

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

ASPECTOS AMBIENTAIS E SOCIAIS ENVOLVIDOS NA TRANSMISSÃO DA *L. CHAGASI* NO MUNICÍPIO DE PARNAMIRIM/RN.

IRACI DUARTE DE LIMA

NATAL
2010

IRACI DUARTE DE LIMA

ASPECTOS AMBIENTAIS E SOCIAIS ENVOLVIDOS NA TRANSMISSÃO DA *L. CHAGASI* NO MUNICÍPIO DE PARNAMIRIM/RN

Dissertação de **Mestrado** apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde

ORIENTADORA: Prof^a Dr^a Selma Maria Bezerra Jerônimo.

Natal
2010

Catálogo da publicação na fonte.

L732a

Lima, Iraci Duarte de.

Aspectos Ambientais e Sociais envolvidos na Transmissão da *L. chagasi* no município de Parnamirim/RN / Iraci Duarte de Lima _ Natal-RN, 2009.

103f.: il.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Selma Maria Bezerra Jerônimo.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

1. Leishmaniose - Dissertação. 2. Leishmaniose visceral canina - Dissertação. 3. *Leishmania chagasi* - Dissertação. 4. Leishmaniasis - Dissertação. I. Jerônimo, Selma Maria Bezerra. II. Título.

UFRN

CDU: 616.993.116(813.2)(043.3)

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Coordenadora do Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde:

Prof^a. Dr^a. Técia Maria de Oliveira Maranhão

IRACI DUARTE DE LIMA

**ASPECTOS AMBIENTAIS E SOCIAIS ENVOLVIDOS NA TRANSMISSÃO DA L.
CHAGASI/NO MUNICÍPIO DE PARNAMIRIM/RN**

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª. Selma Maria Bezerra Jerônimo
Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Orientadora e Presidente da Banca

Profª Drª. Alda Maria da Cruz
Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Convidada externa

Profª Drª. Iara Marques de Medeiros
Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Convidada interna

Natal
2010

DEDICATÓRIA

A minha mãe Inês Duarte, exemplo de doação, perseverança e sabedoria de vida. Apesar de não ter recebido instrução formal, dentro de sua simplicidade, soube mostrar-me o caminho para o crescimento, através do estudo. E mesmo não a tendo ao meu lado materialmente, com este trabalho, concretizo seu sonho de ter uma filha professora.

Ao meu filho, Artur Duarte, a título de incentivo, pois o maior ensinamentos que posso lhe transmitir, é o exemplo.

A minha orientadora Selma Maria Bezerra Jerônimo, pessoa de uma grandeza científica e humana imensurável, pelo grande orgulho de poder dizer que sou sua aluna.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela sua infinita bondade e misericórdia, ao me conceder a graça da vida, dando-me saúde, perseverança, amparo espiritual e condições para buscar o meu crescimento como ser humano.

À minha orientadora, Selma Maria Bezerra Jerônimo, por ter acreditado nas minhas possibilidades, pelo incentivo, pela compreensão, paciência e tolerância nos momentos que se fizeram necessários; meus sinceros agradecimentos.

Aos queridos colegas de Instituição, Henrique Eduardo da Costa e Moisés Silva Campos, pela grande cooperação, abrindo as portas da Secretaria Municipal de Saúde de Parnamirim, disponibilizando recursos humanos dessa Secretaria para as pesquisas de campo.

A todos os agentes de saúde do programa de controle da leishmaniose visceral do Município de Parnamirim, pela prestimosa colaboração nas pesquisas de campo.

À equipe de campo do Núcleo de Entomologia da Secretaria da Estado da Saúde Pública pelo enorme apoio nas coletas dos flebotomíneos.

Ao supervisor de campo do núcleo de entomologia, José Maria Ferreira, pela enorme contribuição na organização das coletas entomológicas.

À companheira de pesquisa e veterinária, Paula Viviane Souza, pela incansável colaboração no acompanhamento aos cães arrolados na pesquisa.

Ao companheiro de pesquisa e médico, Dr. Hênio Lacerda, pela enorme colaboração no acompanhamento aos indivíduos arrolados na pesquisa.

Ao companheiro de pesquisa e estatístico, Wilton Queiroz, por toda a paciência e dedicação nas análises estatísticas dos dados.

Ao meu chefe imediato na Secretaria de Estado da Saúde Pública, Dr. Lélío de Sá Bezerra, pela compreensão durante minhas “fugas” e “ausências” nos horários de expediente.

Aos amigos e familiares que me incentivaram, muito obrigada.

À amiga e companheira de todas as horas Cristiane Amaro, pela inestimável contribuição nos cuidados com meu filho e com minha casa, durante minhas ausências.

A toda equipe do Laboratório de Imunogenética da UFRN, pela acolhida e colaboração em todos os momentos necessários.

À amiga e irmã de coração Léa Barreto, pelo aluguel dos ouvidos nos momentos de angústia, pelo incentivo e grande dedicação na correção ortográfica da dissertação.

Aos recentes amigos, mas muito queridos, Bruna Lima e Sérgio Fernandes, pela prestimosa colaboração na análise dos dados e no suporte nas questões de informática.

À Isabelle Ribeiro e Canindé Carlota do centro de Controle de Zoonoses do município de Natal, pela prestimosa colaboração na execução dos exames de Reação de Imunofluorescência Indireta - RIFI.

À amiga e veterinária Patrícia Barbosa, pela grande colaboração na interpretação e análise dos dados.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	I
LISTA DE TABELAS	III
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	V
RESUMO	VI
1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DE LITERATURA	06
2.1 LEISHMANIOSE – DEFINIÇÃO	06
2.2 EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL	06
2.2.1 Agente etiológico	06
2.2.2 O vetor	08
2.2.3 Reservatórios	12
2.2.4 Ciclo evolutivo	13
2.2.5 Formas clínicas em seres humanos e cães	14
2.2.6 Diagnóstico	16
2.2.7 Magnitude e distribuição geográfica	18
2.2.8 Tratamento	20
2.2.9 O controle	21
2.2.10 Agregação espacial	23
2.2.11. A Leishmaniose Visceral No Rio Grande do Norte	23
3 OBJETIVOS	28
4 MÉTODOS	29
4.1 ÁREA DO ESTUDO	29
4.2 CARACTERÍSTICAS DAS LOCALIDADES ESTUDADAS	29
4.3 DESENHO DO ESTUDO	31
4.4 CADASTRO DAS RESIDÊNCIAS	31
4.5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	32
4.6 ESTUDO DA POPULAÇÃO HUMANA	32
4.7 ESTUDO DA POPULAÇÃO CANINA	33
4.8 EXAMES LABORATORIAIS	35
4.9 ESTUDO DA POPULAÇÃO VETORIAL	37
4.10 ESTUDO DOS ASPECTOS SOCIOAMBIENTAIS RELACIONADOS À INFECÇÃO HUMANA E CANINA	38
4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA E AGREGAÇÃO ESPACIAL	39
5 RESULTADOS	42
5.1 LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA EM PARNAMIRIM	42
5.2 PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR <i>L. CHAGASI</i> EM HUMANOS.	43
5.3 ANÁLISE DOS FATORES AMBIENTAIS E SOCIAIS RELACIONADOS COM A INFECÇÃO HUMANA	46
5.4 INFECÇÃO CANINA POR <i>L. CHAGASI</i> EM PARNAMIRIM	50
5.5 ANÁLISE DOS FATORES AMBIENTAIS E SOCIAIS RELACIONADOS COM A INFECÇÃO CANINA	54
5.6 ESTUDO OBSERVACIONAL LONGITUDINAL COM COORTE FIXA DA POPULAÇÃO CANINA	58
5.7 AGREGAÇÃO ESPACIAL DA INFECÇÃO HUMANA E CANINA	59

5.8 AVALIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DA FAUNA DE FLEBOTOMÍNEOS E A DENSIDADE DO VETOR <i>L. LONGIPALPIS</i> , NAS TRÊS ÁREAS DO ESTUDO	64
6 DISCUSSÃO	67
7 CONCLUSÕES	78
APÊNDICES	79
ANEXOS	95
REFERÊNCIAS	99
ABSTRACT	108

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Casos de leishmaniose visceral notificados no Brasil no período de 1980 a 2005.

FIGURA 2 - Prevalência e letalidade por leishmaniose visceral no RN, no período de 1997 a 2009*.

FIGURA 3 - Classificação epidemiológica de transmissão da leishmaniose visceral no Rio Grande do Norte, 2004 a 2008.

FIGURA 4 - Localização das áreas das áreas do estudo.

FIGURA 5 - Prevalência de leishmaniose visceral no Município de Parnamirim e no Rio Grande do Norte, no período de 1990 a 2008.

FIGURA 6 - Prevalência por leishmaniose visceral no Município de Parnamirim e nas três áreas do estudo, no período de 1990 a 2008.

FIGURA 7 - Dispersão da infecção canina comparada com a infecção humana de acordo com a presença de Anticorpos *antileishmania* (AasL).

FIGURA 8 - Correlação entre a infecção humana e canina, de acordo com a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL), considerando as sub-regiões poligonais.

FIGURA 9 - Correlação da infecção humana por *L. chagasi* pela reação ao teste de Montenegro (TM), com a infecção canina, considerando a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL).

FIGURA 10 - Probabilidade e predição da infecção humana e canina por *L. chagasi* concomitante, de acordo com o mapa de contornos sobreposto ao de superfície, considerando a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL).

FIGURA 11 - Probabilidade e predição da infecção canina por *L. chagasi*, de acordo com o mapa de contornos sobreposto ao de superfície, considerando a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e a proteína recombinante rK39.

FIGURA 12 - Probabilidade e predição da infecção humana por *L. chagasi*, considerando a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e a reação ao Teste de Montenegro.

FIGURA 13 - Percentual de positividade por espécie de flebotomíneos capturados na localidade de Passagem de Areia, nos meses de dez/2004 a jul/2007.

FIGURA 14 - Infestação por *Lu. longipalpis* e fatores climáticos em Parnamirim nos meses de dez/2004 a jul/2007.

FIGURA 15 - Infestação por *Lu. longipalpis*, precipitação pluviométrica e casos humanos de leishmaniose visceral ocorridos em Parnamirim no período de janeiro de 2004 a julho de 2007.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Associação inversa da infecção por *Leishmania chagasi* diagnosticada pela presença de Anticorpos *antileishmania* (AasL) e reação ao Teste de Montenegro.

TABELA 2. Presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e reação ao Teste de Montenegro (TM), dos indivíduos arrolados no estudo, de acordo com a classificação das áreas estudadas.

TABELA 3. Presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e reação ao Teste de Montenegro (TM), nos indivíduos arrolados no estudo de acordo com a densidade populacional da área de moradia.

TABELA 4. Presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e reação ao Teste de Montenegro (TM) conforme a faixa etária dos indivíduos arrolados no estudo.

TABELA 5. Presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e reação ao Teste de Montenegro (TM), conforme o sexo dos indivíduos arrolados no estudo.

TABELA 6. Análise da associação entre a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e reação ao Teste de Montenegro (TM), de acordo com as características das residências, fatores sociais e ambientais.

TABELA 7. Associação entre a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e reação ao Teste de Montenegro (TM), de acordo com os tipos de piso dos imóveis habitados pelos indivíduos arrolados no estudo.

TABELA 8. Associação entre a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e reação ao teste de Montenegro (TM) dos indivíduos, de acordo com o destino das águas e dejetos dos imóveis arrolados no estudo.

TABELA 9. Associação entre a resposta imune medida pela presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) acrescida da proteína recombinante k39, nos cães arrolados no estudo, de acordo com a área de residência.

TABELA 10. Associação entre a resposta imune medida pela presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e acrescida da proteína recombinante k39, nos cães arrolados no estudo, de acordo com o grupo de raças.

TABELA 11. Associação entre a resposta imune medida pela presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e acrescida da proteína recombinante k39, nos cães arrolados no estudo, de acordo com os sintomas clássicos de LVC.

TABELA 12. Associação e efeito entre a resposta imune medida pela presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e acrescida da proteína recombinante k39, nos cães arrolados no estudo, de acordo com as variáveis sociais e ambientais.

TABELA 13. Associação entre a resposta imune medida pela presença de anticorpos *antileishmania* (AasL), acrescida da proteína recombinante k39, nos cães arrolados no estudo, de acordo com a ausência ou presença de cães na vizinhanças.

TABELA 14. Comparação da presença de anticorpos *antileishmania* (AasL), no seguimento da população canina, nos dois momentos da pesquisa (M1 e M2).

TABELA 15. Espécies de flebotomíneos coletados por área de estudo no período de dezembro de 2004 a julho de 2007.

LISTA DE ABREVIATURAS/SIGLAS

LV: Leishmaniose Visceral

LC: Leishmaniose Cutânea

PKDL: Leishmaniose Dérmica Pós Kalazar

SMF: Sistema Fagocítico Mononuclear

DAT: Teste de Aglutinação Direta

RIFI: Reação de Imunofluorescência Indireta

RFC: Reação de Fixação de Complemento

ELISA: Ensaio Imuno adsorvente ligado à enzima (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

TRALd: Teste Rápido Antígeno para *Leishmania donovani*

K26: Antígeno Recombinante K26

K39: Antígeno Recombinante K39

PSF: Programa de Saúde da Família

HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana

PCL: Programa de Controle das Leishmanioses

SUCAM: Superintendência de Campanhas

FUNASA: Fundação Nacional de Saúde

ECD: Epidemiologia e Controle de Doenças

FAD: Programa de Febre Amarela e Dengue

SMS: Secretaria Municipal de Saúde

SESAP: Secretaria de Estado da Saúde Pública

DTH: Teste de Hipersensibilidade Tardia

AasL: Antígeno Anticorpo anti-*Leishmania*

EMPARN: Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte

TM: Teste de Montenegro

RESUMO

A leishmaniose visceral é uma doença que nos últimos 20 anos adaptou-se às áreas periurbanas e urbanas, tornando-se endêmica na região metropolitana de Natal, Rio Grande do Norte. Este estudo teve como objetivo avaliar os aspectos ambientais, sociais e a cadeia epidemiológica de transmissão por *Leishmania chagasi* em área urbana, periurbana e rural do Município de Parnamirim-RN. Realizou-se um estudo com três subestudos: Subestudo 1: Estudo Transversal__ da infecção humana e seus determinantes socioambientais no ano de 2005. Subestudo 2: Estudo observacional longitudinal com coorte fixa para avaliar a dinâmica da infecção canina por *L. chagasi* no período de 2005/2006. Subestudo 3: Estudo longitudinal para avaliar a fauna de flebotomíneos e a densidade de *L. longipalpis* associando aos fatores climáticos. Para inclusão no estudo, os imóveis foram selecionados aleatoriamente e georreferenciados. Na população humana desses imóveis, foi realizado teste de Montenegro e coleta de sangue para detecção de anticorpos *antileishmania*. A população canina foi examinada quanto à infecção por *L. chagasi* pelo método de RIFI, ELISA EB e ELISA para rK39. Foi realizado monitoramento entomológico mensal com armadilhas CDC em 10 imóveis de cada localidade. Foi realizada análise quantitativa e qualitativa através do STATISC 6.0 e construção de mapas de predição e probabilidade através do modelo do ArcGis 9.0. Foi encontrada associação da infecção humana por *L. chagasi* com a área de residência, idade, sexo, densidade populacional, vegetação, tipo de piso do imóvel e destino de água e dejetos. Na população canina, foi observada associação da infecção por *L. chagasi* quanto à raça, ao porte, sintomas, tempo de moradia no imóvel, presença de cães na vizinhança, presença de cavalos e jumentos na vizinhança, tipo de vegetação da área. A infecção humana estava relacionada com a infecção canina apenas quando analisada considerando-se a localidade. No estudo prospectivo, foi observada soroconversão e perda de anticorpos em 30,8% e 22% dos animais examinados, respectivamente. A taxa de infecção humana por *Leishmania chagasi* foi de 24,6%, quando avaliada pela presença de anticorpos *antileishmania* e de 38,6% quando avaliada pelo teste de Montenegro. A taxa de infecção canina foi 32,5% quando avaliada pela presença de anticorpos *antileishmania*. O vetor *Lu. longipalpis* apresentou um comportamento atípico. Os resultados indicam que fatores ambientais e sociais são importantes variáveis associadas à infecção por *L. chagasi* em humanos e caninos, sendo as últimas pontualmente associadas. Desta forma, são necessárias medidas de controle da infecção que enfoquem os pontos estudados, visando a não manutenção da endemicidade na área estudada. Esta pesquisa foi realizada de forma multidisciplinar envolvendo as categorias de: médico, biólogo, veterinário, estatístico, nutricionista e farmacêutico bioquímico.

Palavras-chave: *Leishmania chagasi*. Leishmaniose. DTH. Leishmaniose visceral canina. Anticorpo. *Lu. longipalpis*.

1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses constituem um grande problema de saúde pública no mundo. Estima-se que 360 milhões de pessoas em 88 países estejam expostas aos riscos de serem infectadas por *Leishmania* com, aproximadamente, 2 milhões de novos casos diagnosticados anualmente, sendo que 1,5 milhões são casos de leishmaniose cutânea (LC) e 500 mil de leishmaniose visceral (LV)⁽¹⁾.

As leishmanioses são causadas por parasitas unicelulares flagelados do gênero *Leishmania*, ordem *Kinetoplastidae*. Os membros da família são parasitos de insetos, aracnídeos, plantas e vertebrados diversos. Esses parasitos são dimórficos, com a forma extracelular denominada promastigota e a forma intracelular denominada de amastigota. A forma promastigota é flagelada e é encontrada no trato intestinal do inseto vetor, tanto livre no lúmen do intestino como ligado pelo flagelo à cutícula intestinal. A forma amastigota é ovalada, sem flagelos aparentes e é exclusiva do hospedeiro vertebrado, no qual, geralmente, é encontrada no interior dos macrófagos e de outras células fagocíticas⁽²⁾.

A distribuição geográfica das leishmanioses acompanha a distribuição do inseto vetor, o qual pertence à subfamília *Plebotominae*. Estes vetores podem ser encontrados praticamente em todo o mundo, estando extensamente distribuídos nas regiões tropical e subtropical da América, África, Índia e nos países das margens do Mediterrâneo⁽³⁾.

No Brasil, a espécie causadora da leishmaniose visceral é a *Leishmania chagasi*, espécie semelhante à *Leishmania infantum* que é encontrada em alguns países do Mediterrâneo e da Ásia⁽⁴⁾.

Nas Américas, a LV é uma zoonose e tem o cão como principal reservatório no ciclo peridoméstico⁵. Aproximadamente 90% dos casos de LV ocorrem em 5

países: Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão e Brasil, países onde a doença atinge principalmente a população mais pobre. A LV é uma doença crônica, grave, cuja letalidade nos seres humanos pode chegar a 10%, mesmo com o tratamento específico⁽⁶⁾.

A principal forma de transmissão do parasito para outros hospedeiros mamíferos ocorre por picadas de dípteros fêmeas da família *Psychodidae*, subfamília *Plebotominae*, conhecido como “flebotomíneos”⁽⁷⁾. A *Lutzomyia (L.) longipalpis* é a principal espécie transmissora da *L. chagasi* no Brasil, no entanto, recentemente a *Lu. cruzi* também foi incriminada como vetor, em focos de transmissão da doença no estado do Mato Grosso do Sul⁽⁷⁾.

No Brasil, a LV está incluída entre as grandes endemias, com notificação de casos em 19 Estados da Federação e predominância de ocorrência na região Nordeste⁽⁸⁾. O processo de expansão e urbanização da LV no Brasil está relacionado com as profundas mudanças na estrutura agrária do país, que resultou na migração de grande contingente populacional para os grandes centros urbanos⁽⁹⁾. Esta expansão também está associada a fatores complexos incluindo mudanças ambientais e climáticas, redução de investimento em educação e saúde, descontinuidade das ações de controle. Além desses fatores, a adaptação dos vetores aos ambientes modificados pelo homem pode aumentar a magnitude do problema⁽¹⁰⁾.

A pandemia da infecção por HIV em áreas previamente endêmicas para *Leishmania* promoveu o aumento dos casos de LV, resultando no ressurgimento da leishmaniose na Europa, geralmente fazendo parte da síndrome da imunodeficiência adquirida^(6; 11).

Nas Américas, o papel do homem no ciclo de vida da *Leishmania* é controvertido, ao contrário da Índia, onde este é o reservatório principal.

Em princípio, um homem infectado pode infectar o vetor, mas a eficiência com que os parasitas são transferidos do homem para o flebótomo pode ser baixa, principalmente quando comparada ao cão⁽¹²⁾. No entanto, estudo prospectivo realizado no Ceará mostra que a existência de um caso de LV na família apresenta um risco maior de infecção para um outro membro da família do que a presença de cães infectados⁽¹³⁾.

A ocorrência dos focos de leishmaniose visceral em áreas periurbanas e urbanas ocorre cada vez com mais frequência. A doença é encontrada nas regiões metropolitanas, como Natal-RN⁽¹⁴⁾, São Luís-MA e Teresina-PI⁽¹⁵⁾ ou até mesmo, em bairros completamente urbanizados como ocorre em Campo Grande-MS e Belo Horizonte-MG⁽¹⁶⁾. Contudo, sabe-se que 93% dos casos notificados no período de 1980 a 2005 são originários do nordeste do país, predominando na população de poder aquisitivo mais baixo, com 60% dos casos ocorrendo em crianças menores de 10 anos^(8;14).

No Rio Grande do Norte, a LV assumiu proporções epidêmicas desde o início dos anos 1990, quando a concentração dos casos humanos tornou-se predominante na Região Metropolitana. Atualmente, dos 167 municípios do Estado, 31 notificaram autoctonia de casos humanos de LV. Os focos das regiões metropolitana e agreste do Estado contribuíram com o aumento da incidência da LV, que, nos últimos 4 anos, vem apresentando redução de ocorrência, sendo observado, no entanto, um aumento de notificação de casos na região Oeste, principalmente no Município de Mossoró⁽¹⁷⁾.

As estratégias para controle da LV no Brasil sempre tiveram como foco quebrar a cadeia de transmissão da doença, com a eliminação dos animais infectados. Essa estratégia não evidenciou impacto positivo na redução da incidência da infecção humana⁽³⁾. Não há, na verdade, avaliação acurada sobre a efetividade do programa de controle da LV no Brasil, incluindo o impacto da eliminação dos cães sorologicamente reagentes e o controle do vetor. Ainda, é necessária a compreensão clara se variáveis ambientais maiores influenciam um potencial cíclico da epidemia, permitindo assim medidas concretas e sustentáveis de intervenção e controle⁽¹⁸⁾.

Assim sendo, o Ministério da Saúde promoveu oficinas e reuniões de trabalho com representantes técnicos de órgãos de controle e da comunidade científica tendo como intuito a reavaliação do programa de controle da leishmaniose. Nesses eventos, as medidas adotadas para o controle da LV foram objeto de muitas discussões, principalmente, na abordagem da retirada dos cães sororreagentes como medida de controle da LV humana⁽¹⁹⁾. As estratégias de controle, aparentemente, parecem ser adequadas, mas na prática a prevenção da infecção é bastante difícil, ainda mais associada aos reservatórios domésticos, silvestres e aspectos ambientais, incluídos aspectos físicos de utilização do espaço habitado.

As diretrizes de controle têm sido baseadas na eliminação do vetor, com uso de inseticida residual direcionado para as formas adultas, uma vez que os criadouros da espécie são pouco conhecidos. Discute-se que o uso desse método pode induzir a resistência dos vetores aos inseticidas, como também, que o uso em larga escala é uma medida morosa e de custo inviável para ações de controle prolongado, principalmente nas áreas urbanas onde os custos são maiores⁽⁵⁾.

Nesse contexto, este estudo pretende avaliar os aspectos ambientais, sociais e a cadeia epidemiológica de transmissão por *Leishmania chagasi* em três diferentes localidades de Parnamirim, região perimetropolitana de Natal, sendo uma área com característica urbana, outra com característica periurbana, e por último, uma área com característica rural.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 LEISHMANIOSE: DEFINIÇÃO

As leishmanioses são doenças parasitárias de ampla distribuição no mundo. Apresentam diversidades epidemiológicas e manifestações clínicas múltiplas. São causadas por diferentes espécies de protozoários da família *Trypanosomatidae*, do gênero *Leishmania* e cerca de 20 espécies são agentes etiológicos de leishmanioses ⁽²⁰⁾. São transmitidas pela picada de fêmeas de insetos dípteros, pertencentes à família *Psychodidae*, subfamília *Plebotominae* dos gêneros *Plebotomus*, no Velho Mundo; e *Lutzomyia*, no Novo Mundo. Cerca de 30 espécies de flebotomíneos são incriminadas como vetores das leishmanioses ^(21; 22).

Os reservatórios incluem animais silvestres, domésticos e humanos. Dentre as leishmanioses, o tipo visceral é considerado a forma mais grave e tem o cão nas Américas e Europa como principal reservatório no ciclo peridoméstico ⁽²³⁾.

Clinicamente são reconhecidas duas formas principais de leishmanioses: tegumentar e visceral ⁽²⁴⁾. A LV é considerada uma doença emergente, devido à sua alta incidência e letalidade, principalmente em indivíduos não tratados e crianças desnutridas, como também, em indivíduos com algum grau de imunodeficiência ⁶.

2.2 EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL

2.2.1 Agente etiológico

O gênero *Leishmania* abrange protozoários que parasitam predominantemente os macrófagos dos hospedeiros vertebrados. Em 1903, Leishman e Donovan descreveram, separadamente, um protozoário encontrado em tecidos esplênicos de pacientes oriundos da Índia. Este protozoário é o agente

etiológico da LV sendo também responsável pela Leishmaniose Dérmica Pós Kalazar – PKDL, termo em inglês, *Post-kala-azar dermal leishmaniasis*. A PKDL pode ocorrer em até 50% dos indivíduos com LV no Sudão e em torno de 6 a 20% na Índia ⁽²⁵⁾. As áreas de ocorrência da PKDL incluem: Índia, Bangladesh, Sudão, Paquistão, Nepal e regiões do leste da China ⁽²⁵⁾. No entanto, é rara a ocorrência de PKDL na América do Sul.

A *Leishmania (Leishmania) infantum* é uma espécie amplamente distribuída no Velho Mundo, ocorrendo no Norte e Noroeste da China, Sudoeste da Ásia, África, área Mediterrânea da Europa ⁽²⁵⁾. No Novo Mundo, esta espécie foi descrita nos Estados Unidos, em um foco de LV canina, mas sem ocorrência de doença em humanos ⁽²⁶⁾.

Há indícios moleculares que a *Leishmania infantum* e a *Leishmania chagasi* sejam uma única espécie. Sua introdução nas Américas parece ter sido realizada pelos europeus no período pós-colombiano ⁽⁴⁾. Essas duas espécies de *leishmânias* possuem características epidemiológicas semelhantes, como exemplo, ambas têm canídeos como reservatório silvestre e doméstico. A maior prevalência ocorre em crianças e são semelhantes quanto à forma clínica no homem e nos animais ⁽²⁷⁾. Outros acreditam que o parasita já existia antes da descoberta da América e, portanto, seria uma espécie diferente da primeira, sendo denominada *Leishmania (L) chagasi* ⁽⁵⁾.

O registro do primeiro caso da doença, no Brasil, ocorreu em 1913, quando Migone, no Paraguai, descreveu um caso ao encontrar o parasita em material obtido por necropsia de paciente oriundo de Boa Esperança, Mato Grosso ⁽²⁸⁾. Henrique Pena encontrou 41 casos positivos para *Leishmania*, identificados em lâminas de

viscerotomias praticadas *post-mortem* em indivíduos oriundos das regiões Norte e Nordeste suspeitos de terem malária ⁽²⁹⁾.

A espécie *Lu. longipalpis* foi incriminada como vetor primário por Chagas et al. em 1938, quando foram descobertos os primeiros casos da infecção em homens e cães ⁽³⁰⁾. A distribuição geográfica da LV vem sendo descrita em vários municípios do Brasil, sendo a região Nordeste responsável por 90% dos casos. Porém, nos últimos anos, a doença tem apresentado mudanças importantes no padrão de transmissão, que, inicialmente, predominava em ambientes com características rurais e periurbanos ⁽⁸⁾.

2.2.2 O vetor

Os vetores da leishmaniose visceral são insetos da família *Psychodidae*, subfamília *Plebotominae*, denominados de flebotomíneos. No Brasil, são conhecidos popularmente como: birigui, mosquito palha, asa dura, tatuquira, entre outros. São insetos holometabólicos, pequenos, com 1 a 3 mm de comprimento; possuem o corpo revestido intensamente de cerdas delgadas e de coloração clara, cor de palha ou castanho-claro. Devido ao acentuado arqueamento do tórax, esses dípteros assumem aparência corcunda. São facilmente reconhecíveis pelo seu comportamento ao voar em pequenos saltos e pousar com as asas entreabertas ligeiramente levantadas. Durante seu ciclo biológico, do ovo até a fase adulta, passam por quatro fases larvais e uma pupal, e a partir dos insetos adultos ocorre a diferenciação entre machos e fêmeas ^(31; 32).

Na fase larval, o desenvolvimento ocorre em solo úmido e rico em matéria orgânica da qual se alimentam, em locais com baixa incidência luminosa, freqüentemente encontrado entre pedras e embaixo de folhas e outros ecótopos,

garantindo assim alimento e umidade adequados durante esta fase. Na fase adulta, os flebotomíneos abrigam-se nos mesmos locais do criadouro ou em anexos peridomiciliares. Ambos os sexos necessitam de carboidratos como fonte energética, que são extraídos da seiva de plantas. Somente as fêmeas são hematófagas obrigatórias, sugando uma ampla gama de animais de sangue quente ⁽³³⁾.

A atividade alimentar hematofágica ocorre, prioritariamente, no período crepuscular ou noturno. Tanto os machos quanto as fêmeas costumam não se afastar muito de seus criadouros ou locais de abrigo, mas podem se deslocar até cerca de 1 Km; na maioria das vezes, porém, não se deslocam além dos 250m. A longevidade das fêmeas foi estimada em média de 20 dias ⁽³⁴⁾.

As espécies de vetores das leishmanioses estão diretamente relacionadas à região geográfica. O principal vetor responsável pela transmissão da *Leishmania (L.) donovani* na região indiana é o *Phlebotomus argentipes*; na região Chinesa, é o *Phlebotomus alexandri*. Para a *Leishmania (L.) infantum* várias são as espécies de vetores que podem estar envolvidas na transmissão incluindo *Phlebotomus ariasi*, *Phlebotomus perniciosus*, *Phlebotomus major*, *Phlebotomus alexandri*, *Phlebotomus chinesis*, *Phlebotomus perfiliewi*, *Phlebotomus tobbi*, *Phlebotomus longicuspis*, *Phlebotomus kandelaki*, *Phlebotomus mongolensis* e *Phlebotomus caucasius* ⁽³⁵⁾.

A principal espécie de flebotomíneo envolvida com a transmissão de *Leishmania chagasi* é a *Lu. Longipalpis* ⁽³⁶⁾. Porém, na Colômbia e na Venezuela, além da *Lu. longipalpis* existe a participação da *Lu. evansi* no ciclo de transmissão da *L. chagasi* ^(37;38). A distribuição de *Lu. longipalpis* se dá desde o México até Misiones, no norte da Argentina. No Brasil, essa espécie apresenta variações morfológicas como o tamanho e a presença de uma ou duas manchas brancas no

quarto tergito ou no terceiro e quarto tergitos abdominais, respectivamente. Trata-se assim de um complexo com diferentes populações ⁽⁵⁾.

Foram identificadas diferenças bioquímicas dos feromônios de acordo com o tipo populacional ^(5; 39). No entanto, nos Municípios de Corumbá e Ladário no Estado de Mato Grosso do Sul, áreas endêmicas, o vetor *Lu. cruzi* foi incriminado pela transmissão da *Leishmania* ^(7; 33).

Nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, a espécie *Lu. longipalpis* era encontrada originalmente nas matas, participando do ciclo primário de transmissão da doença. Progressivamente, houve adaptação deste inseto para o ambiente rural e sua adaptação a esse ambiente foi somada a presença de animais silvestres e sinantrópicos⁽⁴⁰⁾. No final dos anos 1980, verificou-se a presença do vetor *Lu. longipalpis* em áreas periurbanas e em ambientes urbanos, principalmente na região Sudeste, podendo ser encontrado no peridomicílio, em galinheiros, chiqueiro, canil, paiol, entre outros ambientes, e também no intradomicílio ⁽²⁹⁾.

A *Lu. longipalpis* adapta-se facilmente ao peridomicílio, e a variadas temperaturas. Há indício de que o período de maior transmissão de LV ocorra logo após a estação chuvosa, quando há um aumento da densidade populacional do inseto ⁽³⁰⁾. Após a cópula, as fêmeas colocam seus ovos sobre um substrato úmido no solo e com alto teor de matéria orgânica para garantir a alimentação das larvas. Os ovos eclodem geralmente entre o 7º e o 10º dia após a postura ⁽⁴¹⁾. As larvas alimentam-se vorazmente e desenvolvem-se em média de 20 a 30 dias, de acordo com as condições do meio ambiente ⁽⁴¹⁾.

Em condições adversas, as larvas do 4º estadio podem entrar em diapausa, até um período favorável ao seu desenvolvimento⁽⁴²⁾. Após o 4º estadio, transforma-se em pupas, que são mais resistentes às variações de umidade do que os ovos e

as larvas. Normalmente as pupas permanecem imóveis e fixas ao substrato pela extremidade posterior, não se alimentam e têm respiração aérea. O período pupal, em condições favoráveis, tem duração média de uma a duas semanas. O ciclo biológico do ovo ao inseto adulto ocorre em um período de aproximadamente 30 a 40 dias de acordo com a temperatura ⁽⁴³⁾.

A infecção do vetor pela *Leishmania* ocorre quando as fêmeas ao picarem mamíferos infectados ingerem macrófagos parasitados por formas amastigotas. No trato digestivo anterior do flebótomo, ocorre o rompimento dos macrófagos liberando formas que se reproduzem por divisão binária e diferenciam-se rapidamente em formas flageladas chamadas de promastigotas. As formas promastigotas transformam-se em paramastigotas, que colonizam o esôfago e a faringe do vetor, onde permanecem aderidas ao epitélio pelo flagelo, diferenciando-se em formas infectantes denominadas de promastigotas metacíclicas ⁽⁵⁾.

O ciclo do parasita no inseto se completa em torno de 72 horas⁽⁴⁴⁾. Após esse período, as fêmeas infectadas, ao realizarem um novo repasto sanguíneo em um hospedeiro vertebrado, liberam as formas promastigotas metacíclicas juntamente com a saliva do inseto ⁽⁴⁾. Na epiderme do hospedeiro, as formas promastigotas são fagocitadas por células do sistema mononuclear fagocitário. No interior do macrófago, no vacúolo parasitóforo, diferenciam-se em amastigotas e se multiplicam intensamente até o rompimento do macrófago quando ocorre a liberação dessas formas, que serão fagocitadas por novos macrófagos num processo contínuo, promovendo a disseminação hematogênica do parasito ⁽²¹⁾.

2.2.3 Reservatórios

Os cães têm sido considerados como importantes reservatórios no ciclo doméstico da LV, tendo sido relatado pela primeira vez na Tunísia em 1908, e, posteriormente, no Brasil⁽⁴⁵⁾. Muitos mamíferos são relacionados como reservatórios de *Leishmania spp.* Na Índia, o homem é o principal reservatório da *Leishmania (L.) donovani*, enquanto no Sudão foram também identificadas como reservatório espécies de roedores (*Arvicanthis niloticus*, *Acomys albigena*, e *Rattus rattus*) e carnívoros (*Genetta genetta* e *Felis cat*)⁽³⁵⁾.

O chacal (*Canis aureus*) tem sido descrito como reservatório silvestre de *Leishmania infantum* em áreas rurais, como também o lobo (*Canis lupus*), e a raposa (*Vulpes vulpes*). Nas regiões centrais e noroestes da China, foi encontrado o canídeo (*Nyctereutes procyonoides*) naturalmente infectado. Na Geórgia e no Arzebajão, foram também encontrados infectados por *L. infantum* o texugo (*Meles meles*) e a raposa (*Vulpes corsak*). Como reservatório doméstico, o cão (*Canis familiaris*) é o principal hospedeiro em áreas rurais próximas aos centros urbanos^(26;46). No Sul da África, apesar de a leishmaniose estar classificada como uma antroponose, a *Leishmania donovani* já foi isolada em cães. Além desse canídeo, o parasita não foi isolado em nenhum outro canídeo sinantrópico⁽⁴⁷⁾.

No Brasil, os canídeos são os principais reservatórios da *Leishmania (L) chagasi*, destacando-se no ciclo silvestre e rural, a raposa – *Lycalopex vetulus*, na região Nordeste, em especial no Estado do Ceará^(28;48). Na Amazônia, o *Cerdocyon thous* foi encontrado naturalmente infectado no Estado do Pará⁽⁴⁹⁾. Recentemente, foi constatada infecção desse animal no Estado de Minas Gerais⁽⁴⁵⁾. Porém, outras espécies de mamíferos como gatos⁽⁵⁰⁾ e roedores^(51; 52), podem ser encontradas infectadas por *Leishmania*. A infecção por *L. chagasi* em gatos tem sido notificada

em países do mediterrâneo, Ásia e América, onde o parasita pode determinar formas cutâneas e viscerais de leishmanioses ⁽⁵³⁾. Os gambás também têm sido apontados como reservatórios do parasita. No Estado da Bahia, isolou-se leishmania em *Didelphis albiventris*⁽⁵⁴⁾ e, na Colômbia, o *Didelphis marsupialis* parece ter importância significativa na epidemiologia da leishmaniose ^(52; 55).

2.2.4 Ciclo evolutivo

O ciclo evolutivo da *Leishmania chagasi* é do tipo heteroxênico, envolvendo como transmissor as fêmeas infectadas de *Lu. longipalpis* e *Lu. cruzi*. Formas amastigotas ingeridas durante o repasto ficam no intestino médio do vetor, onde são envolvidas por uma membrana peritrófica, uma matriz quitinosa secretada através de células epiteliais do intestino. A membrana peritrófica rompe-se em cerca de três dias, acelerando, pela ação da quitinase, a transformação das formas amastigotas em promastigotas. Estas formas promastigotas metacíclicas, estabelecem uma infecção massiva na válvula estomacal do vetor, e em alguns casos é acompanhada pela invasão do intestino anterior, incluindo a faringe, cibário e probóscida ^(2; 35).

Acredita-se que as formas promastigotas metacíclicas são derivadas do intestino anterior ou da degeneração da válvula estomacal ⁽⁴⁴⁾. Ainda no tubo digestivo dos flebotomíneos, as formas amastigotas sofrem divisão binária e transformam-se em promastigotas, as formas flageladas. A partir de uma nova divisão binária, se multiplicam e se diferenciam, transformam-se em formas paramastigotas que colonizam a faringe e o esôfago do vetor, posteriormente se diferenciam em formas promastigotas metacíclicas. Três a quatro dias após o repasto contaminante as fêmeas de flebotomíneos tornam-se infectantes. Em um novo repasto sanguíneo sobre os hospedeiros vertebrado os flebotomíneos

regurgitam formas promastigotas infectantes metacíclicas, que rapidamente invadem as células do sistema fagocítico mononuclear – SFM⁽⁵⁶⁾.

No interior dos macrófagos, diferenciam-se em formas amastigotas, que se multiplicam intensamente por divisão binária. Os macrófagos, repletos de formas amastigotas, ficam desvitalizados e rompem-se liberando essas formas, que num processo contínuo são fagocitadas por novos macrófagos. Dessa forma, ocorre a disseminação hematogênica para tecidos ricos em células do SMF, como linfonodos, fígado, baço e medula óssea⁽⁴⁴⁾.

2.2.5 Formas clínicas em seres humanos e cães

A infecção por *Leishmania* pode evoluir com um amplo espectro clínico que é dependente da resposta imune desenvolvida pelo indivíduo infectado. A forma assintomática caracteriza-se por ausência de sintomas clínicos e presença de anticorpos antileishmânia e ou intradermorreação de Montenegro positiva ⁽¹⁴⁾. A forma subclínica ou oligossintomática caracteriza-se por sintomatologia inespecífica, como febre baixa recorrente, tosse seca, diarréia, sudorese e prostração ⁽⁵⁷⁾.

Na forma clássica da LVA, o estabelecimento dos sintomas pode ser gradual, com agravamento progressivo ou brusco. Os principais sintomas incluem distúrbios gastrointestinais, edema de membros inferiores, anemia, febre baixa, pequena esplenomegalia, astenia, prostração, mal-estar, sonolência, apatia ou agitação, inapetência, tosse seca ou expectoração, emagrecimento, palidez, queda de cabelos, hemorragias (nasais, gengivais ou intestinais), dores articulares e mialgias. A duração desta fase inicial é de duas a seis semanas, podendo regredir espontaneamente ou progredir para doença crônica ⁽²⁸⁾.

Os sintomas da LV clássica são os mesmos da fase inicial, porém mais graves formados pela tríade: anemia, febre de longa duração e recorrente, e hepatoesplenomegalia. A doença crônica caracteriza-se pelo emagrecimento progressivo e enfraquecimento geral, com aumento de susceptibilidade às infecções secundárias, podendo ocorrer pneumonia, tuberculose, anemia aguda, gastroenterite, hemorragia, caquexia, entre outras complicações ⁽²⁸⁾.

O período médio, que corresponde a maioria dos casos, situa-se entre três e seis meses. (13) Na Índia e em países da África é comum o escurecimento da pele na leishmaniose visceral, o que deu origem ao nome calazar (pele escura). Esse sinal, contudo, é muito raro no Brasil ^(58;59). A LV causada por *L. donovani* freqüentemente evolui com PKDL.

A LV canina clássica é caracterizada por espessamento e/ou lesões de borda de orelhas e focinho, mudança de aspecto e queda de pêlo, hepatoesplenomegalia, acinesia e onicogribose ⁽¹¹⁾. Os sinais da doença podem ser muito discretos, as lesões nas orelhas costumam anteceder os demais sinais. A hepatomegalia nunca é visível, mas pode ser medida por palpação. No estágio final da doença, o animal costuma sangrar com facilidade devido à redução do número de plaquetas, além de apresentar diarreia ⁽⁶⁰⁾.

A infecção também pode apresentar-se nas formas subclínica e assintomática. A infecção pode se manifestar rapidamente após a inoculação ou levar até dois anos. Descamações furfuráceas, avitaminoses e verminoses costumam confundir o diagnóstico. Perda de peso por infecções oportunistas ou por linfomas também é um fator complicador. O aparecimento dos sintomas depende da imunocompetência do animal. Em geral, os cães de áreas endêmicas são poli-

infectados e subnutridos, o que leva a uma multiplicidade de quadros clínicos sobrepostos ⁽⁶¹⁾.

2.2.6 Diagnóstico

O diagnóstico da LVA, tanto em cães como em humanos, pode ser feito por critérios clínicos e laboratoriais ⁽⁶²⁾. Classicamente, o diagnóstico da LV é confirmado por demonstração do parasito, que pode ser identificado em aspirado de baço, medula óssea, linfonodo ou fígado. O diagnóstico é mais sensível (98% em comparação com outros órgãos, 90%) em aspirado de baço. No entanto, essa técnica pode ocasionar sérias complicações, que, apesar de raras podem ser muito graves ^(6;59). Para os cães, além da medula óssea, baço ou fígado, também são utilizados os gânglios para punção, ou, ainda, biopsia das escarificações da pele ⁽⁶³⁾.

A LV é caracterizada por uma marcada estimulação policlonal de linfócitos B, que resulta em hipergamaglobulinemia e grande produção de anticorpos, o que facilita o diagnóstico através de testes sorológicos ⁽¹¹⁾. As técnicas diagnósticas utilizando a avaliação da presença de anticorpo incluem os Testes de Aglutinação Direta – DAT, Reação de Imunofluorescência Indireta – RIFI, os que utilizam extratos ou frações antigênicas solúveis, como a Reação Imunoenzimática - ELISA e a Reação de Fixação de Complemento – RFC, Reação de Hemoaglutinação, que utilizam antígenos totais solúveis de promastigotas ⁽¹¹⁾.

O método de ELISA é um teste prático, rápido, de fácil leitura, econômico e mais sensível que o RIFI, que permite detectar baixos níveis de anticorpos. Pode ser utilizado com antígenos purificados, que asseguram uma maior especificidade e sensibilidade, oferecendo redução significativa dos custos e facilitando a padronização, podendo ser produzido em larga escala ⁽⁶⁴⁾. Já a Aglutinação Direta -

DAT é de fácil uso no campo e de custo efetivo, mas não existe fonte comercial de antígenos e os resultados não são sempre reproduzíveis ⁽⁶⁾.

O antígeno recombinante rK39 é um polipeptídeo que contém 39 aminoácidos repetidos, os quais constituem uma porção de uma proteína que é membro da família cinesina, inclusive diferenciando do *Trypanosoma cruzi* ⁽⁶⁵⁾. O teste de ELISA utilizando a proteína recombinante rK39 apresenta 96% de sensibilidade e 98% de especificidade para o diagnóstico de LV. O uso deste antígeno em teste rápido tem auxiliado a confirmação diagnóstica de LV no campo, na vigência de sintomas sugestivos de LV ⁽¹¹⁾. Outro teste rápido desenvolvido recentemente foi o TRALd, que foi modificado, tendo sido acrescentado um novo antígeno, o K26, que também reconhece anticorpos específicos de leishmânia do complexo *L. donovani*, aumentando com isso a sensibilidade do teste ⁽⁶²⁾.

De uma maneira geral, as técnicas imunológicas para detecção de anticorpos específicos no sangue de indivíduos ou de cães infectados constituem-se instrumentos auxiliares importantes no diagnóstico da LV. No entanto, reações cruzadas com outros tripanossomatídeos podem ocorrer, uma vez que os antígenos extraídos de *Leishmania* contêm proteínas com grau de homologia a proteínas presentes em outros tripanossomatídeos ^(57; 64). Em humanos, títulos de anticorpos antileishmânia permanecem altos, mesmo após a cura clínica, tornando as técnicas sorológicas inadequadas para avaliação de cura pós-tratamento ⁽⁶³⁾.

O teste intradérmico é usado em estudos epidemiológicos para detectar a exposição da população à *Leishmania*, principalmente nas infecções subclínicas ou assintomáticas, de forma semelhante ao teste de tuberculose ⁽¹⁴⁾. Na forma aguda da leishmaniose visceral, esse teste é negativo, mas tende a se tornar positivo se o tratamento terapêutico obtiver sucesso.

2.2.7 Magnitude e distribuição geográfica

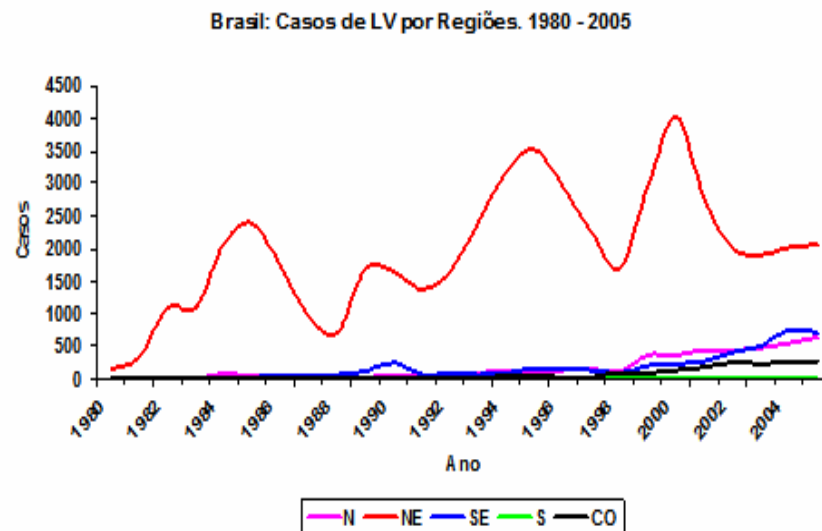
A leishmaniose visceral é uma doença de notificação compulsória, porém na maioria dos países a incidência pode estar subestimada ⁽²¹⁾. Estima-se que existam 57 mil óbitos a cada ano no mundo ⁽⁶⁶⁾. No continente africano, a doença ocorre ao norte, no Sudão, Abissínia, Quênia, entre outros países. Na Europa, é encontrada no sul da Rússia e no litoral do Mediterrâneo, onde apresenta inúmeros focos endêmicos: Grécia, sul da Itália, sul da França e da Espanha ⁽⁶⁶⁾.

Nos países do sul da Europa, é um agravo importante quando sua transmissão não é vetorial. É expressiva a transmissão por meio da transfusão sanguínea e compartilhamento de agulhas entre os usuários de drogas. Nesses países, 70% dos casos entre indivíduos adultos foram associados à co-infecção com o vírus da imunodeficiência adquirida – HIV ^(66;67). Nas Américas, ocorrem principalmente no Brasil, Paraguai, Bolívia, Venezuela, Colômbia, Guatemala e México, sendo que 90% dos casos são descritos no Brasil ⁽⁶⁸⁾.

No Brasil, a epidemiologia da LV apresenta aspectos geográficos, climáticos e sociais variáveis, nas diversas regiões. Abrange, principalmente, as áreas de clima seco, com precipitação pluviométrica anual inferior a 800 mm, e de ambiente fisiográfico composto por vales, montanhas, boqueirão e pés de serra. Sua ocorrência endêmica está associada ao baixo nível socioeconômico da população, principalmente nos indivíduos em condições nutricionais desfavoráveis ^(8;10).

A urbanização da doença vem sendo verificada mais intensamente a partir dos anos 1980. A doença passou a ser notificada em grandes e médios centros urbanos como: Teresina/PI, São Luis/MA, Fortaleza/CE, Natal/RN, Aracaju/SE, Belo Horizonte/BH, Montes Claros/MG e mais recentemente Araçatuba/SP, dentre outros ⁽⁶⁹⁾.

Para avaliar o comportamento epidemiológico da LVA no Brasil ao longo do tempo, devem-se considerar seus períodos cíclicos. No período de 1980 a 2005 foram notificados 59. 129 casos humanos, sendo que 82,5% ocorreram na região Nordeste ⁽⁷⁰⁾.



Fonte: MS, 2006

Figura 1 – Casos de leishmaniose visceral notificados no Brasil no período de 1980 a 2005

A magnitude da LV também pode ser observada através do número de óbitos pela doença. No período de 1998 a 2005, foram notificados 1.486 óbitos ⁽⁷¹⁾, sendo que, semelhante à prevalência, a partir do ano 2003, o número de óbitos vem apresentando crescimento, apesar das estratégias aplicadas pelo sistema de saúde, como o Programa de Saúde da Família – PSF, que deveria, por estar dentro das áreas endêmicas, promover o diagnóstico dos casos humanos de forma precoce, para tratamento imediato. Outro aspecto que pode ser analisado é a melhoria no sistema de notificação do agravo e de mortalidade.

2.2.8 Tratamento

Por mais de sessenta anos, o tratamento das leishmanioses vem sendo realizado com antimoniais pentavalentes: antimoniato de N-metil glucamina-Glucantime[®], e estibogluconato de sódio-Pentostan[®], que são os medicamentos de primeira escolha para o tratamento da doença. Essas drogas são tóxicas e nem sempre são efetivas no tratamento da LV. Na forma antroponótica da leishmaniose visceral, o tratamento é baseado em antimoniais pentavalentes, droga de primeira escolha e usada na dose de 20mg/kg/dia durante 30 dias. Em casos de resistência, a anfotericina B é a principal alternativa, usada por via intravenosa, em dias alternados na dosagem de 0.1mg/kg/dia até 1mg/kg/dia, com a dosagem máxima de 3g⁽⁶⁾.

A resistência aos antimoniais tem se tornado um problema na Índia e no Sudão. O desenvolvimento de anfotericina Bicapsulada em lipossomos (AmBisome) tem mostrado bons resultados, com cura de 90-95% na Índia. No entanto, o preço é proibitivo para a maioria das áreas endêmicas. O miltefosine, primeira droga de uso oral, avaliada inicialmente pela sua capacidade tumoricida, mostrou 95% de cura efetiva em estudo no calazar indiano. Porém há descrição de resistência da *L. donovani*, além de ser uma opção de tratamento dispendiosa e potencialmente teratogênica⁽⁷²⁾. Uma segunda droga, o sitamaquine, está sendo avaliada na Índia⁽⁶⁾. Outra droga, o paromomycin (aminosidina), que oferece uma ótima resposta para tratamento de pacientes co-infectados por HIV também mostrou ser tão eficiente quanto à anfotericina B e já está sendo adotada na Índia⁽⁷³⁾.

No Brasil, os compostos antimoniais, sob a forma de sais trivalentes, foram utilizados pela primeira vez no tratamento da leishmaniose tegumentar em 1913 por Gaspar Vianna. Os derivados pentavalentes (Sb⁺⁵), só foram introduzidos nos anos

1950 e, desde então, têm sido considerados como drogas de primeira escolha no tratamento desta protozoonose ⁽⁸⁾. Como tratamento alternativo são utilizadas a anfotericina B e suas formulações lipossomais (Anfotericina B – Lipossomal e anfotericina - B Dispersão Coloidal), as pentamidinas (sulfato e mesilato) e os imunomoduladores (interferon gama e GM-CSF) ⁽¹¹⁾.

2.2.9 O controle

A LV é uma doença fatal se não tratada em tempo hábil. Para seu controle, só o tratamento dos casos humanos não é suficiente. É prioritária a quebra da cadeia epidemiológica da doença, que no Brasil, envolve um vetor, *Lu. longipalpis* ou *Lu. cruzi* e um reservatório doméstico, o cão ⁽²⁶⁾. O controle vetorial é realizado com aplicação de inseticida de ação residual nos domicílios e nos abrigos de animais é indicado somente quando constatada a presença do vetor *Lu. Longipalpsi* ⁽⁸⁾.

Outras medidas para o controle vetorial estão indicadas, porém são pouco aplicadas pelos serviços de saúde. Dentre essas ações, pode-se citar o saneamento do meio doméstico, como limpeza de quintais, para reduzir a oferta de matéria orgânica, na qual o vetor *Lu. longipalpis* se prolifera ⁽³²⁾. A aplicação de inseticida por meio de UBV – Ultra Baixo Volume, já foi indicada para tratamento em surtos urbanos, com alta densidade do vetor, porém, não existe estudo mostrando a eficácia do tratamento ⁽⁶⁹⁾.

No Brasil, o programa de controle da LVA está fundamentado em três ações: o diagnóstico precoce e o tratamento adequado dos casos humanos; o emprego de inseticidas de ação residual, para a redução da densidade vetorial e a eliminação do reservatório doméstico, o cão, fonte de infecção para o vetor. O controle do vetor é realizado pela borrifação de paredes internas e externas e das áreas

peridomiciliares, com inseticida da classe dos piretróides (alfacipermetrina) em três ciclos anuais, no período de um ano ⁽⁸⁾.

Com relação ao controle do reservatório, o cão, seus exames em larga escala são baseados em sorologia ⁽⁷⁴⁾. Em um estudo realizado na França, concluiu-se que o tratamento canino convencional não reduz a importância do cão como reservatório e fonte de infecção para os flebotomíneos, embora ressalte a necessidade de investimento em drogas de baixo custo e com boa eficácia para os cães, que possam ser associados a alternativas, como as coleiras de deltametrina; isso reduziria a possibilidade de contato do cão com o vetor, conseqüentemente, reduzindo a possibilidade do cão atuar como reservatório ⁽⁷⁵⁾.

Deve-se considerar que a eliminação dos cães infectados não é vista com simpatia pela população em geral, e ainda continua sendo um ponto controverso entre vários autores quanto ao seu impacto no controle da leishmaniose ^(13;58;76;77). Essa medida é recomendada pelo Ministério da Saúde para controle do reservatório doméstico e vem sendo adotada enquanto não se obtém outra medida eficiente que impeça a infecção do vetor, devendo ser executada de forma integrada com outras medidas disponíveis.

De um modo geral, no Brasil a LV tem se revelado como uma endemia de difícil controle, e o trabalho que tem sido executado tem se mostrado insuficiente para alcançar nível satisfatório no controle.

2.2.10 Agregação espacial:

Os dados de saúde coletados através de referência geográfica aumentam as informações para análises e requerem melhor compreensão de distribuição espacial ⁽⁷⁸⁾. Segundo Barcelos ⁽⁷⁹⁾, Sistema de Informação Geográfica (SIG) são sistemas de

computadores usados para entendimento de fatos e fenômenos que ocorrem em determinado espaço geográfico. Trata-se de uma das técnicas de geoprocessamento que é amplamente usada para organizar dados. Possui capacidade de mostrar a expressão espacial dos dados, integrando-os adequadamente, tornando-se uma ferramenta essencial para manipulação de informações geográficas ⁽⁷⁹⁾.

2.2.11 A Leishmaniose Visceral no Rio Grande do Norte

Historicamente no Brasil, a campanha contra a LV foi criada em 1953 com o objetivo de estudar e combater as leishmanioses, tendo em vista o aumento do número de casos no país ⁽²⁹⁾. Entretanto, no Rio Grande do Norte, as medidas de controle da leishmaniose visceral foram implantadas nos anos 1980, com a instalação do PCL - Programa de Controle das Leishmanioses, através da extinta Superintendência de Desenvolvimento de Campanhas - SUCAM, órgão subordinado ao Ministério da Saúde. Essa instituição tinha como atribuição a execução direta das atividades de erradicação e controle de endemias nas áreas de transmissão.

Posteriormente, mais precisamente em 1991, foi criada através do decreto 100, de 16/04/1991, a Fundação Nacional de Saúde – FUNASA, resultado da fusão de vários órgãos ligados à saúde pública, entre eles a SUCAM. Dentre outras atribuições, a FUNASA incorporou o controle das doenças endêmicas ⁽⁸⁰⁾.

No sentido de estimular as Secretarias Municipais de Saúde a executar atividades de controle das doenças endêmicas, foi instituído pelo Governo Federal, para a região Nordeste, o Programa de Controle das Doenças Endêmicas no Nordeste – PCDEN. Alguns municípios do Estado foram contemplados com recursos financeiros desse programa para incrementar o controle da LV, e o benefício veio através da aquisição de viaturas, equipamentos de laboratório e de informática e a

construção do Centro de Controle de Zoonoses - CECOZ. Foram construídos quatro CECOZ nos Municípios de Natal, Caicó e Mossoró. O Município de Parnamirim foi contemplado com a construção de uma Unidade Simplificada de Controle de Animais – USCA ⁽⁸⁰⁾.

Outros municípios da região metropolitana como Macaíba, Ceará-Mirim e São Gonçalo do Amarante receberam recursos financeiros através do PCDEN e capacitaram agentes de saúde para realizar inquérito vetorial e do reservatório canino. No período de vigência do PCDEN, alguns municípios assumiram parcialmente as ações de controle da leishmaniose visceral, mas a falta de financiamento sustentável, após o encerramento do projeto, resultou no abandono dessas ações ⁽⁸⁰⁾.

A exemplo de outras unidades federadas, no Rio Grande do Norte, o programa de controle da LV seguia as diretrizes verticais orientadas pelo Ministério da Saúde através da FUNASA. O controle do reservatório doméstico até 2000 era realizado de forma censitária em todos os municípios, utilizando como técnica diagnóstica a reação de imunofluorescência indireta – RIFI, a partir de amostras de sangue de cães colhidas em papel de filtro. Essa técnica era utilizada pela falta de padronização de um teste imunoenzimático e de produção em larga escala que pudesse ser utilizado em saúde pública ⁽¹⁷⁾.

Com a descentralização das ações de Epidemiologia e Controle de Doenças - ECD, preconizadas na portaria 1.172 de 15 de junho de 2004 – que dispõe sobre as competências em todos os níveis do governo e a sistemática de financiamento, todas as ações de controle das endemias, inclusive das leishmanioses, passaram a ser executadas pelas Secretarias Municipais de Saúde ⁽⁸¹⁾.

No entanto, os critérios adotados para o repasse dos recursos e a falta de entendimento dos gestores estadual e municipal, no que se refere ao controle das doenças transmitidas por vetores, fizeram com que o programa de controle da leishmaniose visceral continuasse a ser executado em condições precárias, com falta de equipamentos, de veículos e de pessoal devidamente capacitado, e, conseqüentemente, sem redução nos indicadores da doença. Mesmo com as limitações citadas, a partir do ano 2001 a prevalência de LV no Estado apresentou um decréscimo, porém, a letalidade mantém-se em níveis consideráveis como mostra a figura abaixo.

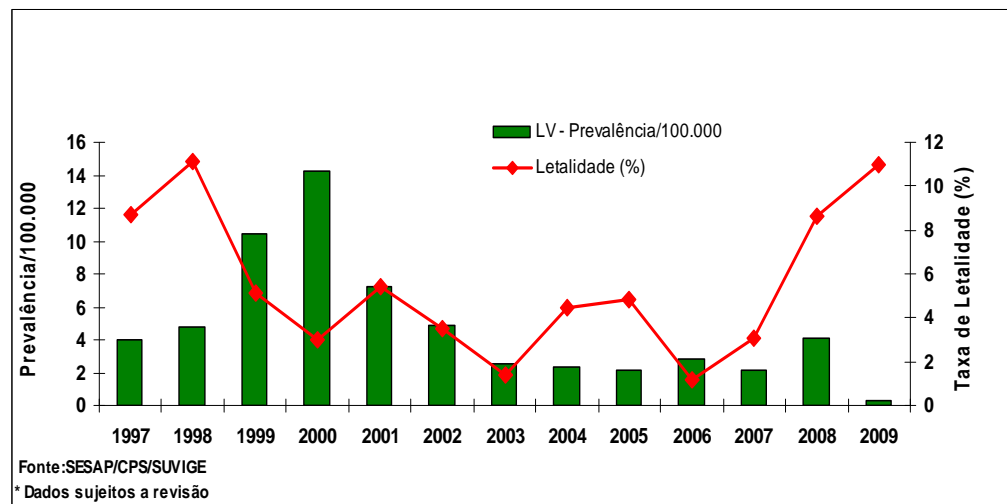


Figura 2 – Prevalência e letalidade por leishmaniose visceral no RN, no período de 1997 a 2009*

Assim, como em outras unidades federadas, o programa oficial de controle das leishmanioses, no Rio Grande do Norte, segue as Diretrizes Técnicas do Ministério da Saúde, ou seja, está baseado em três ações básicas: emprego de inseticida de ação residual para redução da densidade vetorial, a notificação e tratamento dos casos humanos e a eliminação do reservatório doméstico

sororreagente para *L. chagasi*, fonte de infecção para o vetor, o cão. Entretanto, há ainda impedimentos e dificuldades para a efetivação dessas ações.

As gestões municipais ainda não implantaram as ações de controle de forma sistemática e integradas com ações de educação em saúde e manejo do meio ambiente ⁽¹⁷⁾. Desta forma a doença apresenta-se dispersa em todas as regiões do Estado, estando os municípios com ocorrência de casos humanos e LVA classificados como: transmissão intensa, transmissão moderada, transmissão esporádica e sem transmissão ⁽¹⁷⁾.

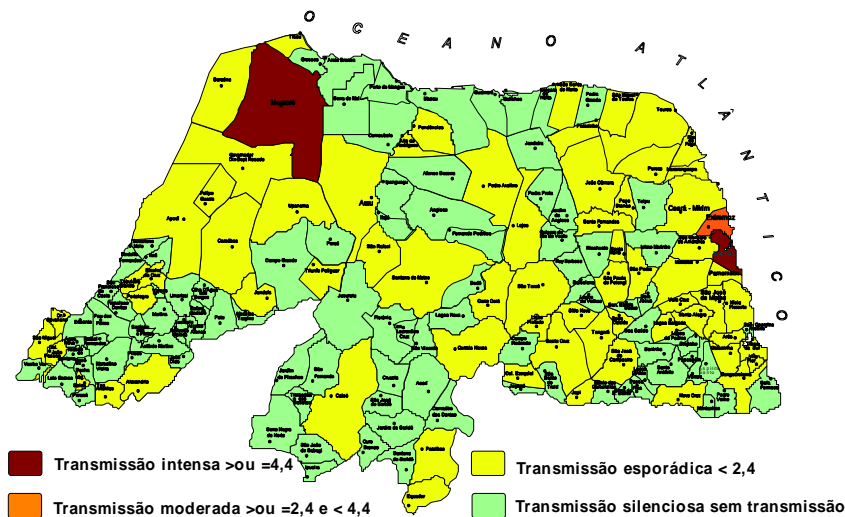


Figura 3 – Classificação epidemiológica de transmissão da leishmaniose visceral no Rio Grande do Norte, 2004 a 2008.

A partir desse histórico, observa-se a importância e a necessidade de se avaliar os aspectos ambientais e sociais envolvidos na transmissão da *L. chagasi* no município de Parnamirim/RN, tomando como espelho uma área com características urbanas, outra periurbana e uma terceira com características rural, do Município de Parnamirim, área metropolitana do Rio Grande do Norte, considerando que ao longo dos anos, esse município apresentou alta prevalência por leishmaniose visceral humana e canina.

3 OBJETIVO GERAL

Avaliar os aspectos ambientais e sociais envolvidos na transmissão da *L. chagasi* no Município de Parnamirim-RN.

3.1 Objetivos Específicos

- a. Determinar a prevalência da infecção humana em três áreas: urbana, periurbana e rural do Município de Parnamirim/RN;
- b. Determinar a prevalência da infecção canina em três áreas: urbana, periurbana e rural do Município de Parnamirim/RN;
- c. Avaliar a fauna de flebotomíneos e a densidade do vetor *Lu. longipalpis*, nas três áreas: urbana, periurbana e rural do Município de Parnamirim/RN;
- d. Associar os fatores sociais, econômicos e ambientais com a infecção por *L. chagasi* nas três áreas do estudo: urbana, periurbana e rural do Município de Parnamirim/RN;
- e. Realizar mapeamento espacial de predição e probabilidade da infecção humana e canina por *L. chagasi*, em duas áreas do estudo: urbana e rural, do Município de Parnamirim/RN.

4 MÉTODOS

4.1 ÁREA DO ESTUDO

O Município de Parnamirim está localizado na região litoral leste do Estado do Rio Grande do Norte, a uma altitude de 53 metros acima do nível do mar e possui uma área de 126,6 km². A população de 180.000 habitantes (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE 2006) está distribuída 100% na área urbana, sendo, portanto um município totalmente urbano; porém, ainda há trechos com características periurbanas e até rurais. O município possui 75.251 imóveis (Programa de Controle da Febre Amarela e Dengue - FAD 2006), 95,8% destes possuem abastecimento de água e 89,5% têm coleta regular de lixo (Secretaria Municipal de Saúde – SMS/ Parnamirim).

Parnamirim limita-se com os Municípios de Macaíba, São José de Mipibu, Natal e com o oceano Atlântico. De acordo com o IBGE o município é constituído predominantemente de áreas planas, com vegetação arbustiva, umidade relativa do ar em torno de 74% a 80% e clima predominantemente do tipo tropical subúmido com chuvas de fevereiro a setembro. A temperatura média oscila entre 20°C e 33°C. Possui uma economia baseada na indústria e no turismo (IBGE, 2005).

4.2 CARACTERÍSTICAS DAS LOCALIDADES ESTUDADAS

O estudo foi realizado em três bairros do Município de Parnamirim, a saber: Rosa dos Ventos, Passagem de Areia e Emaús. Os critérios adotados para a definição dessas áreas estão diretamente relacionados com a concentração dos casos humanos de LV no período de 1990 a 2006. Dados da Secretaria de Estado da Saúde Pública do Rio Grande do Norte – SESAP/RN mostram que os bairros

selecionados são responsáveis por 39,7% dos 224 casos humanos de LV notificados no município, no mesmo período.

Esses bairros possuem histórico de elevada prevalência canina para LV e presença do vetor *Lu. longipalpis*. Apesar das transformações ambientais decorrentes do processo acelerado de urbanização, pode-se encontrar nesses bairros trechos com aspecto urbano, periurbano e rural. Nesses trechos, foram selecionados, de forma aleatória, os imóveis a serem incluídos no estudo, com distância entre eles de aproximadamente 300 m.

As áreas da pesquisa apresentam solo arenoso com topografia plana e regular, tipo e grau de cobertura vegetal muito semelhante entre si. Apresentam vegetação de tabuleiro, com plantas arbustivas e frutíferas, características da zona de transmissão de LV, com predominância de mamoeiro, mangueira, cajueiro, bananeira, acácias e coqueiros.

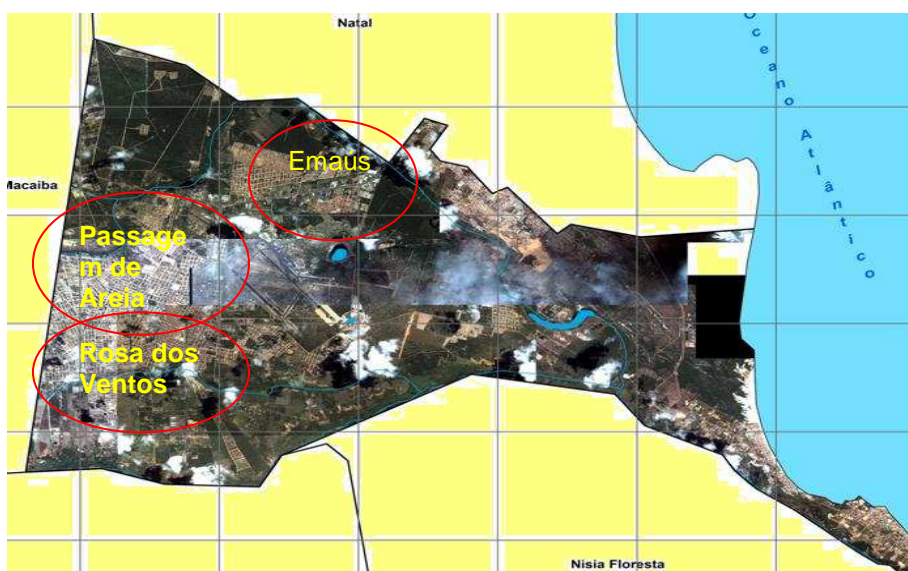


Figura 4 - Localização das áreas do estudo.

Passagem de Areia: bairro com aspectos mistos, sendo partes com características de urbanização recente; outras com características semi-urbanas e pequenos trechos ainda com características rurais. Esta localidade foi classificada para o estudo como rural pelo predomínio desse aspecto.

Emaús: bairro de urbanização recente e acelerada, com trechos de loteamentos em áreas recém desmatadas, com residências de nível social compatíveis com classe média, não há calçamento nem saneamento básico e há pouca oferta de transporte. Assim, essa área foi considerada como periurbana.

Rosa dos Ventos: bairro com características tipicamente urbanas. Ruas calçadas ou asfaltadas, grande quantidade de estabelecimentos comerciais, escolas e boa oferta de transporte urbano. Apesar das características descritas, os imóveis ainda conservam em seus quintais as condições ideais para o desenvolvimento de flebotomíneos.

4.3 DESENHO DO ESTUDO

O estudo foi dividido em três subestudos. *Subestudo 1*: Estudo Transversal da infecção humana e seus determinantes sócio ambientais no ano de 2005. *Subestudo 2*: Estudo observacional longitudinal com coorte fixa para avaliar a dinâmica da infecção canina por *L. chagasi* no período de 2005/2006. *Subestudo 3*: Estudo longitudinal para avaliar a fauna de flebotomíneos e a densidade de *Lu. longipalpis* associando aos fatores climáticos.

4.4 CADASTRO DAS RESIDÊNCIAS

Foram selecionadas, de forma aleatória, 268 residências dentre as três áreas definidas no estudo. Inicialmente foi aplicado um questionário para obtenção de

informações referentes às condições estruturais e sanitárias do imóvel, ambientais em torno do imóvel, como também, às condições sociais da família, (Apêndice B). As residências foram georreferenciadas por Sistema de Posicionamento Global – GPS, tipo MAGELLAN – 315 e CF GPS Receiver 3.3VDC. As famílias cadastradas foram devidamente esclarecidas quanto ao objetivo do estudo. Todos os voluntários concordaram em participar da pesquisa, assinando termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A).

As residências e os indivíduos arrolados no estudo foram separados por área de moradia, classificadas como de alta, média e baixa densidade populacional, de acordo com a concentração e aproximação dos imóveis.

4.5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O protocolo do estudo foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, CEP-UFRN 94/06 e CAAE 0086.0.051.000-06 (Anexo A) e CEP-UFRN 20.01 (Anexo B).

4.6 ESTUDO DA POPULAÇÃO HUMANA

Foram arroladas 345 pessoas residentes nos 268 imóveis cadastrados. Foi realizada coleta média de 10 ml de sangue para pesquisa de anticorpo antiantígeno solúvel de leishmânia (AasL). No momento da coleta também foi realizado o teste de intradermorreação de Montenegro – DTH (do inglês, delayed type hypersensitivity). A leitura foi realizada 48 horas após a aplicação do antígeno. Foram considerados infectados os indivíduos com presença de anticorpos anti-antígeno de leishmânia superior ao *Cut off* estabelecido; como também, os indivíduos que no DTH apresentaram endurações a partir de 5 mm de diâmetro. O antígeno de Montenegro

utilizado nos testes de DTH foi adquirido do Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológico/PR (CPPI, Secretaria de Saúde, Estado do Paraná).

4.7 ESTUDO DA POPULAÇÃO CANINA

A população canina do Município de Parnamirim em 2005 foi estimada em 17.184 cães (SMS - Parnamirim). Foram cadastrados 347 cães, das residências selecionadas. Foram coletados os dados dos animais incluindo nome, idade (em meses e anos), porte, cor, tamanho da pelagem, forma de manutenção do animal, avaliação clínica e raça (Apêndice D). Dos cães arrolados no estudo, foi coletado 5 ml de sangue para pesquisa de anticorpo antileishmânia utilizando métodos e antígenos distintos para diagnóstico, incluindo o extrato solúvel de *Leishmania chagasi* para ELISA EB e antígeno recombinante rK39; como também foi utilizado promastigotas de *Leishmania major* para a Reação de Imunofluorescência Indireta – RIFI.

A raça dos cães foi classificada de acordo com a Federação Cinológica Internacional (FCI), a qual define raça como, o conjunto de indivíduos que apresentam características comuns, que os distinguem de outro representante de sua espécie e que são geneticamente transmissíveis. Foram incluídos no estudo tanto animais puros como de raça não definida, os quais foram denominados - RND. Os cães Pitbull, mesmo não sendo classificados como raça pela FCI, também foram incluídos no estudo como RND.

A dinâmica da renovação da população canina foi levada em consideração e foram incluídos animais com idade igual ou superior a seis (6) meses, uma vez que os anticorpos ainda poderiam ser de origem materna ⁽⁸²⁾. A coleta de sangue dos animais foi realizada com seringas descartáveis, preferencialmente na veia femoral

ou radial. Soro e plasma foram separados no laboratório e conservados a -20° C até o seu uso. Neste estudo, foram considerados positivos apenas os animais reagentes à proteína recombinante rK39, tendo em vista sua especificidade para *L. chagasi* (14;65;83).

Os cães sororreagentes ao rK39 foram recolhidos pela Secretaria Municipal de Saúde de Parnamirim e a eutanásia foi realizada por veterinário da equipe da pesquisa, conforme o preconizado pelas normas técnicas do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral/MS, seguindo a Resolução de nº 714, de 20 de junho de 2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária. Os cães foram eutanasiados com cloreto de potássio a 10%, após anestesia geral prévia com Thiopental sódico, na dosagem de 25mg/kg de peso animal. Os animais positivos por outros métodos diagnósticos foram visitados e examinados por médico veterinário para observação de características clínicas específicas para LVC, e os proprietários foram orientados a realizar tratamento de parasitoses que pudessem estar envolvidas nos resultados dos exames.

Um subgrupo dos animais inicialmente avaliados foi reexaminado seis (6) meses após a primeira coleta e as técnicas diagnósticas foram repetidas. Neste segmento, todas as perdas foram registradas. Nos casos de perda por óbito, as causas foram devidamente investigadas e em nenhum caso obtiveram-se evidências de óbito por LVC. Durante a pesquisa, os cães denominados de vadios, errantes ou irrestritos, foram recolhidos pela Unidade de Controle Animal do Município de Parnamirim.

4.8 EXAMES LABORATORIAIS

O diagnóstico sorológico pela RIFI foi realizado pela equipe técnica do laboratório do Centro de Controle de Zoonoses da Secretaria Municipal de Saúde do Município de Natal-RN. Para detecção de anticorpos IgG foi seguida a metodologia descrita por Costa et al ⁽¹⁹⁾. Nesse diagnóstico, foi utilizado kit padronizado pelo Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos Bio-Manguinhos da Fundação Oswaldo Cruz, RJ. O antígeno do kit são formas promastigotas de *Leishmania major*, e o conjugado utilizado foi uma antiimunoglobulina de cão, fração IgG, marcado com isotocianato de fluoresceína. A diluição do soro foi de 1/40 ⁽⁸⁾.

A detecção de anticorpos anti-*Leishmania* pela técnica do Ensaio Imunoenzimático (ELISA) foi realizada no Laboratório de Imunogenética da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Foi utilizada a fração solúvel de antígenos de promastigotas de *L. chagasi* de um isolado local de medula óssea humana. O ELISA, com a proteína recombinante K39 de *L. chagasi*, foi utilizado apenas nas amostras de cães ⁽⁸⁴⁾. A proteína recombinante rK 39 foi gentilmente cedida pelo Dr. Steven G. Reed (Infectious Diseases Research Institute, Seattle, WA). As microplacas (Falcon Probind, cat. Nº 3915) foram sensibilizadas com o antígeno de *Leishmania* diluído em tampão carbonato–bicarbonato pH 9,6 e incubadas por 18 horas, a 4°C.

Após a incubação, o excesso de antígeno foi removido e o tampão de bloqueio (PBS/Tween20 a 1%) foi adicionado e mantido durante 1 hora, à temperatura ambiente. Em seguida, a placa foi lavada quatro vezes com PBS/Tween20 a 0,1% e os soros das amostras foram diluídos nesse mesmo PBS, em um volume de 100µl, foram aplicados nas diluições de 1:100, 1:500, 1:1000 e 1:10000 a micro placa sensibilizada e incubada a 37°C por uma hora. Em seguida, o

soro foi removido e foi realizada a lavagem dos poços conforme descrito anteriormente.

Depois dessa etapa, o anticorpo secundário (conjugado anti-IgG canina peroxidase, diluído 1:2000, para o extrato bruto) ou a proteína-A (marcada com peroxidase, diluída 1:10000, para o antígeno rK39) foi adicionado (100µl) e incubado durante 1 hora, a 37°C. O excesso do material foi e não desprezado e a placa foi novamente lavada, nas mesmas condições anteriores, para aplicação do substrato (peróxido de hidrogênio), na presença do cromógeno ABTS (2,2'-Azino-bis(3-Ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid) diluído em tampão citrato-fosfato pH 4,2, o qual permaneceu por 1 hora, à temperatura ambiente, em local privado de luz.

A reação foi interrompida pela adição de SDS 5% (Sodium Dodecyl Sulfate). A intensidade da cor desenvolvida é proporcional à quantidade de anticorpo presente na amostra. A densidade óptica foi lida no leitor de micro placas a 405nm (Titerteck Instruments, Inc, Huntsville, AL, EUA). Um ponto de corte para ambos os antígenos foi determinado tanto para humanos quanto para caninos. O *cut-off* (ponto de corte) para o extrato bruto em humanos de 0,119 foi utilizado soros de 28 indivíduos, e no *cut-off* de 0,117 também para o extrato bruto foi utilizado soros de 26 indivíduos provenientes de áreas não endêmicas para a leishmânia. Nas amostras caninas, o *cut-off* de 0,090 para o rK39 foi realizado com soros de 25 cães; e no *cut-off* de 0,107 para o extrato bruto, 23 cães foram utilizados. No *cut-off* de 0,149 para o extrato bruto foram utilizados soros de cães. Todos os controles negativos foram obtidos de cães, provenientes de áreas não endêmicas para *leishmânia*. Em todos os testes foi utilizado o desvio padrão 3.

4.9 ESTUDO DA POPULAÇÃO VETORIAL

O estudo entomológico foi realizado com o objetivo de conhecer a distribuição espacial do vetor, a infestação domiciliar e sua densidade nas áreas do estudo. Por meio da análise desses indicadores, a flutuação durante o período de Dezembro de 2004 a Julho de 2007, em cada área do estudo.

No sentido de avaliar a distribuição da fauna de flebotomíneos e a densidade do vetor *Lu. longipalpis*, nas três áreas do estudo, foram selecionados trinta (30) imóveis dentre aqueles cadastrados, sendo dez (10) em cada uma das áreas definidas. Esses imóveis foram selecionados pelo critério de melhor condição para proliferação de flebotomíneos como: presença de árvores no quintal, criação de animais domésticos e galináceos, oferta de material orgânico nas redondezas. As capturas foram realizadas mensalmente com média de três (3) dias consecutivos de coleta, apenas no peridomicílio, com uso exclusivo de armadilhas luminosas do tipo CDC. Essas foram armadas sempre a uma altura média de 1 metro acima do nível do solo, por volta das 18 horas e recolhidas às 6 horas do dia seguinte.

Os flebotomíneos coletados foram acondicionados em tubos de ensaios com álcool a 70% e encaminhados para o Laboratório de Entomologia da Secretaria de Estado de Saúde Pública. A identificação dos espécimes foi realizada após preparação e classificados com a chave classificatória de Young e Duncan ⁽⁸⁵⁾. Os dados foram compilados em sistema específico (Access 2003).

Foram registrados no início de cada coleta, os dados relativos à temperatura, umidade relativa do ar (URA), velocidade do vento e presença ou ausência de chuva. Para mensurar esses dados foi utilizado um termohigrômetro de máxima e mínima do tipo Lutros – HP 3004. Os valores de temperatura foram dados em centígrados (°C) e os valores da Umidade Relativa do Ar em %.

Para registrar a velocidade do vento, convencionamos da seguinte forma: 1 – forte, 2 – moderado, 3 – fraco, 4 – ausente, 5 – ausente contínuo. Para mensurar a precipitação de chuvas mensais foram utilizados os dados da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte (EMPARN). Deve-se considerar que nos dias chuvosos não foi realizada coleta de flebotomíneos.

Uma semana após a primeira coleta de flebotomíneos, foi realizada borrifação com inseticida residual nos trinta (30) imóveis selecionados como ponto de captura de flebotomíneos. As coletas continuaram mensalmente e quatro meses após a primeira aplicação de inseticida foi realizada a segunda nos mesmos imóveis.

A borrifação foi feita de acordo com a técnica preconizada no Manual do Programa de Vigilância e Controle de Leishmaniose Visceral/MS. Foi usado o inseticida Cipermetrina, pertencente ao grupo dos piretróides sintéticos na dosagem de 125 mg de ingrediente ativo (i.a.) /m² de superfície tratada. A formulação usada foi o pó molhável a 40%. As aplicações foram realizadas com equipamentos de compressão constante (25-55 lbs), tipo Hudson-X-Pert® ou Jacto® com capacidade de 10 litros ⁽⁸⁾. Os imóveis com moradores susceptíveis, como crianças recém-nascidas, pacientes com doenças crônicas, alérgicos e acamados, foram excluídos da aplicação do inseticida.

4.10 ESTUDO DOS ASPECTOS SOCIOAMBIENTAIS RELACIONADOS À INFECÇÃO HUMANA E À CANINA.

Foram registradas no questionário de arrolamento as informações referentes às condições estruturais e sanitárias do imóvel, de acordo com a observação, como também pelas informações dos respectivos proprietários; o perfil das condições ambientais em torno do imóvel como tipo de vegetação no quintal e em torno do

imóvel, presença de animais no quintal e vizinhanças, periodicidade de coleta de lixo, tipo de vegetação dos quintais, destino de águas e dejetos, presença de empoçamento. Essas características foram analisadas para identificar o efeito ou associação com a infecção canina e humana por *L. chagasi*, de acordo com diferentes técnicas diagnósticas.

4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA E AGREGAÇÃO ESPACIAL

O banco de dados das informações coletadas para humanos, cães, flebotomíneos e também ambientais, foi construído no Access 2003. Para a análise estatística dos resultados foi utilizado o programa STATISTICA 6.0 e na análise espacial de dados georeferenciados foi utilizado o programa ArcGis 9.0. Na análise descritiva dos dados foram construídos *Box-Plots* para detecção de normalidade e a presença de valores discrepantes (*outliers*), os quais, quando existentes, foram excluídos do cálculo de parâmetros (média e desvio-padrão) e do teste estatístico (ANOVA) de comparação de médias.

A avaliação do efeito das características domiciliares sobre o resultado dos testes Anticorpo *antileishmania* - AasL, reação do teste de Montenegro - TM e rK39 foi feita de forma quantitativa e qualitativa. Na forma quantitativa, a variável resposta considerada foi a resposta total (AasL, ou K39) relacionada com o *cut-off*, ou seja, considerou-se a resposta total padronizada. Nessa análise foram feitas comparações de médias entre grupos definidos pela variável fator considerada, usando um modelo ANOVA *One Way*.

Na análise qualitativa, também foi aplicado no RIFI, e foi avaliada a hipótese de associação entre a resposta binomial dicotômica (Positivo/Negativo) de cada teste e o fator em questão. O teste estatístico aplicado foi o Qui-Quadrado de Máxima

Verossimilhança para amostras independentes. No estudo de segmento, que se caracteriza pela comparação de duas amostras dependentes, ou seja, comparações entre os resultados do primeiro e segundo momentos foram avaliadas as discordâncias dos resultados pelo teste qui-quadrado de McNamer. O tempo médio entre as duas avaliações foi de 6 (seis) meses. Foram considerados resultados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$.

Finalmente, para avaliar a dependência e autocorrelação espacial dos resultados quantitativos dos testes, foram aplicados modelos de *krigeagem universal* na construção de mapas de probabilidades e predição, usando um enfoque geoestatístico na análise. A aplicação desta técnica foi possível na junção das áreas 1 e 3 (urbana e rural) de Parnamirim, onde o esquema de amostragem proporcionou uma área de estudo conexa.

Para avaliar a infecção humana durante o período de 1990 a 2006 no Rio Grande do Norte e no Município de Parnamirim, foi calculada a taxa de prevalência/100.000.

$$\frac{\text{Total de casos de leishmaniose visceral no período} \times 100.000}{\text{Total da população exposta no período}}$$

Total da população exposta no período

Como indicador de densidade de flebotomíneos foi calculado o índice de infestação domiciliar – IID por espécie, que mede a magnitude e a dispersão do vetor na área.

IID - Índice de Infestação Domiciliar:

$$\frac{\text{N}^{\circ} \text{ de domicílios com } Lu. longipalpis}{\text{Total de domicílios pesquisados (no período)}} \times 100$$

Total de domicílios pesquisados (no período)

A abundância relativa foi avaliada a partir dos dados, que mede a quantidade de flebotomíneos capturados por domicílio, de acordo com local e a técnica da captura.

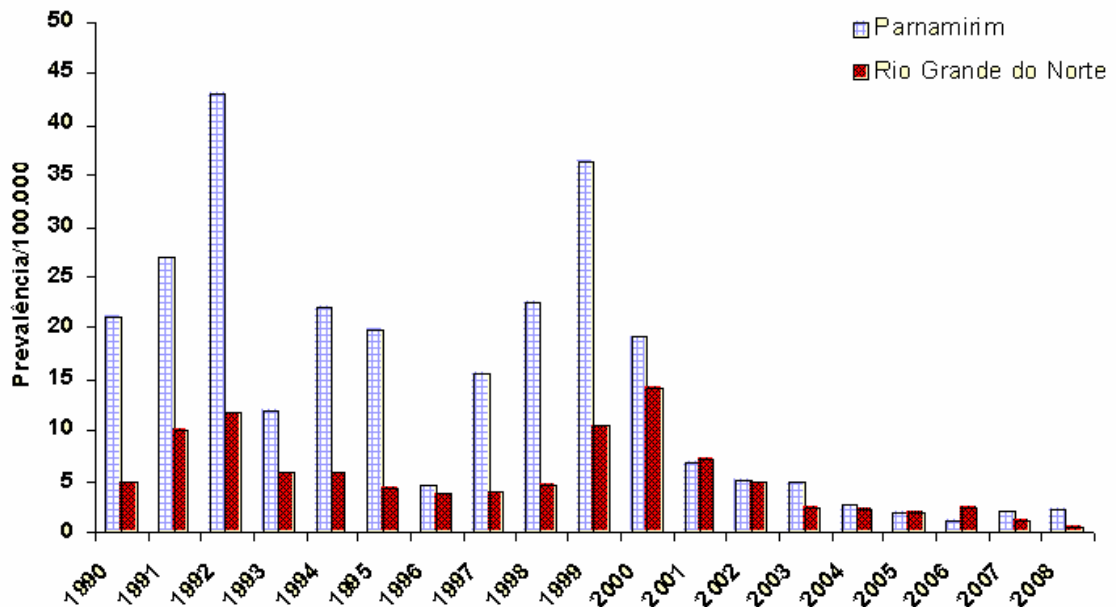
Abundância Relativa:

Nº de *Lu. longipalpis* coletados
Total de domicílios pesquisados

5. RESULTADOS

5.1 LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA EM PARNAMIRIM

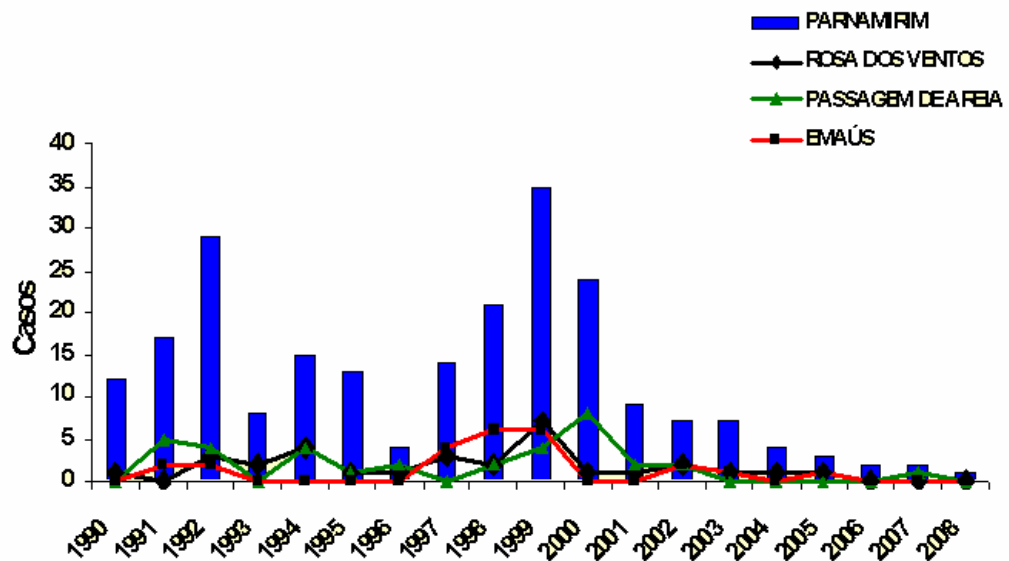
O Município de Parnamirim apresentou no período de 1990 a 2008 um total de 227 casos humanos de leishmaniose visceral (LV). A figura 4 mostra a prevalência da LV humana no Estado do Rio Grande do Norte e no Município de Parnamirim, no período de 1990 a 2008. A prevalência anual dos casos de LV revela um comportamento cíclico, com picos nos anos de 1992 (29 casos) e 1999 (35 casos), com um ciclo aparente de epidemia de 7 anos.



Fonte:SESAP/SUVIGE

Figura 5 – Prevalência de leishmaniose visceral no Município de Parnamirim e no Rio Grande do Norte, no período de 1990 a 2008.

As três áreas de estudo em Parnamirim notificaram um total de 87 casos humanos de LV no período de 1990 a 2006, correspondendo a 39,7% do total de casos relatados no período citado. A série histórica dos casos de LV nas três áreas de estudo é mostrada na figura 5.



Fonte: SESAP/SUM GE

Figura 6 – Prevalência por leishmaniose visceral no Município de Parnamirim e nas três áreas do estudo, no período de 1990 a 2008.

5.2 PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR *LEISHMANIA CHAGASI* EM HUMANOS

A infecção por *L. chagasi* foi estimada pela avaliação da presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e pela reação ao teste de hipersensibilidade retardada a antígeno de *Leishmania*, teste de Montenegro (TM). Foram observados AasL positivos em 24,4% (78 dos 345) e TM em 38,6% (123 de 319), respectivamente, nos indivíduos examinados. Observou-se que 83% (102 de 123) dos indivíduos que apresentaram resposta positiva ao TM, apresentaram AasL negativos, enquanto 29% (57 de 196) que eram TM negativo apresentaram AasL positivo, indicando associação inversa entre a resposta humoral (presença de AasL) e a resposta imune celular (resultado ao TM), conforme mostrado na tabela 1, (p=0,01).

Tabela 1 – Associação inversa da infecção por *Leishmania chagasi* diagnosticada pela presença de Anticorpos *antileishmania* (AasL) e reação ao Teste de Montenegro (TM). $\rho = 0,01$.

AasL	TM		Total n (%)
	Negativo n (%)	Positivo n (%)	
Negativo	139 (57,7)	102(42,3)	241(75,5)
Positivo	57(73,1)	21(26,9)	78(24,4)
Total	196(61,4)	123(38,6)	319(100,0)

$\rho \leq 0,05$

Não foram observadas diferenças no resultado da TM quando consideradas cada uma das áreas de estudo, no entanto, a presença de indivíduos com AasL foi maior na atual área urbana, conforme mostrado na tabela 2.

Tabela 2 – Presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e reação ao Teste de Montenegro (TM), dos indivíduos arrolados no estudo, de acordo com a classificação das áreas estudadas.

Áreas	AasL ($\rho = 0,00$)			TM ($\rho = 0,50$)		
	Positivo n(%)	Negativo n (%)	Total n (%)	Positivo n(%)	Negativo n(%)	Total n(%)
Urbana	47 (40,8)	71 (60,2)	118 (34,2)	40 (38,8)	63 (61,2)	103(32,3)
Periurbana	15 (12,5)	105 (87,5)	120 (34,8)	40 (34,8)	75 (65,2)	115(36,1)
Rural	23 (21,5)	84 (78,5)	107 (31,0)	43 (42,6)	58 (57,4)	101(31,7)
Total	85 (24,6)	260 (75,4)	345 (100,0)	123 (38,6)	196 (61,4)	319(100,0)*

$\rho \leq 0,05$; *Não foram determinados ou lidos o teste de Montenegro para 26 pessoas

Os resultados do TM não diferiram quando considerada a densidade populacional das áreas de estudo, no entanto, a presença de AasL foi maior na área com densidade populacional alta, como pode ser verificado na tabela 3.

Tabela 3 – Presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e reação ao Teste de Montenegro (TM), nos indivíduos arrolados no estudo de acordo com a densidade populacional da área de moradia.

Densidade populacional	AasL (p = 0,00)			TM (p = 0,99)		
	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total n (%)	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total n (%)
Alta	48(39,0)	75(61,0)	123(39,0)	42(38,9)	66(61,1)	108(33,9)
Média	30(16,5)	152(83,5)	182(52,7)	67(38,5)	107(61,5)	174(54,5)
Baixa	7(17,5)	33(82,5)	40(11,6)	14(37,8)	23(62,2)	37(11,6)
Total	85(24,6)	260(75,4)	345(100,0)	123(38,6)	196(61,4)	319(100,0)

$\rho \leq 0,05$

O resultado do TM mostrou associação da infecção por *L. chagasi* com as faixas etárias consideradas ($p=0,03$), como pode ser observado na tabela 4. A faixa etária acima de 50 anos apresentou maior positividade (38,6%), enquanto que a faixa etária abaixo de 10 anos, apresentou menor percentual de positividade (22,2%). Porém, a presença de AasL não foi associada com as faixas etárias analisadas ($p=0,62$), também mostrado na tabela 4.

Tabela 4. Presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e reação ao Teste de Montenegro (TM) conforme a faixa etária dos indivíduos arrolados no estudo.

Faixa etária (anos)	Antígenos					
	AasL ($\rho=0,62$)			TM ($\rho=0,03$)		
	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total n	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total n
≤ 10	4 (21,1)	15 (78,9)	19	4 (22,2)	14 (77,8)	18
11 a 20	17 (23,3)	56 (76,7)	73	24 (36,9)	41 (63,1)	65
25 a 35	19 (23,5)	62 (76,5)	81	21 (28,8)	52 (71,2)	73
36 a 50	27 (30,3)	62 (69,7)	89	33 (40,2)	49 (59,8)	82
> de 50	16 (20,3)	63 (79,7)	79	40 (51,3)	38 (48,7)	78
Total	83 (24,4)	258 (75,6)	341	122 (38,6)	194 (61,4)	316

Quando analisada a infecção por *L. chagasi* em relação ao sexo dos indivíduos, o total de indivíduos do sexo masculino com teste de Montenegro positivo, mostrou que o sexo do indivíduo promove efeito na infecção por *L. chagasi*, $p=0,01$, conforme mostrado na tabela 5. A positividade da infecção em relação ao sexo masculino foi de 48,1% (50 de 104), enquanto que no sexo feminino foi de apenas 33,9% (73 de 215).

Quanto a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL), a análise não mostrou associação com o sexo dos indivíduos arrolados no estudo, indicando que ambos os sexos são expostos no mesmo nível à infecção por *Leishmania*.

Tabela 5 – Presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e reação ao Teste de Montenegro (TM), conforme o sexo dos indivíduos arrolados no estudo.

SEXO	AasL ($\rho = 0,17$)			TM ($\rho = 0,01$)		
	Positivo n(%)	Negativo n(%)	Total	Positivo n (%)	Negativo n(%)	Total
Masculino	24 (20,3)	94 (79,6)	118	50 (48,1)	54 (51,9)	104
Feminino	61 (26,9)	166 (73,1)	227	73 (33,9)	142 (66,1)	215
Total	85(24,6)	260(75,4)	345	104 (38,6)	215 (61,4)	319

$\rho \leq 0,05$

5.3 ANÁLISE DOS FATORES AMBIENTAIS E SOCIAIS RELACIONADOS COM A INFECÇÃO HUMANA

Fatores sociais e ambientais como renda familiar, tempo de residência no imóvel, número de residentes do imóvel, tipo de solo da área, encanamento de água, periodicidade da coleta de lixo, presença de árvores em um raio de 10 metros em torno do imóvel, presença de cães, gatos, aves, jumentos e cavalos no imóvel e na vizinhança, condição do imóvel, se borrifado ou não no último ano e existência de pavimentação nas ruas, não mostraram associação significativa com a presença da

infecção humana verificada pela positividade de AasL e ao TM, conforme mostrado na tabela 6.

Tabela 6. Análise da associação entre a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e reação ao Teste de Montenegro (TM), de acordo com as características das residências, fatores sociais e ambientais.

Variável	Qui quadrado	
	AasL	TM
Renda familiar	$\rho=0,47$	$\rho=0,88$
Tempo de residência no imóvel	$\rho=0,36$	$\rho=0,38$
Nº de residentes no imóvel	$\rho=0,30$	$\rho=0,87$
Encanamento de água	$\rho=0,80$	$\rho=0,94$
Periodicidade da coleta de lixo	$\rho=0,00^*$	$\rho=0,26$
Presença de árvores em um raio de 10 metros	$\rho=0,06$	$\rho=0,26$
Presença de cães no imóvel	$\rho=0,10$	$\rho=0,86$
Presença de gatos no imóvel	$\rho=0,84$	$\rho=0,32$
Presença de aves no imóvel	$\rho=0,18$	$\rho=0,73$
Presença de jumentos e cavalos no imóvel	$\rho=0,19$	$\rho=0,84$
Presença de cães na vizinhança	$\rho=0,00^*$	$\rho=0,24$
Presença de gatos na vizinhança	$\rho=0,39$	$\rho=0,00^*$
Presença de aves na vizinhança	$\rho=0,00^*$	$\rho=0,06$
Presença de jumentos e cavalos na vizinhança	$\rho=0,00^*$	$\rho=0,01^*$
Imóvel borrifado ou não no último ano	$\rho=0,25$	$\rho=0,12$
Pavimentação das ruas	$\rho=0,50$	$\rho=0,07$
Tipo de vegetação da área	$\rho=0,00$	$\rho=0,35$
Tipo de solo da área	$\rho=1,00$	$\rho=1,00$
Tipo de parede do imóvel	$\rho=0,01$	$\rho=0,08$
Tipo de piso do imóvel	$\rho=0,05$	$\rho=0,00$

$\rho \leq 0,05$; * Associação inversa ou negativa

O estudo mostrou que existe associação entre a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e o tipo de parede dos imóveis, $\rho=0,01$. Sendo que. 100,0% dos indivíduos que residem em imóveis com paredes de barro ou taipa apresentaram anticorpos *antileishmânia*. Também foi observada associação significativa entre o

tipo de piso dos imóveis e a positividade dos indivíduos ao TM. Observou-se que 100,0% dos imóveis com piso de terra ou barro, apresentaram indivíduos positivos ao TM, $p=0,00$.

Não foi observado nesse estudo associação significativa entre a presença de aves no imóvel com a infecção humana, TM, $p= 0,73$ e AasL $p=0,19$. Também não foi observada associação significativa entre a presença de aves nas vizinhanças com a presença de AasL, nos indivíduos arrolados. Observou-se sim, que o maior percentual de indivíduos com presença de AasL (29,4%) foi encontrado na ausência de aves nas vizinhanças, mostrando uma associação negativa, $p= 0,00$. Em relação à resposta imune pelo TM, também não foi encontrada associação com a presença de aves na vizinhança; 41,6% dos indivíduos com TM positivo foram encontrados na ausência de aves nas vizinhanças, $p=0,06$.

Quanto ao tipo de vegetação das áreas estudadas, foi observado que 28,3% dos indivíduos com presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) residiam em áreas com vegetação do tipo frutífera, evidenciando uma associação significativa do tipo de vegetação com a infecção humana por *L. chagasi*, $p=0,00$.

Também foi observada associação significativa entre o tipo de piso dos imóveis e a presença de anticorpos *antileishmania*, AasL, $p=0,05$ e TM $p=0,00$, como mostra a tabela 7.

Tabela 7 – Associação entre a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e reação ao Teste de Montenegro (TM), de acordo com os tipos de piso dos imóveis habitados pelos indivíduos arrolados no estudo.

Tipo de piso	AasL ($\rho=0,05$)			TM ($\rho=0,00$)		
	Post. n(%)	Neg. n(%)	Total n(%)	Post. n(%)	Neg. n(%)	Total n(%)
Terra/barro	0 (0,0)	4 (100,0)	4 (1,2)	4(100,0)	0 (0,0)	4 (1,3)
Cerâmica	44 (21,6)	160 (78,4)	204 (59,7)	77(41,4)	109 (58,6)	186(58,9)
Outro	41 (30,6)	93 (69,4)	134 (39,2)	40(31,8)	86 (68,3)	126(39,9)
Total	85 (24,9)	257 (75,2)	342(100,0)	121(38,3)	195(61,7)	316(100,0)

$\rho \leq 0,05$;

Foi evidenciado no estudo uma associação significativa entre o destino das águas e dejetos dos imóveis e a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) nos indivíduos arrolados. O maior percentual de indivíduos positivos (38,4%) foi encontrado nos imóveis que possuem fossa séptica apenas para os dejetos do banheiro nos quais as águas servidas são jogadas no quintal ou na rua, como mostrado na tabela 8.

Tabela 8 – Associação entre a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e reação ao teste de Montenegro (TM) dos indivíduos, de acordo com o destino das águas e dejetos dos imóveis arrolados no estudo.

Destino das águas e dejetos	AasL ($\rho= 0,00$)			TM ($\rho = 0,60$)		
	Positivo n(%)	Negativo n(%)	Total n(%)	Positivo n (%)	Negativo n(%)	Total n(%)
Fossa para banheiro	38(38,38)	61(61,62)	99(29,12)	37 (43,02)	49 (56,98)	86(27,39)
Dejetos a céu aberto	17(36,17)	30(63,83)	47(13,82)	19 (42,22)	26(57,78)	45(14,33)
Fossa para água servida	30(15,71)	161(84,29)	191(56,18)	64(35,36)	117(64,64)	181(57,64)
Outros	0(0,0)	3(100)	3(0,88)	1(50,0)	1(50,0)	2(0,64)
Total	85(25)	255(75,0)	340(100)	121 (38,54)	193(61,46)	314(100)

$\rho \leq 0,05$

Quando avaliada a infecção humana através da positividade ao teste de Montenegro, observou-se que: destino das águas e dejetos dos imóveis ($p=0,60$), número de residentes no imóvel ($p=0,87$), tipo de parede do imóvel ($p=0,08$), presença de vegetação em torno do imóvel ($p=0,26$), presença de animais no imóvel ($p=0,50$), pavimentação das ruas da área do estudo ($p=0,07$), e a condição do imóvel se borrifado ou não no último ano ($p=0,12$); não foi observado associação com a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) nos indivíduos arrolados no estudo.

Outros fatores ambientais também foram analisados qualitativamente quanto ao TM: tipo de solo da área ($p=1,00$), presença de gatos no imóvel ($p=0,32$), presença de cães na vizinhança ($p=0,24$) e presença de aves na vizinhança ($p=0,06$), também não foi observado associação com a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL). No entanto, alguns indicadores ambientais analisados no estudo mostraram associação negativa com a resposta imunológica medida pela positividade ao teste de Montenegro, como: presença de porcos na vizinhança ($p=0,02$)* e presença de jumentos e cavalos na vizinhança, ($p=0,01$)*.

5.4 INFECÇÃO CANINA POR *L. CHAGASI* EM PARNAMIRIM.

O percentual de infecção canina avaliada pela presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) nos cães arrolados foi de 32,5% (101 de 311), nas três áreas do estudo. A mesma população de cães apresentou uma positividade de 2,3% (7 de 311), quando analisado a presença anticorpos *antileishmania* (AasL) acrescido da proteína recombinante k39, conforme mostra a Tabela 9.

Tabela 9 – Associação entre a resposta imune medida pela presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) acrescida da proteína recombinante k39, nos cães arrolados no estudo, de acordo com a área de residência.

Áreas estudadas	Antígenos					
	AasL ($\rho = 0,30$)			rK39 ($\rho = 0,35$)		
	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total n (%)	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total n (%)
Urbana	30 (34,5)	57 (65,5)	87 (28,0)	1 (1,2)	86 (98,9)	87 (28,0)
Periurbana	26 (26,5)	72 (73,5)	98 (31,5)	4 (4,1)	94 (95,9)	98 (31,5)
Rural	45 (35,7)	81 (64,3)	126 (40,5)	2 (1,6)	124 (98,4)	126 (40,5)
Total	101 (32,5)	210 (67,5)	311 (100,0)	7 (2,3)	304 (97,7)	311 (100,0)

$\rho \leq 0,05$

De acordo com a tabela acima, não foi observada associação entre a infecção canina e a área de residência dos animais arrolados no estudo, $\rho = 0,30$.

A análise quantitativa também mostrou que das 321 amostras caninas examinadas pelo método de RIFI, 30% apresentaram-se positivas e 70% negativas. Na análise qualitativa, não foi encontrada associação entre os exames realizados pelo método de RIFI com os exames realizados pelo método ELISA (AasL), como também, não foi encontrada associação entre os exames positivos pelo método de RIFI com a área de moradia dos animais.

Considerando que os cães foram separados em dois grupos: raça definida (RD) e raça não definida (RND), foi observada uma positividade de 2,2% (7 de 311) no grupo de RND, pela presença de AasL com rK39. Quanto à positividade apenas pela presença de AasL, foi observado uma positividade de 24,4% (20 de 311) no grupo RD e 35,4% (81 de 311) no grupo RND. É evidente a associação da infecção canina por *L. chagasi* nos cães de RND examinados pelo método ELISA com a proteína recombinante r39. No entanto, deve-se considerar que, na ausência da

proteína rK39, observou-se uma propensão à associação da a infecção canina com o grupo de cães RND, conforme mostra a tabela 10.

Tabela 10 – Associação entre a resposta imune medida pela presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e acrescida da proteína recombinante k39, nos cães arrolados no estudo, de acordo com o grupo de raças.

Raças	AasL ($\rho=0,06$)			rK39 ($\rho=0,03$)		
	Negativo n (%)	Positivo n (%)	Total n (%)	Negativo n (%)	Positivo n (%)	Total n (%)
Definida	62 (75,6)	20 (24,4)	82(67,5)	82 (100,0)	0 (0,0)	82 (26,4)
Não definida	148 (64,6)	81 (35,4)	229 (32,5)	222 (96,9)	7(3,1)	229 (73,6)
Total n (%)	210(67,5)	101(32,5)	311(100,0)	304 (97,75)	7 (2,2)	311(100,0)

$\rho \leq 0,05$

O tamanho do pêlo dos cães (pequeno, médio e grande) apresentou efeito na infecção por *L. chagasi* apenas quando avaliada a presença de anticorpos *antileishmânia*, AasL $p=0,04$. Esse mesmo efeito não foi observado na presença da proteína rK39 $p=0,07$. Qualitativamente, esse fator também não mostrou associação com a infecção canina por *L. chagasi*, rK39 $p=0,10$ e AasL $p=0,83$.

Quanto ao porte, os cães foram agrupados em: pequeno, médio e grande. Na análise quantitativa, esse fator não mostrou efeito da infecção por *L. chagasi* em relação ao tamanho dos animais; rK39 $p=0,44$, e AasL $p=0,05$. Porém, na análise qualitativa, esse fator apresentou associação com a infecção por *L. chagasi*, AasL $p=0,04$. O grupo de cães de porte médio apresentou uma positividade de 72,4% (79 de 318).

Quanto à idade os cães foram agrupados da seguinte forma: ≤ 1 ano, 1 a 2 anos, 2 a 4 anos e $>$ de 4 anos. Este fator não apresentou associação significativa com a infecção por *L. chagasi*, rK39 $p=0,40$ e AasL $p=0,17$, respectivamente.

Em relação ao gênero dos cães arrolados no estudo, a análise quantitativa não mostrou efeito desse fator com a infecção por *L. chagasi*, rK39 $p=0,53$ e AasL $p=0,96$. Qualitativamente, esse fator também não mostrou associação com a infecção por *L. chagasi*, rK39 $p=0,39$ e AasL $p=0,47$, respectivamente.

Quanto à presença de sintomas clássicos de leishmaniose visceral canina, os animais foram agrupados da seguinte forma: grupo que não apresentava nenhum sintoma, grupo que apresentava apenas um sintoma, grupo que apresentava dois sintomas e os que apresentavam três ou mais sintomas. Não foi observada associação significativa entre o total de sintomas clássicos de LVC com a infecção por *L. chagasi*, como mostra a tabela 11. No entanto, é importante observar que dos 113 animais positivos para a presença de anticorpos *anti-Leishmania* (AasL), 92% (104) não apresentavam nenhum sintoma, evidenciando a infecção nos cães assintomáticos.

Tabela 11 – Associação entre a resposta imune medida pela presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e a presença da proteína recombinante k39, nos cães arrolados no estudo, de acordo com os sintomas clássicos de LVC.

Sintomas de LV	Antígenos					
	AasL ($p=0,19$)			rK39 ($p=0,51$)		
	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total n (%)	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total n (%)
Nenhum	104 (92,1)	219 (93,6)	323 (93,1)	8 (80,0)	315 (93,4)	323 (93,1)
Um	4 (3,5)	7 (2,0)	11 (3,2)	1 (10,0)	10 (2,97)	11 (3,2)
Dois	3 (2,7)	8 (3,4)	11 (3,12)	1 (10,0)	10 (2,97)	11 (3,2)
Três ou +	2 (1,8)	0 (00)	2 (0,6)	0 (0)	2 (0,59)	2 (0,6)
Total n(%)	113 (32,6)	234 (67,4)	347 (100)	10 (2,9)	337 (97,1)	347 (100)

$p \leq 0,05$

Dos cães com sorologia positiva na presença da proteína rK39, que foram necropsiados, ao exame macroscópico realizado durante a necropsia observou-se onicogribose, úlceras interdigitais, dermatite, hepatoesplenomegalia, descamação e magreza. No momento da necropsia foram coletados fragmentos de baço e fígado, que foram cultivados em meio NNN bifásico, para investigação de crescimento do parasita específico. Porém, não foram identificadas formas promastigotas de *Leishmania* em nenhuma das amostras coletadas.

5.5 ANÁLISE DOS FATORES SOCIAIS E AMBIENTAIS RELACIONADOS COM A INFECÇÃO CANINA

No tocante aos fatores sociais, foi observada a associação da renda familiar com a infecção canina por *L. chagasi*, apenas quando considerada a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL), acrescida da proteína recombinante k39, $p=0,03$. Quanto à densidade populacional da área, não foi observada associação ou efeito da infecção canina com esse fator, qui quadrado, K39 $p=0,06$ e AasL, $p=0,65$. Anova, rK39 $p=0,82$ e AasL $p=0,16$ respectivamente.

A análise qualitativa também não mostrou associação significativa entre o tempo de moradia no imóvel e a infecção canina, rK39 ($p=0,68$) e AasL ($p=0,10$). No entanto, na análise quantitativa, observou-se o efeito da infecção canina por *L.chagasi* com o tempo de moradia da família no imóvel, AasL $p=0,02$ e rK39 $p=0,01$. Foram encontradas as maiores médias de positividade nos cães em que a familiar residia no imóvel em um período entre 11 a 15 anos.

Tabela 12 – Associação e efeito entre a resposta imune medida pela presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e acrescida da proteína recombinante k39, nos cães arrolados no estudo, de acordo com as variáveis sociais e ambientais

Variável	Qui quadrado		ANOVA	
	AasL	rK39	AasL	rK39
Forma de manutenção dos cães	$\rho = 0,48$	$\rho = 0,73$	$\rho = 0,10$	$\rho = 0,48$
Renda familiar	$\rho = 0,59$	$\rho = 0,03$	$\rho = 0,71$	$\rho = 0,17$
Densidade populacional	$\rho = 0,65$	$\rho = 0,06$	$\rho = 0,16$	$\rho = 0,82$
Tempo de residência	$\rho = 0,10$	$\rho = 0,68$	$\rho = 0,02$	$\rho = 0,01$
Nº de residentes	$\rho = 0,20$	$\rho = 0,39$	$\rho = 0,37$	$\rho = 0,57$
Tipo de vegetação	$\rho = 0,00$	$\rho = 0,79$	$\rho = 0,14$	$\rho = 0,87$
Tipo de solo	$\rho = 0,13$	$\rho = 0,83$	-x-	-x-
Tipo de parede	$\rho = 0,14$	$\rho = 0,27$	$\rho = 0,28$	$\rho = 0,78$
Tipo de piso	$\rho = 0,24$	$\rho = 0,20$	$\rho = 0,64$	$\rho = 0,14$
Destino de águas e dejetos	$\rho = 0,52$	$\rho = 0,09$	$\rho = 0,52$	$\rho = 0,62$
Empoçamento na rua ou quintal	$\rho = 0,00^*$	$\rho = 0,82$	$\rho = 0,00^*$	$\rho = 0,05^*$
Pavimentação da rua	$\rho = 0,05^*$	$\rho = 0,15$	$\rho = 0,02^*$	$\rho = 0,86$
Freqüência da coleta de lixo	$\rho = 0,00^*$	$\rho = 0,71$	$\rho = 0,11$	$\rho = 0,16$
Arvores em um raio de 10 metros	$\rho = 0,09$	$\rho = 0,39$	$\rho = 0,15$	$\rho = 0,73$
Presença de gatos no imóvel	$\rho = 0,01$	$\rho = 0,21$	$\rho = 0,03$	$\rho = 0,24$
Presença de aves no imóvel	$\rho = 0,16$	$\rho = 0,26$	$\rho = 0,72$	$\rho = 0,32$
Jumentos e cavalos no imóvel	$\rho = 0,53$	$\rho = 0,63$	$\rho = 0,71$	$\rho = 0,63$
Cães na vizinhança	$\rho = 0,24$	$\rho = 0,00$	$\rho = 0,77$	$\rho = 0,45$
Gatos na vizinhança	$\rho = 0,25$	$\rho = 0,04$	$\rho = 0,76$	$\rho = 0,78$
Aves na vizinhança	$\rho = 0,79$	$\rho = 0,48$	$\rho = 0,45$	$\rho = 0,03^*$
Jumentos e cavalos na vizinhança	$\rho = 0,02$	$\rho = 0,03$	$\rho = 0,00$	$\rho = 0,65$
Borrifação no último ano	$\rho = 0,85$	$\rho = 0,09$	$\rho = 0,67$	-x-

$\rho \leq 0,05$ (* Associação ou efeito negativo), (-x- Sem condições de análise).

No que diz respeito aos fatores ambientais, foi observado que a presença de gatos no imóvel e nas vizinhanças está associada e promove efeito na infecção canina por *Leishmania*, como mostra a tabela 12. Também se observou que a presença de jumentos e cavalos na vizinhança dos imóveis arrolados no estudo está

associada significativamente e promove efeito na infecção canina, AasL $p=0,02$, rK39 $p= 0,03$ e $p= 0,00$ respectivamente.

Outro achado que mereceu destaque foi a associação da infecção canina, determinada pela presença de anticorpos *antileishmania* (AasL), acrescida da proteína recombinante k39 com a presença de cães na vizinhança $p=0,00$, como mostra a tabela 13.

Tabela 13 – Associação entre a resposta imune medida pela presença de anticorpos *antileishmania* (AasL), acrescida da proteína recombinante k39, nos cães arrolados no estudo, de acordo com a ausência ou presença de cães na vizinhanças.

Cães na Vizinhança	Antígenos					
	AasL ($p=0,24$)			rK39 ($p=0,007$)		
	Negativo n (%)	Positivo n (%)	Total n (%)	Negativo n (%)	Positivo n (%)	Total n (%)
Presença	123(65,08)	66(34,92)	189(60,77)	182 (96,30)	7(3,70)	189(60,77)
Ausência	87(71,31)	35(28,69)	122(39,23)	122(100,0)	0(0,00)	122(39,23)
Total n (%)	210(67,52)	101(32,48)	311(100,0)	304(97,75)	7(2,25)	311(100,0)

$p \leq 0,05$

A análise qualitativa mostrou que outros fatores ambientais que podem ser potencialmente influenciadores na infecção por *L. chagasi*, como: presença de aves no imóvel (rK39 $p=0,26$ e AasL $p=0,16$), presença de jumentos e cavalos no imóvel (rK39 $p=0,63$ e AasL $p=0,53$), não mostraram associação com a infecção canina. Na análise quantitativa, esses mesmos fatores também não mostraram efeito na infecção canina: presença de aves no imóvel (rK39 $p=0,32$ e AasL $p=0,72$), presença de jumentos e cavalos no imóvel (rK39 $p=0,63$ e AasL $p=0,719$).

Fatores ambientais condicionantes para a manutenção de criadouros do vetor *Lu. Longipalpis*, por promover umidade no solo, indicaram que a infecção por *L. chagasi*, está negativamente associada com a presença de empoçamento na rua ou

quintal dos imóveis cadastrados, AasL $p=0,00$. Das amostras examinadas, 41,19%(56 de 302) mostraram positividade quando nunca havia presença de empoçamento na rua ou quintal do imóvel arrolado no estudo.

Também foi observado um efeito negativo da pavimentação das ruas, onde os imóveis foram cadastrados e a infecção canina, AasL; ANOVA, $p= 0,02$. As maiores médias de animais infectados foram encontradas onde havia pavimentação das ruas. A análise quantitativa mostrou que a variável ambiental relacionada à periodicidade da coleta de lixo não promove efeito na infecção canina, ANOVA rK39 $p=0,16$ e AasL, $p= 0,11$, respectivamente.

Fatores quantitativamente analisados quanto à infecção canina pela presença de anticorpos *antileishmania* pelo método de ELISA como: presença de aves no imóvel ($p=0,72$), presença de jumentos e cavalos no imóvel ($p=0,71$), presença de árvores em torno do imóvel ($p=0,15$), presença de porcos nas vizinhanças ($p=0,27$), presença de gatos na vizinhança ($p=0,76$), presença de mais de um cão no imóvel ($p=0,19$) e condição do imóvel, se borrifado ou não no último ano ($p=0,67$), não apresentaram efeito na infecção canina por *L. chagasi*.

Uma variável ambiental relevante analisada como: tipo de vegetação em torno do imóvel, mostrou associação significativa com a infecção canina, AasL $p = 0,00$. O maior percentual (46,15%) dos cães infectados foi encontrado onde a vegetação em torno do imóvel era do tipo arbustiva/frutífera.

5.6 ESTUDO OBSERVACIONAL LONGITUDINAL COM COORTE FIXA DA POPULAÇÃO CANINA

Para estudo de coorte da população canina, foram reexaminados um subgrupo de 177 cães, 51,2% após 6 (seis) meses do arrolamento inicial. No seguimento, nenhum animal apresentou positividade pela presença de anticorpos *antileishmania* (AasL), acrescida da proteína recombinante k39. No entanto, na pesquisa de AasL sem a proteína rK39, 52 cães apresentaram positividade para *L. chagasi*. Um achado relevante encontrado no seguimento foi que, do total de 177 animais, 39 apresentaram perda de anticorpos seis meses após o primeiro exame. Do mesmo total, 15 animais mantiveram-se positivos quanto a presença de AasL. Contudo, um grupo de 37 animais apresentou soroconversão, isto é, no primeiro exame não apresentaram presença de anticorpos *antileishmania* (AasL), no segundo exame, seis meses após, apresentaram-se positivos quanto a presença de AasL

Tabela 14 - Comparação da presença de anticorpos *antileishmania* (AasL), no seguimento da população canina, nos dois momentos da pesquisa (M1 e M2).

AasL M1	AasL M2		Total n (%)
	Negativo n (%)	Positivo n (%)	
Negativo n (%)	86 (69,9)	37 (30,08)	123(69,5)
Positivo n (%)	39 (72,2)	15 (28,8)	54(30,5)
Total n (%)	125(70,62)	52(29,38)	177(100,0)

Qui-quadrado $\rho = 0,75$

5.7 AGREGAÇÃO ESPACIAL DA INFECÇÃO HUMANA E CANINA

Os estudos de agregação espacial, considerando o conjunto de infecção humana e canina, foram realizados apenas para a área urbana e rural, considerando que elas são contínuas e contíguas. A figura 10 mostra em mapa de contornos de linhas, a presença de AasL na população canina sobreposto a um mapa de predição, em manchas, da presença de AasL na população humana das áreas 2 (áreas 2 e 3) do estudo.

O mapa de contorno traça em linhas escuras alta probabilidade de se encontrar cães com AasL acima da média e em linhas claras baixa probabilidade, enquanto o mapa com manchas escuras mostra maior predição da presença de AasL na população humana. Uma análise deste mapa mostra a existência de linhas claras próximas as manchas claras e linhas escuras próximas às manchas escuras, caracterizando uma autocorrelação espacial *local* entre as infecções canina e humana (ver canto inferior direito, por exemplo). É importante lembrar que muitas vezes a correlação global analisada em grande escala é mascarada pela existência de dependência espacial e variação de intensidade.

Não foi observada globalmente correlação entre a infecção humana e canina, considerando a presença de anticorpos *anti-Leishmania*, $r=0,008$ e $p=0,91$, respectivamente. O resultado da comparação entre a presença de anticorpos *antileishmania* em humanos e a utilização da proteína recombinante rK39 em cães também não mostrou correlação, $r=0,03$ $p=0,67$, como também não foi observada correlação entre DTH em humanos e presença de AasL nos cães, $r=0,03$ $p=0,62$, respectivamente. A figura 7 mostra a dispersão da infecção pela presença de AasL humano e canino.

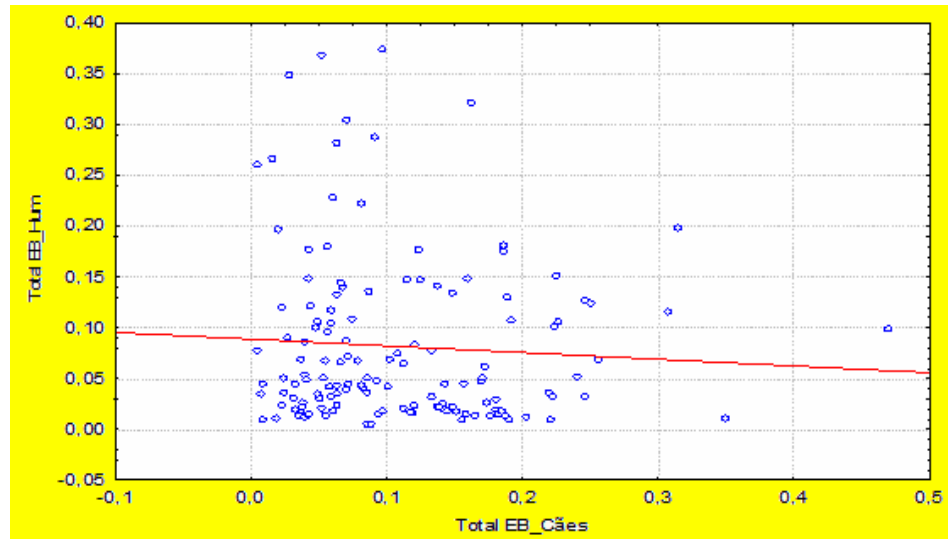


Figura 7 - Dispersão da infecção canina comparada com a infecção humana de acordo com a presença de Anticorpos *antileishmania* (AasL).

A correlação entre a presença de anticorpos *antileishmânia* em cães e em humanos mostrou-se negativa quando analisada a área como um todo. Contudo, quando a área foi dividida em sub-regiões poligonais (clusters), a correlação é perceptível. A figura 8 mostra uma correlação positiva entre o resultado médio da presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) relativo para cães e a presença de AasL em humanos em sub-regiões poligonais ($r=0,79$, $p=0,01$), excluídos os dois últimos pontos à direita).

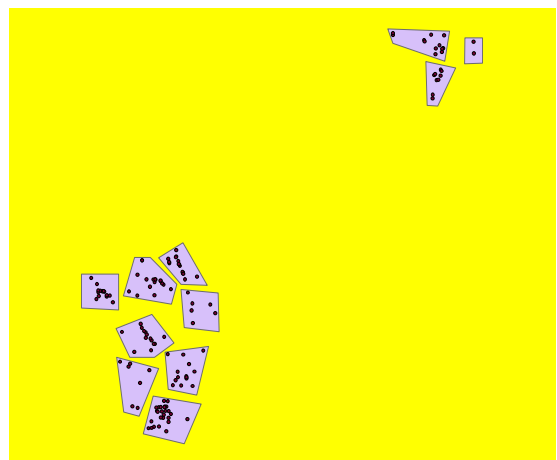
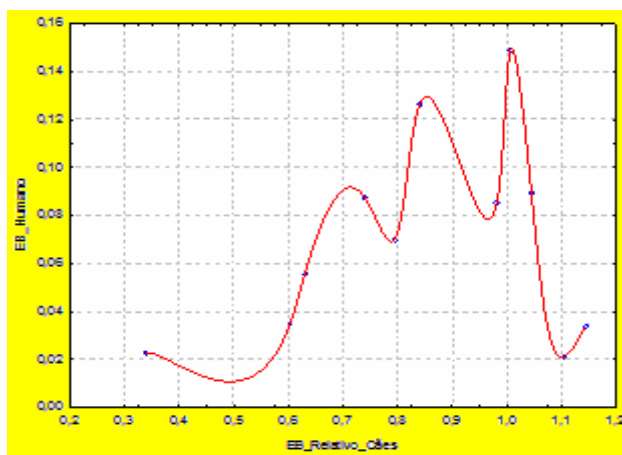


Figura 8 - Correlação entre a infecção humana e canina, de acordo com a presença de anticorpos *anti-Leishmania* (AasL), considerando as sub-regiões poligonais.

A análise mostrada na figura 9 esboça uma correlação positiva ($r=0,41$), embora não significativa ($p=0,206$) entre a resposta ao teste de Montenegro humano e a presença de AasL em cães. Esse fato pode ser decorrente das diferenças temporais entre os dois fenômenos no que diz respeito às respostas imunológicas.

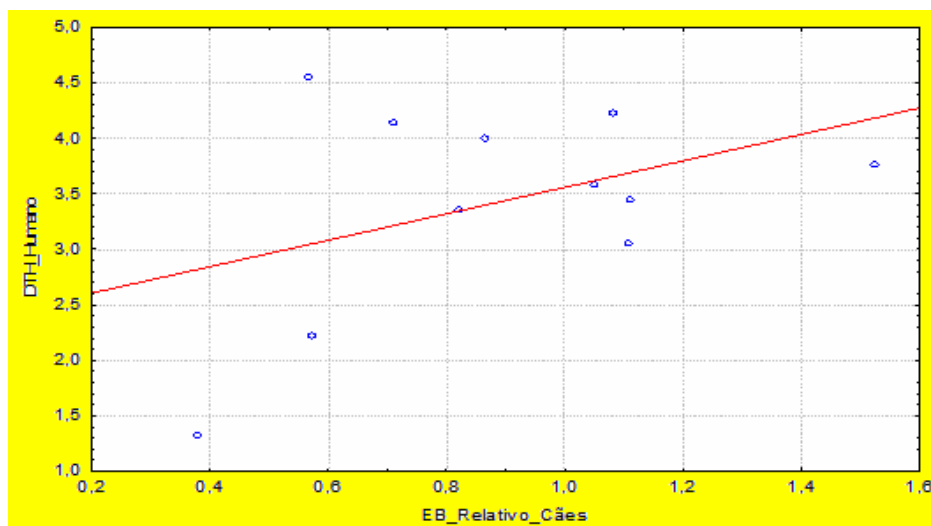


Figura 9 Correlação da infecção humana por *L. chagasi* pela reação ao teste de Montenegro (TM), com a infecção canina, considerando a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL).

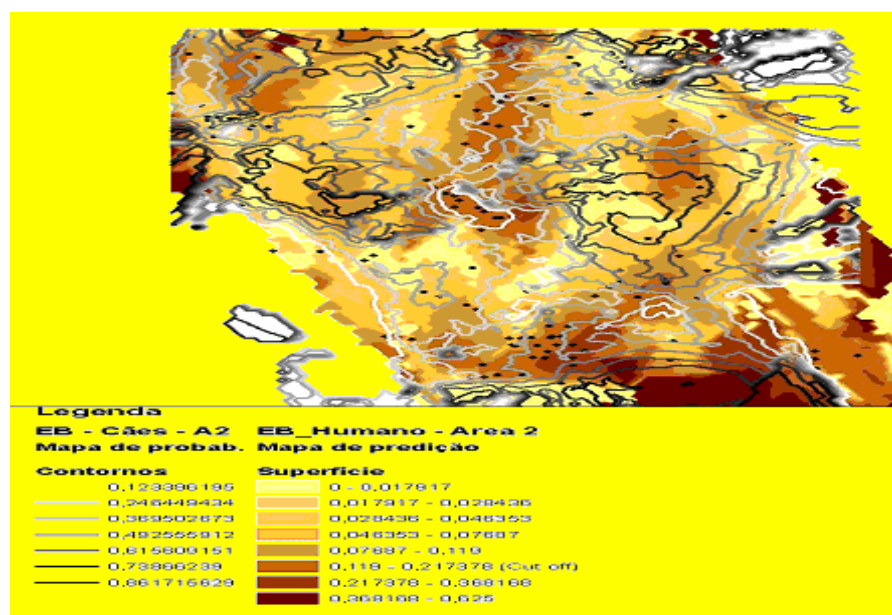


Figura 10 – Probabilidade e predição da infecção humana e canina por *L. chagasi* concomitante, de acordo com o mapa de contornos sobreposto ao de superfície, considerando a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL).

A figura 11 mostra em superfície o mapa de predição da infecção canina através da presença de anticorpos *antileishmania* e em contorno a probabilidade de infecção medida por rK39. Os contornos escuros indicam alta probabilidade de cães infectados detectados pela proteína rK39.

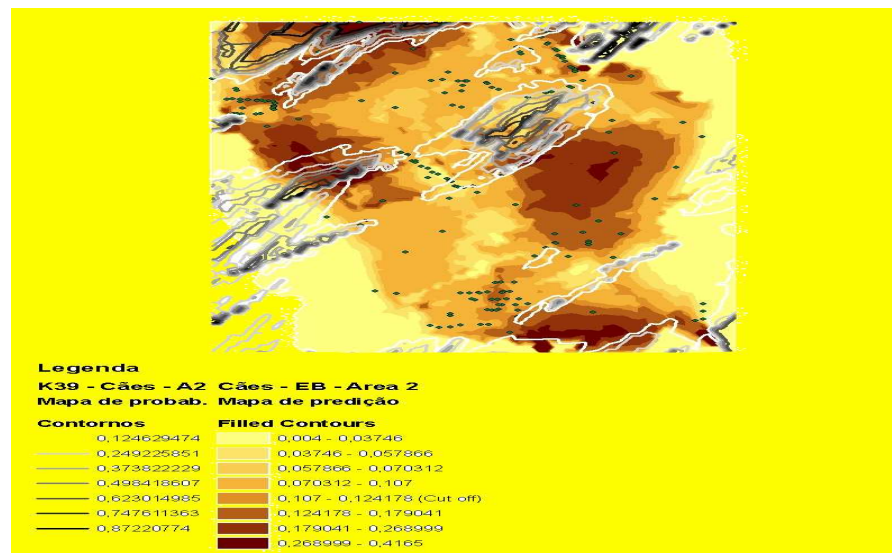


Figura 11. Probabilidade e predição da infecção canina por *L. chagasi*, de acordo com o mapa de contornos sobreposto ao de superfície, considerando a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e a proteína recombinante rK39.

Observa-se, na figura acima, nas áreas com manchas mais escuras e com contorno mais forte, maior probabilidade de se encontrar cães sororreagentes pela presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e da proteína recombinante K39 .

A figura 12 mostra na superfície de manchas, a predição da presença de anticorpos *antileishmania* na população humana, e no contorno, as probabilidades de indivíduos infectados por *L. chagasi* detectados pelo Teste de Montenegro com endurações acima de 5 mm.

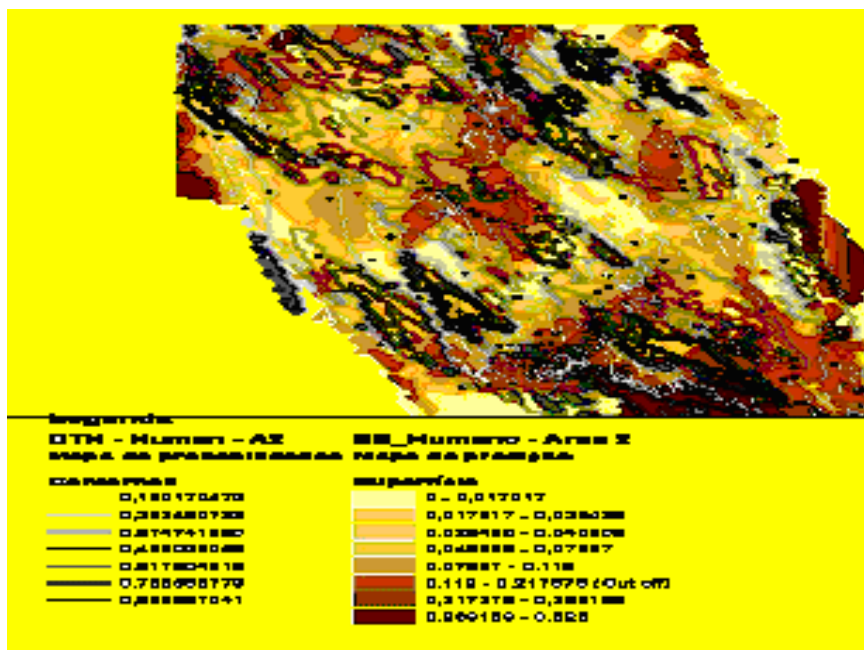


Figura 12 - Probabilidade e predição da infecção humana por *L. chagasi*, considerando a presença de anticorpos *antileishmania* (AasL) e a reação ao Teste de Montenegro.

Observa-se na figura acima, nas áreas mais escuras e com contornos mais fortes, maior probabilidade de se encontrar indivíduos com resposta imunológica tanto pela reação ao TM quanto pela presença de anticorpos *antileishmania* (AasL).

5.8 AVALIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DA FAUNA DE FLEBOTOMÍNEOS E A DENSIDADE DO VETOR *LU. LONGIPALPIS*, NAS TRÊS ÁREAS DO ESTUDO

Foram capturados 254 exemplares de flebotomíneos das espécies: *Lu longipalpis*, *Lu lenti* e *Lu evandroi*, porém *L. longipalpis* foi a espécie predominante, representando 49,3% do total dos coletados. A tabela 15 mostra as espécies coletadas, de acordo com cada área de estudo.

Tabela 15 – Espécies de flebotomíneos coletados por área de estudo no período de dezembro de 2004 a julho de 2007.

Espécies	Localidades			Total n (%)
	Rural	Peri urbana	Urbana	
<i>Lu. longipalpis</i>	122	1	0	123 (48,6)
<i>Lu. lenti</i>	67	5	0	72 (28,4)
<i>Lu. evandroi</i>	56	2	0	58 (22,9)
TOTAL	245	8	0	253 (100)

Foram coletados 245 espécimes de flebotomíneos em Passagem de Areia, área rural. Nessa área foi encontrado o maior número de *Lu longipalpis*, sendo 117 machos e 8 fêmeas, seguido de *Lu lenti*, sendo 47 machos e 18 fêmeas. Por último, foram capturados 44 machos e 8 fêmeas da espécie *Lu evandroi*. Na área periurbana, foi encontrado *Lu longipalpis* apenas no mês de abril de 2006. Na área urbana não foi encontrada nenhuma espécie de flebotomíneo no período estudado.

Conforme pode ser visto na figura 13, os meses de dezembro de 2004 a maio de 2005, dezembro de 2005 a janeiro de 2006, abril de 2006 a maio de 2006, dezembro de 2006 e julho de 2007 são os meses em que foram observadas infestações peridomiciliares na área rural.

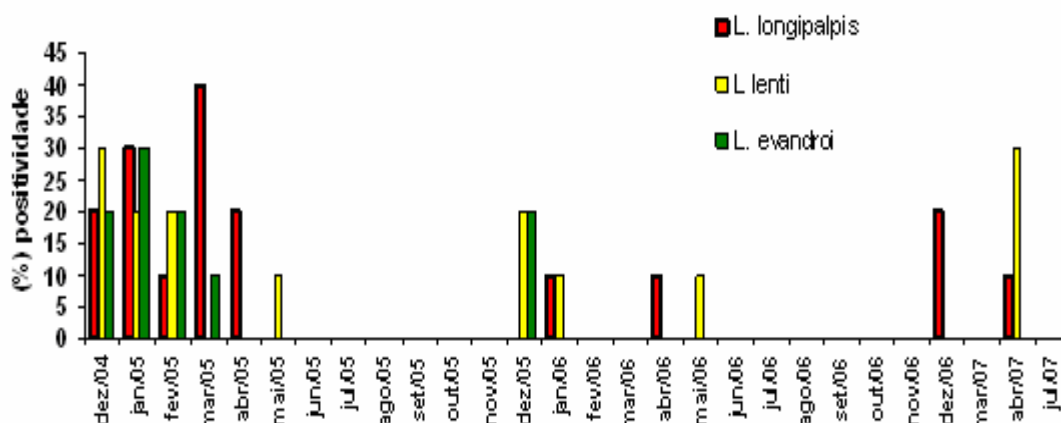


Figura 13 – Percentual de positividade por espécie de flebotomíneos capturados na localidade de Passagem de Areia, nos meses de dez/2004 a jul/2007.

A figura 14 mostra a comparação da infestação encontrada por *Lu longipalpis* e os fatores climáticos como: umidade relativa do ar, temperatura e precipitação pluviométrica.

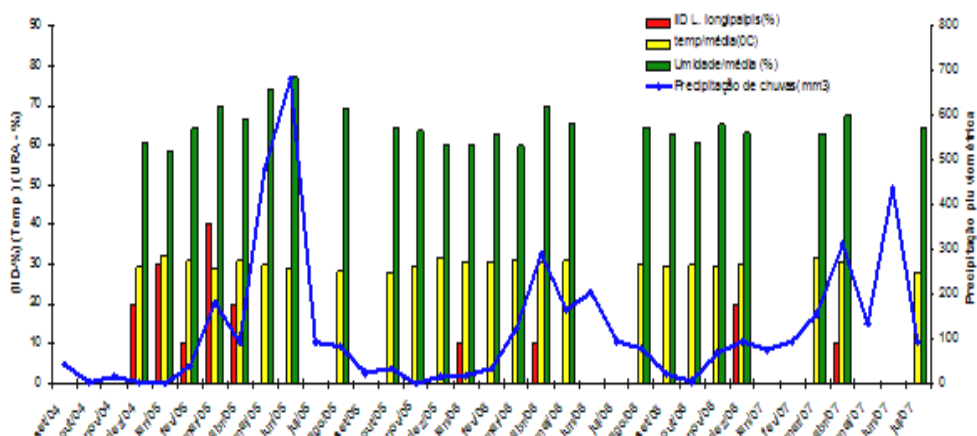


Figura 14 - Infestação por *Lu. longipalpis* e fatores climáticos em Parnamirim nos meses de dez/2004 a jul/2007.

Observou-se que fatores climáticos, como: umidade relativa do ar, temperatura e precipitação pluviométrica, não interferiu na ausência ou presença do

vetor *Lu longipalpis* na ocorrência dos casos humanos no município como mostra a figura 15.

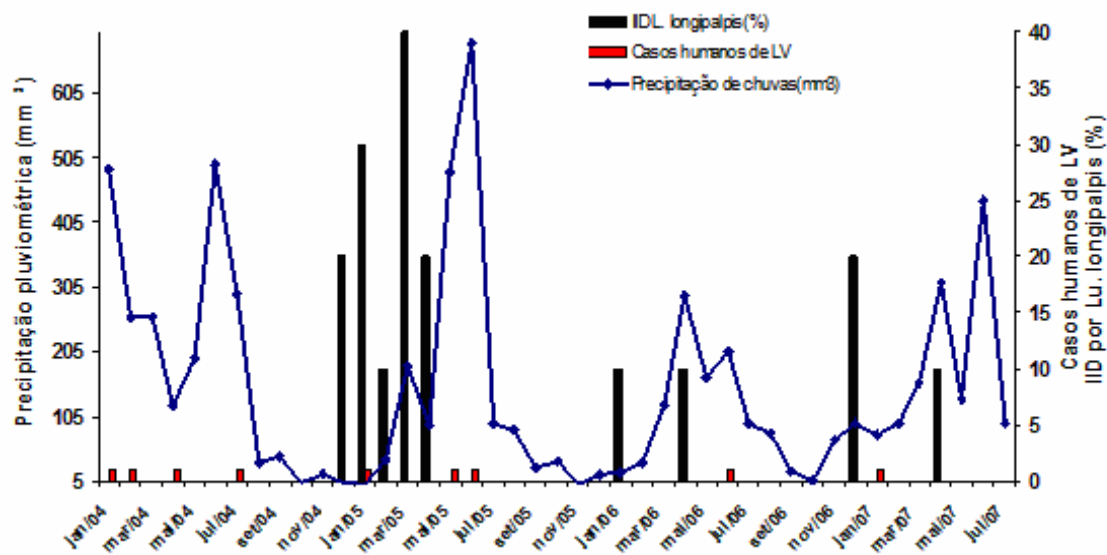


Figura 15 – Infestação por *Lu. longipalpis*, precipitação pluviométrica e casos humanos de leishmaniose visceral ocorridos em Parnamirim no período de janeiro de 2004 a julho de 2007.

6 DISCUSSÃO

6.1 LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA EM PARNAMIRIM

O Estado do Rio Grande do Norte, semelhante aos demais estados do Brasil, tornou-se urbano nos últimos 30 anos. Atualmente, apresenta 70% de sua população residente em áreas urbanas. Esse processo de redistribuição populacional resultou em massiva ocupação de cidades que apresentavam atrativos de trabalho, principalmente Natal e demais cidades localizadas na área perimetropolitana. Como consequência deste padrão de ocupação, muitas vezes sem infra-estrutura adequada, ocorreu a emergência e a reemergência de antigas endemias, incluindo a leishmaniose visceral.

O Município de Parnamirim é um exemplo característico desse crescimento desorganizado, tendo em vista estar localizado na região metropolitana do Rio Grande do Norte e notificou, no período de 1990 a 2006, 224 casos humanos de leishmaniose visceral. Ao longo desse período, ocorreram dois picos de maior notificação de casos com intervalo de 7 anos. A partir do ano 2001, a ocorrência de casos de leishmaniose visceral passou por um visível decréscimo. Esse aspecto cíclico do município estudado é semelhante as demais regiões do Nordeste e do Brasil.

Trabalhos realizados no Ceará ⁽⁸⁶⁾ e no Piauí ⁽¹⁵⁾ em 1974 e 1990, respectivamente, já demonstravam uma tendência à presença de ciclos epidêmicos de leishmaniose visceral. Trabalho realizado na Índia ⁽⁸⁷⁾ mostra que a justificativa para existência de ciclos poderia estar relacionada a fatores ambientais, macro influenciadores na persistência do vetor, e/ou poderia estar relacionado à perda da imunidade da população exposta. Essa possibilidade poderia explicar o aumento

médio de idade ocorrido durante a epidemia do início dos anos 1990, após um período em que a LV tinha sido cuidadosamente controlada na Índia, resultando em população infantil menos exposta, mas também resultando numa população com idade média alta mais susceptível a desenvolver LV.

As três áreas estudadas em Parnamirim contribuíram com um terço do total de casos de LV relatados para o município, no período de 1990 a 2006. Essas áreas estão passando por fortes transformações em suas características originais, com mudanças importantes na infra-estrutura. A população possui baixa condição socioeconômica, com um padrão de moradia carente de infra-estrutura sanitária, mantendo, ainda, animais domésticos (cães, galinhas, cavalos, etc) e seus abrigos próximos às suas residências. Esse comportamento contribui de forma efetiva para a manutenção dos prováveis criadouros do vetor *Lu longipalpis*, concorrendo para a manutenção do ciclo biológico e evolutivo do vetor e, conseqüentemente, da *Leishmania*. Esse perfil é corroborado por pesquisas já realizadas no Estado do Rio Grande do Norte ⁽⁸⁸⁾.

A reação ao teste de hipersensibilidade retardada a antígenos de *Leishmania*, o teste de Montenegro, indica que nas áreas do estudo a exposição dos indivíduos à *Leishmania* tem sido provavelmente contínua nos últimos anos, enquanto a presença de AasL nos indivíduos arrolados mostra que esta exposição é constante e contínua.

A relação inversa da resposta imunológica dos indivíduos arrolados no estudo (AasL x TM) também é corroborada por achados anteriores demonstrada para indivíduos com LV, mas esse achado demonstra a importância da presença de anticorpos como provável modulador da resposta imune celular. Provavelmente, por interferir nos níveis de IL-10, conforme anteriormente mostrado ⁽⁸⁹⁾.

Outros relatos (90) já descreveram a ocorrência de casos assintomáticos de infecção por *L. donovani*, no Kênia, Brasil e Índia. Pessoas com LV sintomática apresentam capacidade de infectar flebotomíneos ⁽¹²⁾, porém os indivíduos assintomáticos com reação de Montenegro positiva não apresentaram esta mesma capacidade.

Neste estudo nenhum dos indivíduos arrolados apresentava sintomas ou sinais clínicos de leishmaniose visceral. No entanto, pesquisadores ^(19; 90) afirmam que é necessário demonstrar a inexistência de *Leishmania* no sangue periférico para confirmar a capacidade de infectar ou não flebotomíneos, como já descrito em outros trabalhos. Os achados deste estudo indicam a detecção de indivíduos infectados na área urbana de Parnamirim, demonstrando que, apesar do processo de implantação de infra-estrutura, ainda há deficiências que permitem a continuidade de situações favoráveis para manutenção do ciclo biológico da *Leishmania*. Esse achado neste estudo é confirmado pelo maior percentual de indivíduos com presença de AasL em áreas de alta densidade populacional.

O maior número de indivíduos positivos ao TM na faixa etária superior a 30 anos mostra o efeito cumulativo da infecção. A maior infecção encontrada nessa faixa etária difere dos resultados encontrados na Índia ^(90;91). Também se deve considerar que a maior positividade na reação ao teste de Montenegro nos indivíduos do sexo masculino difere dos resultados encontrados em Minas Gerais ⁽⁶²⁾. Porém, em um estudo realizado no Kenya (92), não foi observada associação da infecção por *L. chagasi* com o sexo dos indivíduos. No entanto, outros achados ⁽¹⁴⁾, mostram que a infecção ativa por *Leishmania* está relacionada com o sexo masculino.

Outros estudos indicam que os indivíduos do sexo masculino estão sempre mais expostos à infecção, devido às atividades laborais. No entanto, a demonstração que a infecção determinada pela presença de anticorpos *antileishmania* é semelhante entre os sexos, indica igual exposição entre os dois grupos. Porém, a diferença entre os resultados da resposta ao TM pode indicar que algum fator como a resposta inata poderia estar alterando o tipo de resposta imune apresentada pelos indivíduos do sexo feminino. Este achado é relevante e precisa ser mais bem documentado do ponto de vista imunológico.

Estudos realizados em Minas Gerais ⁽⁹³⁾ mostram que o conhecimento dos hábitos alimentares de algumas espécies de flebotomíneos tem contribuído para a compreensão da epidemiologia das leishmanioses. Este estudo infere a *Lu longipalpis* como uma espécie oportunista que se alimenta de várias espécies de vertebrados. Outros estudos ⁽⁵⁾, apontam que as aves (galináceos) são potenciais atrativos alimentares para os flebotomíneos, o que implica que a proximidade e a convivência com as aves aumentam as possibilidades de infecção por *Leishmania*. Entretanto, neste estudo essa tese não foi confirmada, tendo em vista que se encontrou grandes percentuais de indivíduos com presença de *AasL* na ausência de aves no imóvel ou nas vizinhanças.

Além das aves, também se investigou os animais comumente encontrados em convívio com os homens, como cães, gatos, jumentos e cavalos, nos imóveis arrolados no estudo e nas vizinhanças. Nenhuma associação foi encontrada com a infecção humana. No entanto, foi observado que as condições ideais para a proliferação de larvas e adultos de flebotomíneos, como umidade do solo em torno do imóvel decorrente das efluências domésticas e oferta de material orgânico produzido pelas plantas frutíferas, apresentaram associação significativa com a

infecção humana. Isso implica que o vetor está presente no peridomicílio onde provavelmente ocorre a infecção humana.

É provável que a umidade encontrada nos imóveis com piso de terra/barro e parede de barro/taipa ofereça condições favoráveis para o desenvolvimento das larvas de flebotomíneos. Esse estudo mostrou que 100% dos imóveis com este tipo de piso e parede apresentaram indivíduos com reação de Montenegro positiva.

Estudos descrevem que as leishmanioses estão estritamente relacionadas a segmentos de população em situação de pobreza ⁽¹⁸⁾. Assim sendo, os achados aqui descritos corroboram com essa opinião, e pode-se inferir que apesar de a população das áreas endêmicas estarem no mesmo nível de exposição, o segmento com baixa renda per capita e condições de moradia favoráveis à proliferação do vetor apresentam maior susceptibilidade de desenvolver leishmaniose.

No Brasil, desde os estudos realizados em Sobral/CE ⁽⁹⁴⁾ que o cão vem sendo incriminado como o reservatório mais importante da *L. chagasi* em ambiente antrópico. Recentemente, vem sendo observado seu status como principal reservatório do parasita em várias cidades brasileiras, como em Natal/RN ⁽⁹⁵⁾, Teresina/PI ⁽¹⁵⁾, São Luís/MA ⁽⁹⁶⁾, em Belo Horizonte/MG ⁽⁶⁰⁾, como também em Araçatuba/SP ⁽⁹⁷⁾.

Outros estudos mostram que em áreas rurais, a infecção canina por *L. chagasi* está mais associada à ocupação do cão do que ao local de moradia. Cães que são usados como ferramenta de trabalho apresentaram maior probabilidade de infecção do que cães de companhia ⁽⁹⁸⁾. No estudo realizado em Parnamirim, todos os cães arrolados foram classificados como cães de guarda ou de companhia, tendo em vista o perfil da população humana das áreas da pesquisa. Nesses cães,

observou-se associação significativa da infecção por *L. chagasi* com a raça do animal e não com a forma como ele é mantido.

Os cães que são mantidos presos no quintal e dormem no peridomicílio supõe-se que apresentem mais oportunidade de contato com o inseto vetor, o que aumenta a probabilidade de infecção. Porém, neste estudo essa associação não foi significativa. No entanto, a associação da infecção com a raça do animal foi significativa, mostrando que nos cães de raça não definida - RND (mestiços ou vira-latas) foram encontrados maiores níveis de infecção. Essa associação pode ser justificada pelo tamanho da população de cães de RND, como também pelo poder aquisitivo da população estudada, que não permite aquisição e manutenção de cães de raça com pedigree.

Em pesquisa realizada em Montes Claros/MG ⁽⁹⁹⁾, foi observado maior infectividade por *L. chagasi* em cães das raças Boxer e Cocker. De acordo com descrição de estudos realizados na França, Portugal e Grécia ⁽¹⁶⁾, as raças Pastor Alemão, Boxer e Dobermann apresentaram altas prevalência de infecção por *Leishmania*. Esses achados comparados com os resultados deste estudo levam a refletir que a raça do cão não lhe confere nenhum fator de proteção à infecção por *L. chagasi* por fator genético, mas fatores imunológicos e nutricionais podem reduzir ou aumentar a susceptibilidade do animal ao parasita.

Em relação ao vetor da LV, pesquisadores atestam que o vetor *Lu. longipalpis* possui preferência alimentar de sangue canino de acordo com o porte do animal ^(100;101). Em parte, os achados expostos aqui discordam desses estudos, tendo em vista que foi observada associação significativa da infecção por *L. chagasi* apenas em animais de porte médio. Pode-se justificar esse achado considerando a associação da infecção nos cães de RND, os quais na maioria são de porte médio.

Considerando a sintomatologia clássica de leishmaniose visceral canina, apenas 3,5% apresentaram um sinal clínico de LV. Tendo em vista a cronicidade da leishmaniose visceral nas áreas do estudo e o fato de todos os animais terem sido examinados por médico veterinário, esperava-se uma associação significativa dos cães infectados e a sintomatologia da LVC.

Estudos mostraram que os cães assintomáticos são potenciais reservatórios de *Leishmania* ⁽¹⁰²⁾. No entanto, os sinais clínicos mais frequentes nos cães arrolados neste estudo são semelhantes aos encontrados em estudos realizados em outras regiões endêmicas como: onicogribose, lesões cutâneas, perda de pêlo e emagrecimento ⁽⁹⁹⁾. Esses achados confirmam o papel dos cães assintomáticos na manutenção e circulação da *Leishmania*.

A sorologia canina para detecção de *L. chagasi* realizada pelo serviço de saúde pública era feito pela metodologia de RIFI. A taxa de infecção apresentada sempre foi muito baixa quando comparada com a ocorrência de casos humanos e a presença do vetor *Lu. longipalpis*. Neste estudo, comparou-se três métodos diagnósticos (RIFI, rK39 e AasL). As discrepâncias de resultados encontradas entre RIFI e os demais métodos possibilitaram desconsiderar, a análise por RIFI.

O cão é considerado o principal reservatório da *L. chagasi*, porém, em estudos realizados na Europa ⁽⁴⁶⁾, outros animais também foram identificados como reservatório. Neste estudo encontrou-se a associação da presença de jumentos e cavalos em torno dos imóveis arrolados no estudo com a infecção canina. Esse achado demonstra que outros mamíferos podem estar envolvidos na manutenção da *Leishmania* no micro ambiente, mesmo nas áreas urbanas. Outro achado deste estudo que confirma a circulação da *Leishmania* entre os animais é a associação da infecção humana com a presença de cães nas vizinhanças.

Em estudo realizado na Amazônia ⁽¹⁰³⁾, foi mostrado que anticorpos *anti-leishmânia* diminuem em animais sororreagentes que previamente apresentavam altos títulos de anticorpos. Esses achados indicam, potencialmente, a capacidade de resistência de cães a desenvolverem forma sintomática da LV. Neste estudo também foi mostrado que cães saudáveis soroconvertem rapidamente quando colocados em área endêmica. No estudo realizado em Parnamirim, foi observado que um terço dos cães soroconverteram num período de 6 (seis) meses, mostrando o alto grau de exposição nas áreas, apesar de essas áreas serem de transição.

A LV canina por *L. chagasi* tende a preceder a LV humana, mas não está muito clara a interação das infecções por *Leishmania* no homem e em cães residentes em área endêmica. Estudos mostram que a infecção canina por *L. chagasi* é determinante da infecção humana ⁽²⁹⁾, estando positivamente a ela correlacionada.

Neste estudo não se observou esta correlação, quando os dados de infecção entre cães e humanos foram comparados sem levar em consideração a área de exposição. No entanto, ao se considerar as amostras em conglomerados espaciais poligonais, observou-se que a infecção de cães está positivamente correlacionada com a infecção em humanos. Esse dado indica que a interação da resposta à exposição por *L. chagasi* de cães e humanos é dependente da região. Isso pode ser explicado pelo fato de que vários fatores ambientais podem afetar a resposta à infecção. Também seria razoável imaginar que a comparação de infecção de *L. chagasi*, entre humanos e cães de diferentes áreas, apresente relações positivas de forma padronizada. Esse entendimento mostra a necessidade de programar ações de prevenção e controle da LV de forma territorializada.

O conhecimento de aspectos da bioecologia de *Lu. longipalpis* em áreas endêmicas de leishmaniose visceral é importante para o desenvolvimento de novas estratégias de controle. Estudos mostram que o vetor *Lu. longipalpis* tem se adaptado a diferentes ambientes, como áreas urbanas de altas densidades populacionais e áreas periurbanas⁽⁴⁰⁾. Outros achados, afirmam que a presença de *Lu. longipalpis* próxima às habitações humanas, estabelece o ciclo doméstico da leishmaniose visceral, em que o cão doméstico possui papel fundamental na transmissão como principal reservatório⁽⁵⁾.

As condições de transmissão da leishmaniose visceral em Parnamirim seguem o mesmo padrão de outras áreas da região Nordeste, com clima do tipo tropical úmido, com chuvas de fevereiro a setembro, sendo os maiores índices pluviométricos no mês de junho. A umidade relativa do ar está sempre acima de 60%. Pesquisas mostram que, esses fatores favorecem o desenvolvimento das larvas de flebotomíneos⁽³⁶⁾.

Para o padrão de pobreza da região Nordeste, as áreas pesquisadas em Parnamirim não podem ser classificadas como de extrema pobreza. Apesar de essas áreas estarem localizadas na periferia da região metropolitana e a população ser predominantemente de baixa renda, os domicílios possuem abastecimento de água contínuo e condições sanitárias razoáveis. No entanto, a transmissão de *L. chagasi* humana e canina foi constante, mesmo no período em que não foi observada a presença de *Lu. longipalpis*.

Nos inquéritos flebotomínicos realizados em períodos anteriores aos deste estudo, o vetor *Lu. longipalpis* sempre foi encontrado em abundância em toda área metropolitana do Estado. Porém, durante o monitoramento sistemático no período da

pesquisa, essa espécie se fez presente apenas na área rural, e em apenas um mês, na área periurbana.

Durante o período de 2 anos, nenhum espécime foi coletado na área urbana. Esse padrão de comportamento não fortalece a tríade epidemiológica da transmissão da leishmaniose visceral (vetor-cão-homem) já descrito ⁽⁹³⁾. Muitos autores ^(39;104;105), afirmam que *Lu. longipalpis* trata-se de um complexo de espécies com variações de abundância, períodos de ausências, preferências por hospedeiros e comportamento endofágico, o que poderia justificar o comportamento encontrado neste estudo. Porém, os mesmos autores afirmam que essa espécie possui como característica principal a capacidade de se adaptar em ambientes peridomésticos, principalmente na presença de animais domésticos e seu abrigos.

Em trabalho realizado no Maranhão foi observado que as galinhas são atrativos alimentares para *Lu. Longipalpis* ⁽¹⁰⁴⁾. Porém, ressaltaram que essas aves são importantes à medida que permitem a domiciliação do vetor. Já outros resultados obtidos na Colômbia ⁽¹⁰⁶⁾ apontaram o gado como hospedeiro preferencial da hematofagia de *Lu. longipalpis*. No entanto, outros pesquisadores, afirmaram que a preferência de *Lu. longipalpis* por seres humanos estaria ligada ao aumento da densidade do vetor, que ocasionalmente entraria na casa em busca de alimento, encontrando nesse ambiente a fonte alimentar no homem e nos cães ⁽¹⁰¹⁾.

Nas áreas do estudo, foi avaliada a presença de animais domésticos (cão, galinha, gato, porco, cavalo e jumento) nos imóveis cadastrados e vizinhanças. Desses hospedeiros, o cão, cavalo e jumentos, na vizinhança, apresentaram associação com a infecção canina. Assim sendo, pode-se envolver esses reservatórios com o comportamento do vetor *Lu. longipalpis* e conseqüente infecção por *L. chagasi*.

Dos espécimes de *Lu. longipalpis* coletados, a predominância do gênero masculino foi de 94%. De acordo com achados encontrados na Amazônia ⁽³¹⁾ e confirmados por outros pesquisadores ⁽²³⁾ a maior abundância de machos ocorre quando existe colonização de um abrigo animal. Outro estudo mostra que a força de agregação de machos e fêmeas ocorre em parte devido ao feromônio dos machos, e essa força parece ser maior que a presença do hospedeiro ⁽³¹⁾.

Os resultados das coletas mensais do estudo mostraram evidente diferenciação no comportamento de *L. longipalpis* nos anos 2005 a 2006. A infestação e densidade vetorial não acompanharam as variáveis climáticas já descritas como condicionantes para a presença do vetor da leishmaniose visceral ^(36; 107; 108). Assim, considerou-se que neste estudo a população de flebotomíneos apresentou um comportamento diferente do esperado.

7 CONCLUSÕES

1. A taxa de infecção humana e canina por *Leishmania chagasi* encontrada foi *elevada*;
2. A prevalência da infecção canina por *L. chagasi* não mostrou associação com a área de residência dos animais;
3. Foi observada maior prevalência da infecção humana por *L. chagasi* em área urbana de alta densidade populacional;
4. A soroconversão canina observada no período de 6 meses foi *elevada* (30%) nos cães, sem presença de sintomas;
5. A resolução da infecção por *Leishmania* (perda de anticorpos) na população canina foi *elevada* (22%);
6. A vegetação do tipo frutífera está associada com a infecção humana e canina;
7. O tempo de residência da família em um determinado imóvel promove efeito na infecção canina;
8. A presença de cães na vizinhança está associada com a infecção canina por *L. chagasi*;
9. A presença de jumentos e cavalos na vizinhança está associada e causa efeito na infecção canina por *L. chagasi*;
10. O mapeamento espacial de predição e probabilidade mostrou que a infecção humana está relacionada com a infecção canina apenas de forma pontual.
11. A população de flebotomíneos apresentou um comportamento atípico (não esperado) durante o período do estudo;
12. As características socioambientais mostram que a leishmaniose visceral é determinante de pobreza;

APENDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Centro de Biociências
Departamento de Bioquímica
Laboratório de Imunogenética

TÍTULO DO PROJETO: Impacto das Medidas de Intervenção Para o Controle da Leishmaniose Visceral.

Pesquisadores: Iraci Duarte de Lima, Selma M.B. Jeronimo, Hênio Godeiro Lacerda, Paula Vivianne', Núbia Pontes, Bruna Lima, Sérgio Araújo

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar e medir o impacto das medidas de intervenção adotadas no controle do calazar. Sua casa foi selecionada por estar localizada em área onde ocorreu casos de calazar no passado. Pretendemos coletar os mosquitos através de armadilhas. Estas armadilhas serão colocadas em diferentes pontos de sua residência. Iremos colocá-las à noite e coletá-las pela manhã. Iremos examinar os cães presentes na sua residência, como também solicitamos permissão para examinar você e os membros da sua família. Precisaremos coletar uma pequena amostra de sangue de vocês e de seu cão (aproximadamente 5 ml), além de realizar um teste de pele. Este último teste é para avaliar a infecção por *leishmania*.

Se você concordar em participar deste estudo, sua família e seu imóvel serão considerados como participantes durante 12 meses, o tempo de duração desse projeto. Sua participação após a entrevista inicial e a concordância em participar do estudo. Pedimos permissão para visitar sua casa para captura de flebotomos mensalmente por 4 dias consecutivos, borrifar as paredes do imóvel a cada quatro meses e coletar sangue dos cães e dos moradores da casa.

Os riscos associados à participação neste estudo são mínimos, além do mais, teremos todo cuidado com os procedimentos que realizaremos, para que não tragam nenhum dano ou desconforto aos moradores da casa. Todos os dados que obtivermos serão guardados e manipulados em sigilo. Nós assumimos o compromisso de não disponibilizar esses dados para terceiros. As informações colhidas referentes ao local onde você mora será usada para determinar os riscos de transmissão da Leishmaniose Visceral, pela presença ou não do inseto transmissor ou de cão infectado com o germe da doença. A posição precisa de sua residência não irá aparecer em qualquer publicação que venhamos a apresentar.

Os benefícios em participar desta pesquisa são decorrentes da identificação do risco do imóvel estar infestado pelo transmissor da Leishmaniose Visceral; como também, identificarmos se o (s) cão (es) da casa está(ão) doente(s) com. Quanto a borrifação da casa, esta evitará não só o transmissor da doença como também de outros insetos transmissores de doenças. Os dados coletados auxiliarão a Secretaria Municipal de Saúde a monitorar e controlar de forma otimizada a ocorrência dos casos humanos de LV. O registro de sua participação nesse estudo será mantido em sigilo. Guardaremos as informações de cada pessoa e de cada imóvel, em sala

trancada, e somente a pesquisadora ou sua orientadora Dra. Selma Maria B. Jerônimo terão acesso a essas informações. Cada indivíduo e residência que participar da pesquisa receberá um número que será utilizado para identificação. Se qualquer relatório ou publicação resultar deste trabalho, a identificação dos moradores e do imóvel será preservada.

Se houver algum dano decorrente desse estudo ou devido à negligência da equipe envolvida na pesquisa ou do próprio pesquisador, tratamento médico será fornecido sem ônus. Se houver problemas médicos não relacionados aos procedimentos da pesquisa, o próprio indivíduo será responsável. No entanto, o pesquisador tentará contribuir para a solução do problema. A UFRN não fornecerá compensação se o dano não for decorrente dos procedimentos realizados no decorrer da pesquisa.

Toda participação é voluntária. Não há penalidade para alguém que decida não participar desta pesquisa. Ninguém também será penalizado se decidir desistir de participar do estudo, em qualquer época.

Estimulamos que façam pergunta a respeito da pesquisa. Se houver alguma pergunta, contate: **Iraci Duarte (84 – 9921-5478)** ou **Dra. Selma Jerônimo (84 – 3215-3428)** no Departamento de Bioquímica da UFRN.

Este projeto foi avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Norte e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP/CNS/Ministério da Saúde, Brasília).

CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAÇÃO:

Eu estou de acordo com a participação no estudo descrito acima, me submetendo e também autorizando a participação de meus filhos menores. Eu fui devidamente esclarecido quanto aos objetivos da pesquisa, aos procedimentos que serei submetido e os possíveis riscos envolvidos na minha participação.

O pesquisador me garantiu disponibilizar qualquer esclarecimento adicional que eu venha a solicitar durante o curso da pesquisa e o direito de desistir da participação em qualquer momento, sem que a minha desistência implique em qualquer prejuízo a minha pessoa ou minha família.

A minha participação ou a participação do(s) meu(s) filho(s) menor(es) na pesquisa é voluntária, e não implicará em custos ou prejuízos adicionais, sejam esses custos ou prejuízos de caráter econômico, social, psicológico ou moral, sendo garantido o anonimato e o sigilo dos dados referentes a minha identificação ou a identificação de minha casa.



Impressão digital para aqueles impossibilitados de escreverem seu nome

Nome (letra de forma)	Assinatura	Data

COMPROMISSO DO INVESTIGADOR:

Eu discuti as questões acima apresentadas com os indivíduos participantes no estudo ou com o seu representante legalmente autorizado. É minha opinião que o indivíduo entenda os riscos, benefícios e obrigações relacionadas a este projeto.

--

Pesquisador responsável

APENDICE E - Resumo das atividades do componente entomológico

Município:

Localidade

Tipo de pesquisa:

Início:

Término:

Zona: Urbana

Periurbana

Rural

Qt	Casa	Total de flebotomos capturados		Casas positivas	Espécies capturadas no período	% positividade Armadilha CDC		Abundância Relativa Armadilha CDC	
		M	F			Intra	Peri	Intra	Peri
					<i>L. longipalpis</i>				
					<i>L. evandroi</i>				
					<i>L. lenti</i>				
					<i>L. oswaldoi</i>				
					<i>L. goiana</i>				
					<i>L. migonei</i>				
					<i>L. whitmani</i>				
					<i>L. intermedia</i>				
					<i>L. fisheri</i>				
TOTAL									

Infestação Geral: Intra

Peri

Abundância Relativa Geral: Intra

Peri

APÊNDICE F - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



**Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Centro de Biociências
Departamento de Bioquímica
Laboratório de Imunogenética**

Título do Projeto: Determinantes de doença na leishmaniose visceral (CALAZAR)

Pesquisadores: Selma M.B. Jeronimo, Eliana T. Nascimento, Hênio G. Lacerda, Glória R. Monteiro, Edgar Carvalho, Richard D. Pearson, David M. Mosser, Jenefer M. Blackwell, Mary E. Wilson

Estamos convidando você para participar como voluntário num estudo que tem como objetivo estudar a doença conhecida como calazar. Para isto é necessário que você tenha conhecimento sobre a pesquisa e que consinta em participar da mesma avaliando este documento e assinando-o, após a leitura do mesmo. Se você for o pai ou a mãe ou o guardião legal de um menor que esteja sendo convidado a participar deste estudo, o termo “você” se aplica a este menor. O responsável legal, por este menor, será solicitado a ler e dar permissão, por escrito, para que o menor participe deste estudo.

NÚMERO DE PARTICIPANTES NESTE ESTUDO

Aproximadamente 3500 pessoas participarão deste estudo. Esta população é residente no Rio Grande do Norte e será estudada na Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

TEMPO DE DURAÇÃO DESTE ESTUDO

Se você concordar em participar deste estudo, será considerado como participante durante 5 anos, o tempo de duração deste projeto. Sua participação se iniciará após a avaliação do seu estado de saúde. Essa avaliação pode levar até 3 dias. Pedimos permissão para visitar você e sua família, que poderá ser uma a duas vezes por ano ao longo deste estudo.

OBJETIVO

Este estudo envolve pesquisa e tem como objetivo determinar o que leva as pessoas a desenvolverem calazar. Vamos estudar o sistema de defesa (sistema imunológico) para aprender porque as pessoas adoecem com calazar e outras doenças, nas quais o sistema de defesa pode estar envolvido. Estamos convidando você e sua família para participarem neste estudo, porque vocês residem em uma região onde o calazar é comum.

PESQUISA GENÉTICA

Esta é uma pesquisa que se propõe a estudar informações no DNA relacionadas a essas doenças. DNA é a substância encontrada dentro das nossas células, herdada dos nossos pais e transmitidas por nós aos nossos filhos. O DNA será usado em estudos sobre calazar e doenças nas quais o sistema de defesa está envolvido, porque os fatores encontrados no DNA, ligados a nossa defesa e estudados neste projeto, podem também estar relacionados com outras doenças, como tuberculose e doenças inflamatórias.

PROCEDIMENTOS

Procedimentos a serem realizados para aqueles que concordarem em participar do estudo:

1. Responder um questionário referente a sua saúde, inclusive história de vacinação;
2. Coletar sangue (isolamento de células, DNA, plasma e soro)
3. Teste de pele: teste de Montenegro (calazar) e teste tuberculínico (tuberculose)
4. Coleta de esfregaço da boca; (para extração de DNA, quando não for possível coletar sangue)
5. Vacinação contra o tétano.

RISCOS

Os riscos associados à participação neste estudo são mínimos e podem ser sangramentos ou manchas arroxeadas no local da coleta do sangue, infecção e desmaio. No local da realização dos testes na pele, pode ficar um pouco doloroso ou endurecido. Os riscos desses procedimentos são minimizados, seguindo os cuidados de higiene e pressão. No caso de dor e endurecimento no local da realização dos testes na pele, prescreveremos um creme para uso local. Estes sintomas devem desaparecer no período de 72 horas.

Como esta pesquisa envolve o estudo de DNA, assumimos o compromisso de que será usado para os objetivos aqui propostos. No entanto, pedimos permissão para guardar o DNA, o soro e o plasma não utilizados, no Departamento de Bioquímica, na Universidade Federal do Rio Grande do Norte, em tubos identificados através de um código. Seu nome não aparecerá no tubo. Qualquer outro projeto que venhamos a fazer com qualquer amostra coletada de você, que seja diferente do protocolo aqui escrito, será submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Norte e à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, além de ser solicitado um novo termo de consentimento, antes que o estudo seja iniciado. Os resultados dos estudos genéticos serão mantidos em sigilo absoluto. Não permitiremos acesso às informações encontradas a terceiros; tais como, seguradoras de saúde e empregadores.

BENEFÍCIOS

Os benefícios em participar deste estudo são aqueles individuais, nos quais você e os membros de sua família serão avaliados por um médico, quanto à possibilidade de terem sido expostos aos organismos que causam calazar e tuberculose. Para pacientes com calazar, este estudo possibilita o acompanhamento pós-tratamento e definição de cura da infecção. Os benefícios para a comunidade são aqueles decorrentes de estarmos mapeando áreas onde existem a doença calazar e podermos disponibilizar os resultados para a Fundação Nacional de

Saúde. Esperamos também que esses estudos possam resultar em melhora na forma de prevenir o calazar, como o desenvolvimento de vacinas, e aprender porque somente algumas pessoas desenvolvem esta doença. Trataremos problemas médicos encontrados na sua família. Não haverá ônus para você em decorrência dos testes ou tratamento que realizarmos. Para problemas médicos mais complexos, você será encaminhado a um posto de saúde ou hospital público.

AGÊNCIA FINANCIADORA DESTES PROJETO DE PESQUISA

O Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos da América (NIH) financia esta pesquisa. Isto significa que a Universidade da Virginia, Universidade de Iowa e a Universidade Federal do Rio Grande do Norte recebem recursos financeiros do NIH em apoio às atividades científicas deste estudo.

INFORMAÇÕES REFERENTES AO ESTADO DE SAÚDE A SER UTILIZADO NESTE ESTUDO

Informações sigilosas sobre a sua saúde são aquelas que identificam você e estejam relacionadas com a sua saúde física e mental, seja passada, presente ou futura. Estas informações estão geralmente presentes no seu prontuário ou em anotações realizadas por profissionais de saúde. Ao assinar este termo de consentimento, você estará autorizando a liberação dos dados existentes no seu prontuário, para que nós possamos estudá-los. Os dados serão mantidos em sigilo e não os liberaremos para terceiros.

CONFIDENCIALIDADE DO ESTUDO

O registro da sua participação neste estudo será mantido em sigilo, até o limite permitido pela lei. No entanto, agências federais que regulamentam no Brasil ou nos Estados Unidos, os comitês de ética das Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Universidade Federal da Bahia, Universidade da Virginia e Universidade de Iowa podem inspecionar e copiar registros pertinentes a pesquisa e estes podem conter informações identificadoras. Por sua vez, essas agências regulamentadoras dos comitês de ética, tanto no Brasil como nos Estados, manterão sigilos sobre dados, não os disponibilizando a terceiros. Guardaremos os registros de cada pessoa, em sala trancada, e somente a Dra. Selma Jeronimo e/ou pesquisadores trabalhando na equipe terão acesso a estas informações. Cada indivíduo receberá um número para ser utilizado no laboratório. Se qualquer relatório ou publicação resultar deste trabalho, a identificação do paciente não será revelada. Os resultados serão relatados de forma sumariada e indivíduo não será identificado. As amostras coletadas (sangue esfregaço da mucosa da boca) são identificadas através de um código de barra, seu nome não aparecerá no tubo onde elas são coletadas, mantendo, portanto, o sigilo dos seus dados.

DANO ADVINDO DA PESQUISA

Se houver algum dano ou se algum problema ocorrer decorrente desse estudo ou devido à negligência de algum membro da nossa equipe, tratamento médico será fornecido sem ônus e será providenciado pela Dra. Selma Jeronimo e/ou médico que esteja trabalhando com ela. Se houver problemas médicos não relacionados aos procedimentos aqui descritos, o próprio indivíduo será responsável. No entanto, nós tentaremos resolver os problemas médicos que podem ser solucionados em ambulatório e encaminharemos às especialidades aqueles problemas médicos mais complexos.

Se houver algum dano decorrente da participação nesta pesquisa ou se for resultante de negligência de funcionários da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, compensação será disponibilizada por esta universidade. Essa universidade não fornecerá compensação se o dano não for decorrente de procedimentos realizados no decorrer desta pesquisa.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA

Toda participação é voluntária. Não há penalidade para alguém que decida não participar neste estudo. Ninguém também será penalizado se decidir desistir de participar do estudo, em qualquer época. O tratamento para calazar ou outra doença não será diferente, caso você decida participar ou não desta pesquisa.

PERGUNTAS

Esperamos que fique à vontade para fazer perguntas a respeito da pesquisa. Se houver alguma dúvida, contate a Dra Selma Jeronimo (84-3215-3428) no Departamento de Bioquímica da UFRN.

COMITÊ DE ÉTICA

Este projeto foi avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Norte e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP/CNS/Ministério da Saúde, Brasília).

CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAÇÃO

Estou de acordo com a participação no estudo descrito acima, me submetendo e também autorizando a participação de meus filhos menores. Fui devidamente esclarecido (a) quanto aos objetivos da pesquisa, aos procedimentos aos quais serei submetido e os possíveis riscos envolvidos na minha participação. Dou permissão para que o restante do DNA, soro e plasma isolados do meu sangue, não utilizados nesta pesquisa, sejam guardados no Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, sabendo que serei contactado, caso estudos adicionais sejam realizados, para fornecer um novo consentimento. Dou permissão para que parte do DNA, soro e plasma, necessários a realização da pesquisa aqui explicada seja encaminhada, quando necessário for, às Universidades de Iowa, Virginia e Bahia, para que sejam realizados os estudos genéticos ligados a calazar.

Os pesquisadores me garantiram disponibilizar qualquer esclarecimento que se torne necessário e o direito de desistir da participação neste estudo em qualquer momento, sem que a minha desistência implique em qualquer prejuízo a minha pessoa ou a minha família.

A minha participação ou a participação do meu filho(a) menor na pesquisa é voluntária, e não implicará em custos ou prejuízos adicionais, sejam esses custos ou prejuízos de caráter econômico, social, psicológico ou moral, sendo garantido o anonimato e o sigilo dos dados referentes a minha identificação.



Impressão digital para aqueles impossibilitados de escreverem seu nome ou não alfabetizados.

Nome (letra de forma)	Assinatura	Data

Pais ou responsáveis

--	--	--

Testemunha

COMPROMISSO DO INVESTIGADOR

Discuti as questões acima apresentadas com os participantes deste estudo ou com o seu representante legalmente autorizado. É minha opinião que o indivíduo entende os riscos, benefícios e obrigações relacionadas a este projeto.

Pesquisador Responsável	Assinatura	Data

ANEXO A – CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO PARA APRECIÇÃO ÉTICA

PROJETO RECEBIDO NO CEP		CAAE - 0086.0.051.000-06	
Projeto de Pesquisa IMPACTO DAS MEDIDAS DE INTERVENÇÃO PARA O CONTROLE DA LEISHMANIOSE VISCERAL			
Area(s) Temática(s) Especial(s) Não se aplica		Grupo	Fase Não se aplica
Pesquisador Responsável			
CPF 15603016434	Pesquisador Responsável Selma Maria Bezerra Jeronimo	Assinatura	
Comitê de Ética			
Data de Entrega 19/06/2006	Recebimento:	Assinatura	
Este documento deverá ser, obrigatoriamente, anexado ao Projeto de Pesquisa.			
PROJETO RECEBIDO NO CEP		CAAE - 0086.0.051.000-06	
Projeto de Pesquisa IMPACTO DAS MEDIDAS DE INTERVENÇÃO PARA O CONTROLE DA LEISHMANIOSE VISCERAL			
Area(s) Temática(s) Especial(s) Não se aplica		Grupo	Fase Não se aplica
Pesquisador Responsável			
CPF 15603016434	Pesquisador Responsável Selma Maria Bezerra Jeronimo	Assinatura	
Comitê de Ética			
Data de Entrega 19/06/2006	Recebimento:	Assinatura	
Este documento deverá ser, obrigatoriamente, anexado ao Projeto de Pesquisa.			
PROJETO RECEBIDO NO CEP		CAAE - 0086.0.051.000-06	
Projeto de Pesquisa IMPACTO DAS MEDIDAS DE INTERVENÇÃO PARA O CONTROLE DA LEISHMANIOSE VISCERAL			
Area(s) Temática(s) Especial(s) Não se aplica		Grupo	Fase Não se aplica
Pesquisador Responsável			
CPF 15603016434	Pesquisador Responsável Selma Maria Bezerra Jeronimo	Assinatura	
Comitê de Ética			
Data de Entrega 19/06/2006	Recebimento:	Assinatura	
Este documento deverá ser, obrigatoriamente, anexado ao Projeto de Pesquisa.			
PROJETO RECEBIDO NO CEP		CAAE - 0086.0.051.000-06	
Projeto de Pesquisa IMPACTO DAS MEDIDAS DE INTERVENÇÃO PARA O CONTROLE DA LEISHMANIOSE VISCERAL			
Area(s) Temática(s) Especial(s) Não se aplica		Grupo	Fase Não se aplica
Pesquisador Responsável			
CPF 15603016434	Pesquisador Responsável Selma Maria Bezerra Jeronimo	Assinatura	
Comitê de Ética			
Data de Entrega 19/06/2006	Recebimento:	Assinatura	
Este documento deverá ser, obrigatoriamente, anexado ao Projeto de Pesquisa.			

ANEXO B – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA



MINISTÉRIO DE EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE – UFRN
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP

Parecer Consubstanciado

Prot. nº	094/06 CEP-UFRN
CAAE	98037 – SISNEP CAAE 0086.0.051.000-06
Projeto de Pesquisa	Impacto das medidas de intervenção para o controle da leishmaniose visceral
Área de Conhecimento	Ciências da Saúde – Grupo III
Pesquisador Responsável	Selma Maria Bezerra Jerônimo
Instituição Onde Será Realizado	UFRN- Centro de Biociências Departamento de Bioquímica- Laboratório de Imunogenética
Finalidade	Obtenção do Grau de Mestre
Período de realização – Início	Agosto de 2006
Término	Julho de 2007
Revisão Ética em	07 de julho de 2006

RELATO

1. RESUMO

Esse projeto de pesquisa visa avaliar o impacto das medidas de intervenção no controle da infecção e doença em área de transmissão de *Leishmania Chagasi*. Assim, pretende avaliar as medidas de intervenção adotadas para controle a leishmaniose visceral nas localidades da área perimetropolitana de Natal, principalmente, três distritos de Parnamirim. Tem como objetivo específico avaliar o impacto das medidas de controle direcionadas para o vetor da leishmaniose visceral, reservatórios e na infecção por *L. Chagasi* em humanos.

Será realizado um estudo do tipo prospectivo com comparação retrospectiva, utilizando-se como parâmetro as seguintes ações: a) inquérito entomológico; b) sorologia canina e humana; c) eliminação de cães com sorologia positiva para leishmaniose visceral; d) encaminhamento para tratamento de indivíduos diagnosticados com calazar; e) tratamento químico nos imóveis das áreas de transmissão.

2. ENTENDIMENTOS E RECOMENDAÇÕES

O projeto é importante e apresenta benefícios diretos aos sujeitos da pesquisa. Entretanto, faz-se necessário esclarecer/apresentar o motivo pelo qual serão arrolados 2.000 sujeitos. Os pesquisadores irão visitar todos os domicílios das três localidades selecionadas no estudo?

Este esclarecimento constitui uma pendência que deve ser respondida pelo pesquisador responsável.

3 PARECER

Protocolo com Pendências

4. ORIENTAÇÃO AO PESQUISADOR

D acordo com a Resol. 196-96 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) a pendência deve ser respondida exclusivamente pelo pesquisador responsável no prazo de 60 (sessenta) dias, a partir da data de recebimento deste parecer. Após esse prazo o protocolo será considerado RETIRADO. (Resol. 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) Item VII 13b).

Natal, 07 de julho de 2006


Dulce Almeida

Vice-Coordenadora do CEP/UFRN



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA

Prof. Dulce Almeida
Vice-Coordenadora
CEP-UFRN

Ref. Projeto 94-06

Natal, 04 de agosto de 2006.

Senhora Vice-Coordenadora,

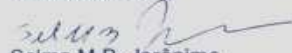
Agradecemos a análise do nosso protocolo de pesquisa (CEP-UFRN 94-06) e respondemos abaixo as pendências referentes aos mesmos. Em *itálico* estão indicadas as pendências referentes a este protocolo, sendo nossas respostas apresentadas em seguida.

1. *Entendimentos:*

- a. *O projeto é importante e apresenta benefícios diretos aos sujeitos da pesquisa. Entretanto, faz-se necessário esclarecer/apresentar o motivo pelo qual serão arrolados 2000 sujeitos. Os pesquisadores irão visitar todos os domicílios das três localidades selecionadas no estudo? A prevalência da infecção por leishmaníase é em torno de 40% nas áreas endêmicas estudadas, no entanto a prevalência da doença humana é baixa, aproximadamente 20 para 100.000. Sendo assim precisaremos arrolar um grupo maior de indivíduos com calazar, e conseqüentemente os contatantes, de maneira a permitir o estudo da influência da infecção-doença nos agregados familiares, além da avaliação dos cães residentes. Iremos estudar, inicialmente, Parnamirim e em seguida as demais localidades.*

Agradecemos à revisão cuidadosa e ficamos no aguardo do parecer final.

Atenciosamente,


Selma M.B. Jerônimo
Professora Titular



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE – UFRN
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP

PARECER CONSUBSTANCIADO
(Final)

Prot. nº	094/06 CEP-UFRN
CAAE	98037 – SISNEP CAAE 0086.0.051.000-06
Projeto de Pesquisa	Impacto das medidas de intervenção para o controle da leishmaniose visceral
Área de Conhecimento	Ciências da Saúde – Grupo III
Pesquisador Responsável	Selma Maria Bezerra Jerônimo
Instituição Onde Será Realizado	UFRN- Centro de Biociências Departamento de Bioquímica-Laboratório de Imunogenética
Finalidade	Obtenção do Grau de Mestre
Período de realização – Início	Agosto de 2006
Término	Julho de 2007
Revisão Ética em	05 de setembro de 2006

RELATO

Considerando que as pendências expostas por este Comitê, foram adequadamente cumpridas, o Protocolo de Pesquisa em pauta enquadra-se na categoria de APROVADO. Natal, 05 de setembro de 2006.

Orientações ao Pesquisador: em conformidade com a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) através do Manual Operacional para Comitês de Ética em Pesquisa (Brasília, 2002-p.65) e Resol. 196/96 – CNS o pesquisador responsável deve:

1. Entregar ao sujeito da pesquisa uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), na íntegra, por ele assinada (Resol. 196/96 – CNS – item IV.2d);
2. Desenvolver a pesquisa conforme foi delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após a análise das razões da descontinuidade pelo CEP/UFRN (Resol. 196/96 – CNS – item III.3z);
3. Apresentar ao CEP/UFRN eventuais emendas ou extensões ao protocolo original, com justificativa (Manual Operacional para Comitês de Ética em Pesquisa – CONEP – Brasília – 2002 – p.41);
4. Apresentar ao CEP/UFRN relatório final (Manual Operacional para Comitês de Ética em Pesquisa - CONEP – Brasília – 2002 – p.65);
5. Os formulários para os Relatórios Parciais e Final estão disponíveis na página do CEP/UFRN (www.etica.ufrn.br).

Natal, 05 de setembro de 2006


Dulce Almeida
Vice-Coordenadora
CEP-UFRN

REFERÊNCIAS

- (1) Desjeux P. Leishmaniasis. *Nat Rev Microbiol* 2004; Sep;2(9):692.
- (2) Rey LC. *Parasitologia - Parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991.
- (3) Ashford RW. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *Int J Parasitol*. 2000; Nov;30(12-13):1269-81.
- (4) Barata RA, Silva JC, Costa RT, Fortes-Dias CL, Silva JC, Paula EV, et al. Phlebotomine sand flies in Porteirinha, an area of American visceral leishmaniasis transmission in the State of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004; Aug;99(5):481-7.
- (5) Lainson R, Rangel EF. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005; Dec;100(8):811-27.
- (6) 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. *Lancet Infect Dis*. 2002; Aug;2(8):494-501.
- (7) dos Santos SO, Arias JR, de Paiva HM, Furlan MB, Ferreira WF, Pereira C, et al. The presence of *Lutzomyia longipalpis* in a focus of American visceral leishmaniasis where the only proven vector is *Lutzomyia cruzi*. Corumba, Mato Grosso do Sul State. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003; Sep;36(5):633-4.
- (8) Ministério da Saúde. *Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral*. Brasília: 2006.
- (9) Caldas AJ, Silva DR, Pereira CC, Nunes PM, Silva BP, Silva AA, et al. [*Leishmania (Leishmania) chagasi* infection in children from an endemic area of visceral leishmaniasis in the Sao Luis Island-MA, Brazil]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2001; Sep;34(5):445-51.
- (10) Marzochi MC. Leishmanioses em áreas urbanas. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1997; I[V], 162-64.
- (11) Gontijo CM, Melo MN. Visceral Leishmaniasis in Brasil: current status, challenges and prospects. *Revi Bras Epid*.7, 338-349.
- (12) Costa CH, Gomes RB, Silva MR, Garcez LM, Ramos PK, Santos RS, et al. Competence of the human host as a reservoir for *Leishmania chagasi*. *J Infect Dis* 2000: Sep;182(3):997-1000.

- (13) Evans TG, Teixeira MJ, McAuliffe IT, Vasconcelos I, Vasconcelos AW, Sousa AA, et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis in northeast Brazil. *J Infect Dis* 1992 Nov;166(5):1124-32.
- (14) Jeronimo SM, Duggal P, Braz RF, Cheng C, Monteiro GR, Nascimento ET, et al. An emerging peri-urban pattern of infection with *Leishmania chagasi*, the protozoan causing visceral leishmaniasis in northeast Brazil. *Scand J Infect Dis* 2004;36(6-7):443-9.
- (15) Costa CH, Pereira HF, Araujo MV. [Visceral leishmaniasis epidemic in the State of Piauí, Brazil, 1980-1986]. *Rev Saude Publica*. 1990: Oct;24(5):361-72.
- (16) Palatnik-de-Sousa CB, dos Santos WR, Franca-Silva JC, da Costa RT, Reis AB, Palatnik M, et al. Impact of canine control on the epidemiology of canine and human visceral leishmaniasis in Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 2001: Nov;65(5):510-7.
- (17) Programa de Controle da Leishmaniose Visceral do Rio Grande do Norte: Lima ID, 2007.
- (18) Alvar J, Yactayo S, Bern C. Leishmaniasis and poverty. *Trends Parasitol*. 2006: Dec;22(12):552-7.
- (19) Costa CH, Stewart JM, Gomes RB, Garcez LM, Ramos PK, Bozza M, et al. Asymptomatic human carriers of *Leishmania chagasi*. *Am J Trop Med Hyg*. 2002: Apr;66(4):334-7.
- (20) Lachaud L, Marchergui-Hammami S, Chabbert E, Dereure J, Dedet JP, Bastien P. Comparison of six PCR methods using peripheral blood for detection of canine visceral leishmaniasis. *J Clin Microbiol*. 2002: Jan;40(1):210-5.
- (21) Desjeux P. Leishmaniasis. Public health aspects and control. *Clin Dermatol*. 1996: Sep;14(5):417-23.
- (22) Franca-Silva JC, Barata RA, Costa RT, Monteiro EM, Hado-Coelho GL, Vieira EP, et al. Importance of *Lutzomyia longipalpis* in the dynamics of transmission of canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Porteirinha Municipality, Minas Gerais, Brazil. *Vet Parasitol*. 2005: Aug 10;131(3-4):213-20.
- (23) Marzochi MC. Leishmaniose Visceral Americana (Calazar Americano ou neo tropical). In: Cimerman, S. Cimerman, B. *Parasitologia humana e seus Fundamentos Gerais*. São Paulo. Atheneu; 1999. 65-80
- (24) Sacks DL. *Leishmania*-sand fly interactions controlling species-specific vector competence. *Cell Microbiol*. 2001; Apr;3(4):189-96.
- (25) Ashford RW. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. *Clin Dermatol*. 1996: Sep;14(5):523-32.

- (26) Arias JR, Monteiro PS, Zicker F. The reemergence of visceral leishmaniasis in Brazil. *Emerg Infect Dis*. 1996; Apr;2(2):145-6.
- (27) Mauricio IL, Stothard JR, Miles MA. The strange case of *Leishmania chagasi*. *Parasitol Today*. 2000; May;16(5):188-9.
- (28) Alencar JE, Neves J. Leishmaniose Visceral (calazar). In: Veronesi R *Doenças Infecciosas e Parasitárias*. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan; 1982. 724-38.
- (29) Carmo EH. Leishmaniose Visceral no Brasil: Situação atual, principais aspectos epidemiológicos, clínicos e medidas de controle. *Ver Soc Bras Med Trop*. 2002;35, 41-45.
- (30) Soares RP, Turco SJ. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): a review. *An Acad Bras Cienc*. 2003 ;Sep;75(3):301-30.
- (31) Quinnell RJ, Dye C. An Experimental study of the peridomestic distribution of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:Psychodidae). *Bull Entomol Res*.1994;379-382.
- (32) Ximenes MF, Castellon EG, De Souza MF, Menezes AA, Queiroz JW, Macedo e Silva VP, et al. Effect of abiotic factors on seasonal population dynamics of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in northeastern Brazil. *J Med Entomol*. 2006; Sep;43(5):990-5.
- (33) Galati EA, Nunes VL, Rego Junior FA, Oshiro ET, Chang MR. [Phlebotomines (Diptera: Psychodidae) focusing visceral leishmaniasis in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil]. *Rev Saude Publica*. 1997; Aug;31(4):378-90.
- (34) Forattini OP, Rabello EX, Galati EA. [New finding of Phlebotom uses in the State of Sao Paulo with special reference to *Lutzomyia longipalpis*]. *Rev Saude Publica*. 1976; Mar;10(1):125-8.
- (35) Lainson R, Shaw JJ, Ryan L, Ribeiro RS, Silveira FT. Leishmaniasis in Brazil. XXI. Visceral leishmaniasis in the Amazon Region and further observations on the role of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) as the vector. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1985;79(2):223-6.
- (36) Lainson R, Shaw JJ, Silveira FT, Fraiha H. Leishmaniasis in Brazil. XIX: visceral leishmaniasis in the Amazon Region, and the presence of *Lutzomyia longipalpis* on the Island of Marajo, Para State. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1983;77(3):323-30.
- (37) Feliciangeli MD, Rodriguez N, De GZ, Rodriguez A. The re-emergence of American visceral leishmaniasis in an old focus in Venezuela. II. Vectors and parasites. *Parasite*. 1999; Jun;6(2):113-20.
- (38) Travi BL, Ferro C, Cadena H, Montoya-Lerma J, Adler GH. Canine visceral leishmaniasis: dog infectivity to sand flies from non-endemic areas. *Res Vet Sci*. 2002; Feb;72(1):83-6.

- (39) Ward R, Phillips A, Burnet B. Genetic isolating mechanisms between different forms of the sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Ann Ist Super Sanita*.1986;22(1):69-72.
- (40) Balbino VQ. Genetic structure of natural populations of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) from Brazilian northeast region. *Acta Trop*.1986;. 35, 72-78.
- (41) Wermelinger ED, Zanuncio JC. Development of *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) larvae in different diets. *Braz J Biol*. 2001; Aug;61(3):405-8.
- (42) Forattini OP, Rabello EX, Pattoli DG. [The finding of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz and Neiva, 1912) in the State of Sao Paulo, Brazil. Report]. *Rev Saude Publica*. 1970; Jun;4(1):99-100.
- (43) Ferro C, Morrison AC, Torres M, Pardo R, Wilson ML, Tesh RB. Age structure, blood-feeding behavior, and *Leishmania chagasi* infection in *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. *J Med Entomol*.1995; Sep;32(5):618-29.
- (44) Sacks D, Kamhawi S. Molecular aspects of parasite-vector and vector-host interactions in leishmaniasis. *Annu Rev Microbiol*. 2001;55:453-83.
- (45) Silva AV, Paula AA, Cabrera MA, Carreira JC. [Leishmaniasis in domestic dogs: epidemiological aspects]. *Cad Saude Publica*. 2005; Jan;21(1):324-8.
- (46) Fisa R, Gallego M, Castillejo S, Aisa MJ, Serra T, Riera C, et al. Epidemiology of canine leishmaniosis in Catalonia (Spain) the example of the Priorat focus. *Vet Parasitol*.1999; Jun 15;83(2):87-97.
- (47) Anjili CO, Ngichabe CK, Mbatia PA, Lugalia RM, Wamwayi HM, Githure JI. Experimental infection of domestic sheep with culture-derived *Leishmania donovani* promastigotes. *Vet Parasitol*.1998; Jan 31;74(2-4):315-8.
- (48) Deane LM, Deane MP. [Isolation of leishmaniae in the viscera and the skin of a fox in the kala-azar endemic zone in Sobral, Ceara.]. *Hospital (Rio J)*. 1954; Apr;45(4):419-21.
- (49) Silveira FT, Lainson R, Shaw JJ, Pova MM. Leishmaniasis in Brazil: XVIII. Further evidence incriminating the fox *Cercopithecus thous* (L) as a reservoir of Amazonian visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1982;76(6):830-2.
- (50) Mancianti F. [Feline leishmaniasis: what's the epidemiological role of the cat?]. *Parasit*. 2004; Jun;46(1-2):203-6.
- (51) Di Bella C, Vitale F, Russo G, Greco A, Milazzo C. Are rodents a potential reservoir for *leishmania infantum* in Italy? *Journal Mt Ecology*. 2002;7:125-9.
- (52) Travi BL, Jaramillo C, Montoya J, Segura I, Zea A, Goncalves A, et al. *Didelphis marsupialis*, an important reservoir of *Trypanosoma*

- (Schizotrypanum) cruzi and Leishmania (Leishmania) chagasi in Colombia. Am J Trop Med Hyg. 1994; May;50(5):557-65.
- (53) Poli A, Abramo F, Barsotti P, Leva S, Gramiccia M, Ludovisi A, et al. Feline leishmaniosis due to Leishmania infantum in Italy. Vet Parasitol. 2002; Jun 26;106(3):181-91.
- (54) Sherlock I. Ecological interactions of visceral leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1996;91, 671-683..
- (55) Corredor A, Gallego JF, Tesh RB, Pelaez D, Diaz A, Montilla M, et al. Didelphis marsupialis, an apparent wild reservoir of Leishmania donovani chagasi in Colombia, South America. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1989; Mar;83(2):195.
- (56) Tafuri WL, de Oliveira MR, Melo MN, Tafuri WL. Canine visceral leishmaniosis: a remarkable histopathological picture of one case reported from Brazil. Vet Parasitol. 2001; Apr 2;96(3):203-12.
- (57) Badaro R, Reed SG, Barral A, Orge G, Jones TC. Evaluation of the micro enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for antibodies in American visceral leishmaniasis: antigen selection for detection of infection-specific responses. Am J Trop Med Hyg. 1986; Jan;35(1):72-8.
- (58) Ashford DA, David JR, Freire M, David R, Sherlock I, Eulalio MC, et al. Studies on control of visceral leishmaniasis: impact of dog control on canine and human visceral leishmaniasis in Jacobina, Bahia, Brazil. Am J Trop Med Hyg. 1998; Jul;59(1):53-7.
- (59) Herwaldt BL. Leishmaniasis. Lancet. 1999; Oct 2;354(9185):1191-9.
- (60) da Silva ES, van der Meide WF, Schoone GJ, Gontijo CM, Schallig HD, Brazil RP. Diagnosis of canine leishmaniasis in the endemic area of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil by parasite, antibody and DNA detection assays. Vet Res Commun. 2006; Aug;30(6):637-43.
- (61) Barrouin-Melo SM, Larangeira DF, de Andrade Filho FA, Trigo J, Juliao FS, Franke CR, et al. Can spleen aspirations be safely used for the parasitological diagnosis of canine visceral leishmaniosis? A study on asymptomatic and polysymptomatic animals. Vet J. 2006; Mar;171(2):331-9.
- (62) Moreno EC, Melo MN, Genaro O, Lambertucci JR, Serufo JC, Andrade AS, et al. Risk factors for Leishmania chagasi infection in an urban area of Minas Gerais State. Rev Soc Bras Med Trop. 2005; Nov;38(6):456-63.
- (63) Ferrer L, Aisa MJ, Roura X, Portus M. Serological diagnosis and treatment of canine leishmaniasis. Vet Rec. 1995; May 20;136(20):514-6.
- (64) Reed SG. Diagnosis of leishmaniasis. Clin Dermatol. 1996; Sep;14(5):471-8.

- (65) Braz RF, Nascimento ET, Martins DR, Wilson ME, Pearson RD, Reed SG, et al. The sensitivity and specificity of *Leishmania chagasi* recombinant K39 antigen in the diagnosis of American visceral leishmaniasis and in differentiating active from subclinical infection. *Am J Trop Med Hyg.* 2002; Oct;67(4):344-8.
- (66) Reithinger R, Teodoro U, Davies CR. Topical insecticide treatments to protect dogs from sand fly vectors of leishmaniasis. *Emerg Infect Dis.* 2001; Sep;7(5):872-6.
- (67) Alvar J. Leishmaniasis and AIDS co-infection: the Spanish example. *Parasitol Today.* 1994; Apr;10(4):160-3.
- (68) Miles MA. Canine Leishmaniasis: an Update. *Proceedings of the International Canine Leishmaniasis. Hoest Roussel Veterinary.* 1999; Spain, Rep. no Forum Barcelona.
- (69) Camargo-Neves VL. Aspectos epidemiológicos e avaliação das medidas de controle da Leishmaniose Visceral Americana no Estado de São Paulo Universidade de São Paulo. [In Press] 2004.
- (70) Maia-Elkhoury AN, Alves WA, Sousa-Gomes ML, Sena JM, Luna EA. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. *Cad Saude Publica.* 2008; Dec;24(12):2941-7.
- (71) Ministério da Saúde. Brasil:Leishmaniose Visceral (LV) 1996 a 2005. Brasília 2006.
- (72) Sundar S, Oliaro PL. Miltefosine in the treatment of leishmaniasis: Clinical evidence for informed clinical risk management. *Ther Clin Risk Manag.* 2007; Oct;3(5):733-40.
- (73) Sundar S, Chakravarty J. Paromomycin in the treatment of leishmaniasis. *Expert Opin Investig Drugs.* 2008; May;17(5):787-94.
- (74) Ferreira EC, de LM, Carneiro M, Reis AB, Paes DV, da Silva ES, et al. Comparison of serological assays for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in animals presenting different clinical manifestations. *Vet Parasitol.* 2007; May 31;146(3-4):235-41.
- (75) Courtenay O, Quinnell RJ, Garcez LM, Shaw JJ, Dye C. Infectiousness in a cohort of Brazilian dogs: why culling fails to control visceral leishmaniasis in areas of high transmission. *J Infect Dis.* 2002; Nov 1;186(9):1314-20.
- (76) Dietze R, Barros GB, Teixeira L, Harris J, Michelson K, Falqueto A, et al. Effect of eliminating seropositive canines on the transmission of visceral leishmaniasis in Brazil. *Clin Infect Dis.* 1997; Nov;25(5):1240-2.
- (77) Dye C. The logic of visceral leishmaniasis control. *Am J Trop Med Hyg.* 1996; Aug;55(2):125-30.

- (78) Margonari C, Freitas CR, Ribeiro RC, Moura AC, Timbo M, Gripp AH, et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis through spatial analysis, in Belo Horizonte municipality, state of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006; Feb;101(1):31-8.
- (79) Barcelos C, Coutinho K, Pina M. Linkage of environmental and health data: health risk analysis of the Rio de Janeiro water supply by using geographical information systems. *Cad.Saude Publica*. 1998;14, 597-605
- (80) Lima ID. A Descentralização da gestão das ações de controle das doenças transmitidas por vetores no Estado do Rio Grande do Norte. Natal: 2001.
- (81) Tauil PL. [Perspectives of vector borne diseases control in Brazil]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2006; May;39(3):275-7.
- (82) Genaro O, Raso P, da Costa CA, Carvalho MD, do AF, Botelho AC, et al. Montenegro skin tests in dogs experimentally infected with *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1992; Jan;87(1):163-4.
- (83) Karplus TM, Jeronimo SM, Chang H, Helms BK, Burns TL, Murray JC, et al. Association between the tumor necrosis factor locus and the clinical outcome of *Leishmania chagasi* infection. *Infect Immun*. 2002; Dec;70(12):6919-25.
- (84) Quinnell RJ, Courtenay O, Davidson S, Garcez L, Lambson B, Ramos P, et al. Detection of *Leishmania infantum* by PCR, serology and cellular immune response in a cohort study of Brazilian dogs. *Parasitology*. 2001; Mar;122:253-61.
- (85) Young DG. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sandflies in México, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Mem Amer Ent Inst*. 1994;54:1-881.
- (86) Alencar JE, Almeida YM, Silva ZF, Paiva AS, da Fonseca MF. [Current aspects of kala-azar in Ceara]. *Rev Bras Malariol Doencas Trop*. 1974;26-27:27-53.
- (87) Basu D, Mukherjee H, Hati AK. New problem in diagnosis of kala-azar. *J Indian Med Assoc*. 1995; Mar;93(3):115-6.
- (88) Ximenes MF, Souza MF, Castellon EG. Density of sand flies (Diptera: psychodidae) in domestic and wild animal shelters in an area of visceral Leishmaniasis in the state of Rio Grande do Norte, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999; Jul;94(4):427-32.
- (89) Miles SA, Conrad SM, Alves RG, Jeronimo SM, Mosser DM. A role for IgG immune complexes during infection with the intracellular pathogen *Leishmania*. *J Exp Med*. 2005; Mar 7;201(5):747-54.

- (90) Sharma MC, Gupta AK, Das VN, Verma N, Kumar N, Saran R, et al. *Leishmania donovani* in blood smears of asymptomatic persons. *Acta Trop.* 2000; Sep 18;76(2):195-6.
- (91) Saxena NB, Aggarwal V, Dhillon GP, Sharma RS, Rao JS. Visceral leishmaniasis control in India through primary health care system--a successful experiment of district level planning. *J Commun Dis.* 1996; Jun;28(2):122-8.
- (92) Ryan JR, Mbui J, Rashid JR, Wasunna MK, Kirigi G, Magiri C, et al. Spatial clustering and epidemiological aspects of visceral leishmaniasis in two endemic villages, Baringo District, Kenya. *Am J Trop Med Hyg.* 2006; Feb;74(2):308-17.
- (93) Barata RA, Franca-Silva JC, Mayrink W, Silva JC, Prata A, Lorosa ES, et al. [Aspects of the ecology and behaviour of phlebotomines in endemic area for visceral leishmaniasis in State of Minas Gerais]. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2005; Sep;38(5):421-5.
- (94) Deane LM, Deane MP. [Dogs naturally infected by *Leishmania donovani* in Ceara.]. *Hospital (Rio J).* 1954; Jun;45(6):703-7.
- (95) Jeronimo SM, Oliveira RM, Mackay S, Costa RM, Sweet J, Nascimento ET, et al. An urban outbreak of visceral leishmaniasis in Natal, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1994; Jul;88(4):386-8.
- (96) Bezerra G. Observações preliminares sobre a leishmaniose visceral canina (LVA canina) na ilha de São Luis - MA:Aspectos soroepidemiológicos, clínicos e histopatológicos. *Revi Soc Bras Med trop.* 1992;25, 85-86..
- (97) Camargo-Neves VL, Katz G, Rodas LA, Poletto DW, Lage LC, Spinola RM, et al. [Use of spatial analysis tools in the epidemiological surveillance of American visceral leishmaniasis, Aracatuba, Sao Paulo, Brazil, 1998-1999]. *Cad Saude Publica.* 2001; Sep;17(5):1263-7.
- (98) Dye C, Vidor E, Dereure J. Serological diagnosis of leishmaniasis: on detecting infection as well as disease. *Epidemiol Infect.* 1993; Jun;110(3):647-56.
- (99) Franca-Silva JC, da Costa RT, Siqueira AM, Hado-Coelho GL, da Costa CA, Mayrink W, et al. Epidemiology of canine visceral leishmaniosis in the endemic area of Montes Claros Municipality, Minas Gerais State, Brazil. *Vet Parasitol.* 2003; Feb 13;111(2-3):161-73.
- (100) Morrison AC, Ferro C, Pardo R, Torres M, Wilson ML, Tesh RB. Nocturnal activity patterns of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. *J Med Entomol.* 1995; Sep;32(5):605-17.

- (101) Quinnell RJ, Dye C, Shaw JJ. Host preferences of the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Amazonian Brazil. *Med Vet Entomol.* 1992; Jul;6(3):195-200.
- (102) Abranches P, Campino L, Santos-Gomes GM. [Canine leishmaniasis. New concepts of epidemiology and immunopathology: their impact in the control of human visceral leishmaniasis]. *Acta Med Port.* 1998; Oct;11(10):871-5.
- (103) Quinnell RJ, Courtenay O, Garcez L, Dye C. The epidemiology of canine leishmaniasis: transmission rates estimated from a cohort study in Amazonian Brazil. *Parasitology.* 1997; Aug;115 (Pt 2):143-56.
- (104) Dias FO, Lorosa ES, Rebelo JM. [Blood feeding sources and peridomiciliation of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae)]. *Cad Saude Publica.* 2003; Sep;19(5):1373-80.
- (105) Lanzaro GC, Alexander B, Mutebi JP, Montoya-Lerma J, Warburg A. Genetic variation among natural and laboratory colony populations of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912)(Diptera: Psychodidae) from Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1998; Jan;93(1):65-9.
- (106) Morrison AC, Ferro C, Tesh RB. Host preferences of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* at an endemic focus of American visceral leishmaniasis in Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* 1993; Jul;49(1):68-75.
- (107) Ferro C, Pardo R, Torres M, Morrison AC. Larval microhabitats of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. *J Med Entomol.* 1997. Nov;34(6):719-28.
- (108) Rebelo JM, de Araujo JA, Carvalho ML, Barros VL, Silva FS, de Oliveira ST. [Phlebotomus (Diptera, Phlebotominae) from Saint Luis Island, Maranhao Gulf region, Brazil]. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1999; May;32(3):247-53.

ABSTRACT

Visceral leishmaniasis has adapted in the past 20 years to periurban and urban areas, and in Natal, Rio Grande do Norte, it became endemic. This study aimed to evaluate the environmental and social aspects of *Leishmania chagasi* infection and its epidemiologic transmission chain in an urban, periurban and rural area of Parnamirim-RN. A study with three sections was conducted: Section 1: Sectional study of the human and canine infection by *L. chagasi* and its environmental and social determinants. Section 2: Observational longitudinal cohort to evaluate the dynamics of the canine infection. Section 3: Longitudinal study to evaluate the behavior of *Lu. Longipalpis* vector and the seasonal factors related to its dynamics. To include in the study the houses were randomly selected and georeferenced. Montenegro skin test was done in the human population and blood samples were collected for anti-*Leishmania* antibody detection. The canine population was examined for *L. chagasi* infection by RIFI, ELISA and ELISA for rK39. An entomologic surveillance was monthly done with CDC light traps in 10 houses of each locality. Quantitative and qualitative analyses were done using STATISC 6.0. Probability and prediction maps were done using ArcGis 9.0 model. In the human population *L. chagasi* infection was associated with the area of the house, age, sex, population density, vegetation, kind of the floor of the house, water and residence destiny. In the canine population *L. chagasi* infection was associated with the breed, size, time of living in the house, presence of dogs in the neighborhood, presence of horses and donkeys in the neighborhood, vegetation, kind of the floor and walls of the house. The human infection was associated with canine infection only when analyzed taking into account the locality. In the prospective study, serum conversion and antibody loss were observed in 30,8% and 22% of the animals examined, respectively. The human infection rate by *L. chagasi* was 24,6%, by the presence of anti-*Leishmania* antibody and 38,6% by the Montenegro skin test. The canine infection rate 32,5% by the presence of anti-*Leishmania* antibody. The vector *Lu longipalpis* showed an atypical behavior. These results indicate that environmental and social factors are important variables associated with *L. chagasi* infection in humans and canines, with a particular association of the last two. Control measures of the infection on the studied points are necessary, in the aim to reduce the endemic focus of the disease in the study area. This research was carried out in a multidisciplinary involving the categories of: doctor, biologist, veterinarian, statistical, pharmaceutical and biochemical.

Key words: *Leishmania chagasi*, Leishmaniasis, DTH, antibody, canine visceral leishmaniasis and *Lu. longipalpis*.