A análise estatística através do teste t para dados emparelhados, mostram significância no grupo 1, para a série branca nos neutrófilos, eosinófilos, linfócitos, plasmócitos e na série vermelha para os eritroblastos ortocromáticos (tabela IV).

TABELA I - AVALIAÇÃO DA CELULARIDADE DOS MIELOGRAMAS.

RELAÇÃO PACIENTE CELULARIDADE DA MÉDULA ÓSSEA	ANTES	DEPOIS
NORMOCELULAR	07(20%)	11(31,4%)
HIPERCELULAR	13(37%)	20(57,1%)
HIPOCELULAR	15(42,8%)	04(11,4%)
TOTAL	35(100%)	35(100%)

ura das 1ª e 2ª punções dos pacientes com idade > 14 anos - grupo 2.

V2	V3		V4		V5		V6		V7		V8		V9		V10		V11		V12		V13		V14		V15		V16		V17		V18		V19		V20		V21		V22					
	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D	A		
1,8	0,4	1,2	6,8	12,2	12,8	21,2	20,0	26,0	12,2	8,0	2,2	1,6	0,8	0,0	0,6	0,4	3,0	1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,2	6,4	0,2	0,0	1,6	1,0	0,0	0,0	0,2	0,2	1,0	0,2	5,6	4,6	21,0	13,8	0,0	0,0	0,0	0,0	
1,0	8,4	3,4	9,2	10,2	17,2	15,4	23,6	29,0	7,2	8,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	6,6	6,2	0,0	0,0	4,4	2,4	0,0	0,0	0,8	0,6	1,4	1,4	4,6	7,0	13,2	14,2	0,4	0,6	0,0	0,4	
3,4	0,4	7,4	3,8	11,4	1,4	14,0	1,6	20,0	0,6	6,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	13,4	6,0	0,0	0,0	7,4	1,4	0,0	0,0	1,4	2,0	4,0	1,2	26,0	12,2	31,2	13,0	0,4	0,6	0,0	0,2	
4,2	1,8	4,0	6,0	7,8	6,2	9,8	9,6	15,2	1,2	1,4	0,4	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	6,0	0,0	0,0	0,2	2,0	0,6	0,0	1,2	1,8	3,0	2,0	21,0	11,4	31,4	24,0	0,6	0,2	0,8	0,6	
4,6	0,0	0,2	7,6	5,2	13,0	9,0	11,4	19,4	0,8	5,0	0,0	1,2	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,2	9,6	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	2,0	0,8	2,0	0,8	15,4	6,8	30,2	30,0	0,0	0,2	0,2	0,8	
6,2	0,8	4,2	5,6	6,6	7,8	12,0	12,8	18,0	7,4	9,8	0,4	6,4	0,0	2,6	0,0	2,4	0,6	3,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,6	4,8	0,4	0,0	0,4	0,2	0,2	0,2	1,6	0,8	1,6	1,0	12,0	10,0	36,4	14,0	0,0	0,2	0,2	0,6	
17,6	4,6	0,4	9,2	13,0	19,6	13,0	18,2	20,8	2,2	10,4	1,4	1,2	0,2	1,2	0,0	1,8	0,2	1,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,8	5,2	0,0	0,0	1,0	0,4	0,4	0,6	1,0	2,0	1,0	1,4	14,0	15,0	16,8	18,2	0,0	0,0	0,0	0,8	0,6
3,4	3,0	1,8	7,6	10,0	13,2	20,0	19,6	20,0	2,4	8,8	0,0	1,2	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,2	3,2	0,0	0,0	3,6	1,0	0,2	0,8	1,2	2,2	2,4	2,8	34,0	20,0	23,0	13,0	0,8	0,2	1,0	0,0	
5,8	5,4	4,4	11,4	7,6	16,0	14,0	16,6	18,4	2,4	14,4	0,0	5,4	0,0	1,2	0,0	0,0	0,0	3,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	7,6	5,8	0,0	0,0	1,4	0,2	0,0	0,0	1,8	0,4	1,8	0,4	16,0	9,6	14,2	7,6	0,0	0,6	0,4	1,0	
1,4	0,2	2,6	0,4	6,4	1,8	6,0	3,6	6,2	18,2	40,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	2,0	1,8	2,6	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	4,6	0,2	0,0	0,4	0,8	0,8	1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,8	68,4	33,0	0,3	0,1	0,1	0,1	
0,4	3,0	0,2	3,0	1,4	8,0	3,2	10,0	6,8	35,6	24,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,2	3,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	3,6	0,0	0,0	0,2	0,2	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	26,4	57,0	0,2	0,3	0,0	0,0		
0,8	1,4	0,0	6,6	0,0	12,0	0,0	14,4	3,6	18,0	54,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	3,2	0,0	0,0	0,6	0,6	0,8	0,4	1,0	0,0	0,0	0,0	0,2	46,0	30,0	0,2	0,1	0,0	0,1		
5,4	3,0	2,0	9,2	5,6	16,4	8,6	11,2	17,2	8,6	3,0	0,8	4,0	0,2	0,4	0,0	0,4	1,4	3,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	19,6	6,2	0,0	0,4	1,8	0,4	0,0	0,0	0,6	1,0	2,6	1,0	10,0	14,4	18,2	0,4	0,4	0,2	0,0		

TABELA IV

Síntese dos resultados do teste "t" para dados emparelhados aplicado à situação antes do tratamento(1ª punção) e depois do tratamento(2ª punção) em pacientes com até 14 anos

Parâmetros Hematológicos	Grupo 1 (n = 22) Teste "t"
Nº de células jovens	t = 1,18
Promielócitos neutrófilos	t = 1,42
Mielócitos neutrófilos	t = 0,10
Metamielócitos neutrófilos	t = 1,12
Bastões neutrófilos	t = 3,49*
Segmentados neutrófilos	t = 3,64*
Mielócitos eosinófilos	t = 2,24*
Metamielócitos eosinófilos	t = 2,69*
Bastões eosinófilos	t = 3,52*
Segmentados eosinófilos	t = 2,68*
Mielócitos basófilos	t = 0,57
Segmentados basófilos	t = 1,00
Linfócitos	t = 2,09*
Monócitos	t = 0,00
Plasmócitos	t = 3,78*
Megacariócitos	t = 2,05
Proeritroblastos	t = 0,18
Eritroblastos basófilos	t = 0,80
Eritroblastos policromatófilos	t = 1,93
Eritroblastos ortocromáticos	t = 4,12*
Mitoses série vermelha	t = 1,21
Mitoses série branca	t = 1,91

* Significativo ao nível $\alpha = 0.05$

TABELA V

Idem para pacientes com mais de 14 anos

Paramêtros Hematolôgicos	Grupo 2 (n=13)
Nº de células jovens	t = 0,96
Promielócitos neutrófilos	t = 0,19
Mielócitos neutrófilos	t = 1,72
Metamielócitos neutrófilos	t = 1,00
Bastões neutrófilos	t = 3,66 *
Segmentados neutrófilos	t = 1,78
Mielócitos eosinófilos	t = 2,14
Metamielócitos eosinófilos	t = 1,53
Bastões eosinófilos	t = 1,86
Segmentados eosinófilos	t = 2,15
Mielócitos basófilos	t = -1,24
Segmentados basófilos	(+)
Linfócitos	t = -0,52
Monócitos	t = 0,22
Plasmócitos	t = -1,97
Megacariócitos	t = 1,17
Proeritroblastos	t = 0,07
Eritroblastos basófilos	t = -1,39
Eritroblastos policromatófilos	t = 0,07
Eritroblastos ortocromáticos	t = -1,51
Mitoses série vermelha	t = -0,18
Mitoses série branca	t = 0,46

(+) Todas as observações foram iguais a zero

* Significativo ao nível $\alpha = 0,05$

No grupo 2, sō foi observado significância para o tipo celular bastonetes neutrófilos (tabela V).

4. DISCUSSÃO

Série branca - A avaliação da riqueza celular é menos precisa quando o material é obtido por punção medular e não por biópsia óssea.

Pitombeira e Martins em 1975, estudando o cariótipo em Medula óssea de pacientes com calazar mostraram em 14 casos tendência à hipoplasia medular com redução do índice mitótico (16).

Rodrigues da Silva e Haley Pacheco, referem em 11 casos de calazar, aspecto hipercelular da medula óssea em 5 e hipocelular em 4. Após tratamento em 6 casos, o material medular se mostrou hipercelular em 5 casos e normocelular em 1 (25).

Jamra, em 1961, se refere a um paciente que apresentou aplasia medular, sem recuperação, chegando à morte (16,14).

Cartwright e colaboradores consideram a medula óssea característica do calazar como hiperplasia (7).

Bogliolo, em 1934, acha que a causa da aplasia medular estaria na exaustão do S.R.H. (22).

Rachmilewitz e colaboradores, apresentam um caso estudado em que a medula óssea se apresentou hiperplasiada (22 - 26).

No nosso estudo realizado em aspirado de medula óssea, encontramos, antes do tratamento, 13 casos (37,2%) hipercelulares, 7 casos (20,0%) normocelulares e 15 casos (42,8%) hipocelulares.

Após o tratamento, no período de 20 dias a 3 meses, a repetição do exame mostrou, 20 casos (57,1%) de hipercelulares, 11 casos (31,4%) normocelulares e 4 casos (11,5%) hipocelulares (tabela 1).

Embora se trate de uma avaliação relativa, podemos dizer que houve uma recuperação da celularidade medular com o tratamento, mesmo considerando o intervalo de tempo, não muito longo, de 0 a 3 meses.

Em relação a série mielóide, Rodrigues da Silva e Haley Pacheco, em 11 casos sem considerar a idade, encontraram

raros segmentados e a eosinopoiese extremamente hipoplásica na maioria dos casos. Após o tratamento, em 6 pacientes, estavam altamente hiperplásicas, com certo bloqueio de maturação e a eosinopoiese encontrava-se melhor representada (25-31).

Amaury Coutinho e Abelson Lira, referem-se a evidente hipoplasia a partir das formas mais imaturas, atingindo todas as fases da evolução (10).

Guerschenowitsch e Titoff (1934) referiram leucopenia medular.

Zia e Forkner (1934) em 4 casos, verificou a existência de poucos mielócitos, leucócitos maduros e raros eosinófilos. Cartwright e colaboradores encontraram linfócitos em número normal (22).

No nosso trabalho, observamos neutrófilos diminuídos antes da medicação específica, havendo uma recuperação significativa estatisticamente comprovada no grupo de idade abaixo de 14 anos, sugerindo uma recuperação mais rápida nos pacientes mais jovens.

Rodrigues da Silva e Haley Pacheco encontraram uma média de 3,3% de linfócitos considerada limite inferior do normal, e nos mesmos casos pós terapêutica não houve alterações dignas de nota (25).

Rachmilewitz e colaboradores, em 1 paciente encontraram um número muito baixo de linfócitos.

No nosso estudo, observamos linfopenia medular corrigida pelo tratamento, com significancia ao nível 0,05 no grupo I.

A hiperplasia plasmocitária tem sido referida por vários autores (Haley, Casal e Charvolin) (22-25).

A análise dos nossos dados mostram aumento do número de plasmócitos com normalização após o tratamento, em nível significativo estatístico $t = -3,78^*$, também no grupo I.

Amaury Coutinho e Abelson Lira, observaram um certo transtorno na maturação megacariocítica, com predomínio das formas imaturas, redução da trombocitogênese, refletindo-se com pobreza de trombócitos nos esfregaços medulares (10).

Rodrigues da Silva e Haley Pacheco na sua casuística observaram, megacariócitos presentes, às vezes abundantes, mas com atividade trombocitopoiética, na quase totalidade, nula. Assinalaram os autores que houve aumento dos megaca -

trifócitos, embora persistissem muitos não plaquetários (25).

Cartwright e colaboradores consideram o número ^{de} megacariócitos na medula óssea muito variável, com poucos plaquetários (22).

As modificações quantitativas dos megacariócitos nos nossos pacientes não mostraram significância estatística em relação ao tratamento, nos 2 grupos estudados.

Série eritróide - Rodrigues da Silva e Haley Pacheco, mostraram em 20 pacientes, 19 casos com eritropoiese normoblástica e 1 caso com eritropoiese megaloblástica. Não foi possível, apreciar aspectos de distúrbios de maturação da eritropoiese, ao contrário do que tem sido descrito por vários autores (25).

Veronesi et al (1955), demonstraram em 9 pacientes, dos quais 4 deles tratados; um caso de hipoplasia da série eritróide, outro com hiperplasia (17-22).

Nos nossos resultados observamos hiperplasia eritróide no momento do diagnóstico. Após a terapêutica específica houve normalização do quadro eritróide, com nível de significância $\alpha = 0,05$ para o grupo 1. Não houve modificação significativa nos resultados do grupo 2. Chamamos a atenção que as alterações quantitativas medulares no ca-lazar mostrem mais recuperação nos pacientes jovens, (no período analisado de 0-3 meses pós-tratamento. É possível que a medula óssea de pacientes adultos exijam mais tempo para normalização. A observação merecerá estudos posteriores, com interpretação da medula óssea após maior tempo pós tratamento.

5. CONCLUSÕES

Os achados do presente estudo morfocitológico da medula óssea, mostraram:

1. A celularidade da medula óssea predominou como hipocelular antes do tratamento e hipercelular pós tratamento (24).

2. Observamos na série mielóide uma recuperação dos neutrófilos após a terapêutica.

3. Hipoplasia da eosinopoiese, com uma melhor representação depois do tratamento.

4. Os linfócitos estavam melhor representados após a terapêutica.

5. A plasmocitose foi corrigida com o tratamento.

6. Os megacariócitos se apresentaram em números diminuídos com deficiência de elementos plaquetogênicos, mesmo após tratamento (25).

7. Hiperplasia da eritropoiese foi observada com normalização após terapêutica.

8. Observamos que os pacientes do grupo 1, mostraram uma melhor recuperação das alterações hematológicas, após a medicação específica, no período de 0 a 3 meses.

6. SUMMARY

We analysed the morphology of cells in bone marrow aspirates of 35 patients with kala-azar, before and after treatment, with a back of time of 20 days to 3 months between the first and second myelogram.

We divided the patients into two groups, in order to statistic analyse the results of treatment.

Group 1 - Patients less than fourteen years old.

Group 2 - Patients more than fourteen years old.

Our findings were compared with those reported in the international and national literature.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGUADO GARCIA, J.M.; FERNANDEZ GUERRERO, M.L.; ARNAL, P.; DIAZ FERNANDEZ, J.L.; GOMEZ HUELGAS, R.; DIAZ CUIEL, M.; MARIN HERNANDEZ, G.; VILLA LOBOS, E. de; SANCHEZ FAYOS, J. - Kala-azar en el adulto. A propósito de once observaciones. Rev.Clin.Esp. 171 (2): 119-23, 1983.
2. ALENCAR, J.E de. Expansão do Calazar no Brasil. Ceará-Médico, 5(1-2): 86-102, 1983.
3. ALENCAR, J.E. de & CARNEIRO, Pedro A, M. Índices eritrocitários no diagnóstico do Calazar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENE, 13ª, Fortaleza, 1956.
4. ALENCAR, J.E.; ALMEIDA, Y.M. de; SILVA, Z.F. e; PAIVA, A.S. ; FONSECA, M.F. da - Aspectos atuais do calazar no Ceará Rev. Bras. Malar. Doenças Trop., 26/27: 27-30, 1974 - 1975.
5. BLANC, ROBERTA. Cinqüiême observation de Kala-azar con genital. Press méd., 13(28): 1751, 1984.
6. CAMPOS, M.; LIMPIAS, L.; ARANGO, F.; CHARRY, H. Leishmaniose visceral en el Huila: informe preliminar de 25 casos. Acta Méd. Colomb., 7(4): 161-70, 1982.
7. CARTWRIGHT, George E.; CHUNG, Hui-Lan; AN CHANG - Studies on the pancytopenia of Kala-azar. Blood 3(3): 249-75, 1948.
8. CARVALHO, E.M. & BACELLAR, O.A. Lymphocyte reactivity to mitogens in American visceral Leishmaniasis. Brazilian I. Méd. Biol. Res., 16:35-41, 1983.
9. CHAGAS, E. Leishmaniose visceral. Mem. Inst. Osu. Cruz., 32(3): 325, 1937.
10. COUTINHO, A. & LIRA, A. Leishmaniose visceral em Pernambuco - Considerações clínicas e hematológicas sobre um novo caso. Rev. Bras. Méd., 11(2): 92-5, 1954.
11. DEANE, L. de Melo. Leishmaniose visceral no Brasil. Estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará. Rio de Janeiro, 1956. 162 p. Tese - São Paulo. Faculdade de Medicina.

12. EVANS, T.; NAIDU, T. G.; ALENCAR, J. E.; PEARSON, R. D. The Relation ship of American visceral, Leishmanias to ABO Blood Group Type. *Amer. J. Trop. Méd. Hyg.*; 33(5): 805-7, 1984.
13. GIRAUD, P.; ORSINI, A.; ANSALDI, MME. Estudio sobre el futuro hematológico de los enfermos convalecientes de Leishmaniosis visceral (kala-azar). *Sangre*, 6: 354-60, 1961.
14. JAMRA, M. Patogenia das alterações hematológicas da Leishmaniose visceral (calazar). *Rev. AMB* 7(3): 170-7, 1961.
15. KINGHT, R.; WOODRUFF, A. W.; PETTITT, L. E. The mecanism of Anaemia in Kala-azar a study of 2 patients. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg*; 61(5): 701-5, 1967.
16. LORENZI, T. F. & JAMRA, M. Anemias Secundárias a parasitoses. *Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.* 11(2-3): 159-80, 1978.
17. MARTINS, J. M.; ALENCAR, J. E. de; MAGALHÃES, U. B. The anaemia of Kala-azar. *Rev. Inst. Méd. Trop. São Paulo*, 7(1): 47 - 63, 1965.
18. MOURA, E. F. A. et al. Calazar : Considerações a propósito de um caso. *I. Pediat.* 57(5-6): 437-9, 1984.
19. MUSUMECI, S.; D'AGATA, A.; SCHILIRO, G.; FISCHERA. Studies of the neutropenia in Kala-azar: results in two patiets . *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*; 70(516): 500-3, 1976.
20. NEVES, J. Diagnóstico e tratamento do calazar. *Rev. Paul. Med.*, 101(6) : 237-9, 1983.
21. RACHMILEWITZ, M.; BRAUN, K.; DE URIES, A. Hematogic observations in a case of Kala-azar. *J. Hemat.*, 2(14): 381-5, 1947.
22. RAMOS, H. Contribuição para o estudo do mielograma na Leishmaniose visceral. Rio de Janeiro, 1955. 99 p. Tese (Docência) Fac. Fluminense de medicina.
23. SENTER, W. J.; SUTKER, H.; GARVER, H. E. Kala-azar. *Amer. J. Med.*, 7 : 694-8, 1949.
24. SILVA, J. R. da. Leishmaniose visceral (calazar) Rio de Janeiro, 1957, 498 p. Tese. Serviço Nacional de Educação Sanitária.
25. SILVA, J. R. da & Oliveira, H. P. Alterações hematológicas na Leishmaniose visceral (calazar). *Bol. Cent. Est. Hosp. Ser. Est.* 12(3): 151-214, 1960.

26. SOUZA, S. de La splēnectome dans le Kala-azar infantile. Rev. Med. Angola, 4: 411-7, 1923.
27. STEEL, R.G.D. & Torrie, J.H. Principal and Procedures of Statistics, a biometrical approach. 2 ed. Tokyo, Mc Graw Hill, 1980.
28. TRINÇAO, C. O mielograma no Kala-azar. In: Síndroma Anemico do Kala-azar. Lisboa, Soc. Ind, Tipográfica, 1948.
29. VERONESI, R.; JAMRA, M.; SILVA, O.R.S. ; CRUZ, O.; FLORILLO, A. Leishmaniose visceral (Kala-azar). Rev. Hosp. Clin. Univ. São Paulo, 9 (1): 13-50, 1954.
30. YAN-JIA, L. A review of Kala-azar in China from 1949 to 1959. Trans. Roy. Soc. Trop. Méd. Hyg., 76(4): 531-7, 1982.
31. ZIA, L.S & FORKNER, C.E. The Syndrome of acute agranulocytosis and its occurrence as a complication of Kala-azar. Amer. J. Méd. Sci., 188: 624-39, 1934.