

Universidade de Brasília
Faculdade de Medicina
Núcleo de Medicina Tropical

César Omar Carranza Tamayo

**Caracterização e acompanhamento geo-referenciado do primeiro foco
de transmissão de leishmaniose visceral humana em Brasília,
Distrito Federal.**

BRASÍLIA – DF

2010

César Omar Carranza Tamayo

Caracterização e acompanhamento geo-referenciado do primeiro
foco de transmissão de leishmaniose visceral humana em Brasília,
Distrito Federal.

Tese apresentada ao Núcleo de Medicina
Tropical da Universidade de Brasília para
obtenção do título de doutor em Medicina
Tropical.

Orientadores:
Prof. Dr. Gustavo Adolfo Sierra Romero
Prof.Dr. Guilherme Loureiro Werneck

Brasília – DF

2010

Autorizo a reprodução e divulgação total o parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade de Brasília.
Acervo 981344.

T153c Tamayo, César Omar Carranza
Caracterização e acompanhamento geo-referenciado do primeiro foco de leishmaniose visceral em Brasília, Distrito Federal / César Omar Carranza Tamayo. -- 2010.
174 f. : il. ; 30 cm.

Tese (doutorado) - Universidade de Brasília, Faculdade de Medicina, Núcleo de Medicina Tropical, 2010.
Inclui bibliografia.
Orientação: Gustavo Adolfo Sierra Romero

1. Leishmaniose visceral. 2. *Leishmania*. 3. Epidemiologia – Brasília - DF. I. Romero, Gustavo Adolfo Sierra.
II. Título.

CDU 616.993.161

Carranza Tamayo, CO. **Caracterização e acompanhamento geo-referenciado do primeiro foco de transmissão de leishmaniose visceral humana em Brasília, Distrito Federal.** Tese apresentada ao Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília para obtenção do título de doutor em Medicina Tropical.

Aprovada em 16 de julho de 2010

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gustavo Adolfo Sierra Romero

Instituição: Núcleo de Medicina Tropical - UnB.

Prof^a. Dra. Elisabeth Carmen Duarte

Instituição: Faculdade de Ciências da Saúde - UnB.

Prof. Dr. Pedro Luiz Tauil

Instituição: Núcleo de Medicina Tropical - UnB.

Prof^a. Dra. Claudia Di Lorenzo Oliveira

Instituição: Universidade Federal de São João del-Rei - MG.

Prof. Dr. José Ueleres Braga

Instituição: Instituto de Medicina Social. Universidade do Estado de Rio de Janeiro - UERJ.

Aos meus pais, Nelly e Horacio,
fonte eterna de amor, apoio,
inspiração e fortaleza para mim e
toda a família.

AGRADECIMENTOS

A todas aquelas pessoas que por diversos motivos adoecem das distintas enfermidades, especialmente àquelas que por questões do acaso compõem a população de estudo das diversas pesquisas.

À Prof. Vanize Macêdo (*in memoriam*), quem me acolheu desde o início no Núcleo de Medicina Tropical (NMT) da UnB, e como orientadora me apoiou nesse primeiro passo no campo das doenças infecciosas.

Aos meus orientadores Dres. Gustavo A. Sierra Romero e Guilherme L. Werneck, pelo apoio e guia durante as distintas etapas do desenvolvimento do presente trabalho.

Ao Prof. Cleudson Castro, Coordenador do Núcleo de Medicina Tropical pelo apoio e confiança demonstrados em todo este longo caminho percorrido na UnB. Sem seu apoio teria sido muito difícil realizar o trabalho de campo do estudo

Ao Prof. João Barberino, pela oportunidade e apoio no ingresso à docência na Faculdade de Medicina da UnB. Sua confiança começou já nas primeiras aulas lecionadas como mestrando de Medicina Tropical, e continua até a atualidade.

Aos professores do Núcleo de Medicina Tropical pelo conhecimento transmitido neste longo caminho. Aos Dres. Celeste Silveira Nogueira, César Cuba Cuba, Elza Ferreira Noronha, Liana Laura Pires e Pedro Luiz Tauil.

Ao Prof. Francisco das Chagas Oliveira Luz, pelos ensinamentos transmitidos desde o laboratório de Parasitologia do NMT, onde não só transmite lições de diagnóstico parasitológico, mas também de amizade, humildade e ajuda ao próximo.

Aos funcionários administrativos do NMT, Leandro Mendes e Regina Pacheco pela ajuda nas questões administrativas e na obtenção de bibliografia na biblioteca do NMT. À secretária Myssula Fernandes, pela ajuda na última etapa da pesquisa, na digitação da base de dados do estudo. À técnica Renata Ribeiro pelo processamento dos exames de Biologia molecular das amostras colhidas na primeira etapa do estudo.

Ao motorista do NMT, Sr. José Barbosa Bezerra, pelo apoio, amizade e pronta solução dos diversos problemas que tivemos durante o trabalho de campo. Seu trabalho não só limitou-se à área de transporte. Também esteve prestes a aprender as diversas técnicas que aplicamos no estudo, e sempre que pôde ajudou na demarcação com o aparelho de posicionamento geográfico (GPS), orientou aos familiares das crianças selecionadas para a pesquisa, identificou as casas selecionadas e acompanhou aos agentes comunitários de saúde.

Ao pessoal da Divisão de Vigilância Epidemiológica da Secretaria do Estado de Saúde do Distrito Federal (SES/DF), na pessoa da Gerente de Controle de Doenças Crônicas da SES/DF, enfermeira Rosa Nancy Urribarri Ruzer Sallenave e do Coordenador do Núcleo de Endemias da Diretoria de Vigilância Epidemiológica (NCE - DIVEP), enfermeiro Ailton Domício da Silva. À responsável da vigilância epidemiológica da leishmaniose visceral, enfermeira Sandra Maria Felipe Coelho Cortez, pela amizade e contínuo apoio desde o início do trabalho, assim como pela confiança depositada para ser facilitador das jornadas de capacitação em leishmaniose visceral da SES/DF. Sua ajuda não só limitou-se ao plano

administrativo, mas também ofereceram e apoiaram com transporte quando a condução do NMT esteve em manutenção.

Ao pessoal da Direção Regional de Saúde de Sobradinho, em especial à Dra. Joana Gonçalves, da Direção do Hospital de Sobradinho pela convocatória aos diversos órgãos para apoiar o presente trabalho. Às enfermeiras Eliana Maria Lisboa de Araújo e Núbia Mariseth de Oliveira, responsáveis da Gerência de Saúde da Comunidade (GESCOM), onde fizemos o primeiro contato solicitando e obtendo o apoio do pessoal de saúde das comunidades envolvidas. Às enfermeiras Íris da Silva e Gildeci Barbosa de Aguiar da Divisão de Vigilância Epidemiológica pelo apoio incondicional no desenvolvimento do trabalho e pela confiança para orientar sobre o diagnóstico e manejo dos pacientes suspeitos de calazar no Hospital Regional de Sobradinho.

Ao pessoal da Vigilância Ambiental da SES/DF, especialmente à Angelika Bredt, Maria Isabel Rao Bofill, Maria do Socorro Laurentino de Carvalho, Péricles Massunaga e Rodrigo Barreto Rodrigues, pela amizade e apoio na condução deste trabalho.

Ao pessoal dos postos de saúde da área da Fercal. No Posto de saúde Engenho Velho à Dra. Maria Cláudia Sampaio e à enfermeira Mariângela Figueiras da Silva; e no posto de saúde de Catingueiro ao Dr. Luiz Fernando Severo Marques, à enfermeira Maria da Guia de Oliveira e às técnicas de enfermagem Maria de Fátima dos Santos e Mézia Ferreira da Silva. No Posto de Saúde de Queima Lençol à enfermeira Maria Isis dos Anjos da Paixão. A todos eles meu agradecimento pelo apoio e liberação dos agentes comunitários de saúde (ACS) para acompanhar-nos como guias no trabalho de campo na área de estudo.

Aos Agentes Comunitários de Saúde dos Programas da Família Saudável (PFS) da área da Fercal. Eles foram âncoras fundamentais neste trabalho, pois sua liderança e dedicação às suas respectivas comunidades fizeram que o trabalho fosse conduzido com mais facilidade. Sua familiaridade com os membros de cada comunidade e a confiança mostrada em todas as casas visitadas foram importantes para o sucesso de nosso trabalho. A todos eles, minha sincera e profunda gratidão pelo grande trabalho realizado, mesmo que para isto tenham tido que sacrificar o trabalho com a comunidade, e tenham visto seus horários de trabalho estendidos além do habitual.

No PFS do Engenho velho, a Antonio Marcos de Barros, conhecido como “Marquinhos”, grande colaborador e amigo, que chegou a emprestar sua casa como base de operações na comunidade de Bananal I. Ele também colaborou no trabalho nas comunidades que não contam com ACS, ajudado por ser pessoa conhecida na área da Fercal. Ao Claudenir Ferreira de Aguiar, ACS da comunidade de Engenho velho, cujo carisma na comunidade é amplamente conhecido. Sempre prestes a ajudar, colaborou conosco até nas situações mais difíceis, como naqueles dias que andávamos em ruas cheias de lama enquanto parte das casas da comunidade era arrasada pelas máquinas do Governo do Distrito Federal para a saída das famílias que moravam nas áreas com risco de enchentes. À Cláudia da Silva Ferreira, quem colaborou na comunidade de Bananal II, e até teve a coragem de submeter ao seu único filho aos diversos testes do estudo, após ser selecionado segundo nossa aleatorização. Ao Fábio da Silva Costa, nosso ACS da primeira comunidade a ser avaliada, Rua do mato. Talvez este foi o trabalho mais pesado, por ser nosso primeiro ingresso nas comunidades da Fercal. O Fábio soube administrar as primeiras barreiras encontradas, que no final levaram a um trabalho satisfatório, e com pouquíssimas perdas. Ao Jefferson da Silva Alarcão, conhecido como “Jeffinho”, pelo apoio na condução do trabalho na comunidade de Alto Bela Vista. Seu

trabalho é reconhecido pela comunidade, quem o escolheu como líder comunitário. Jeffinho, grande amigo, nos acolheu também na sua casa, para cobrirmos do sol intenso do meio-dia na época do verão em que fomos à comunidade pela que é responsável. Ao Wênio Santos da Silva, por sua ajuda no trabalho na comunidade de Curvas, segunda comunidade a ser incluída no nosso estudo.

No PFS do Catingueiro, à Elizângela Soares de Sena, quem também colocou a disposição a própria casa como centro de trabalho na comunidade de Fercal I. Na comunidade de Boa Vista, à Cleuza Maria da Silva Lemos, quem não só como ACS, mas como líder comunitária apoiou o trabalho e conseguiu a escola local e o centro comunitário para centrar nossos trabalhos. Ao Osmar Peres da Silva Jr, grande amigo, que ajudou à gente a chegar até os mais recônditos lugares na comunidade de Ribeirão - Pedreira, sem se importar de ter que atravessar um rio ou córrego em cima de um tronco de árvore e tirar o calçado para poder chegar às casas das famílias selecionadas. À técnica de enfermagem Maria Alice dos Santos Pereira, na comunidade de Córrego do Ouro, quem assumiu por iniciativa própria a tarefa de apoiar o trabalho devido à ausência da ACS local, afastada por licença maternidade.

Ao pessoal do consultório dental do PFS do Engenho velho (Dra. Ângela Ferreira de Zavitoski e técnicos); e aos técnicos, seguranças e demais profissionais dos postos de saúde de Catingueiro, Córrego do Ouro, Engenho velho, Queima Lençol e Rua do Mato, pela amizade e colaboração.

Aos amigos da comunidade peruana em Brasília. Ao Dr. Manuel Retamozo Palacios e esposa, Dra Joana Gonçalves pela amizade e companheirismo, demonstrando que o espírito *sanfernandino* não tem fronteiras de nenhum tipo. Manuel foi quem me ajudou, lá a inícios do

ano 2003, a entrar no NMT da Universidade de Brasília, de onde saio com o grau obtido com esta tese. Aos Dres Joe Córdova Bocanegra e Roberto Reyes Lecca, pela amizade e colaboração em todos esses anos de convivência na UnB. Roberto também apoiou e acompanhou os trabalhos em algumas comunidades da Fercal. À Dra Julia Vela (conhecida como Sonia Ampuero no Perú) pela amizade, companheirismo e apoio na condução deste trabalho. Julia esteve presente na área de estudo em alguns momentos da segunda fase do trabalho. Aos irmãos Omar e Ernesto Guevara, pela amizade e a ajuda na elaboração de mapas e no entendimento dos pacotes de análise espacial Arc Gis.

Ao Dr. Juan Cortez Escalante e família, pela amizade a colaboração. O Juan, além de destacado médico é um reconhecido bioestatístico e epidemiologista. Ele colaborou na parte da análise estatística do estudo e solucionando problemas com os diversos programas usados para a tese, sempre prestes a apoiar e ensinar quando foi requerido.

Ao amigo que colaborou desde longe neste trabalho, Dr. Adrián Hernández Díaz, epidemiologista clínico e professor da Cleveland Clinics (USA). Mesmo com observações ao estudo, sei que faz por bem e com o intuito de melhorar a qualidade do trabalho.

Na cidade de Lima devo agradecer aos meus irmãos William Martin, Marianella e Milagritos, pela paciência e apoio aos meus pais em todos estes anos que estou fora da minha cidade natal. Agradeço também aos meus tios e primos, que sempre perguntam e se preocupam sobre meus avanços em Brasília. À minha avó Fredesvinda N. Sánchez Diaz (*in memoriam*), cujo apoio e carinho ainda sinto e uso como guia dos meus passos.

A aquele anjo que cruzou no meu caminho quando precisava - a Gleu - pela amizade, carinho e compreensão nos momentos finais de fechar este trabalho. Para ela meu reconhecimento e carinho, que espero se concretize num futuro próximo.

A todos aqueles que sem saber me apoiaram e me acompanharam naquelas incontáveis horas de redação deste trabalho. É difícil nomear a todos eles, mas agradeço ao Andrés Calamaro, César Príncipe, Claudio Valenzuela, Daniel (F) Valdivia, Dennis Peña, Enrique Bunbury, Gustavo Cerati, Herbert Viana, Jessé da Silva Filho, Jesus Cifuentes, Jose Andrëa, Luis (Wicho) García, Miguel Angel Vidal, Morrisey, Nicola Sirkis, Pedro Allemant, Pedro Béjar, Piero Bustos, Rafael Ráez, Renato Manfredini, Ricardo Brenneisen e Saúl Hernández em nome de todos esses poetas e músicos.

Milagro

Puede que salte al cielo, creyendo ir al infierno,

perder no impide apostar.

Tienes que ser un milagro.

Puede que salte y me arrastre,

cielo, efecto retardante.

Ceder permite hablar.

Tienes que ser un milagro.

En donde estés, cuando quiera abrazarte,

y como estés ya estoy ahí.

El sol entre tus labios,

soy el sol.

Puede que salte del cielo seguro de ir al infierno,

ceder no es perder.

Juro que eres un milagro.

En donde estés, cuando quiera abrazarte,

y como estés ya estoy ahí.

La luna entre tus labios,

soy la luna.

Doy luz, o reflejar.

Soy tú, tú eres yo

(Claudio Valenzuela - Lucybell)

RESUMO

Foi desenvolvido um estudo transversal baseado na prova de intradermoreação de Montenegro (IDRM) para avaliar a infecção por *Leishmania* nas comunidades da Fercal, área rural da região de Sobradinho, Brasília - Distrito Federal entre 2007 e 2009. A pesquisa envolveu duas avaliações com intervalo de um ano entre uma e outra. Os indivíduos foram selecionados de forma aleatória, avaliando-se uma criança ou adolescente entre 2 e 14 anos em cada casa selecionada. No período inicial foram incluídas 700 pessoas, divididos de forma estratificada segundo o número de residências em cada comunidade. Além da IDRM foram realizados testes moleculares (PCR) e um teste imunocromatográfico (*Kalazar detect*TM) para avaliar o estado de infecção por *Leishmania*. Foram colhidos dados pessoais e domiciliares visando a avaliação de fatores associados com a infecção por *Leishmania*. Na primeira avaliação obtivemos prevalência de 33,28% (IC95% 29,87 – 36,84) segundo a IDRM. A PCR foi positiva em quatro indivíduos nesta avaliação. A positividade da prova imunocromatográfica foi de zero em ambas as avaliações. A segunda avaliação - realizada na coorte de 396 suscetíveis segundo o primeiro inquérito - mostrou incidência da infecção de 23,2% (IC95% 19,27 – 27,58) segundo a IDRM, enquanto a PCR foi positiva em nove casos. A regressão logística multivariada tipo *one step* mostrou que as características associadas com a positividade à IDRM foram ter mais de sete anos de idade (OR=3,04; IC95% 1,86 - 4,99; $p<0,01$) e a presença de gambás no peridomicílio (OR=1,46; IC95% 1,02 - 2,10; $p=0,04$). Esta última característica mostrou-se também associada com a incidência de infecção por *Leishmania* (OR=3,22; IC95% 1,35 - 7,68; $p=0,01$). Uma abordagem diferente dos testes de regressão logística (*stepwise forward*) mostrou que além das características encontradas previamente, na primeira avaliação houve associações adicionais, como gênero masculino (OR=1,95; IC95% 1,19 - 3,17; $p=0,01$) e criação de aves domésticas diferentes de galinhas

(OR=2,23; IC95% 1,19 - 4,18; p=0,01). Na segunda avaliação observaram-se associação da positividade à IDRМ com convivência com cães suspeitos de leishmaniose visceral canina (OR=2,28; IC95% 1,02 - 5,10; p=0,04) e criação de aves domésticas (OR=2,94; IC95% 1,08 - 8,02; p=0,04). A análise espacial mostrou que a medida que as comunidades se afastam da área urbana de Sobradinho a intensidade de infecção aumenta. Concluiu-se que em áreas periurbanas de introdução recente de espécies viscerotrópicas de *Leishmania* existem algumas características associadas ao estado de infecção diferentes às descritas em áreas de colonização antiga por este parasito.

Palavras chave: Brasília, epidemiologia, infecção assintomática, *Leishmania*, leishmaniose visceral

SUMMARY

A survey was developed based on the leishmanin test (IDRM) to evaluate the infection for *Leishmania* in the communities of Fercal, rural area of Sobradinho, Brasília - Federal District between 2007 and 2009. The research involved two evaluations with interval of one year between each one. The individuals were selected in a random way, being evaluated a child or adolescent between 2 and 14 years in each selected house. In the initial period 700 people were included, stratified according to the number of houses in each community. Besides leishmanin tests they were accomplished a immunocromatographic test (Kalazar detect™) and a molecular test (PCR) to evaluate the infection state for *Leishmania*. There were registered personal and home data seeking the evaluation of factors associated with the infection for *Leishmania*. In the first evaluation we obtained prevalence of 33,28% (95%CI 29,87 - 36,84) according to IDRM. PCR was positive in four individuals in this evaluation. The positivity of the immunocromatographic test was zero in both evaluations. The second evaluation - just accomplished with the 396 susceptible people according to the first survey - showed incidence of 23,2% (95%CI 19,27 - 27,58) according to IDRM, while PCR was positive in nine cases. The multivariate logistic regression type one step showed that characteristics associated with the positivity to IDRM were to be more than seven years old (OR=3,04; 95%CI 1,86 - 4,99; $p < 0,01$) and the presence of skunks in the neighborhood (OR=1,46; 95%CI 1,02 - 2,10; $p=0,04$). This last characteristic was also associated with the incidence of infection by *Leishmania* (OR=3,22; 95%CI 1,35 - 7,68; $p=0,01$). A different approach of the multivariate logistic regression tests (stepwise forward) showed that besides the characteristics previously cited, in the first evaluation there were additional associations, as masculine gender (OR=1,95; 95%CI 1,19 - 3,17; $p=0,01$) and creation of domestic birds different to chickens (OR=2,23; 95%CI 1,19 - 4,18; $p=0,01$). In the second evaluation they

were observed association of the positivity to IDRM with presence of dogs suspicious of visceral canine leishmaniasis (OR=2,28; 95%CI 1,02 - 5,10; p=0,04) and creation of domestic birds (OR=2,94; 95%CI 1,08 - 8,02; p=0,04). The spatial analysis showed that in the measure that the communities stand back of the urban area of Sobradinho the infection intensity increases. It is concluded that in periurban areas of recent introduction of viscerotropic species of *Leishmania* there are some different characteristics associated to the infection state to described in areas of old colonization for this parasite.

Key words: asymptomatic infection, Brasilia, epidemiology, *Leishmania*, visceral leishmaniasis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Formas promastigotas de <i>Leishmania</i>	4
Figura 2. Macho adulto de <i>Lutzomyia longipalpis</i>	6
Figura 3. Diferentes aspectos da leishmaniose visceral canina.....	9
Figura 4. Manifestações clínicas da leishmaniose visceral em crianças.....	12
Figura 5. Condições que favorecem o aparecimento de casos de LVH: Proximidade com a mata, disposição inadequada de lixo e detritos vegetais. Setor da Prainha, Comunidade de Engenho Velho. Fercal, Sobradinho, Brasília – Distrito Federal.....	16
Figura 6. Localização da região de Sobradinho. Brasília, Distrito Federal – Brasil.....	25
Figura 7. Localização aproximada da área da Fercal e das comunidades que a conformam.....	34
Figura 8. Visita domiciliar para coleta de dados na comunidade de Córrego do Ouro. Sobradinho, Brasília - Distrito Federal.....	47
Figura 9. Procedimentos de aplicação da intradermoreação de Montenegro. Comunidade de Rua do Mato. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal.....	49
Figura 10. Fluxo de avaliação de crianças de adolescentes na área da Fercal. Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2009.....	61
Figura 11. Distribuição da amostra de crianças e adolescentes de acordo com a idade na linha de base . Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2009.....	63
Figura 12. Distribuição da amostra de crianças e adolescentes segundo o local de nascimento. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2009.....	64
Figura 13. Antecedentes de doenças infecciosas mais frequentes na amostra de crianças e adolescentes avaliados. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2009.....	65

Figura 14. Sinais e sintomas clínicos na amostra de crianças e adolescentes avaliados. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2009.....	66
Figura 15. Número de cães registrados na linha de base segundo raça nas casas de crianças e adolescentes da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2009.....	72
Figura 16. Positividade no teste de intradermorreação de Montenegro segundo a idade na linha de base em crianças e adolescentes. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008.....	78
Figura 17. Mapa de distribuição da razão de densidades de infecção por <i>Leishmania</i> entre crianças e adolescentes segundo quintis em cada uma das quatro áreas estudadas na linha de base . Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008.....	98
Figura 18. Mapa de distribuição da razão de densidades de infecção por <i>Leishmania</i> entre crianças e adolescentes em cada uma das quatro áreas estudadas segundo a intensidade da área de maior concentração de indivíduos avaliados na linha de base . Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008.....	99
Figura 19. Mapa de distribuição de conglomerados na área I. Comunidades de Córrego do Ouro e Ribeirão - Pedreira. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008.....	100
Figura 20. Mapa de distribuição de conglomerados na área II. Comunidade de Boa Vista Fercal, Sobradinho, Brasília – Distrito Federal. 2007 - 2008.....	101
Figura 21. Mapa de distribuição de conglomerados na área III. Região de Engenho Velho, Fercal I e II. Fercal, Sobradinho, Brasília – Distrito Federal. 2007 - 2008.....	102
Figura 22. Mapa de distribuição de conglomerados na área IV. Comunidade de Queima Lençol. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008.....	103

Figura 23. Mapa de distribuição da razão de densidades de infecção por <i>Leishmania</i> entre crianças e adolescentes da coorte de suscetíveis segundo quintis em cada uma das quatro áreas estudadas. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009.....	104
Figura 24. Mapa de distribuição da razão de densidades de infecção por <i>Leishmania</i> entre crianças e adolescentes em cada uma das quatro áreas estudadas segundo a intensidade da área de maior concentração de indivíduos avaliados na coorte de suscetíveis . Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009.....	105
Figura 25. Mapa de distribuição de conglomerados na área II. Comunidade de Boa Vista Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009.....	106
Figura 26. Mapa de distribuição de conglomerados na área III. Região de Engenho Velho, Fercal I e II. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009.....	107
Figura 27. Mapa de distribuição de conglomerados na área IV. Comunidade de Queima Lençol. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009.....	108

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estudos que descrevem a infecção assintomática por espécies de <i>Leishmania</i> que causam quadros viscerais e os fatores associados a esta condição	22
Tabela 2. Características demográficas e cobertura pelo Programa Família Saudável das treze comunidades que compõem a área da Fercal	36
Tabela 3. Distribuição das residências e número de crianças a serem avaliadas por comunidade segundo o procedimento de amostragem do inquérito na linha de base realizado na Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007.....	43
Tabela 4. Distribuição das crianças e adolescentes avaliados segundo comunidades e gênero na linha de base . Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2009.....	62
Tabela 5. Antiguidade e situação de propriedade das moradias dos indivíduos avaliados na linha de base segundo comunidades. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2009.....	67
Tabela 6. Material de construção das moradias dos indivíduos avaliados na linha de base segundo comunidades. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2009.....	68
Tabela 7. Tipos de esgoto nas moradias dos indivíduos avaliados na linha de base segundo comunidades. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2009.....	69
Tabela 8. Número de moradores por residência nas casas dos indivíduos avaliados na linha de base segundo comunidades. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 – 2009.....	70
Tabela 9. Distribuição dos cães nas residências dos indivíduos avaliados na linha de base segundo comunidades. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2009.....	71
Tabela 10. Características da população canina residente nas moradias das crianças e adolescentes avaliados na linha de base . Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2009	73
Tabela 11. Presença de animais de criação e animais silvestres na vizinhança das residências das crianças e adolescentes avaliados na linha de base (n=700). Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007- 2009.....	75
Tabela 12. Prevalência de infecção por <i>Leishmania</i> estimada de acordo com o tipo de teste aplicado na linha de base em crianças e adolescentes avaliados na Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008	76

Tabela 13. Positividade do teste de intradermorreação de Montenegro em crianças e adolescentes avaliadas na linha de base , segundo comunidade de residência. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008. (n=700).....	77
Tabela 14. Condições observadas no ano prévio à reavaliação pelo teste de Montenegro entre crianças e adolescentes da coorte de suscetíveis da região da Fercal (n=396). Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009.....	79
Tabela 15. Resultados de incidência e prevalência periódica segundo os testes aplicados em crianças e adolescentes residentes na Fercal, Sobradinho, Brasília, Distrito Federal. 2007 - 2009.....	81
Tabela 16. Distribuição da incidência aferida pela conversão do teste de intradermorreação de Montenegro em crianças e adolescentes da coorte de suscetíveis segundo comunidade de residência. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009 (n=396).....	82
Tabela 17. Análise da normalidade das variáveis contínuas registradas na linha de base entre crianças e adolescentes residentes na Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2009 (n=700).....	83
Tabela 18. Análise estatística das variáveis contínuas registradas na linha de base entre crianças e adolescentes avaliados na Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2009 (n=700).....	84
Tabela 19. Análise de regressão logística univariada: variáveis relacionadas aos indivíduos como possíveis preditoras da positividade da intradermorreação de Montenegro entre crianças e adolescentes avaliados na linha de base nas comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008 (n=700).....	85
Tabela 20. Análise de regressão logística univariada: variáveis relacionadas à moradia dos indivíduos como possíveis preditoras da positividade da intradermorreação de Montenegro entre crianças e adolescentes avaliados na linha de base nas comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008 (n=700)	86
Tabela 21. Análise de regressão logística univariada: variáveis relacionadas à presença de animais nas moradias ou nas redondezas das casas dos indivíduos como possíveis preditoras da positividade da intradermorreação de Montenegro entre crianças e adolescentes avaliados na linha de base nas comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2008 (n=700).....	87
Tabela 22. Análise de regressão logística multivariada das variáveis selecionadas dentre as características associadas como possíveis preditoras da positividade da intradermorreação de	

Montenegro entre crianças e adolescentes avaliados na linha de base nas comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008 (n=700)	89
Tabela 23. Análise multivariada do tipo “ <i>stepwise forward</i> ” com as variáveis da avaliação na linha de base como possíveis preditoras da positividade da intradermorreação de Montenegro entre crianças e adolescentes das comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008 (n=700).....	90
Tabela 24. Características identificadas no acompanhamento da coorte formada por crianças e adolescentes suscetíveis na linha de base. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009 (n=396).....	91
Tabela 25. Análise de regressão logística univariada: características dos indivíduos identificadas como possíveis preditoras da conversão da intradermorreação de Montenegro entre crianças e adolescentes da coorte de suscetíveis acompanhados durante um ano nas comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009 (n=396).....	92
Tabela 26. Análise de regressão logística univariada: características da moradia dos indivíduos como possíveis preditoras da conversão da intradermorreação de Montenegro entre crianças e adolescentes da coorte de suscetíveis acompanhados durante um ano nas comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009 (n=396).....	93
Tabela 27. Análise de regressão logística univariada: características relativas à presença de animais nas moradias ou nas redondezas das casas dos indivíduos como possíveis preditoras da conversão da intradermorreação de Montenegro entre crianças e adolescentes da coorte de suscetíveis acompanhados durante um ano nas comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008-2009 (n=396).....	94
Tabela 28. Análise de regressão logística multivariada das características selecionadas dentre aquelas identificadas como possíveis preditoras da conversão da intradermorreação de Montenegro entre crianças e adolescentes da coorte de suscetíveis das comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008-2009 (n=396).....	95
Tabela 29. Análise multivariada do tipo “ <i>stepwise forward</i> ”, com as variáveis consideradas na avaliação da coorte de crianças e adolescentes suscetíveis como possíveis preditoras da conversão da intradermorreação de Montenegro. Fercal, Sobradinho, Brasília, Distrito Federal. 2008 - 2009 (n=396).....	96

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

95%CI	95% confidence interval
ACS	Agente comunitário de saúde
AIDS	Síndrome de imunodeficiência adquirida
BA	Bahía
CA	Califórnia
CE	Ceará
CEP-FM	Comité de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da UnB
CNPq	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CODEPLAN	Companhia de Desenvolvimento do Planalto
CPPI	Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos
CT	Connecticut
DF	Distrito Federal
DIVAL	Diretoria de Vigilância Ambiental do Distrito Federal
DIVEP	Direção de Vigilância Epidemiológica
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DP	Desvio padrão
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
<i>ESRI</i>	<i>Environmental Systems Research Institute</i>
FIV	Fator de inflação da variância
GESCOM	Gerência de Saúde da Comunidade
GMSGF	Fator estimulante de crescimento de colônias granulocito-macrófago
GO	Goiás
GPS	<i>Global positioning system</i> (Sistema de posicionamento global)
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HRS	Hospital Regional de Sobradinho
HUB	Hospital Universitário de Brasília
IC95%	Intervalo de confiança de 95%
ICMS	Imposto sobre Circulação de Mercadorias e Serviços
IDRM	Intradermoreação de Montenegro
IFI	Imunofluorescência indireta
IFN γ	Interferon gamma
IL	Illinois
IL2	Interleucina 2
IL4	Interleucina 4
<i>Inc.</i>	<i>Incorporated</i>

IV	Via intravenosa
kDNA	Ácido desoxirribinucleico do cinetoplasto
<i>L. chagasi</i>	<i>Leishmania (Leishmania) chagasi</i>
<i>L. donovani chagasi</i>	<i>Leishmania donovani chagasi</i>
<i>L. (L.) amazonensis</i>	<i>Leishmania (Leishmania) amazonensis</i>
<i>L. (L.) chagasi</i>	<i>Leishmania (Leishmania) chagasi</i>
<i>L. (L.) infantum</i>	<i>Leishmania (Leishmania) infantum</i>
<i>L. major</i>	<i>Leishmania major</i>
<i>L. mexicana</i>	<i>Leishmania mexicana</i>
LC	Leishmaniose cutânea
LTA	Leishmaniose tegumentar americana
<i>Lu.</i>	<i>Lutzomyia</i>
<i>Lu. longipalpis</i>	<i>Lutzomyia longipalpis</i>
LV	Leishmaniose visceral
LVC	Leishmaniose visceral canina
LVH	Leishmaniose visceral humana
MA	Maranhão
MG	Minas Gerais
mL	Mililitros
mm	Milímetros
MS	Mato Grosso do Sul
MT	Mato Grosso
N.A.	Não avaliado
NEAP	Núcleo de Pesquisas em Entomologia e Animais Peçonhentos
NRAMP1	Gen da proteína do macrófago associada à resistência natural 1
NMT	Núcleo de Medicina Tropical
NMT	Núcleo de Medicina Tropical
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	<i>Odds ratio</i>
PA	Pará
PCR	Reação em cadeia pela polimerase
PFS	Programa da família saudável
PI	Piauí
Q _{1/4}	Primeiro quartil
Q _{3/4}	Terceiro quartil
RA Nnhc	<i>Risk adjusted nearest neighbor hierarchical clustering</i>
RFLP	<i>Restriction fragment length polymorphisms</i>

RJ	Rio de Janeiro
S.D.	Sem dados disponíveis
SESDF	Secretaria de Estado da Saúde do Distrito Federal
SP	São Paulo
TE	Tris - EDTA
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TNF α	Fator de necrose tumoral alfa
TX	Texas
<i>UK</i>	<i>United kingdom</i>
UnB	Universidade de Brasília
USA	<i>United States of America</i>
WA	Washington
WI	Wisconsin

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Aspectos gerais da leishmaniose visceral humana.....	1
1.2	Transmissão da leishmaniose visceral nas Américas.....	3
1.2.1	O parasito.....	3
1.2.2	O vetor.....	6
1.2.3	Os reservatórios.....	7
1.2.4	O suscetível.....	10
1.3	Papel do ambiente na leishmaniose visceral.....	15
1.4	Infecção assintomática.....	18
1.5	Leishmaniose visceral em Brasília - Distrito Federal.....	24
1.6	Uso de ferramentas análise geográfica no estudo das doenças infecciosas.....	27
2	JUSTIFICATIVA.....	30
3	OBJETIVOS.....	32
3.1	Geral.....	32
3.2	Específicos.....	32
4	METODOLOGIA.....	33
4.1	Tipo de estudo.....	33
4.2	Área de estudo.....	33
4.3	População de estudo.....	41
4.3.1	Critérios de inclusão e remoção do estudo.....	41
4.3.1.1	Critérios de inclusão.....	41
4.3.1.2	Critérios de remoção.....	42
4.4	Procedimento de amostragem e amostra.....	42
4.5	Aleatorização.....	42
4.6	Estratégia de recrutamento.....	44
4.6.1	Período de estudo e estratégia de inclusão.....	44
4.6.2	Construção da coorte para estimar eventos incidentes.....	44
4.6.3	Estratégia de recrutamento, envolvimento da comunidade e articulação com as instâncias provedoras de atenção à saúde locais.....	45
4.6.4	Processo de entrevista e avaliação clínica.....	46

4.7	Testes laboratoriais	47
4.7.1	Intradermorreação de Montenegro	48
4.7.2	Teste imunocromatográfico <i>Kalazar detect</i> ®	49
4.7.3	Reação em cadeia pela polimerase	50
4.8	Definições operacionais para o estudo	52
4.8.1	Definição de caso suspeito de infecção sintomática por <i>L. (L.) chagasi</i>	52
4.8.2	Definição de caso confirmado de leishmaniose visceral.	53
4.8.3	Definição de caso de infecção assintomática por <i>Leishmania</i>	53
4.9	Métodos de Análise espacial	53
4.10	Estratégia de registro e análise dos dados	56
4.10.1	Estatística descritiva	56
4.10.2	Estatística inferencial.....	56
4.11	Considerações éticas.....	57
4.12	Conflitos de interesse	58
4.13	Financiamento	59
5	RESULTADOS	60
5.1	Características da amostra estudada	60
5.2	Antecedentes dos indivíduos avaliados	64
5.3	Avaliação clínica	65
5.4	Características dos domicílios	66
5.5	Presença de potenciais reservatórios e outros animais nas moradias e na vizinhança.....	71
5.6	Prevalência de infecção por <i>Leishmania</i>	76
5.7	Resultados do acompanhamento das coortes.....	78
5.8	Incidência de infecção por <i>Leishmania</i> (segunda avaliação)	80
5.9	Análise estatística das variáveis contínuas	82
5.10	Análise estatística por regressão logística	84
5.10.1	Análise da primeira avaliação.....	84
5.10.2	Análise da coorte de suscetíveis (segunda avaliação)	90
5.11	Análise espacial	97
5.11.1	Análise da segunda avaliação	103
6	DISCUSSÃO.....	109
6.1	A intradermorreação de Montenegro para a avaliação da infecção.....	109

6.1.1	O significado da IDRМ negativa.....	110
6.1.2	O significado da IDRМ positiva.....	110
6.2	Avaliação sorológica para diagnóstico da infecção assintomática por <i>L. chagasi</i> .	111
6.3	Testes moleculares para o diagnóstico da infecção assintomática por <i>L. chagasi</i> .	113
6.4	Relação entre os resultados da IDRМ e dos testes sorológicos e moleculares	114
6.5	Prevalências e incidência de infecção assintomática por <i>Leishmania</i> spp na área da Fercal	114
6.6	Fatores associados à positividade da intradermorreação de Montenegro.....	117
6.7	Limitações do estudo	123
6.7.1	Abrangência da população estudada.....	123
6.7.2	Acompanhamento da coorte de suscetíveis	123
6.7.3	Perdas durante a inclusão na linha de base.....	124
6.7.4	Perdas durante o acompanhamento da coorte de suscetíveis	124
6.7.5	Características individuais relevantes não aferidas no estudo.....	125
6.7.6	Ausência de profissionais veterinário e biólogo na equipe de campo.....	125
6.8	Análise espacial	125
6.9	Perspectivas	129
7	CONCLUSÕES.....	131
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	132
	APÊNDICES	158

1. INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos gerais da leishmaniose visceral humana.

A leishmaniose visceral humana (LVH) é uma infecção cujos agentes etiológicos são parasitos do gênero *Leishmania* pertencentes ao complexo donovani. A LVH é uma doença grave que acomete aproximadamente 500.000 pessoas a cada ano no mundo todo, com uma letalidade de cerca de 10%^(1, 2). A LVH tem sido predominantemente associada à infecção por três espécies de parasitos. Estas espécies apresentam distribuição geográfica definida, afetando principalmente regiões tropicais e subtropicais. Assim, *Leishmania (Leishmania) donovani* acomete indivíduos na Ásia (península arábica e subcontinente indiano) e no leste da África; *Leishmania (Leishmania) infantum* afeta principalmente a bacia do Mediterrâneo, compreendendo países da Europa e do norte da África, nordeste da China e sul da Rússia; e a *Leishmania (Leishmania) chagasi* acomete pessoas nas Américas⁽³⁾. Estudos recentes consideram a *L. (L.) chagasi* como espécie idêntica à *L. (L.) infantum*^(4, 5). No presente trabalho manteremos a nomenclatura de *L. (L.) chagasi* ou *L. chagasi* como o agente etiológico da LVH na área de estudo no Distrito Federal (DF)⁽⁶⁾.

A leishmaniose visceral é considerada como doença negligenciada^(7, 8) por acometer predominantemente populações economicamente deprimidas e ser objeto de escasso investimento para o desenvolvimento de ferramentas de controle, incluindo as drogas para o tratamento específico e os testes de diagnóstico⁽⁹⁾. A doença estigmatiza e diminui a capacidade dos indivíduos afetados para cuidar de si próprios e das suas famílias, o que promove ou piora o estado de pobreza^(10, 11). Aproximadamente 90% das doenças negligenciadas ocorrem na África, Ásia e América Latina⁽¹¹⁾. Por estes motivos, mesmo com limitação de recursos e infraestrutura, os setores públicos de diversos países avançam na pesquisa de novas técnicas diagnósticas e drogas para tratá-las⁽⁷⁾. No Brasil, a LVH é

amplamente distribuída e de alta incidência, com taxas de letalidade que têm permanecido estáveis⁽¹²⁾.

A LVH distribui-se amplamente nas Américas desde o México até a Argentina, sendo que a maioria dos casos notificados ocorre no Brasil⁽¹³⁾. No Brasil, a LVH foi descrita pela primeira vez em 1913, quando Migone encontrou corpúsculos semelhantes a *Leishmania* no sangue de um imigrante italiano. Este tinha chegado ao Brasil em 1899 e morou em Santos - São Paulo (SP). Posteriormente mudou-se para a localidade de Porto Esperança, município de Corumbá, Mato Grosso. Na cidade de Asunción, capital paraguaia, chegou em 1911 relatando um quadro de três meses de evolução, caracterizado por febre com calafrios, diarreia, astenia, perda de peso, anemia, leucopenia, manchas no rosto, mãos e costas, além de hepatoesplenomegalia e epistaxe⁽¹⁴⁾. Este é considerado o primeiro caso autóctone de LVH nas Américas. Em 1934, Henrique Penna fez a descrição de 41 casos de leishmaniose visceral ao examinar 40.000 amostras de fígado obtidas por viscerotomia para investigação da febre amarela. A maioria dos casos ocorreu em crianças da região nordeste, principalmente do Ceará (CE) e três casos do estado do Pará (PA)⁽¹⁵⁾. A partir de então, foi criada uma comissão para estudar a leishmaniose visceral no Brasil, tendo à frente o Dr. Evandro Chagas, do Instituto Oswaldo Cruz, que obteve apoio do estado do Pará. Assim, em 1936, foi fundado em Belém o Instituto de Patologia Experimental do Norte, que serviu de base para Evandro Chagas e seus colaboradores desenvolverem suas pesquisas.

Em 1937, Cunha e Chagas descreveram o agente etiológico da LVH no Brasil, utilizando a denominação de *L. donovani chagasi*^(16, 17). Em 1938, Chagas publicou um relatório contendo os resultados das suas pesquisas sobre a leishmaniose visceral na região norte, onde concluíram que: a doença era de ocorrência rara na região (somente oito casos diagnosticados em dois anos de estudo); o vetor provável da doença era a espécie flebotomínica *Phlebotomus*

longipalpis, uma vez que era a espécie de maior prevalência na região; e a fonte da infecção para os vetores seria algum animal silvestre⁽¹⁸⁾.

Até 1953, somente 43 casos de LVH foram diagnosticados in vivo no Brasil, enquanto que mais 300 casos já haviam sido notificados por viscerotomia no nordeste brasileiro. Foi no período de 1953 a 1965 que a leishmaniose visceral foi plenamente reconhecida como endêmica no Brasil e de maior expressividade na América Latina. Em 1956, Deane descreveu definitivamente a zoonose no Brasil com estudos dos reservatórios, indicando a importância do cão doméstico e da raposa (*Lycalopex vetulus*) na manutenção da endemia nas áreas de maior incidência⁽¹⁹⁾.

1.2 Transmissão da leishmaniose visceral nas Américas.

A leishmaniose visceral comporta-se como uma zoonose com três elementos envolvidos no ciclo de transmissão: o agente, *Leishmania (L.) chagasi*; os vetores, insetos do gênero *Lutzomyia*; e os reservatórios, mamíferos canídeos e marsupiais. Os humanos seriam hospedeiros acidentais suscetíveis à infecção ou à doença.

1.2.1 O parasito

Os protozoários do gênero *Leishmania* são microorganismos unicelulares, caracterizados pela presença de um DNA (ácido desoxirribonucléico) mitocondrial, condensado em uma organela denominada cinetoplasto. Pertencem à ordem Kinetoplastida e à família Trypanosomatidae. O seu ciclo de vida é dimórfico, compreendendo a forma flagelada ou promastigota (Figura 1), que é encontrada na via digestiva dos flebótomos e a forma aflagelada (amastigota), encontrada nos fagolisossomos dos macrófagos nos hospedeiros vertebrados^(20, 21). Estes protozoários multiplicam-se por fissão binária, tanto no hospedeiro vertebrado quanto no invertebrado. Após serem ingeridos pelo vetor junto com o sangue, os parasitos migram ao

intestino médio, onde a água é absorvida e o restante do repasto é protegido da digestão pela matriz peritrófica, permanecendo nesta durante aproximadamente três dias⁽²²⁾. A conversão em promastigotas acontece em 12-18 horas dentro desta estrutura⁽²¹⁾. Após esse período, ocorre a degeneração da matriz peritrófica e as formas promastigotas migram para o segmento anterior do tubo digestivo onde sofrem mais divisões e diferenciação até tornarem-se infectantes. Durante os seguintes dias os parasitos migram para a região do esôfago, faringe e válvula estomodeal. A intensa multiplicação provoca uma obstrução mecânica, dificultando a ingestão de sangue pelo inseto. Após cada novo repasto sangüíneo o relaxamento dos músculos responsáveis pela sucção provoca o refluxo dos parasitos, infectando o novo hospedeiro⁽²³⁾. A virulência de um parasito não se expressa de maneira homogênea em todas as espécies de vertebrados suscetíveis. Alguns clones ou cepas de parasitos de uma mesma espécie de *Leishmania* podem apresentar diferentes graus de virulência^(24, 25).



Figura 1. Formas promastigotas de *Leishmania*⁽²⁶⁾.

O gênero *Leishmania* foi descrito inicialmente por Ross, em 1903. Desde a primeira descrição no Brasil por Da Cunha e Chagas, existia a dúvida se a *Leishmania (L.) chagasi* era a mesma espécie que a *L. (L.) infantum* descrita no Mediterrâneo. Inicialmente, propunha-se que a diferença radicaria em que a espécie do Novo Mundo não infectava cães. Este fato foi

posteriormente corrigido por pesquisas de Adler e Da Cunha^(27, 28). O próprio Adler acreditava que estas espécies seriam distintas, e que a *Leishmania (L.) chagasi* seria autóctone do continente americano⁽²⁸⁾. Da Cunha (1942), baseando-se em estudos de sorologia, mostrou que os testes de absorção e aglutinação realizados em coelhos sugeriam que a *L. (L.) chagasi*, agente causador da LV nas Américas era idêntica à *L.(L.) infantum* do Mediterrâneo⁽²⁹⁾. Senekjie, baseado em detalhes da biologia (bioquímica, características do crescimento, viabilidade em vetores), epidemiologia, clínica em animais de laboratório e seres humanos, testes de aglutinação, e resposta aos antimoniais; chegou ainda à conclusão de que a *Leishmania (L.) chagasi* era a mesma espécie que a *Leishmania (L.) donovani*⁽³⁰⁾. Ainda existem controvérsias se o parasito causador da LVH nas Américas e no Mediterrâneo pertenceria à mesma espécie, pelo que alguns autores referem-se aos parasitos do Novo Mundo como *Leishmania (L.) infantum chagasi*⁽⁶⁾. Cupolillo *et al*, mediante métodos bioquímicos baseados em eletroforese de enzimas, consideram que a *L. (L.) infantum* e *L. (L.) chagasi* são a mesma espécie, classificados num único zimodema⁽³¹⁾. Na atualidade estão em andamento estudos moleculares com objetivo de identificar similaridades entre os genomas das duas espécies e sua correspondência filogenética⁽³²⁾. Os resultados apontam para que as espécies do Mediterrâneo e das Américas sejam reconhecidas como uma única espécie, entendendo-se que as pequenas diferenças seriam reflexo da adaptação a novas espécies vetoras⁽⁶⁾. Atualmente reconhece-se que as três espécies do complexo donovani que causam LVH apresentam uma similaridade genética muito grande, identificada mediante o seqüenciamento de DNA^(4, 33).

Existem relatos isolados de LVH causados por *Leishmania (L.) amazonensis* no Brasil, e ainda causando a síndrome da leishmaniose dérmica pós calazar⁽³⁴⁾. Também têm sido descritos quadros de leishmaniose cutânea sem envolvimento visceral causados por *L. (L.) chagasi* nas Américas^(35, 36) e *L. (L.) infantum* na África⁽³⁷⁾.

1.2.2 O vetor

Os vetores transmissores da LVH pertencem ao grupo dos flebótomos (Diptera: Psychodidae). Estes são insetos pequenos, que medem uns 2-3 mm e apresentam hábitos vespertinos assim como noturnos⁽³⁸⁾. Nas Américas o gênero *Lutzomyia* é responsável pela transmissão das leishmanioses. No Brasil, a principal espécie vetora é *Lutzomyia longipalpis* (Figura 2), embora exista a descrição da *Lu. cruzi* como vetor em Corumbá, município do estado de Mato Grosso (MT)⁽³⁹⁾. Na Colômbia, considera-se que *Lu. evansi* seja vetor da LV no norte do país^(40, 41). Estes insetos são encontrados no ambiente silvestre assim como no peridomicílio, principalmente em abrigos de animais domésticos⁽⁴²⁻⁴⁴⁾. Em geral, estas espécies têm preferência pelo peridomicílio, mas podem adaptar-se facilmente ao domicílio quando não conseguem alimentar-se em outros ambientes^(44, 45). A *Lu. longipalpis* apresenta uma variação sazonal na sua densidade, descrita na Bahia como mais abundante entre abril a junho e entre outubro e dezembro⁽⁴⁶⁾.



Figura 2. Macho adulto de *Lutzomyia longipalpis*⁽⁴⁷⁾.

Os flebótomos participam do ciclo de vida do parasito desde o momento que a fêmea fecundada, durante o repasto necessário para a alimentação dos ovos, suga o sangue de um hospedeiro vertebrado. Neste repasto são ingeridas formas amastigotas do parasito, que se

transformam em promastigotas e começam sua multiplicação, migração e amadurecimento⁽²⁰⁾. Estes processos duram sete dias, após o que os parasitos infectantes situam-se na região mais anterior da via digestiva do flebótomo, desde onde são regurgitados no próximo repasto⁽⁴⁸⁾. Na via digestiva do inseto são encontradas as formas flageladas do parasito. O local e os padrões de desenvolvimento do parasito no trato digestivo são utilizados como ferramenta de classificação taxonômica dentro do gênero *Leishmania*⁽⁴⁹⁾. Os insetos não se comportam unicamente como facilitadores do amadurecimento dos parasitos desde a forma amastigota até a forma infectante de promastigota metacíclica. Alguns componentes da saliva dos flebotomíneos atuam ativamente na patogênese da doença, facilitando a entrada do parasito no hospedeiro e diminuindo a resposta imune deste. A saliva da *Lu.longipalpis* possui um componente que dificulta a apresentação antigênica por parte dos macrófagos às células T e interfere negativamente na regulação das respostas de produção de peróxido de hidrogênio após estímulo dos macrófagos pelo interferon gamma (IFN γ)⁽⁵⁰⁾. As fêmeas adultas vivem cerca de 20 dias e a postura realiza-se 8 dias após o repasto sanguíneo. Os ovos são depositados em fendas, pedras, raízes tabulares e sobre substrato orgânico com pouca umidade, onde ficam aderidos devido à substância viscosa que acompanha a desova^(42, 43, 45).

1.2.3 Os reservatórios

Vários mamíferos podem ser reservatórios dos parasitos do gênero *Leishmania*. No Brasil, a LVH tem como reservatório principal o cão doméstico⁽⁵¹⁾. No Mediterrâneo, o próprio cão é também considerado reservatório da LVH, diferente do que acontece com a LVH causada por *L.(L.) donovani*, onde os pacientes com leishmaniose dérmica pós calazar seriam os reservatórios da doença⁽⁷⁾. A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma doença sistêmica crônica, de curso lento e frequentemente fatal⁽⁵²⁾. Dependendo da fase da doença e das

condições imunológicas, muitos cães infectados apresentam-se assintomáticos⁽⁵³⁾. Ao estudar a introdução de leishmaniose visceral no Rio de Janeiro (RJ), Marzochi *et al* acharam unicamente 36,8% de cães sintomáticos entre todos aqueles com diagnóstico sorológico ou parasitológico positivo⁽⁵⁴⁾. Apesar da ausência de sintomas, os cães apresentam parasitismo tanto na pele aparentemente sadia quanto nas vísceras⁽⁵⁵⁾, motivo pelo qual as medidas de controle não só devem ser dirigidas aos cães sintomáticos. Os cães com LV são reservatórios mais eficientes quando sintomáticos e uma meta-análise mostrou que quanto mais sintomáticos a infectividade para os flebotomíneos aumenta⁽⁵⁶⁾. Estudos na Europa têm mostrado diferenças na infectividade de cães para flebotomíneos segundo as regiões geográficas avaliadas, sendo observada maior infectividade na Europa comparada com a América do Sul⁽⁵⁶⁾. Um estudo realizado na Colômbia mostrou que os cães quanto mais sintomáticos conseguem transmitir a infecção por *Leishmania* com maior eficiência comparados aos oligossintomáticos ou assintomáticos. Este estudo mostrou também como na evolução natural da LV canina alguns cães podem melhorar clinicamente de forma espontânea⁽⁵⁷⁾. Isto constitui um problema adicional para o controle da LVC, já que cães de aparência saudável podem ser mantidos nos domicílios por mais tempo. Alguns dos motivos propostos para explicar a falta de efetividade das campanhas de eliminação de cães infectados incluem o elevado número de cães assintomáticos e a falta de provas diagnósticas suficientemente sensíveis para detectar os cães infectantes no período pré clínico, o que retardaria a sua retirada do ambiente da transmissão⁽⁵⁸⁾. A LVC é de evolução lenta e quando sintomático, o cão apresenta um acentuado emagrecimento, linfadenomegalias, hepatoesplenomegalia, perda de pêlos, dermatite, úlceras dérmicas, apatia, onicogribose e ceratoconjuntivite^(54, 55, 59) (Figura 3). A cura deste quadro é improvável e nos casos em que respondem ao tratamento específico com remissão dos sintomas, os cães podem persistir com

parasitos circulando⁽⁶⁰⁾, o que os converte em portadores assintomáticos com competência para atuarem como reservatórios⁽⁶¹⁾.



Figura 3. Diferentes aspectos da leishmaniose visceral canina. A: Alopecia e úlceras. B: Onicogrifose. C: Lesões em face e orelhas. D: Emagrecimento. E: Ceratoconjuntivite, emagrecimento e lesões em face e orelhas⁽⁶²⁾.

As enzootias caninas costumam preceder o aparecimento dos casos de LV humana⁽⁶³⁾. Nas descrições de epidemias urbanas sempre são encontrados cães infectados, o que sustenta a relevância do cão como reservatório^(64, 65).

Com o surgimento de casos de coinfeção com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), existe a possibilidade do homem se tornar também um reservatório da doença, pela elevada parasitemia observada em pacientes coinfectados. Isto também poderia acontecer em indivíduos desnutridos, especialmente crianças, o que aumentaria a complexidade da transmissão da LVH⁽⁵³⁾. Pacientes no período de estado da doença poderiam ter um papel

como reservatórios. Costa *et al* descreveram a capacidade de infectar vetores em pacientes com doença ativa no estado de Piauí (PI), identificando que crianças menores de 4 anos, pacientes com diarreia e aqueles com menor contagem de neutrófilos conseguiram transmitir o parasito com maior eficiência para o vetor⁽⁶⁶⁾.

Embora o cão seja o principal reservatório da LV⁽³⁸⁾, em áreas silvestres outros mamíferos podem atuar também como reservatórios, incluindo roedores, marsupiais, primatas, canídeos silvestres^(19, 67) e provavelmente felídeos, já que atualmente se avalia o papel do gato doméstico (*Felis catus*) como reservatório^(68, 69). A sinantropia de algum destes vertebrados seria o elo entre os ciclos silvestre e urbano da doença⁽⁵³⁾. No Brasil, existem referências a algumas espécies silvestres, especialmente raposas e marsupiais do gênero *Didelphis*^(65, 70). A infecção natural por *L.(L.) chagasi* foi descrita há vários anos em raposas da espécie *Lycalopex vetulus* no Ceará⁽¹⁹⁾; e na espécie *Cerdocyus thous* no Pará (PA) e em Minas Gerais (MG)^(43, 71). Tanto os animais silvestres como os cães domésticos podem apresentar quadros sintomáticos ou assintomáticos da infecção por *Leishmania*. Porém, os quadros assintomáticos parecem ser mais frequentes nos reservatórios silvestres⁽⁷²⁾, sugerindo uma relação parasito/hospedeiro bem sucedida. Courtenay e colaboradores (2002) referem indicam que os reservatórios silvestres teriam um papel limitado como reservatórios da LVH⁽⁷³⁾.

1.2.4 O suscetível

O ser humano é um hospedeiro acidental de *Leishmania* que adquire a infecção quando é picado por um flebótomo infectado. O tipo de quadro clínico que se apresenta após a infecção pode estar determinado pela virulência da espécie do parasito e pela resposta imune do hospedeiro⁽⁷⁴⁾. A resposta imune celular é essencial para definir a suscetibilidade à infecção por *Leishmania*. Este tipo de resposta depende da capacidade dos macrófagos para eliminar os parasitos intracelulares. A cascata de respostas de resistência à infecção inicia com a

apresentação dos antígenos aos linfócitos T pelas células dendríticas e macrófagos tissulares⁽⁷⁵⁾. A resposta caracteriza-se pela produção de uma série de citocinas, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF α), o fator estimulante de crescimento de colônias granulocito-macrófago (GMSGF), interleucina 2 (IL-2) e principalmente o interferon gamma (IFN γ)⁽⁷⁶⁾. Todos estes fatores atuam na ativação local dos macrófagos, o que leva à morte dos parasitos mediante a síntese do óxido nítrico a partir da L-arginina^(77, 78).

Alguns fatores de risco são apontados para o desenvolvimento da doença, como desnutrição, uso de imunossupressores e a co-infecção com o HIV⁽⁷⁹⁻⁸¹⁾. A desnutrição em crianças tem sido descrita como tendo um risco 8,7 vezes maior de desenvolver a forma grave da LV num estudo feito no estado da Bahia (BA)⁽⁷⁹⁾. A observação da maior frequência de leishmaniose visceral entre homens do que em mulheres concorda com alguns modelos murinos. Nestes, observa-se que após orquidectomia, os animais tornam-se mais resistentes e o tratamento de fêmeas com testosterona as deixa mais suscetíveis à doença causada por *L. major*⁽⁸²⁾. O mesmo foi observado com lesões subcutâneas causadas por *L. mexicana*, onde foi observada maior resistência nas fêmeas de camundongos⁽⁸³⁾. Existem relatos sobre a existência de suscetibilidade determinada geneticamente em relação ao desfecho de uma infecção por parasitos causadores de leishmaniose. Observando inicialmente que existem diferenças na suscetibilidade às distintas espécies de *Leishmania* em animais de laboratório, assim como conglomerados familiares e grupos populacionais específicos associados ao desenvolvimento da LVH⁽⁸⁴⁾, a busca pelos genes responsáveis desse comportamento tem documentado padrões associados aos os que desenvolvem a doença clínica e padrões associados aos que resistem à infecção⁽⁸⁵⁾. Alguns genes próximos ao NRAMP1 (proteína do macrófago associada à resistência natural) nos cromossomos 2, 5 e 22, com função de codificar a expressão de IL2, interleucina 4 (IL4) e outras citocinas estão ligados à suscetibilidade à LVH no Sudão. Na África também foi descrita a maior suscetibilidade à dermatite pós calazar dependente do

polimorfismo do receptor de IFN γ , com o gen localizado no cromossomo 6⁽⁸⁶⁾. Estas associações tinham sido descritas também em modelos murinos⁽⁸⁶⁻⁸⁹⁾. No Brasil, genes ligados ao locus do TNF α foram descritos como determinantes genéticos de susceptibilidade⁽⁹⁰⁾.

As manifestações da LVH podem variar desde uma infecção assintomática, documentada pela positividade à intradermorreação de Montenegro, até a doença progressiva e potencialmente fatal⁽⁸⁵⁾ (Figura 4). Estudos descrevem que existe uma relação de 6,5 assintomáticos por cada doente de LV nas Américas⁽⁹¹⁾, enquanto este número cai para 5:1 na África⁽⁹²⁾.



Figura 4. Manifestações clínicas da leishmaniose visceral em crianças. A: Forma oligossintomática. B: Hepatoesplenomegalia. C: Ascite, edemas e hepatoesplenomegalia⁽⁶²⁾.

Badaró *et al* e Marzochi & Marzochi^(51, 91), baseados em estudos em áreas endêmicas da Bahia, afirmam que existem cinco tipos de apresentações da LV em humanos:

- a) Assintomática ou subclínica, determinada pela positividade do teste de intradermorreação de Montenegro (IDRM) e/ou de anticorpos contra *Leishmania*. Os pacientes não apresentam sinais nem sintomas de LV. Poderia representar o processo infeccioso inicial que pode eventualmente autolimitar-se ou evoluir para formas mais

sintomáticas. Estes pacientes não precisam de tratamento, requerendo um acompanhamento clínico mais cuidadoso. Esta seria a forma mais freqüente, pois só uma pequena parte dos infectados por *L. (L.) chagasi* desenvolvem as formas sintomáticas. Um estudo no município de Raposa (Maranhão) mostrou que os pacientes com LV subclínica caracterizam-se pela presença de febre, hepatomegalia, aumento das globulinas e da velocidade de sedimentação globular na ausência de esplenomegalia. Este estudo sugere que a forma assintomática e a subclínica devem ser consideradas entidades separadas⁽⁹³⁾. Os mesmos autores desta classificação reportam pacientes com LV subclínica que se autolimita e não progride para a doença grave⁽⁹⁴⁾.

- b) Oligossintomática ou forma leve, na que o paciente não apresenta sintomas, ou estes acontecem ocasionalmente (oligossintomáticos). No exame clínico podem apresentar hepato e/ou esplenomegalia leves. Estes casos são de difícil diagnóstico e raramente os clínicos conseguem associá-los à possibilidade de se tratar de LV. Os pacientes apresentam testes sorológicos positivos, IDRMs geralmente positivas. Alguns podem até apresentar parasitos nos órgãos biopsiados. Esta forma pode progredir à forma assintomática ou ainda para quadros mais graves, onde resultados negativos da IDRMs poderiam constituir um sinal de alarme. Como na forma anterior, para Badaró *et al* esta forma não precisaria de tratamento específico, devendo ser acompanhada clinicamente.
- c) Forma moderada, na qual o paciente apresenta uma história clínica de semanas a poucos meses de febre variável com sudorese noturna, diarreia e astenia durante os episódios febris, mas, com atividade normal nos períodos afebris. Ao exame clínico apresentam hepatomegalia leve a moderada. Os testes sorológicos são positivos e ocasionalmente têm IDRMs positivas, com evidência de *Leishmania* no exame direto de

aspirados de medula óssea ou de outros órgãos. Os exames bioquímicos e hematológicos apresentam alterações leves a moderadas. Estes pacientes devem ser tratados e têm boa resposta ao tratamento específico. Se não forem tratados, podem progredir a formas graves da doença.

- d) Forma grave da LV. É caracterizada por uma progressão insidiosa, o que leva a um diagnóstico tardio. No caso da LVH americana, a doença ocorre com maior frequência entre crianças, o que não acontece com a LV causada por *L.(L.) donovani*⁽⁷⁹⁾. Os pacientes referem história de meses ou anos com a doença, o que os leva a quadros de consumo, com febre variável, astenia, anorexia, perda de peso, aumento do volume abdominal, episódios de diarreia (mais frequente em crianças) e sangramentos. As formas mais graves apresentam fenômenos hemorrágicos em pele e mucosas, ascite, icterícia, hipertensão arterial e infecções secundárias. Os exames de laboratório mostram alterações graves a moderadas na bioquímica e avaliação hematológica (pancitopenia com alterações da função hepática, renal e hipoalbuminemia). Os títulos de sorologia são elevados, com IDRM negativa e há positividade no exame direto à procura de *Leishmania* em diferentes aspirados. Os casos sem tratamento ou com terapia demorada evoluem a óbito, podendo também acontecer ausências de resposta ou complicações da terapia específica. A morte ocorre por complicações hemorrágicas ou por infecções concomitantes que levam ao choque séptico no paciente. Alguns pacientes podem até piorar o quadro após o tratamento, como resultado de uma reação tipo Jarisch - Herxheimer. Esta acontece geralmente nos primeiros dias de tratamento com antimoniais, particularmente nos casos mais avançados.

O manual brasileiro de controle da LV apresenta uma classificação similar à anterior⁽⁹⁵⁾.

Segundo este manual, a LV classifica-se em:

- a) Infecção inaparente ou assintomática, que varia entre 40-60% de uma população soropositiva para *Leishmania*. As evidências de infecção são as sorologias e a IDRM. Como não existem evidências de manifestações clínicas não devem ser tratadas nem notificadas.
- b) LV doença - período inicial, em que o indivíduo tem febre por menos de quatro semanas e manifestações clínicas leves a moderadas. Inclui nesta às formas oligossintomáticas, leves e moderadas da classificação de Badaró *et al*, 1986.
- c) LV doença - período de estado, com o quadro típico diagnosticado aos poucos meses de doença, o que não leva ao paciente ao consumo do estágio final. Corresponde à forma grave de Badaró *et al*, 1986.
- d) LV doença - período final, onde o paciente apresenta-se com marcada desnutrição, edemas e começam a aparecer sinais de gravidade (anasarca, icterícia, sangramentos, toxemia, etc.)
- e) LV grave - caracteriza-se pelos fatores associados à maior letalidade, como extremos de idade (menor de seis meses e maiores de 65 anos), desnutrição, comorbidades e alguns sinais como icterícia, hemorragias, anasarca e manifestações de toxemia⁽⁹⁶⁾.

1.3 Papel do ambiente na leishmaniose visceral

As primeiras descrições da leishmaniose visceral nas Américas apontavam para a importância do ambiente para o desenvolvimento da doença. A doença era considerada como agravo de áreas rurais ou de pessoas que por diferentes motivos freqüentavam estas áreas ou regiões de vegetação silvestre⁽⁷⁴⁾. No Brasil, até meados da década de 70 a LVH e a LVC eram quadros tipicamente rurais⁽⁹⁷⁾. Com o tempo, observa-se que a mudança do comportamento do homem e a mudança do meio ambiente que permitiu a expansão da fronteira agrícola, com a inserção de assentamentos humanos, poderiam ter contribuído para a maior dispersão da leishmaniose,

inicialmente para áreas periurbanas e - mais recentemente - para áreas urbanas de grandes cidades. Os vetores têm-se adaptado às mudanças no ecossistema causadas pelo desmatamento e a urbanização de pólos de características previamente rurais, com o conseguinte acometimento das populações residentes em áreas urbanas⁽⁹⁸⁾. Degradações ambientais, migrações de populações carentes para a periferia dos grandes centros, fixando-se em locais sem infraestrutura de saneamento básico e em promiscuidade com animais domésticos, teriam contribuído para o processo de urbanização da doença (Figura 5). Estes comportamentos teriam levado ao aparecimento ou aumento de casos de infecção nestas áreas e a possíveis mudanças nos padrões de transmissão. A destruição de florestas primárias no Brasil e o concomitante desenvolvimento de áreas cultivadas conjuntamente com assentamentos rurais podem ter favorecido o desenvolvimento de grandes populações de *Lu. longipalpis*.



Figura 5. Condições que favorecem o aparecimento de casos de LVH: Proximidade com a mata, disposição inadequada de lixo e detritos vegetais. Setor da Prainha, Comunidade de Engenho Velho. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal.

Estes mesmos assentamentos poderiam ter facilitado a introdução de cães infectados e a saída de outros reservatórios silvestres do seu habitat natural à procura de alimentos, escassos no ambiente natural pelo efeito do desmatamento. Os vetores, perante a escassez de fontes de alimentação, também podem ter alterados seus hábitos alimentares, saindo do ambiente silvestre à procura de novas fontes alimentares no peridomicílio, tendo humanos e cães como alternativas mais acessíveis⁽⁹⁷⁾. Os números no Brasil mostram que de uma média anual de 1.600 casos na década de 80 passou-se a mais de 2.500 casos na seguinte década e no início da presente década este valor alcançou os 3.500 casos anuais^(97, 99).

A série histórica dos casos notificados de LVH permite observar que a incidência da LV apresenta picos aproximadamente a cada cinco anos, que têm sido associados ao fenômeno de esgotamento de população suscetível e à presença do fenômeno de “El Niño”⁽¹⁰⁰⁾. Anualmente existe sazonalidade na apresentação dos casos, sendo mais frequentes nos meses de maio a agosto, período que corresponde à época seca na maioria das regiões brasileiras⁽⁵⁴⁾. Conhecendo que o período de incubação médio da doença é de 6 meses⁽¹⁰¹⁾, a infecção aconteceria entre os meses de novembro a março. Estes meses correspondem ao período mais quente e com maior pluviosidade no ano, o que favorece a reprodução dos flebótomos.

A maior dispersão da LVH abrange os países vizinhos, antes considerados indenes ou com casos ocasionais, sendo notório o acometimento de comunidades na Argentina, Bolívia e Paraguai⁽¹⁰²⁻¹⁰⁴⁾. No Brasil, preocupa essencialmente o estabelecimento da doença em grandes metrópoles, onde previamente havia relatos de casos importados. As cidades afetadas nos últimos 25 anos são Belo Horizonte, Campo Grande, Fortaleza, Palmas, Rio de Janeiro, São Luis e Teresina^(97, 105, 106). Nestas cidades, o cão é considerado o principal reservatório da doença⁽¹⁰⁷⁾. A última grande metrópole afetada foi Brasília, onde em 2005 foram descritos os primeiros casos autóctones.

Outra mudança epidemiológica que pode acontecer no Brasil é o aparecimento de cepas de *L.(L.) chagasi* de transmissão urbana antroponótica como a descrita entre pacientes com HIV/AIDS na Espanha e outros países mediterrâneos^(108, 109). Neste ciclo, pessoas com a co-infecção HIV/LV apresentam carga parasitária elevada, o que os converte em reservatórios, com capacidade de transmitir a doença por mecanismos como o compartilhamento de seringas e agulhas para o uso de drogas injetáveis⁽¹¹⁰⁾. Este tipo de transmissão ainda não foi descrito no Brasil⁽¹¹¹⁾.

1.4 Infecção assintomática

Os estudos de prevalência de infecção por *L. (L.) chagasi* têm sido desenvolvidos utilizando as mais variadas ferramentas de diagnóstico. No Brasil, os testes mais utilizados são as provas sorológicas de imunofluorescência indireta (IFI) e ELISA, sendo consideradas - sobretudo o teste de ELISA - como teste de escolha para inquéritos populacionais⁽⁵³⁾. Alguns estudos têm utilizado testes moleculares para detectar DNA parasitário em amostras de sangue periférico⁽¹¹²⁾.

Os estudos têm mostrado positividade frequente nas provas sorológicas ou moleculares e associações com algumas características epidemiológicas que aumentariam a probabilidade de estar infectado por parasitos do gênero *Leishmania*.

No Brasil, a maioria dos estudos de prevalência foi realizada na região nordeste, lançando mão de diferentes técnicas⁽¹¹³⁻¹¹⁵⁾. Em duas localidades no Maranhão (MA) foram encontradas prevalências de 18,6% e 13,5% para os testes de ELISA e IDR, respectivamente, sem associações significativas com as características da população estudada⁽¹¹⁶⁾.

Uma das maiores dificuldades ao realizar este tipo de estudos é o baixo nível de anticorpos e o escasso número de parasitos circulantes⁽¹¹⁷⁾. Costa *et al* estudaram 108 pessoas que residiam em moradias onde foram notificados casos de LV no Piauí. Os autores descreveram 70% de

positividade ao teste de IDRM e 7% (8/108) de indivíduos com PCR positiva no sangue. Só duas destas oito pessoas positivas no PCR mostraram sorologia positiva, mostrando que os testes sorológicos nestes casos são de pouca ajuda⁽¹¹⁸⁾. Na Bahia, um estudo mostrou positividade de 32% pela IDRM e 14% pelo método de ELISA. Não houve associações significativas com condições clínicas ou epidemiológicas na amostra estudada⁽¹¹⁹⁾. Moreno *et al*, estudaram crianças em Minas Gerais e observaram sensibilidades dos testes sorológicos entre 24,8 e 30,1%, usando o teste de hibridização em creme leucocitário como padrão ouro⁽¹²⁰⁾.

Um estudo feito na Espanha, usando uma combinação de técnicas diagnósticas para LV, mostrou que a mais sensível foi o *Western blot*. Neste estudo também foram utilizadas outras técnicas sorológicas (ELISA), culturas de creme leucocitário e hemocultura, testes moleculares (*nested-PCR* em creme leucocitário) e IDRM. A positividade maior correspondeu à IDRM, com três vezes mais positividade do que o *Western blot*. Usando a positividade para qualquer teste como padrão ouro, a maior sensibilidade correspondeu à técnica molecular (75%), seguida pela IDRM (50%)⁽¹²¹⁾. Um estudo na região dos Alpes franceses mostrou previamente uma boa correlação da IDRM com a prova do *Western blot*⁽¹²²⁾. Estudos mais recentes usando IDRM como marcador de infecção mostram que familiares de pacientes com LV tem maior positividade à prova. Em áreas endêmicas, esta positividade também aumenta com a idade das pessoas e naqueles que moram em ambientes rurais⁽¹²³⁾.

Estudos em áreas acometidas recentemente pela LVH são escassos e com metodologias muito diversas. Na Itália, Biglino *et al* (2009) avaliaram indivíduos saudáveis numa área com relato de casos recentes de LVH no noroeste da Itália. Usando o teste de *Western blot*, encontraram 7,41% de positividade a anticorpos contra antígenos de *L. infantum* na população humana. Posteriormente, usando a técnica da PCR em creme leucocitário mostraram que 53,8% dos soropositivos tinham DNA circulante no sangue. Os fatores que mostraram associação com a

positividade para os testes foram morar ininterruptamente na área rural, contato diário com animais (não exclusivamente com cães), idade avançada e atividades ao ar livre, como a agricultura. O acompanhamento por 24 meses não mostrou o desenvolvimento da doença em nenhum dos indivíduos infectados⁽¹¹²⁾.

O uso da IDRM baseia-se na sua positividade nos pacientes em contato com parasitos do gênero *Leishmania*. Este teste pode ser positivo em pacientes com qualquer forma clínica de leishmaniose e, no caso da LV, é positivo nos indivíduos assintomáticos, nas formas oligossintomáticas e nos curados. Entretanto, sua negatividade não necessariamente seria o contrário, pois poderia significar ausência de resposta de hipersensibilidade frente aos antígenos parasitários. Este teste tem mostrado uma boa performance quando usado para avaliar infecções assintomáticas, apresentando correlação variável com estudos sorológicos⁽¹²¹⁾. Usado na Itália, mostrou boa correlação com a soroprevalência de LV canina⁽¹²⁴⁾. Alguns autores sugerem que a detecção das formas assintomáticas de LV em estudos de acompanhamento, e por consequência em estudos de incidência, seriam melhor realizados utilizando a IDRM do que sorologias⁽¹¹⁸⁾. No Sudão, Ibrahim *et al* descreveram em 1999 um estudo que iniciou como um inquérito entre guarda-parques de uma área endêmica para LVH. Foi observado que a possibilidade de conversão ao teste de Montenegro era maior entre os que tinham mais de um ano na área (28 vs 85%, $p < 0,01$). Estes resultados não se repetiram quando foi avaliada a sorologia mediante o método de ELISA com antígeno recombinante k39. Dos casos negativos ($n=9$), três adoeceram em um ano e cinco positivaram a IDRM. Estes achados sugerem que aqueles com negatividade ao teste de IDRM seriam os mais suscetíveis a adoecer⁽⁸⁴⁾.

Assim como os testes utilizados para avaliar casos de LV assintomática são os mais diversos, os estudos realizados não chegam a um consenso sobre quais seriam os fatores associados a esta condição. Alguns dos estudos indicam que coabitar em casa onde houve um doente com

LVH representa um risco maior de ser infectado por parasitos do gênero *Leishmania*, assim como outros indicam algumas condições próprias do indivíduo, da moradia deste e das características do ambiente arredor das moradias. A tabela 1 apresenta a síntese de estudos relevantes sobre este assunto.

Tabela 1. Estudos que descrevem a infecção assintomática por espécies de *Leishmania* que causam quadros viscerais e os fatores associados a esta condição.

Localidade avaliada (País)	População avaliada	Métodos diagnósticos utilizados	Frequências encontradas	Fatores associados à positividade dos testes	Referência
Dinder National park (Sudão)	Assintomáticos, oito deles com antecedente de LVH	IDRM ELISA com rk39 PCR	44/57 (77,1%) 23/52 (44,2%) 14/51 (27,4%)	Morar mais de um ano na área do parque	Ibrahim ME <i>et al</i>
Bihar (Índia)	Assintomáticos (n=870)	Aglutinação direta Imunocromatografia	230 (26,4%) 120 (13,7%)	Não avaliados (N.A.)	Gidwane K <i>et al</i> ⁽¹²⁵⁾
Fars (Irã)	Assintomáticos (n=802)	Aglutinação direta PCR	13 (1,6%) 100 (12,5%)	N.A.	Fakhar M <i>et al</i> ⁽¹²⁶⁾
Ghir Karzin e Sar Mashhad (Irã)	Assintomáticos (n=388)	IDRM Imunofluorescência ELISA-PCR	132 (34,0%) 212 (54,6%) 95 (24,5%)	N.A.	Alborzi A <i>et al</i> ⁽¹²⁷⁾
Eskisehir, Bilecik, Kutahya e Afyon (Turquia)	Crianças 1-17 anos, assintomáticas (n=572)	Imunofluorescência ELISA com antígeno cru ELISA "in house" ELISA rk39 "in house" Imunocromatografia	22 (3,8%) 30 (5,2%) 21 (3,6%) 21 (3,6%) 19/30 (63,3%)	N.A. Soroprevalência final 5,2%	Dogan N <i>et al</i> ⁽¹²⁸⁾
Ilha Eivissa (Espanha)	Doadores de sangue	IDRM ELISA Western blot PCR	15/67 (22,3%) 16/656 (2,4%) 50/656 (7,6%) 27/122 (22,1%)	N.A.	Riera C <i>et al</i> ⁽¹²¹⁾
Ilhas Baleares (Espanha)	Doadores de sangue	IDRM Western blot Nested PCR Cultura (creme leucocitário)	73/304 (11%) 44/1437 (3,1%) 18/304 (5,9%) 2/304 (0,6%)	N.A.	Riera C <i>et al</i> ⁽¹²⁹⁾
L'Alacanti (Espanha)	Assintomáticos	IDRM	52,8% adultos, e 11,5% crianças	Ter familiar com LVH Viver na periferia	Moral L <i>et al</i> ⁽¹²³⁾
Norte do Israel	Assintomáticos	ELISA	Área 1: 62/2086 (2,9%) Área 2: 5/494 (1,0%)	Morar na área 1 (endêmica).	Adini I <i>et al</i> ⁽¹³⁰⁾
Agrigento – Sicília (Itália)	Doadores de sangue	Imunofluorescência PCR	11/1449 (0,75%) 4/11 (36,4%)	N.A. PCR só nos soropositivos	Scarlata F <i>et al</i> ⁽¹³¹⁾
Roma e Sicília (Itália)	Assintomáticos	Hemaglutinação indireta	Roma: 10/374 (2,7%) Sicília: 9/217 (4,1%)	N.A.	Federico G <i>et al</i> ⁽¹³²⁾
Torino (Itália)	Adultos saudáveis	Western blot PCR (só nos positivos)	39/526 (7,41%) 21/39 (53,8%)	Morar em ambiente rural desde a infância Idade maior de 65 anos	Biglino A <i>et al</i> ⁽¹¹²⁾

Continuação...					Contato diário com animais (cão ou outros)	
Localidade avaliada (País)	População avaliada	Métodos diagnósticos utilizados	Frequências encontradas	Fatores associados à positividade dos testes	Referência	Atividades no campo
Teresina PI (Brasil)	Coabitantes com casos de LVH	IDRM PCR	62/87 (71%) 8/101 (7,92%)	N.A.	Costa CNH <i>et al</i> ⁽¹¹⁸⁾	
Monte Gordo – BA (Brasil)	Assintomáticos	IDRM ELISA	48/152 (32%) 14%	Nenhuma das avaliadas (idade, nutrição, borrifação, uso de mosquiteiros, presença de cães soropositivos, etc)	Cunha S <i>et al</i> ⁽¹¹⁹⁾	
Camaçari – BA (Brasil)	Vizinhos e familiares de casos de LVH	IDRM mais ELISA (qualquer positividade)	18/40 (45%) familiares 26/95(27%) vizinhos	N.A.	De Oliveira Jr <i>et al</i> ⁽¹¹³⁾	
Raposa – MA (Brasil)	Crianças menores de 6 anos	IDRM ELISA	18,6% 13,5%	Nenhuma das avaliadas (parâmetros nutricionais)	Caldas AJ <i>et al</i> ⁽¹¹⁶⁾	
Brotas – CE (Brasil)	Crianças menores de 11 anos	ELISA com <i>L.chagasi</i>	Incidência anual: 4,6%	Morar em casa com doente de LVH	Jerônimo S <i>et al</i> ⁽¹¹⁵⁾	
Sabará – MG (Brasil)	Assintomáticos (n= 1604)	Imunofluorescência ELISA Imunocromatografia	38 (2,4%) 54 (3,4%) 90 (5,6%)	N.A.	Moreno EC <i>et al</i> ⁽¹²⁰⁾	
Cametá – PA (Brasil)	Assintomáticos (n=1099)	IDRM Imunofluorescência	133 (12,1%) 97 (8,8%)	N.A.	Silveira FT <i>et al</i> ⁽¹³³⁾	
Raposa – MA (Brasil)	Crianças de 0-5 anos	IDRM ELISA	10,8% 28,5%	Ter mais de 23 meses de idade e ter familiar com LVH.	Caldas AJ <i>et al</i> ⁽¹³⁴⁾	
Porteirinha – MG (Brasil)	Assintomáticos com ou sem familiares com LVH (n=1241)	Imunofluorescência ELISA com antígeno cru ELISA rk26 ELISA rk39 Imunocromatografia	112 (9,0%) 314 (25,3%) 177 (14,2%) 233 (18,8%) 53 (4,3%)	N.A.	Romero HD <i>et al</i> ⁽¹³⁵⁾	
Três lagoas – MS (Brasil)	Familiares de casos de LVH	Imunofluorescência ELISA	80/220 (36,4%) Positividade acumulada	Nenhuma das avaliadas (características individuais, da casa, econômicas, dos cães)	Oliveira AL <i>et al</i> ⁽¹³⁶⁾	
Belo Horizonte - MG (Brasil)	Coabitantes com casos de LVH (n=138)	IDRM Imunofluorescência ELISA com antígeno cru ELISA com rk39 PCR	4 (2,9%) 4 (2,9%) 13 (9,4%) 7 (5,1%) 22 (18,1%)	N.A.	De Gouvêa L <i>et al</i> ⁽¹³⁷⁾	
Araçatuba - SP (Brasil)	Assintomáticos em área de baixa endemicidade	Imunocromatografia (<i>Kalazar detect</i> ®)	Área 1: 23/125 (18,4%) Área 2 6/125 (4,8%)	Morar na área 1. Sem diferenças para idade, presença de cães, cães com LV nas casas.	Barão CS <i>et al</i> ⁽¹³⁸⁾	
São José de Ribamar - MA (Brasil)	Assintomáticos menores de 15 anos	IDRM ELISA com antígeno cru	61,7% 19,7%	Leishmaniose na família, abastecimento de água e aplicação de inseticida.	Nascimento MDSB <i>et al</i> ⁽¹³⁹⁾	

1.5 Leishmaniose visceral em Brasília - Distrito Federal

As notificações de LVH em Brasília, Distrito Federal, existem desde a década de oitenta. Procurando nos arquivos do Hospital Universitário de Brasília (HUB) encontrou-se que o primeiro caso registrado de LVH no HUB data de 1983, em um adolescente provindo do estado da Bahia. Dessa época até primeira metade da década atual não só o HUB, mas vários hospitais da rede pública de saúde do Distrito Federal notificaram casos da doença. A maioria dos casos relatados era de doentes procedentes dos estados de Bahia, Goiás, Minas Gerais e Maranhão. Cidades nos municípios do entorno de Brasília como Unaí em Minas Gerais; Águas Lindas de Goiás, Formosa, Luziânia, Novo Gama, Padre Bernardo e Planaltina de Goiás em Goiás (GO) já registravam casos autóctones de LVH desde a década de noventa. Há antecedentes importantes em municípios próximos a Brasília. O município de Niquelândia - GO é o município goiano com maior número de casos de leishmaniose tegumentar. Este também apresenta um número importante de casos de LVH no estado⁽¹⁴⁰⁾. Pirenópolis é outro município próximo a Brasília que desde 2003 apresenta casos de LVH. Coincidentemente, em 2002 começou a construção da usina hidroelétrica de Corumbá IV⁽¹⁴¹⁾. Grandes construções como esta, associada ao deslocamento de reservatórios silvestres e vetores da leishmaniose visceral, podem ter contribuído para o aparecimento ou aumento de casos da doença.

O primeiro caso de LVH autóctone do Distrito Federal (DF) foi diagnosticado em julho de 2005. Tratava-se de uma criança de três anos com o quadro clínico típico da LVH, moradora da comunidade de Bananal II, na área da Fercal, em Sobradinho (Figura 6). A investigação da autoctonia revelou que a criança nasceu no DF e não relatava viagens fora da capital. A doença apresentou-se com quadro febril de 15 dias de duração, com aparecimento posterior de tosse. No exame físico foram descritos edema em membros inferiores, palidez e distensão abdominal com hepatoesplenomegalia. Os exames mostraram pancitopenia e inversão da relação albumina/globulina. Foi diagnosticada também infecção pulmonar concorrente

(pneumonia). A criança foi medicada com antimoniais (Glucantime®), com boa resposta. A residência deste primeiro caso era uma casa de alvenaria, sem paredes rebocadas e rodeada de densa vegetação. Ao redor da casa crescia desordenadamente vegetação secundária própria região e a limpeza do peridomicílio era precária.

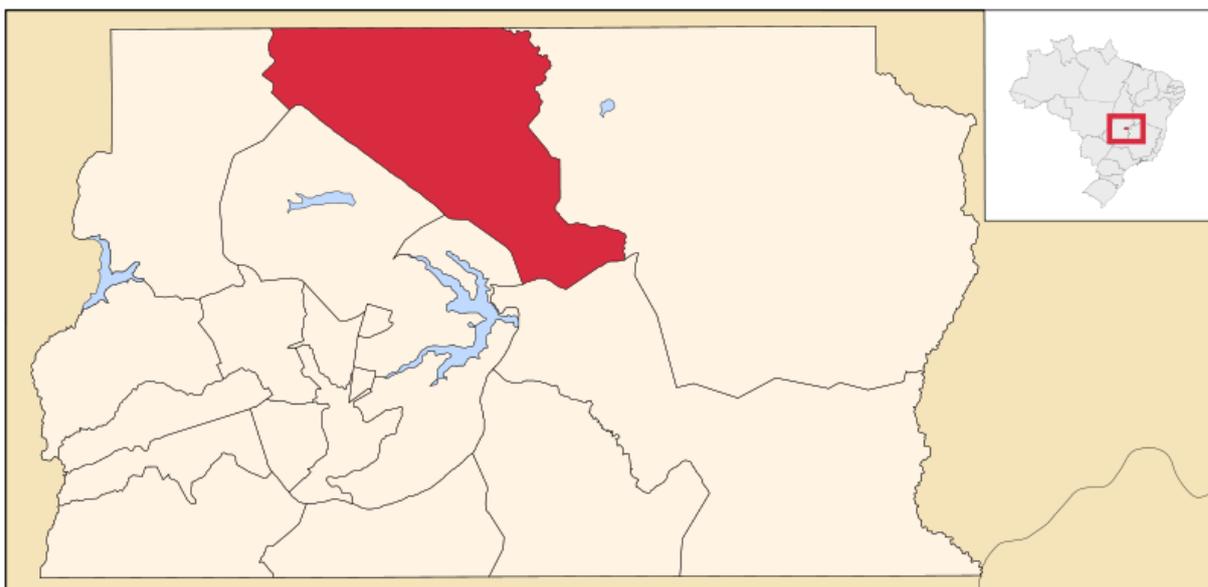


Figura 6. Localização da região de Sobradinho. Brasília, Distrito Federal - Brasil⁽¹⁴²⁾.

Nesse mesmo ano foi relatado mais um caso de LVH, também morador da área de Sobradinho, do denominado “Setor de Mansões de Sobradinho II”. Esta comunidade encontra-se localizada na entrada da área da Fercal, sem pertencer a esta última.

No ano de 2006 foram relatados seis casos, dois deles não procediam de Sobradinho. Dois pacientes tinham como endereço a comunidade de Vila Rabelo II, localizada também na entrada da Fercal. Em todas as comunidades com casos de LV foram identificados flebótomos da espécie *Lutzomyia longipalpis* no peri e intradomicílio, sendo que nas comunidades de Bananal e Queima Lençol foi descrito que a maioria dos flebótomos foi capturada no intradomicílio (66,7% do total)⁽¹⁴³⁾. Em 2007 foram três casos, em 2008 cinco e em 2009 cinco casos. Da totalidade de casos (n=21), unicamente quatro foram de moradores de outras

regiões diferentes de Sobradinho. Houve dois casos no Lago Norte, um caso em Brazlândia e um em Ceilândia.

A Diretoria de Vigilância Ambiental do Distrito Federal (DIVAL), através do Núcleo de Pesquisas em Entomologia e Animais Peçonhentos (NEAP) desenvolve um trabalho de inquérito entomológico desde 2004. Estas pesquisas eram inicialmente orientadas à procura de áreas com presença de vetores para leishmaniose tegumentar americana (LTA). Porém, a partir de 2005 foi incluída a pesquisa das áreas com suspeita de autoctonia de LVH. Assim, na primeira pesquisa realizada em 2004 não houve relato de *Lutzomyia longipalpis* nas áreas pesquisadas, que incluíam as regiões administrativas do Gama, Paranoá, Planaltina, São Sebastião, Sobradinho e Vila Estrutural^(144, 145). Já em 2005 tiveram o primeiro achado do vetor em Quebrada dos Neres, área rural de São Sebastião⁽¹⁴⁵⁾. Vexenat relatou o achado de várias espécies de flebotomíneos no DF nas comunidades de Ribeirão e Queima Lençol em Sobradinho em 1991, sem identificação de *Lu. longipalpis*. Nessas comunidades foi relatada unicamente a presença de *Lu. whitmani* e *Lu. fischeri*⁽¹⁴⁶⁾. Posteriores inquéritos entomológicos pelo NEAP mostraram a presença da *Lu. longipalpis* em várias áreas do DF. O inquérito levado a cabo entre janeiro de 2006 e maio de 2007 mostrou o vetor da LVH nas áreas de Núcleo Rural Cava de Baixo (São Sebastião); Condomínio Serra Azul, Setor de Mansões de Sobradinho, Vila Rabelo II, e nas comunidades da Fercal pesquisadas: Alto Bela Vista, Bananal, Boa Vista, Fercal Leste, Queima Lençol e Rua do Mato (Sobradinho)^(147, 148); e na área conhecida como Ponte Alta Norte (Gama)⁽¹⁴⁸⁾. Uma análise de todos os vetores capturados de 2006 a 2008 mostrou que 94% dos flebotomos da espécie *Lu. longipalpis* foram capturados em Sobradinho⁽¹⁴⁹⁾. Em 2008, as regiões do Lago Norte e Paranoá apresentaram *Lu. longipalpis* no inquérito entomológico⁽¹⁵⁰⁾. Em 2009, as áreas de Jardim Botânico, Lago Sul, Taquari (Lago Norte) e Sobradinho II apresentaram também positividade no inquérito entomológico⁽¹⁵¹⁾. O último destes inquéritos mostrou que a cada ano aumentam as áreas com

presença do vetor da LVH. A análise dos dados do monitoramento entomológico revela que a colonização por *L. longipalpis* acomete a faixa central de Brasília, deslocando-se desde o norte (Sobradinho) até o sul (São Sebastião). Ainda não existem relatos de casos humanos na região sul desta faixa. Fora da área descrita acima só há quatro casos reportados, e não há detecção de cães infectados nem vetores fora de Sobradinho e Lago Norte (Carranza-Tamayo *et al*, dados não publicados).

1.6 Uso de ferramentas de análise geográfica no estudo das doenças infecciosas

As técnicas de análise espacial foram desenvolvidas inicialmente para uso em agricultura, ecologia e geologia⁽¹⁵²⁾. Na área da saúde, medidas de localização geográfica podem ser úteis para avaliar os padrões de ocorrência de alguns agravos. Nas doenças infecciosas, por exemplo, temos o conceito de “foco da doença” definido como o espaço desde onde esta se dissemina. Este pode ser o habitat natural de algum reservatório ou vetor, uma fonte de contaminação ambiental, ou até um local que é freqüentado por distintos motivos por indivíduos suscetíveis em risco de se infectar e adoecer⁽¹⁵³⁾. Estes conceitos têm sido adaptados para o desenvolvimento de ferramentas que ajudam na identificação destes focos, onde as medidas de controle deveriam incidir preferencialmente. Na LVH, esta abordagem tem ajudado a detectar focos da doença, por exemplo, na cidade de Teresina (PI). Nesta cidade, observou-se que a periferia da zona nordeste e sul da cidade tem as maiores incidências da doença, associada à sua proximidade com áreas de mata⁽¹⁵⁴⁾. Esta mesma abordagem mostrou que o aumento gradativo da vegetação está associado à maior incidência de LVC e de LVH⁽¹⁵⁵⁾. A maioria dos estudos de análise espacial em regiões urbanas utiliza áreas (chamadas de polígonos), baseadas em setores censitários ou bairros⁽¹⁵⁶⁾. Em áreas rurais, esta abordagem é dificultada pela amplitude geográfica dos setores e a escassez de referências para formar os polígonos. O registro de outros dados geograficamente

referenciados tais como dados de saneamento, cobertura vegetal, etc., permitem ampliar o leque de possíveis associações com a ocorrência de doenças. No caso da LVH em Teresina, este tipo de abordagem mostrou que a incidência da doença está inversamente relacionada ao percentual de domicílios com água canalizada e diretamente relacionada com as áreas periféricas, a maior cobertura vegetal, o baixo nível de saneamento e com a ocupação rápida das áreas estudadas⁽¹⁵⁷⁾. O uso de modelos matemáticos - como o bayesiano - pode permitir também a avaliação da progressão de uma doença no espaço e no tempo, como mostrado para a LVH em Belo Horizonte⁽¹⁵⁸⁾.

A interpolação de dados geográficos é uma técnica que fornece estimativas de intensidade de eventos que ocorrem em locais específicos (densidade ou número de eventos por área) para toda uma região. As estimativas de intensidade podem ser apresentadas graficamente por meio de mapas de superfície ou mapas de contorno, que mostram a densidade dos eventos para toda a região analisada. Existem várias técnicas de interpolação, como *Kriging*, modelos de regressão local (*loess*, *splines*), e Dirichlet *tessellations*. Um dos métodos mais usados é o método de alisamento por função Kernel gaussiano, técnica não paramétrica que promove o alisamento (suavização estatística) dos dados espaciais representados como pontos individuais. Este permite filtrar a variabilidade de um conjunto de dados, retendo as características essenciais locais dos dados. Desse modo, faz-se a estimativa suavizada da intensidade local dos eventos sobre a área estudada, obtendo-se uma “superfície de risco” para sua ocorrência⁽¹⁵⁹⁾. Existem várias possibilidades de análise dos dados com a função Kernel: a análise univariada, que estima a distribuição no espaço de um único tipo de evento, como os casos de uma doença. Como exemplo teríamos a utilização do Kernel para estudar a distribuição dos casos de dengue em Niterói – RJ⁽¹⁶⁰⁾. Nas situações em que existe disponibilidade de dados de “casos e população” ou “casos e controles” pode ser utilizada a função *dual* Kernel (Kernel bivariado), que permite analisar a densidade de um evento

(“caso”) em relação à densidade do outro (“controle”). Existem vários métodos que podem ser utilizados para a interpolação. Um dos métodos de interpolação mais utilizados é o normal, cuja função de suavização se estende por toda a área, enquanto nos outros métodos (quártico, triangular, uniforme, etc) as funções são restritas a um raio definido. Desses métodos, o quártico e o uniforme são os que permitem suavizar melhor as estimativas de densidade. Por ser um método descritivo e subjetivo, recomenda-se usar mais de um método para identificar aquele cuja suavização descreve melhor os dados analisados⁽¹⁶¹⁾.

Um *cluster* ou agrupamento de eventos pode ser definido como foco particular de alta incidência⁽¹⁶²⁾ ou como um grupo delimitado de ocorrências relacionadas entre si mediante algum mecanismo social ou biológico, ou tendo em comum a relação com outro evento ou circunstância⁽¹⁶³⁾. A análise de *clusters* é importante, pois permite identificar áreas delimitadas de alta frequência de eventos, além daquela distribuição mostrada pela suavização estatística de Kernel.

2. JUSTIFICATIVA

A leishmaniose visceral é uma zoonose em expansão no Brasil e na América Latina em geral. A infecção avança desde áreas de características rurais até as periferias das grandes cidades e atualmente é possível contrair a infecção na área urbana de grandes cidades brasileiras. Pelo fato da urbanização ser um fenômeno relativamente novo, pouco se conhece sobre a epidemiologia da LVH nesse cenário. As relações entre os componentes da cadeia de transmissão na área urbana parecem ser bem mais complexas e variadas do que no ambiente rural⁽²⁾. Como a LVH predominou por muitos anos na região nordeste, seu comportamento em outras regiões é pouco conhecido. Não existem relatos das características da infecção assintomática da LV na região Centro-Oeste do Brasil, excetuando o estudo que avaliou familiares de casos com LVH⁽¹³⁶⁾. Esta carência é mais patente em relação às pesquisas sobre as características da infecção por *Leishmania* em áreas de introdução recente da doença^(119, 164). A oportunidade de estudar esse momento no processo de expansão aconteceu em 2005, quando apareceu o primeiro caso com características de transmissão autóctone da LVH no Distrito Federal.

A descrição das características da infecção assintomática da LVH numa área de características mistas (rural - urbana) e sua associação com as variáveis estudadas pode ser útil na construção de algumas recomendações para reconhecer futuros nichos ecológicos de características similares antes da doença se apresentar. As recomendações podem estender-se às características das pessoas infectadas, dos domicílios e do peridomicílio, todos avaliados neste trabalho. Assim, o produto desta pesquisa poderá ser utilizado para ampliar o leque de medidas de controle da LVH em situações semelhantes na região Centro-Oeste.

A maioria dos estudos prévios sobre infecção assintomática por *L. chagasi* não tem conseguido apontar características que determinem um risco maior de infecção. Espera-se que

com um desenho metodologicamente adequado e por meio do acompanhamento dos indivíduos avaliados esta possibilidade aumente, e desse modo fundamentar melhor algumas medidas de intervenção vigentes.

A seleção da área da Fercal baseou-se no aparecimento dos primeiros casos de LVC e LVH nessa região. Na área da Fercal, observa-se um movimento migratório de famílias procedentes de áreas endêmicas para LV. Assim, optou-se por avaliar crianças por apresentar menor probabilidade de exposição prévia em outras áreas endêmicas, pela sua menor capacidade de migrar e portanto, relativa estabilidade na área. Isto teria mais uma vantagem de reduzir o risco de perdas durante o acompanhamento, embora o estudo tenha sido planejado já prevendo essa última possibilidade. Sabe-se também que nas áreas onde a endemia está estabelecida, as crianças constituem a maior parte dos casos de LVH⁽¹¹⁸⁾.

O uso da intradermorreação de Montenegro como ferramenta principal de diagnóstico da infecção assintomática baseou-se no conhecimento prévio de que positividade é maior do que a das técnicas sorológicas. Estudos prévios mostraram que existe uma boa correlação com a técnica sorológica de maior positividade (*Western blot*)⁽¹²¹⁾. Levando em consideração que a área de estudo é um cenário com casos esporádicos de leishmaniose cutânea e sem relatos de leishmaniose mucosa, foi planejada uma entrevista e exame clínico que teve, dentre outros objetivos, procurar úlceras ou cicatrizes compatíveis com leishmaniose cutânea ou mucosa, para reduzir a vulnerabilidade de interpretar a IDRМ positiva, atribuindo-a à LVH quando o resultado pudesse ser atribuído à LTA.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Estudar as características e fatores associados à infecção por *Leishmania* na população humana de 2 a 14 anos de idade nas comunidades pertencentes à área da Fercal, região administrativa de Sobradinho, em Brasília - Distrito Federal, entre 2007 - 2009.

3.2 Específicos

- Estimar a prevalência pontual de infecção assintomática por *Leishmania* na população das comunidades pertencentes à área da Fercal em Brasília DF entre 2007 - 2008, utilizando a intradermoreação de Montenegro (IDRM), o teste imunocromatográfico rápido baseado na detecção de anticorpos dirigidos contra o antígeno rK39 e testes moleculares;
- Estimar a incidência de leishmaniose visceral (doença) entre moradores da área afetada entre 2008 - 2009, utilizando para o diagnóstico a avaliação clínica somada à detecção do parasito por métodos convencionais, técnicas sorológicas e moleculares;
- Estimar a incidência de infecção assintomática por *Leishmania* em indivíduos residentes na região da Fercal entre 2008 - 2009, utilizando as técnicas previamente descritas;
- Estudar possíveis associações entre as características demográficas e clínicas e a positividade dos testes aplicados (prevalência e incidência);
- Acompanhar a dispersão da infecção por *Leishmania* na área afetada, afim de avaliar a tendência da propagação do agravo;
- Elaborar um mapeamento de risco nas áreas afetadas, utilizando medidas de localização geográfica e análise espacial;

4. METODOLOGIA

4.1 Tipo de estudo

A pesquisa foi planejada como um estudo de tipo observacional e analítico, com os componentes descritos a seguir:

1. Estudo transversal para descrever as características clínicas e comportamentais da população selecionada, dos potenciais reservatórios intra / peridomiciliares e das características das moradias; e para estimar a prevalência pontual de infecção por *Leishmania* assim como as associações entre as características avaliadas e a prevalência entre 2007 - 2008.
2. Estudo prospectivo de duas coortes: uma coorte de suscetíveis (negativos à IDRMM na linha de base) para estimar a incidência anual de infecção assintomática por *Leishmania* e identificar fatores associados ao risco de infecção; e uma coorte de positivos à IDRMM, para estimar a incidência de LV doença entre 2008 -2009.
3. Análise espacial da dispersão da infecção por *Leishmania* na área estudada.

4.2 Área de estudo

O lugar de estudo correspondeu às comunidades identificadas conjuntamente com o nome de Fercal, localizadas na área rural da região administrativa de Sobradinho II, em Brasília - Distrito Federal (Figura 6). Conhecida como “a Fercal” pela população residente, trata-se na verdade de várias comunidades que se encontram separadas por áreas de mata residual, chácaras ou morros. A região da Fercal está localizada em uma área montanhosa, rica em vegetação e nascentes de rios. A região foi sendo ocupada progressivamente nos últimos 54 anos, e começou ao redor de uma fábrica de calcário, “Fábrica de Fertilizantes e Calcário Fercal” que deu o nome à região, em 1956. As mineradoras assentadas na área aproveitam o solo da mata calcária semidecidual, da que extraem o calcário como matéria prima para a

fabricação de cimento. Ao redor desta indústria foram aglomerando-se as pessoas que chegavam para trabalhar nela, conformando as comunidades que hoje são conhecidas em seu conjunto como Fercal. A região é formada por áreas calcárias, áreas cobertas por cerradão, mata semidecidual e cerrado denso. A presença do homem nesta região levou à degradação de muitas áreas. Em torno das mineradoras existem treze comunidades, quatro delas de características rurais (Boa vista, Catingueiro, Córrego do Ouro e Ribeirão-Pedreira), formados por fazendas e chácaras dispersas com poucos moradores em cada uma delas. As outras comunidades são aglomerados de moradias com pouca nucleação no meio da vegetação original do cerrado. Das nove comunidades restantes, cinco delas apresentaram casos de LV (Bananal, Curvas, Engenho Velho, Fercal Leste e Queima Lençol).

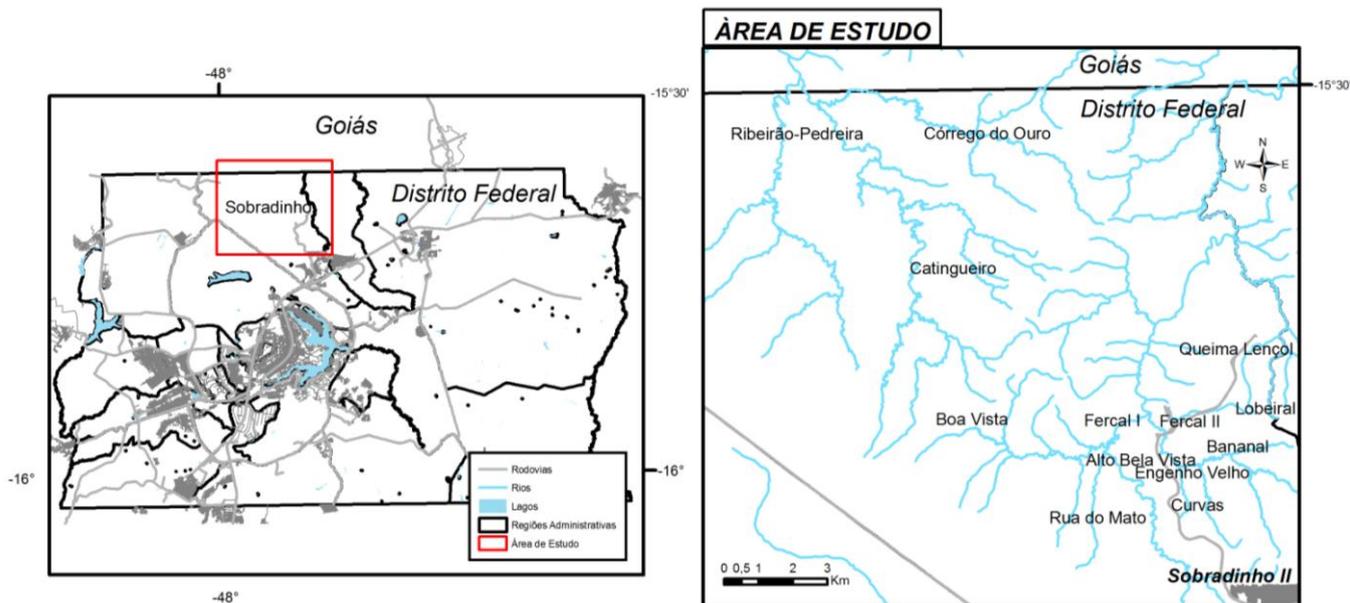


Figura 7. Localização aproximada da área da Fercal e das comunidades que a conformam. Baseado no Mapa das Regiões Administrativas da Companhia de Desenvolvimento de Brasília (CODEPLAN).

A Fercal está localizada ao longo das rodovias DF-150 e DF-205 e pertence à Área de Proteção Ambiental do Planalto, com uma população estimada pela administração local de

dez mil habitantes. Por este motivo, pleiteia há anos sua conversão em região administrativa independente. A distribuição da população é bastante desordenada, sem uma limitação exata de onde começa e termina cada comunidade, o que dificulta o trabalho em alguns casos. Dentro da localidade da Fercal existem algumas indústrias, sendo as maiores as fábricas de cimento Tocantins, pertencente ao grupo Votorantim e a fábrica de cimento Ciplan. A fábrica Tocantins ocupa uma grande área e encontra-se circundada pelas comunidades de Engenho Velho, Fercal I (Fercal Oeste) e Fercal II (Fercal Leste). Na região da Fercal existem também fábricas de calcário, tinta e asfalto. Segundo dados da administração local, a área da Fercal é a que mais contribui com o Imposto sobre Circulação de Mercadorias e Serviços (ICMS) no Distrito Federal.

A área da Fercal compreende no total 13 comunidades, como demonstrado na tabela 2 e o mapa da figura 6. Para efeitos deste estudo, a comunidade de Bananal foi dividida em duas (Bananal I e II) devido a que cada uma conta com um agente comunitário de saúde (ACS) para atender à população.

Tabela 2. Características demográficas e de cobertura pelo Programa de Família Saudável das treze comunidades que compõem a área da Fercal.

Comunidade	Programa da Família Saudável	Número de famílias	População estimada*	Casos de LVH
Alto Bela Vista	Engenho Velho	190	720	Não
Bananal (I e II)	Engenho Velho	349	1281	Sim
Boa vista	Catingueiro	218	762	Não
Catingueiro	Catingueiro	SD	SD	Não
Córrego do Ouro	Catingueiro	48	158	Sim
Curvas	Engenho Velho	172	627	Sim
Engenho Velho	Engenho Velho	381	1529	Sim
Fercal I	Catingueiro	183	896	Não
Fercal II	-	123	SD	Sim
Lobeiral	-	SD	SD	Não
Queima Lençol	-	106	SD	Sim
Ribeirão – Pedreira	Catingueiro	44	216	Não
Rua do Mato	Engenho Velho	120	529	Não

* A população aproximada baseia-se nos registros censitários realizados por cada agente comunitário de saúde (ACS) do Programa da Família Saudável (PFS) de 2006. Por este motivo, as comunidades sem ACS não possuem essa estimativa

SD: Sem dados disponíveis.

A seguir são descritas algumas características das comunidades.

- Alto Bela Vista. - Esta comunidade situa-se num morro justo antes da bifurcação da rodovia DF 150. As casas distribuem-se ao redor da pista principal, a única asfaltada na comunidade. Pela conformação das casas agregadas, a comunidade apresenta-se formando a figura aproximada de uma letra F. No final da comunidade, existem algumas chácaras esparsas. Esta comunidade conta com um agente comunitário de saúde, e centro comunitário próprio, mas não possui posto de saúde. A assistência em saúde é realizada pelo Programa da Família

Saudável de Engenho Velho. A maioria das famílias emprega-se em alguma das fábricas de cimento da Fercal. Tem na sua zona sul a mais nova área de colonização da região, chamada de Expansão Alto Bela Vista.

- Bananal. - Esta comunidade é a maior da Fercal, pelo que para fins de atendimento em saúde é dividida em Bananal I e II, cada uma com um ACS. Também pertence ao PFS de Engenho Velho, sem contar com posto de saúde próprio nem centro comunitário. A parte mais próxima à rodovia DF 150 é Bananal I, que tem características basicamente urbanas, sem atividades agropecuárias. Já na comunidade de Bananal II encontramos algumas chácaras nas áreas mais longínquas, com algumas dedicadas à pecuária. Com tudo, a maioria da população dedica-se a trabalhar em alguma das fábricas de cimento da Fercal ou nos diferentes serviços na área do Engenho Velho.

- Boa vista. - É a primeira comunidade da área da Fercal que começa a ter características de área rural. Localizada ao redor da bifurcação oeste da rodovia DF 150, conhecida como DF 205 oeste. É conformada por casas aglutinadas, as que conformam aproximadamente 70% dos domicílios. O resto é formado por chácaras esparsas ao redor das casas inicialmente citadas. Boa vista é a última comunidade do PFS Catingueiro que conta com asfalto na pista principal. Conta com uma ACS e um centro comunitário amplo, que oferecem atenção todos os dias úteis. Conta também com uma escola, que atende crianças até a quarta série do ensino fundamental. Esta comunidade está na abrangência do PFS de Catingueiro e não conta com posto de saúde próprio.

- Catingueiro. - É a comunidade central da área do mesmo nome. Consta de casas e chácaras distantes umas de outras. Como comunidade central, é onde se localiza o Posto de Saúde do Catingueiro. É a sede central do PFS Catingueiro, que compreende às comunidades de Fercal I, Boa vista, Ribeirão-Pedreira e Córrego do Ouro. Embora conte com um Centro de saúde, não conta com ACS para assistir à população. Por este motivo, não foi contemplada na

avaliação, por não aparecer nos dados censitários, o que acarretou em sua falta de avaliação no presente estudo. A comunidade conta também com uma escola que atende crianças até a quarta série do ensino fundamental. Não possui ruas asfaltadas e a população dedica-se na sua maioria à atividade pecuária.

- Córrego do Ouro. - É a última comunidade da área do Catingueiro. Limita ao norte com os municípios de Planaltina e Padre Bernardo, ambos os municípios pertencentes ao estado de Goiás. Não possui ruas asfaltadas, mas tem um colégio e um posto de saúde. O posto de saúde conta com atenção médica e de enfermagem dois dias por semana. Os outros dias da semana tem atendimento por técnicas de enfermagem e uma ACS. A comunidade é formada por casas e chácaras esparsas, com a pecuária como a atividade predominante na área.

- Curvas. - É a segunda comunidade mais próxima da área urbana de Sobradinho, seguindo pela rodovia DF 150. Chegando por esse caminho, a maior parte da comunidade fica à direita da rodovia. Conta com um ACS para atendimento da população e não tem vias asfaltadas, a não ser a própria estrada que a corta. Tem três bairros, conhecidos como Curvas, Rua São João e Rua da caixa d'água. A população dedica-se a trabalhar nas fábricas e serviços da região. Conta com uma fábrica de elementos de concreto (postes, divisórias, placas, etc) na sua divisa com o bairro de Rua do Manuel Baiano (Engenho Velho). Conta com a única escola particular da região da Fercal. Na sua parte sul tem algumas poucas chácaras, com escassa atividade agropecuária.

- Engenho Velho. - É a comunidade mais organizada e com a maior quantidade de estabelecimentos comerciais e serviços da Fercal. Conta com vários tipos de comércio e serviços, como drogaria, consultório dental, lojas de material agropecuário, supermercados, posto policial, oficinas mecânicas, igrejas, restaurantes e um hotel-pousada. Fica às margens da rodovia DF 150, antigamente correspondia ao km 18, pelo que ainda muitas pessoas a chamam de “a dezoito”. Conta com o Posto de Saúde sede do PFS de Engenho Velho, onde

tem atenção médica diária. Por ser antigamente a maior comunidade da área, contava com dois ACS, porém, atualmente só um deles trabalha na área. Isto deixa uma parte da comunidade sem atendimento de ACS. Conta com vários bairros, como Boca do Lobo, Prainha, Rua da Dona Nildinha, Rua do Manuel Baiano, Rua São Paulo, Vila Sul, dentre as mais conhecidas.

- Fercal I ou Fercal Oeste. - A Fercal I fica logo depois do início da rodovia DF 205 oeste. Esta estrada é a única que conta com asfalto na comunidade. Esta comunidade é a única da região com uma escola com ensino fundamental e médio. Tem pequenos negócios e a maioria da população mora no bairro denominado “Morro do Piauí”. A maior parte da população emprega-se nas fábricas de cimento da região. Nas redondezas tem algumas chácaras, com escassa atividade pecuária. A parte da saúde é monitorada por uma ACS, que pertence ao PFS de Catingueiro.

- Fercal II ou Fercal Leste. - Esta comunidade fica em frente à fábrica de cimento Tocantins, ao longo da rodovia DF 205 leste, a única asfaltada da região. Tem alguns comércios, igrejas e negócios pequenos na região. Parte da comunidade era conhecida como “Mundo das Tintas”, por uma fábrica de tintas que operava na comunidade. Esta comunidade não conta com ACS nem posto de saúde, pelo que o atendimento de saúde - que deveria corresponder ao ainda projeto de PFS de Queima Lençol - é realizado em diversos centros da região ou até na área urbana de Sobradinho.

- Lobeiral. - Esta comunidade fica ao lado de uma rodovia sem asfalto que liga a região da Fercal com o Núcleo de Cinema de Sobradinho. Geograficamente fica entre as comunidades de Fercal II e Queima Lençol. Segundo seus próprios dirigentes, é a comunidade mais esquecida da área. Não conta com serviços de saúde nem ACS e suas ruas não são asfaltadas. Possui uma escola que atende crianças até a quarta série do ensino fundamental. Por não

termos sido informados de sua existência no momento do planejamento do estudo, esta comunidade foi excluída do estudo.

- Queima Lençol. – É a última comunidade do lado da rodovia DF 205 leste. Depois desta, só tem áreas de proteção ambiental, chácaras e fábricas de calcário. Esta fica em frente à fábrica de cimento Ciplan, pelo que muitos conhecem com este nome à comunidade. Possui uma única rua asfaltada e tem alguns negócios pequenos assim como chácaras nos arredores. Tem um colégio que atende o ensino fundamental completo. Porém, por problemas ambientais decorrentes da emissão de poeira que provém diariamente da fábrica em frente, o colégio foi trasladado a Sobradinho II. A promessa é construir outra escola onde esta contaminação não seja tão evidente para poder albergar alunos e professores. A comunidade tem um posto de saúde, que conta com atendimento de enfermagem diário e médico uma vez por semana. Não conta com ACS, porém existe o projeto de transformar o posto em centro do PFS de Queima Lençol, que atenderia às comunidades de Lobeiral, Fercal II, Queima Lençol e chácaras das redondezas.

Ribeirão - Pedreira. - Esta comunidade está composta por duas comunidades tratadas em conjunto devido à pequena quantidade de habitantes e domicílios. As comunidades têm características rurais, com propriedades extensas muito separadas umas de outras. A atividade predominante é a pecuária. Ficam ao longo da rodovia DF 205 oeste e não contam com vias asfaltadas. Parte da comunidade de Ribeirão limita com o município de Padre Bernardo - Goiás. Conta com um ACS que atende à população. Se bem que pertence ao PFS de Catingueiro, a população é atendida no posto de saúde do Córrego do Ouro. Conta com uma escola que oferece ensino fundamental até a quarta série.

- Rua do Mato. - É primeira comunidade que encontramos na área da Fercal se chegarmos por Sobradinho. Fica ao oeste da rodovia DF 150, ao longo da principal via da comunidade, parcialmente asfaltada. Nesta moram alguns dos descendentes das primeiras famílias que

chegaram a habitar a região, ainda antes da fundação da Fercal. Conta com uma escola com ensino fundamental até a quarta série. É a única comunidade do PFS de Engenho Velho que tem um posto de saúde. Neste existe atenção de técnicas de enfermagem todos os dias e tem atenção médica uma vez por semana. Um ACS realiza o atendimento à população da comunidade diariamente. Nos arredores existem chácaras e uma fábrica de asfalto.

4.3 População de estudo

Foram incluídos moradores da área denominada Fercal, pertencente à região administrativa de Sobradinho II, em Brasília-DF. Destes, foram selecionados aqueles moradores da área com idade entre dois a catorze anos que cumpriram os critérios de inclusão e cujos pais ou responsáveis concordaram em participar do estudo.

4.3.1 Critérios de inclusão e remoção do estudo

4.3.1.1 Critérios de elegibilidade.

- Ser morador da área da Fercal, com tempo de residência mínimo de um ano na área;
- Ter entre 2 e 14 anos de idade;
- Ter o consentimento por parte de algum dos pais ou pela pessoa responsável pela criança e o termo de consentimento informado, livre e esclarecido correspondente devidamente assinado.
- Ausência de antecedente de leishmaniose visceral adquirida em uma região diferente da área de estudo;
- Ausência de antecedente de leishmaniose tegumentar;
- Ausência de contra-indicações para a realização dos exames de diagnóstico.

4.3.1.2 Critérios de remoção.

Recusa à realização dos exames de diagnóstico no acompanhamento. Indivíduos que recusaram a realização dos exames foram removidos do estudo e repostos durante o inquérito inicial.

4.4 Procedimento de amostragem e amostra

O tamanho da amostra foi calculado com o pacote Stat Calc do programa Epi Info® versão 6 com o objetivo de realizar um inquérito populacional, com os seguintes parâmetros:

População de onde será extraída a amostra: 5000 indivíduos entre 2 e 14 anos

Frequência esperada da positividade: 15%

Pior frequência esperada: 5%

Nível de confiança: 95%

O cálculo resultou na necessidade de incluir 134 pessoas. Ao considerar eventuais perdas e para manter um número uniforme de indivíduos avaliados, essa amostra foi quintuplicada e arredondada para 700 pessoas.

Posteriormente, calculando quantas pessoas seriam necessárias para um estudo de coorte (com 95% de confiança, 80% de poder, 15% de prevalência entre expostos e 5% entre não expostos) observou-se que a amostra seria suficiente também nesse contexto (n= 159 por cada braço). Uma amostragem tomando como delineamento uma análise por regressão logística com 40 preditores (variáveis independentes) a serem avaliados mostrou-se também adequada ao tamanho da amostra selecionada (n=213).

4.5 Aleatorização

Uma vez decidido o tamanho da nossa amostra, procedeu-se ao processo de aleatorização e seleção dos sujeitos de pesquisa. Devido a que não todas as comunidades apresentavam tamanho e populações similares, optou-se por realizar uma aleatorização simples e

proporcional baseada no número de moradias existentes em cada comunidade. Assim, o número de crianças e adolescentes a serem avaliadas em cada comunidade foi dividido segundo a proporção de casas existentes em cada uma delas e posteriormente adequado ao tamanho da amostra total. Dessa forma, a amostra resultou nas seguintes sub-amostras (Tabela 3).

Tabela 3. Distribuição das residências e número de crianças a serem avaliadas por comunidade segundo o procedimento de amostragem do inquérito **na linha de base** realizado na Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007.

Comunidade	Número de moradias	Proporção (%)	Crianças a serem avaliadas
Boa Vista	218	11	79
Córrego do Ouro	48	3	17
Fercal I (oeste)	183	9	66
Engenho Velho	381	20	138
Bananal	349	18	126
Alto Bela Vista	190	10	69
Fercal II (leste)	123	6	45
Rua do Mato	120	6	43
Curvas	172	9	62
Ribeirão-Pedreira	44	2	16
Queima Lençol	106	6	38
Total	1934	100	699

No momento do sorteio nas comunidades, utilizou-se uma tabela de números aleatórios gerada pelo programa Microsoft Excel 2003, a partir do número total de moradias de cada comunidade e assumindo uma distribuição normal. Foi gerada uma tabela para cada comunidade, para não repetir os números das casas selecionadas. Os números das casas encontram-se nos registros dos ACS de cada comunidade. Nas comunidades de Queima Lençol e Fercal II (sem ACS), a seleção foi pelo número de ordem das casas em cada quadra,

começando pela casa da esquina mais próxima à entrada da comunidade. A entrada de cada comunidade foi caracterizada pela(s) quadra(s) mais próxima(s) a uma via asfaltada. Nos casos em que a casa selecionada não tinha indivíduos que preenchessem os critérios de inclusão, procurou-se a casa vizinha à direita da original e depois à esquerda se o problema persistisse. No caso de não encontrar nenhum indivíduo candidato para o estudo, de recusa à participação ou de casas subsequentes que já tivessem sido selecionadas no sorteio original, continuou-se com a seguinte casa da lista de aleatorização.

4.6 Estratégia de recrutamento

4.6.1 Período de estudo e estratégia de inclusão

Inicialmente, estava programado começar os trabalhos em março de 2007 e fazer três avaliações. Por motivos diversos, a coleta de dados começou em agosto de 2007 e foi até junho de 2009, com duas avaliações. Cada avaliação durou 10 meses. A rádio comunitária local foi utilizada como veículo de comunicação para a difusão do projeto de pesquisa, com o objetivo de se obter a colaboração da comunidade. Nesta rádio (Fercal FM) também foram veiculadas mensagens de alerta sobre a doença na área, especialmente no que concerne aos sinais precoces de doença em pessoas e reservatórios domésticos.

4.6.2 Construção da coorte para estimar eventos incidentes

A coorte para a avaliação da incidência de infecção foi constituída pelos indivíduos cujo exame inicial do teste cutâneo (Intradermorreação de Montenegro) foi negativo para a infecção por *Leishmania spp.* Foi elaborada uma ficha de acompanhamento para a segunda visita, visando mudanças no comportamento que poderiam influir no risco de contrair a infecção. A coorte foi acompanhada até a finalização do estudo em 2009. Houve um intervalo de 12 meses entre a avaliação basal e a avaliação final. Os indivíduos identificados com

IDRM positiva na avaliação na linha de base foram alertados especificamente sobre os sinais e sintomas da LVH e acompanhados de forma a identificar oportunamente o desenvolvimento de sinais e sintomas da doença.

4.6.3 Estratégia de recrutamento, envolvimento da comunidade e articulação com as instâncias provedoras de atenção à saúde locais.

Antes de começar o estudo foi realizada uma articulação com as instituições que oferecem cuidados em saúde na área de estudo. Assim, foram informados sobre os objetivos do projeto e solicitada a permissão e apoio das seguintes entidades:

- Direção de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Estado da Saúde do Distrito Federal. (DIVEP-SESDF)
- Direção Regional de Saúde de Sobradinho, que se encontra sob a responsabilidade do Diretor do Hospital Regional de Sobradinho (HRS).
- Direção de Vigilância Epidemiológica da Direção Regional de Sobradinho.
- Gerência de Saúde da Comunidade da Direção Regional de Sobradinho. (GESCOM)

Nesta última gerência obteve-se o apoio necessário para chegar aos centros de saúde da Fercal. Foi convocada uma reunião com os agentes comunitários de saúde, os responsáveis das equipes do Programa da Família Saudável (PFS) e dos centros de saúde para explicar nossos objetivos e o processo de execução da pesquisa. Aproveitou-se o momento para solicitar os dados da população da área a fim de realizar as atividades de amostragem, aleatorização e a programação da pesquisa. Todos manifestaram seu desejo de apoiar o projeto e fizeram chegar posteriormente os dados solicitados. Depois foram realizadas duas reuniões com os ACSs e os responsáveis das equipes de PFS. Uma foi realizada no centro de saúde de Engenho Velho (ponto central do PFS do mesmo nome) e a outra no centro de saúde de Catingueiro (ponto central do PFS do mesmo nome). Nas reuniões foi apresentado novamente o projeto para quem não compareceu à reunião prévia na GESCOM e procedeu-se

com a informação sobre o processo de seleção dos indivíduos de pesquisa em cada comunidade e sobre a estratégia de informação, solicitação do consentimento informado, preenchimento dos questionários e coleta de amostras. Foram entregues cartazes para serem afixados nos postos de saúde e centros comunitários para informar sobre o projeto de pesquisa à população. Todos se comprometeram a apoiar o projeto e os ACSs propuseram que o projeto fosse apresentado na rádio Fercal FM, que efetivamente veiculou o assunto em duas oportunidades.

4.6.4 Processo de entrevista e avaliação clínica

Os chefes de família que aceitaram que os filhos ou dependentes participassem do estudo foram entrevistados com o objetivo de preencher a ficha individual com os dados pessoais, epidemiológicos e clínicos durante a visita domiciliar (Figura 8). Na ficha de coleta de dados foram registrados os dados da criança selecionada, características da moradia e dos possíveis reservatórios que residiam na casa ou nas redondezas. Houve uma diferenciação entre a variável de criação de aves domésticas. Separou-se numa categoria à criação de galinhas e em outras a criação de aves domésticas diferentes às galináceas e a criação de patos. Estas últimas corresponderam a espécies diferentes às galináceas como araras, canários, gansos, louros, papagaios, periquitos, tucanos, etc. (Apêndice A). Dentro de cada moradia foi realizado o sorteio entre todas as crianças de 2-14 anos de idade da casa para selecionar a criança que seria avaliada, segundo os critérios de inclusão.

As crianças selecionadas foram submetidas à avaliação clínica minuciosa para detectar qualquer uma das manifestações que compõem a definição de caso suspeito de LV. Foram procuradas também úlceras ou cicatrizes para afastar a possibilidade de LTA ou de leishmaniose mucosa ativa ou pregressa. A avaliação foi realizada pelo pesquisador responsável e anotada na ficha de acompanhamento.

Nos casos em que a criança selecionada apresentasse sinais ou sintomas sugestivos de LV, haveria o devido encaminhamento para o Centro de Saúde 3 de Sobradinho II onde se contou com uma infectologista pediatra que foi contatada para o atendimento desses pacientes.



Figura 8. Visita domiciliar para coleta de dados na comunidade de Córrego do Ouro. Sobradinho, Brasília - Distrito Federal.

Na ocasião da segunda avaliação, os indivíduos negativos segundo a IDRM foram questionados sobre algumas condições que poderiam ter acontecido no ano posterior à aplicação do primeiro teste e que poderiam influenciar na sua conversão (Apêndice B). Na análise estatística da coorte de suscetíveis juntamos estas variações de comportamentos de risco potenciais às variáveis que existiam previamente.

4.7 Testes laboratoriais

As pessoas selecionadas para o estudo foram submetidas ao teste de intradermoreação de Montenegro, ao teste rápido para *Leishmania* (*Kalazar detect*TM *rapid test*) e ao teste de PCR

para *Leishmania* spp. no sangue, segundo técnica descrita por Disch e colaboradores (2003)⁽¹⁶⁵⁾.

4.7.1 Intradermorreação de Montenegro

O antígeno de Montenegro utilizado foi preparado no Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos (CPPI) do Instituto de Saúde do Paraná, dependente da Secretaria de Saúde do Paraná a partir de formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis*, cepa MHOM/BR/73/M2269, contendo uma concentração de 10^7 promastigotas/mL, segundo a técnica descrita por Reed e colaboradores⁽¹⁶⁶⁾. Foi utilizado antígeno de um único lote (01/07) para reduzir as variações decorrentes do processo de elaboração e foi mantido a 4°C até o momento da aplicação. O lote de antígeno utilizado tinha validade até maio de 2010. Inoculou-se 0,1 mL da suspensão pela via intradérmica utilizando seringas de 1mL com agulhas ultrafinas (BD Ultra-Fine®), na face anterior do antebraço esquerdo (Figura 7). A leitura foi realizada em 48-72 horas depois da inoculação, medindo-se em milímetros o maior diâmetro (horizontal ou vertical) da endureção dérmica com a técnica da caneta esferográfica recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS)⁽¹⁶⁷⁾. Foram consideradas positivas as reações com diâmetros de endureção maiores ou iguais a 5 mm. A leitura foi realizada pela mesma pessoa durante toda a pesquisa.

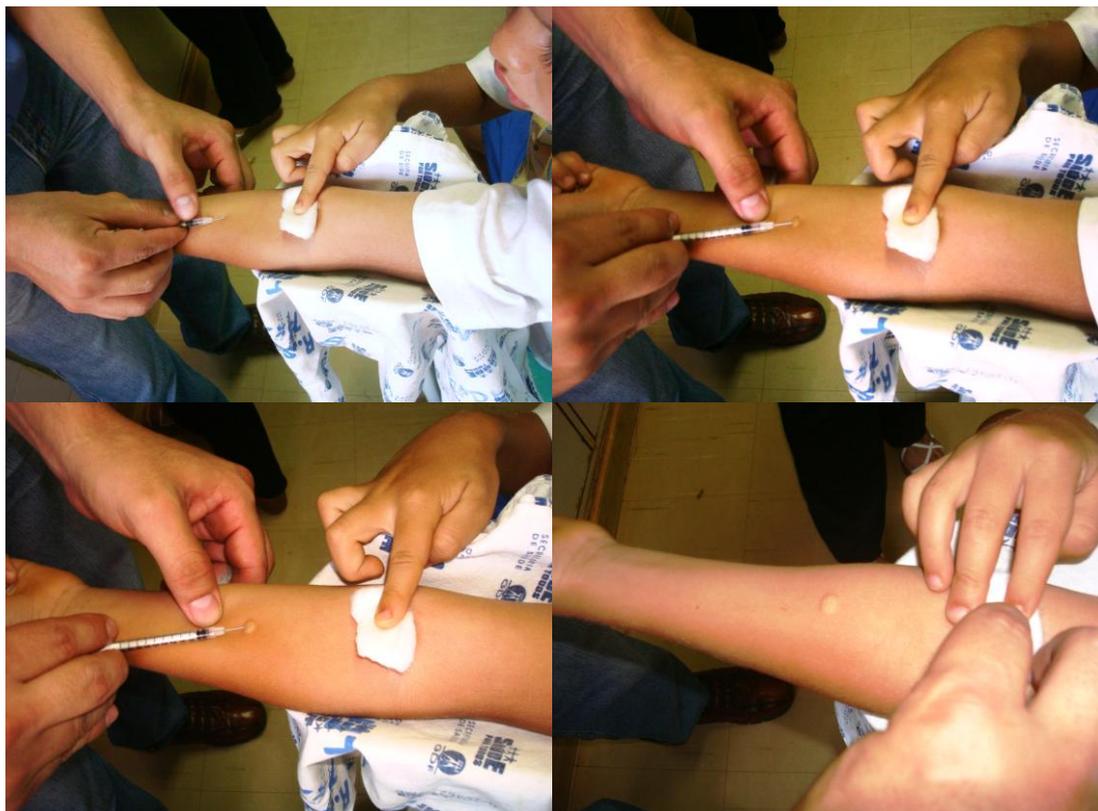


Figura 9. Procedimentos de aplicação da intradermorreação de Montenegro. Comunidade de Rua do Mato. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal.

4.7.2 Teste imunocromatográfico *Kalazar detect*® (Inbios International Inc. Seattle, WA, USA)

Este teste foi realizado em amostras de soro dos pacientes incluídos na pesquisa, tanto na primeira como na segunda fase do estudo. O teste destina-se ao diagnóstico sorológico da LVH. Trata-se de um teste rápido para a determinação qualitativa de anticorpos anti-*Leishmania* do complexo donovani presentes no soro. Na fita do kit (uma membrana de nitrocelulose) encontra-se impregnado numa linha definida o antígeno recombinante k39, específico para LVH. Esta membrana contém também o anticorpo antiproteína A, como marcador de controle de qualidade. Os procedimentos foram realizados segundo a indicação do fabricante. O procedimento para a realização do teste iniciou-se com a preparação do soro e a solução tampão, ambas as soluções a temperatura ambiente. Usando placas de ELISA

como base, colocaram-se as fitas e 20 µL de soro nos poços da placa, um poço foi utilizado para cada amostra. Posteriormente foram acrescentadas em cada poço três gotas da solução tampão e esperou-se dez minutos para realizar a leitura final. O teste foi interpretado como negativo quando unicamente apareceu a linha controle; e positivo quando foram evidentes as duas linhas, uma delas, correspondendo à linha controle. Nos casos em que a linha de controle não foi evidente à visualização, procedeu-se à repetição do teste.

4.7.3 Reação em cadeia pela polimerase

Os testes de detecção de DNA de *Leishmania* spp. foram realizados no laboratório de Leishmanioses do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília. Todos os testes foram realizados em amostras de sangue. As amostras da primeira fase do estudo foram manipuladas por uma técnica de laboratório treinada e as amostras da segunda avaliação foram processadas pelo próprio pesquisador. Os iniciadores (*primers*) utilizados foram dirigidos para amplificar 120 pares de bases da região conservada do kDNA, de *Leishmania* spp. As seqüências específicas dos iniciadores foram hm1 CCG CCC CTA TTT TAC ACC AAC CCC PM= 7504,8 µg/µmol; hm2 GGG GAG GGG CGT TCT GCG AA PM= 6602,0 µg/µmol; hm3 GGC CCA CTA TAT TAC ACC AAC CCC PM=7577,8 µg/µmol.

Foram obtidos controles positivos mediante o isolamento do DNA de uma cultura em crescimento exponencial de *L. (L.) chagasi* (MCER/BR/79/M6445) em meio líquido de RPMI mais soro fetal bovino inativado. Para iniciar a extração do DNA parasitário (para obter o controle positivo) foi utilizada a solução de lise celular do kit *Genomic Prep Blood DNA Isolation Kit*-Amersham *Biosciences, UK*; a purificação posterior foi realizada adicionando solução de fenol mais clorofórmio-álcool isoamílico; em seguida procedeu-se à precipitação de proteínas com solução de clorofórmio; e finalmente a precipitação do DNA com isopropanol 100%, e a lavagem com etanol 70%. O DNA obtido foi armazenado em alíquotas

de 5µL em solução de Tris-EDTA (TE) a -70°C até sua amplificação. A reação de PCR foi realizada com diluições seriadas (10X) deste DNA para a determinação da menor quantidade de DNA que a reação fosse capaz de detectar. O DNA extraído foi diluído progressivamente desde 1/10 até 1/10.000.000. Segundo nossos cálculos, e começando com uma quantidade de 40.000.000 parasitos, nossa sensibilidade atingiu positividade até 4 parasitos/amostra.

A extração de DNA de amostras de sangue foi realizada com um sistema comercial para extração (*Wizard Genomic DNA Purification Kit* - Promega, Promega, Madison, WI, Estados Unidos da América). O material obtido foi suspenso na solução de hidratação do próprio kit e armazenado entre 2-8°C até o momento da amplificação. Utilizaram-se duas amostras negativas, uma de padrão negativo e outra tratada de maneira semelhante durante o processo de extração exceto pela colocação de água no lugar do material biológico sob análise. Cada processo de extração foi realizado simultaneamente para 10 amostras. Para a amplificação, a mistura padrão foi:

Amostra de DNA	1µL
hm1	0,6 µM
hm2	1,2 µM
hm3	0,6 µM
Tris-HCl pH 8,6	10 mM
dNTPs (2mM)	200 µM
TaqDNA polimerase (0,25 u/µl) (Promega, Madison, WI, USA)	0,25 unidades
KCl pH 8.3	50 mM
MgCl ₂	1,5 mM

O procedimento de amplificação foi realizado com um volume final de 10 µL, em um termociclador *Perkin Elmer GeneAmp PCR System 2400* (The Perkin Elmer Corporation, Norwalk, CT, USA) com a seguinte programação:

Etapa 1	5 min 95°C desnaturação
Etapa 2	30 segundos 66°C anelamento
Etapa 3	30 segundos 72°C extensão
Etapa 4	30 segundos 95°C desnaturação
Etapa 5	Repetir etapas 2 a 4, 39 vezes
Etapa 6	30 segundos 66°C anelamento
Etapa 7	5 min 72°C extensão
Etapa 8	∞ 4°C

Finalizada a reação, os tubos foram armazenados na geladeira a 4°C até a preparação do gel de poliacrilamida. Os produtos amplificados foram examinados por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida a 6% e corado pela prata. Utilizamos um marcador de peso molecular identificado como *DNA Molecular Weight Marker V* (Roche Applied Science - Alemanha), capaz de detectar fragmentos entre 8 e 587 pares de bases. O segundo marcador (começando da base do gel) corresponde a 123/124 pares de bases, muito próximo ao gerado pelos iniciadores utilizados na reação de amplificação. O controle positivo demonstrou exatamente a migração do fragmento desejado.

4.8 Definições operacionais para o estudo

4.8.1 Definição de caso suspeito de infecção sintomática por *L. (L.) chagasi*.

Paciente com síndrome clínica sugestiva de LV, caracterizado por no mínimo duas das seguintes condições:

- Febre por mais de uma semana sem outro diagnóstico etiológico
- Hepatomegalia ou esplenomegalia

- Presença de qualquer citopenia: anemia, leucopenia ou plaquetopenia.

4.8.2 Definição de caso confirmado de leishmaniose visceral.

Paciente que apresente quadro suspeito descrito acima, com presença de *Leishmania* spp em esfregaço de medula óssea, mielocultura ou em qualquer outro material biológico; e/ou com PCR positiva para *Leishmania* spp.

4.8.3 Definição de caso de infecção assintomática por *Leishmania*.

Paciente com resultado de intradermoreação de Montenegro positivo que no momento da avaliação não apresentou os critérios de infecção sintomática acima descritos. Os casos detectados na linha de base foram considerados casos prevalentes e os diagnosticados durante o período de acompanhamento da coorte de suscetíveis, casos incidentes.

4.9 Métodos de análise espacial

A localização geográfica das moradias das crianças e adolescentes incluídas no estudo foi realizado com um aparelho de posicionamento global (GPS) da marca Garmin®, modelo Etrex H. A localização da residência foi realizada na porta ou no lugar mais próximo desta dentro da casa onde foram captados no mínimo cinco satélites e com uma precisão mínima de 10 metros. O estudo dos padrões de distribuição espacial foi realizado por meio de mapas e procedimentos estatísticos para identificação de regiões de maior prevalência ou risco e para a detecção de agregados espaciais (*clusters*). Para a identificação de regiões de maior prevalência (no estudo transversal) ou incidência (na coorte de suscetíveis) utilizou-se o método de alisamento de Kernel. Neste estudo usamos as estimativas de razão de densidades de Kernel (Kernel bivariado), já que os dados permitiram a localização dos casos positivos e negativos. O Kernel mostrou a razão de densidades dos casos positivos segundo a IDRM com

os casos negativos como denominador. Considerando que o desenho amostral mostrou-se suficiente com a expansão da amostra cinco vezes o número calculado e que a escolha dos indivíduos estudados foi por aleatorização simples, espera-se que a distribuição dos casos negativos represente à população. Foi estimada a razão das densidades e, posteriormente, foram gerados os mapas de áreas de risco na Fercal. Para a análise pelo método de Kernel bivariado, usou-se o programa Crime Stat III versão 3.2 a (Ned Levine & Associates, Houston, TX, USA). Neste software foram introduzidos os dados geográficos e os resultados da IDRМ realizadas. Foram testados os métodos de interpolação de dados quárticos e normais com larguras de banda fixa e adaptativa para cada um deles. Foram testadas com diferentes valores de larguras de banda (entre 100 até 2000 metros), observando-se que a melhor adaptação e suavização dos dados foi obtida usando o método normal com largura de banda fixa de 1500 metros, por ser aquela capaz de melhor discriminar as variações locais dos eventos ao se considerar as dimensões das comunidades. A largura da banda escolhida foi usada na aplicação da suavização estatística de Kernel nas duas avaliações. Devido a que as áreas avaliadas não apresentam limites definidos e por haver muitas áreas sem avaliações como observado no apêndice C, decidiu-se por desagrupar as análises em quatro áreas:

- I. Comunidades de Ribeirão-Pedreira e Córrego do Ouro (n= 36 indivíduos na linha de base).
- II. Comunidade de Boa Vista (n= 80 indivíduos na linha de base).
- III. Comunidades de Rua do mato, Curvas, Engenho Velho, Bananal I e II, Alto Bela Vista, Fercal I e Fercal II (n= 527 indivíduos na linha de base).
- IV. Comunidade de Queima Lençol (n= 57 indivíduos na linha de base).

As áreas foram criadas segundo a proximidade dos pontos e por pertencer a comunidades semelhantes, sem importar o número de pontos (indivíduos) em cada uma destas. Cada ponto

corresponde à localização da casa de uma pessoa, já que foi avaliada uma pessoa/casa. Na confecção dos mapas, e com o objetivo de uniformizar a informação obtida, agruparam-se os valores das razões de Kernel das quatro áreas em cinco classes, utilizando-se os quintis da distribuição destes valores para os dois períodos analisados (2007-2009). Em uma primeira classe (cor mais clara) estariam os territórios com menor densidade relativa de infecção por *Leishmania* spp; e na última classe os territórios com os maiores valores de razão de densidade (cor mais intensa).

Adicionalmente, foi analisada a presença de agregados (*clusters*) nas áreas avaliadas, para identificar a possibilidade de agrupamentos locais não revelados na análise previamente citada. Para isso foi utilizado o método *Risk adjusted nearest neighbor hierarchical clustering* (RA Nnhc), no próprio programa Crime Stat III versão 3.2 a (Ned Levine & Associates, Houston, TX, USA). No Kernel bivariado, o método Nnhc define a presença de conglomerados levando em consideração a densidade de casos positivos comparada à densidade dos negativos. Para a determinação dos conglomerados foi usado o método de interpolação normal com largura de banda de intervalo fixo, avaliada entre 100 e 1000 metros, escolhendo-se o valor de 500 metros por ajustar-se melhor à detecção dos conglomerados. Na maioria das áreas avaliadas utilizou-se o mínimo de 10 pontos por *cluster*. Porém, na área I este valor foi diminuído para cinco, já que o número total de observações era menor que os das outras áreas (n=36).

Os mapas foram gerados no programa Arc View GIS versão 3.0 (*Environmental Systems Research Institute, Inc. - ESRI. Redlands, CA, USA.*) e para permitir uma melhor visualização da distribuição dos casos em relação aos conglomerados identificados no mapa de Kernel, a totalidade dos casos segundo resultados da IDR, a malha de rodovias e a malha de rios (áreas individualizadas) foram sobrepostas aos mapas.

4.10 Estratégia de registro e análise dos dados

As informações obtidas foram registradas em fichas individuais para cada sujeito avaliado, contendo os dados da entrevista e resultados dos testes aplicados.

A entrada de dados foi realizada inicialmente de forma simples pelo próprio pesquisador, sendo digitada a partir das fichas diretamente numa base de dados do pacote estatístico SPSS para Windows versão 16.0 (SPSS Inc.; Chicago, IL, USA). Neste mesmo programa foram realizadas as análises estatísticas. Foi realizada uma segunda entrada dos dados por uma digitadora independente, no programa Microsoft *Office* Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA). Os dados foram transferidos para o programa SPSS para análise de consistência. A análise da consistência do ingresso dos dados no banco mostrou uma quantidade de discordâncias menor que 1%. Estes erros foram corrigidos tendo como referência as fichas de registro de dados preenchidas.

4.10.1 Estatística descritiva

Para esta análise foi utilizada como unidade o indivíduo avaliado. A normalidade da distribuição das variáveis foi testada com a prova de Kolmogorov-Smirnov. Dados contínuos de distribuição normal foram descritos utilizando médias mais ou menos um desvio padrão (DP). Dados contínuos com distribuição não gaussiana foram descritos como medianas com os respectivos primeiro ($Q_{1/4}$) e terceiro quartis ($Q_{3/4}$). Dados dicotômicos e nominais foram apresentados como frequências absolutas e relativas.

4.10.2 Estatística inferencial

A comparação entre variáveis nominais foi realizada utilizando o teste não paramétrico do qui-quadrado de Pearson e para tabelas 2 x 2 que tiveram valores esperados menores que 5 foi utilizado o Teste Exato de Fisher.

Para a análise das médias das variáveis de distribuição normal foi utilizado o Teste de t de Student, e se estas variáveis apresentavam distribuição não gaussiana utilizou-se o teste de

Mann-Whitney U para comparar as medianas. A significância das diferenças observadas foi considerada relevante para uma probabilidade de erro tipo I menor ou igual a 0,05.

Para a análise de características associadas ao desfecho escolhido (positividade ao teste de intradermorreação de Montenegro) foi utilizada a técnica de regressão logística em ambas as avaliações (linha de base e coorte de suscetíveis). Foi escolhido um modelo preditivo, com o objetivo de identificar as variáveis associadas ao risco de infecção por *Leishmania* detectada pela positividade do teste de Montenegro. As variáveis utilizadas foram aquelas biológica ou epidemiologicamente plausíveis com o desfecho. Inicialmente utilizou-se a regressão logística univariada do tipo *one step*, que serviu para escolher as variáveis que seriam avaliadas na análise multivariada do mesmo tipo, se cumprir com o critério de ter um valor de p menor a 0,20. Prévio ao ingresso das variáveis na análise multivariada foi realizado o teste de colinearidade, e posteriormente a avaliação das interações entre as variáveis que mostraram significância estatística.

Foi realizada outra abordagem da análise multivariada utilizando a estratégia *stepwise forward*, com níveis de significância para a entrada de 0,15 e para remoção de 0,20. Uma análise adicional foi realizada com a mesma abordagem, incluindo as características significativamente associadas com o desfecho de interesse, tanto na primeira quanto na segunda avaliação. A colinearidade e as interações das variáveis foram analisadas como descrito para a análise de regressão logística *one step*.

4.11 Considerações éticas

Todos os pais ou responsáveis legais dos indivíduos incluídos no estudo foram informados sobre os possíveis riscos dos procedimentos do estudo e foram solicitados a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido - TCLE (Apêndice D).

O TCLE foi explicado oralmente pelo próprio pesquisador a todos os responsáveis pelas crianças e quando possível, à criança também. Esta etapa teve o apoio dos ACSs de cada comunidade, devidamente capacitados para esta tarefa. Após a assinatura, uma cópia ficou com o pesquisador e outra cópia foi entregue ao pai ou responsável.

Os procedimentos foram executados dentro do rigor ético, sendo garantida assistência médica para qualquer eventualidade durante o acompanhamento. Foi indicado um endereço e um telefone de referência caso surjam dúvidas, os que apareciam na própria folha do TCLE.

Foram mantidos em sigilo os dados pessoais e informações recolhidos dos participantes do estudo, incluindo a informação proveniente das amostras clínicas. Todos os dados dos participantes foram registrados num computador com senha de acesso de proteção e todos os registros em cópia impressa permanecem em um local de acesso restrito no Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília. As amostras clínicas para análises foram codificadas com letras, números e data de coleta; e os dados de identificação do indivíduo não foram revelados para a técnica de laboratório que processou as amostras.

O estudo cumpriu com as recomendações das resoluções 196/1996 e 251/1997 do Conselho Nacional de Saúde sobre pesquisa envolvendo seres humanos. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da UnB (CEP-FM)- processo CEP-FM 073/2006- em 28/03/2007 (Apêndice E).

4.12 Conflitos de interesse

Os pesquisadores envolvidos neste projeto declararam que não existem conflitos de interesse em relação a qualquer benefício derivado dos resultados desta pesquisa.

4.13 Financiamento

Este trabalho recebeu financiamento do Programa de Bolsas de Pós-graduação da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CNPq/MCT, e do Ministério de Ciência e Tecnologia (MCT/CT-Saúde) em parceria com o Departamento de Ciência e Tecnologia da Secretaria de Ciência e Tecnologia e Insumos Estratégicos do Ministério da Saúde - Decit/SCTIE/MS - por intermédio do CNPq - através do Edital MCT/CNPq/CT-Saúde/MS/SCTIE/DECIT N° 034/2008, Processo: 410590/2006-1. Este edital tinha como objetivo apoiar pesquisas em doenças negligenciadas: dengue, doença de Chagas, esquistossomose, hanseníase, leishmanioses, malária e tuberculose. A Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal, por intermédio do Núcleo de Controle de Endemias e a Direção Regional de Saúde de Sobradinho proveram de transporte nas ocasiões em que este não esteve disponível na própria Universidade de Brasília.

5. RESULTADOS

5.1 Características da amostra estudada na linha de base

A aplicação dos protocolos de pesquisa começou pela comunidade de Rua do Mato. A ordem empregada considerou a proximidade com a área urbana da Sobradinho e a disponibilidade dos agentes comunitários de saúde das comunidades estudadas. Assim, a ordem das comunidades estudadas foi:

1. Rua do Mato
2. Curvas
3. Alto Bela Vista
4. Bananal II
5. Engenho Velho
6. Bananal I
7. Fercal I (oeste)
8. Boa Vista
9. Ribeirão - Pedreira
10. Córrego do Ouro
11. Queima Lençol
12. Fercal II (leste)

A abordagem seguiu o fluxo mostrado na figura 10, onde aparecem as duas avaliações realizadas.

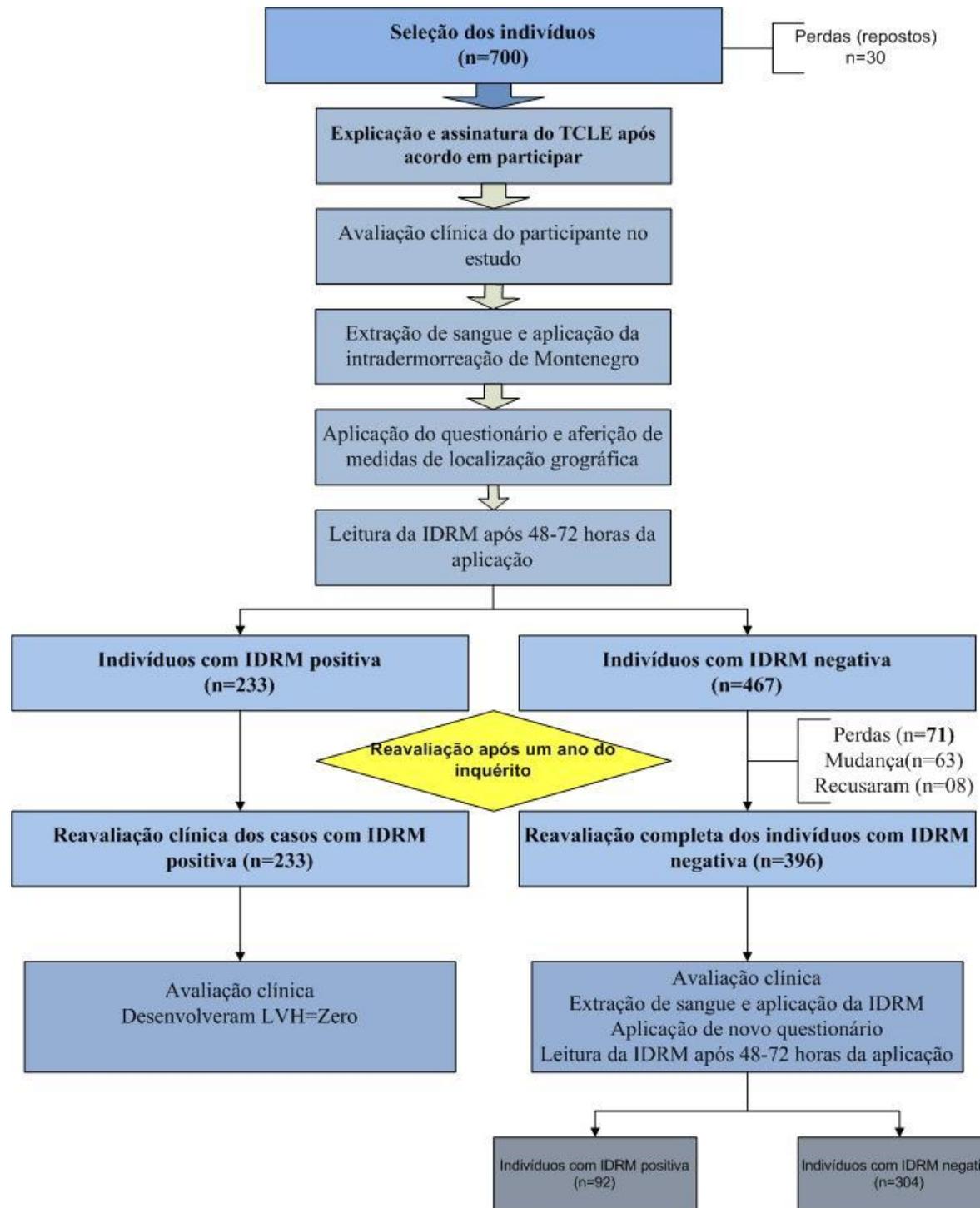


Figura 10. Fluxo de avaliação de crianças de adolescentes na área da Fercal. Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2009.

A amostra final foi constituída de 700 crianças e adolescentes entre dois e catorze anos de idade. Trinta (4,11%) pais ou responsáveis dos indivíduos a serem avaliados recusaram-se a participar do estudo no inquérito inicial, alegando desconhecimento das técnicas a serem

empregadas ou pelo temor de submeter a criança à dor no ato da coleta de sangue e à aplicação da injeção intradérmica. A distribuição da amostra estudada segundo gênero e comunidade de origem é mostrada na tabela a seguir.

Tabela 4. Distribuição das crianças e adolescentes avaliados segundo comunidades e gênero **na linha de base**. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2009.

Comunidade	Gênero		Total
	Homens <i>n (%)</i>	Mulheres <i>n (%)</i>	
Alto Bela Vista	34 (47)	39 (53)	73
Bananal I	37 (56)	29 (44)	66
Bananal II	36 (55)	30 (45)	66
Boa Vista	39 (49)	41 (51)	80
Córrego do Ouro	9 (45)	11 (55)	20
Curvas	33 (51)	32 (49)	65
Engenho Velho	66 (56)	51 (44)	117
Fercal I	35 (53)	31 (47)	66
Fercal II	14 (52)	13 (48)	27
Queima Lençol	32 (68)	25 (32)	57
Ribeirão-Pedreira	7 (44)	9 (56)	16
Rua do Mato	27 (57)	20 (43)	47
Total	369 (53)	331 (47)	700

Pelo critério de inclusão, as idades variaram de dois até catorze anos, com média de $8,63 \pm 3,17$ anos e mediana de 9 anos ($Q_{1/4}=6,0$ e $Q_{3/4}=11,0$). O teste de Kolmogorov-Smirnov aplicado deu resultado 2,303, que corresponde a valor de $p < 0,001$. A distribuição das idades não acompanhou os padrões da curva normal (Figura 11).

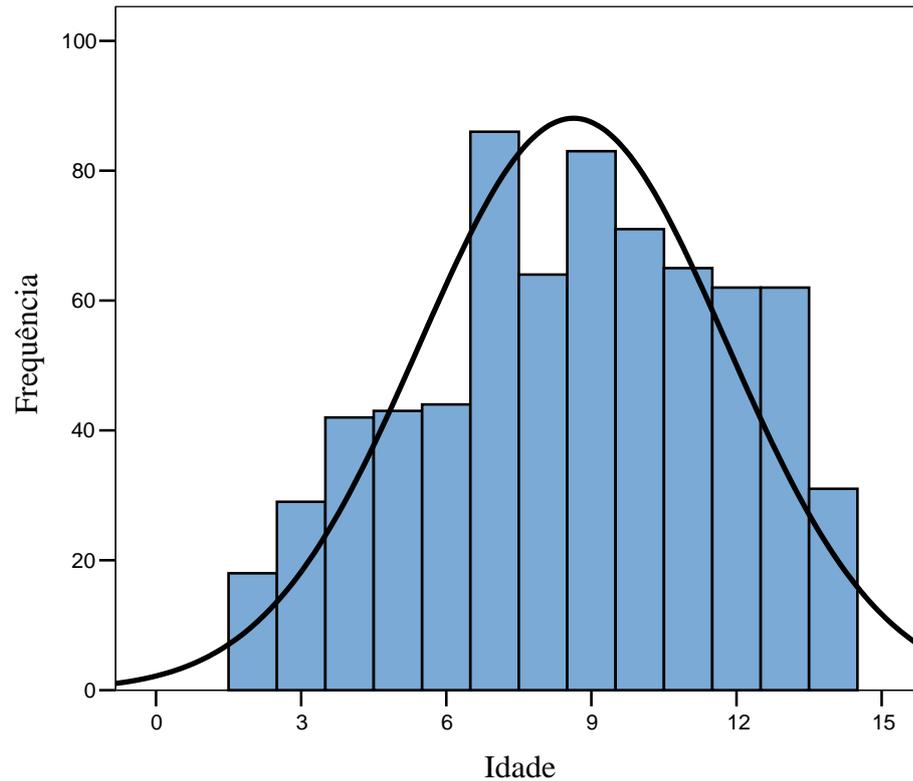


Figura 11. Distribuição da amostra de crianças e adolescentes de acordo com a idade **na linha de base**. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2009.

A maioria dos indivíduos avaliados (590/700 ; 84,3%) nasceu no Distrito Federal (figura 12). O tempo médio de residência na área foi $7,38 \pm 3,5$ anos, com mediana de 7 anos ($Q_{1/4}=5,0$ e $Q_{3/4}=10,0$). Este dado não apresentou distribuição normal (teste de Kolmogorov-Smirnov=2,013 ; $p=0,001$).

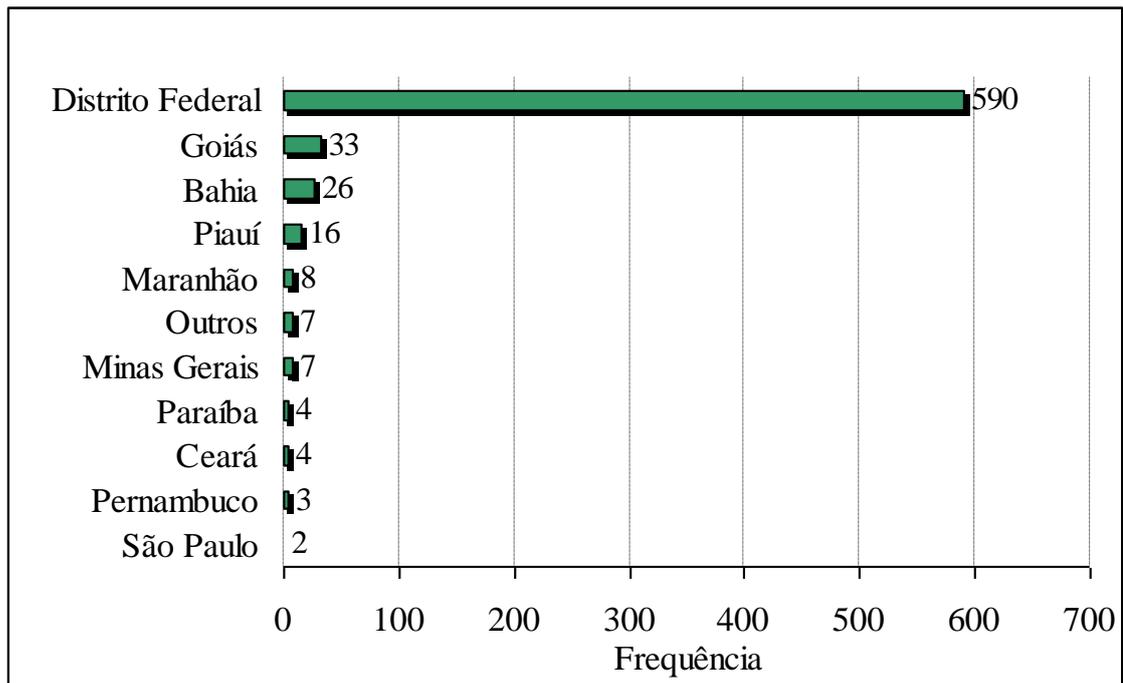


Figura 12. Distribuição da amostra de crianças e adolescentes avaliados **na linha de base** segundo o local de nascimento. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2009.

5.2 Antecedentes dos indivíduos avaliados

Foram pesquisados antecedentes patológicos e epidemiológicos das crianças e adolescentes examinados. Observou-se que 104 (14,9%) indivíduos tinham morado previamente em município de transmissão de LV, considerando como referência os dados de notificação do Ministério da Saúde. A maioria destes indivíduos (56/104; 53,8%) moraram em área endêmica da região nordeste, seguido por 37 (35,6%) que poderiam ter sido expostos em municípios da região Centro-Oeste, todos no estado de Goiás. Em 85 (12,1%) casos registrou-se a referência de ter tido pelo menos um cão entregue aos funcionários da Vigilância Ambiental por suspeita de LV. Doze indivíduos (1,7%) referiram pelo menos um caso de LV entre familiares. Também foram avaliados antecedentes de doenças não infecciosas e infecciosas. O questionário revelou 87 indivíduos (12,4%) com doenças não infecciosas. Dentre as mais frequentes houve condições como atopia em 59 (8,4%) dos indivíduos que englobou alergia à picada de insetos em 27, asma brônquica em 20, rinite alérgica em nove e

dermatite atópica em três. Outras condições foram cálculos renais em três casos (0,4%) e finalmente quadros menos freqüentes (adenóides, anemia falciforme, diabetes mellitus tipo 1, enxaqueca, retardo mental, síndrome de Down, etc.).

O antecedente de doenças infecciosas foi relatado em 191 (27,3%) indivíduos (figura 13). Não houve relatos de antecedentes de esquistossomose, leishmaniose tegumentar, malária, toxoplasmose nem de tuberculose. Outros antecedentes de doenças infecciosas relatadas por um único indivíduo para cada um foram dengue, doença de Chagas, febre reumática, hanseníase, meningite, miíase, neurocisticercose, osteomielite, otite e toxocaríase.

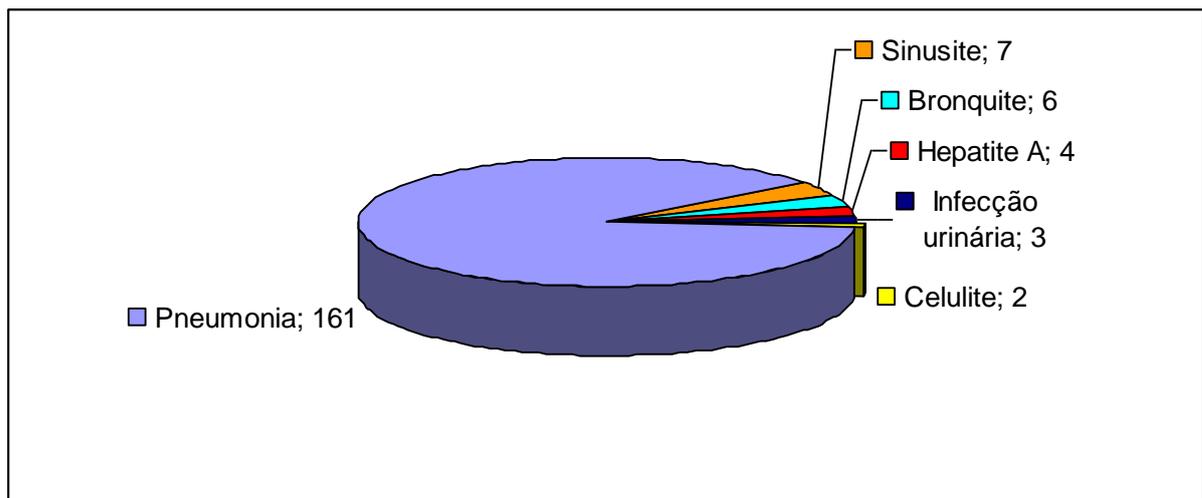


Figura 13. Antecedentes de doenças infecciosas mais frequentes na amostra de crianças e adolescentes avaliados **na linha de base**. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2009.

5.3 Avaliação clínica

Todas as crianças e adolescentes foram avaliados clinicamente para detectar oportunamente algum sinal ou sintoma sugestivo de LV ou de outras infecções concomitantes. A mais freqüente foi a queixa de tosse em 33 (4,7%) indivíduos, seguido por emagrecimento em cinco indivíduos (0,7%). Quatro pessoas (0,6%) indicaram encontrar-se com diarréia no

momento da avaliação (Figura 14). Não encontramos crianças ou adolescentes com febre, hepatomegalia, esplenomegalia ou palidez. No tempo que durou o estudo (2007-2009) não houve indivíduos classificados como casos suspeitos de LVH nem que desenvolveram LV doença, sendo todos classificados como assintomáticos (n=700). No único indivíduo que apresentou uma lesão dérmica, esta não era compatível com leishmaniose tegumentar. Neste, a IDRm foi negativa, afastando essa suspeita.

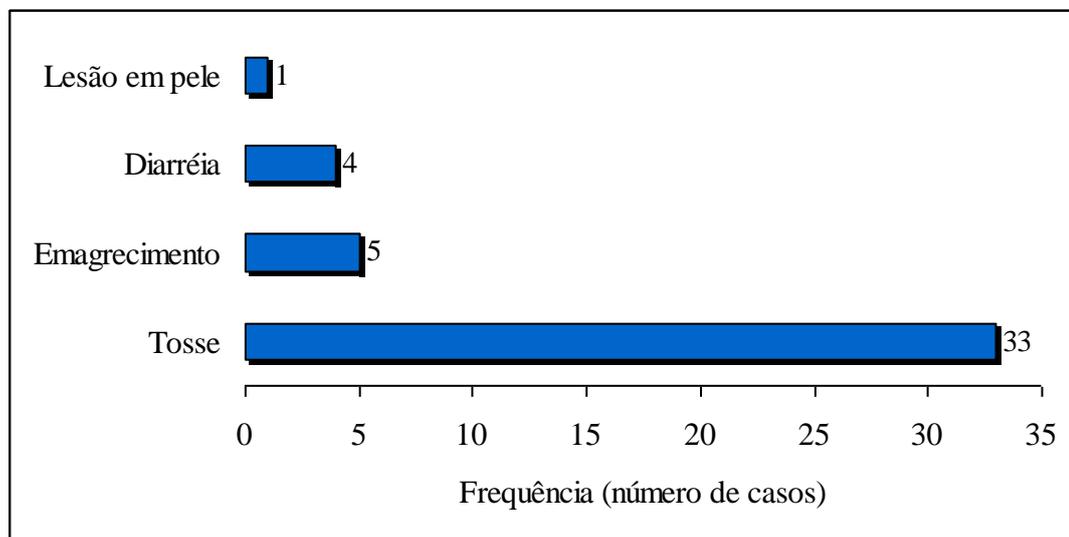


Figura 14. Sinais e sintomas clínicos na amostra de crianças e adolescentes avaliados **na linha de base**. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2009.

5.4 Características dos domicílios

Em relação às características das moradias das crianças e adolescentes avaliados, a maioria (89,4%) dos pais ou responsáveis manifestou ser proprietário da casa onde morava. A antiguidade das moradias teve uma mediana de 10 anos ($Q_{1/4}=5,0$ e $Q_{3/4}=13,0$), sem distribuição normal entre estas. Esta situação não variou muito nas comunidades, como apresentado na tabela 5.

Tabela 5. Antiguidade e situação de propriedade das moradias dos indivíduos avaliados **na linha de base** segundo comunidades. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2009.

Comunidade	Antiguidade das moradias (mediana em anos)	Situação da propriedade da moradia		
		<i>Alugada</i>	<i>Própria</i>	<i>Emprestada</i>
Alto Bela Vista	8	-	73	-
Bananal I	6	3	63	-
Bananal II	10	2	62	2
Boa Vista	7	6	64	10
Córrego do Ouro	12	-	16	4
Curvas	10	2	60	3
Engenho Velho	10	4	110	3
Fercal I	10	6	58	2
Fercal II	10	4	21	2
Queima Lençol	8	4	46	7
Ribeirão-Pedreira	16	1	8	7
Rua do Mato	10	-	45	2
Total (n/%)	-	32 (4,6)	626 (89,4)	42 (6,0)

No que se refere ao material usado na construção das moradias, a maioria destas era de alvenaria (92,9%), com poucas casas de madeira (6,7%). Esta situação se repetiu em todas as comunidades, com exceção da comunidade de Queima Lençol, onde 26,3% das moradias eram construídas de madeira (Tabela 6). Os serviços básicos mostraram que todas as casas avaliadas tinham serviços de energia domiciliar e água encanada. Os serviços de esgoto público só foram encontrados numa área da comunidade de Fercal I, e em duas casas da comunidade de Queima Lençol (que drenam ao sistema de esgoto da escola local) como aparece na tabela 7.

Tabela 6. Material de construção das moradias dos indivíduos avaliados **na linha de base** segundo comunidades. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2009.

Comunidade	Material de construção das casas		
	<i>Alvenaria</i>	<i>Madeira</i>	<i>Adobe</i>
Alto Bela Vista	70	3	-
Bananal I	60	6	-
Bananal II	63	1	2
Boa Vista	75	5	-
Córrego do Ouro	19	1	-
Curvas	64	1	-
Engenho Velho	115	2	-
Fercal I	61	4	1
Fercal II	25	2	-
Queima Lençol	42	15	-
Ribeirão-Pedreira	14	2	-
Rua do Mato	42	5	-
Total (n/%)	650 (92,9)	47 (6,7)	3 (0,7)

Tabela 7. Tipos de esgoto nas moradias dos indivíduos avaliados **na linha de base** segundo comunidades. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2009.

Comunidade	Tipo de esgoto nas moradias	
	<i>Fossa séptica</i>	<i>Conexão pública</i>
Alto Bela Vista	73	-
Bananal I	66	-
Bananal II	66	-
Boa Vista	80	-
Córrego do Ouro	20	-
Curvas	65	-
Engenho Velho	117	-
Fercal I	35	31
Fercal II	27	-
Queima Lençol	55	2
Ribeirão-Pedreira	16	-
Rua do Mato	47	-
Total (n/%)	667 (95,3)	33 (4,7)

O número de moradores por casa variou entre duas até 13 pessoas. A mediana na amostra total foi de quatro pessoas ($Q_{1/4}=4,0$ e $Q_{3/4}=6,0$). Estes valores não mostraram uma distribuição normal (teste de Kolmogorov-Smirnov=4,975 ; $p<0,001$). A distribuição das medianas desta característica aparece na tabela 8.

Tabela 8. Número de moradores por residência nas casas dos indivíduos avaliados **na linha de base** segundo comunidades. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2009.

Comunidade	Moradores por residência (Mediana)	Moradores / residência categorizado		
		<i>De 2-4</i>	<i>De 5-7</i>	<i>Mais de 7</i>
Alto Bela Vista	4	39	29	5
Bananal I	4	38	23	5
Bananal II	4	37	26	3
Boa Vista	5	39	36	5
Córrego do Ouro	5	9	10	1
Curvas	4	33	29	3
Engenho Velho	4	67	44	6
Fercal I	5	32	30	4
Fercal II	5	11	14	2
Queima Lençol	4	32	21	4
Ribeirão-Pedreira	5	7	7	2
Rua do Mato	5,0	20	25	2
Mediana global e totais	4 (Q _{1/4} =4,0 e Q _{3/4} =6,0)	364	294	42

Em todas as moradias avaliadas obteve-se a resposta positiva sobre a presença de insetos incômodos no intradomicílio. Perguntado sobre o uso de mosquiteiro pela criança avaliada, 59 (8,4%) dos pais ou responsáveis afirmaram que a criança avaliada utilizava mosquiteiro no quarto. Não foi detectado conhecimento sobre o uso de mosquiteiros impregnados com inseticidas pela população avaliada. A borrifação no ano prévio à avaliação foi realizada em 37 (5,3%) das moradias das crianças e adolescentes avaliados. Algumas borrifações foram realizadas nas moradias com cães sororeagentes após o inquérito canino. Uma minoria foi realizada por particulares. Não foi possível avaliar o tipo de inseticida usado em cada caso.

5.5 Presença de potenciais reservatórios e outros animais nas moradias e na vizinhança

Os dados obtidos mostraram que em 305 (43,6%) das moradias residia pelo menos um cão. Este número variou desde zero até sete cães por residência. A média global foi de $0,7 \pm 1$ cães/casa (tabela 9). Quando foram avaliadas unicamente as casas com presença de cães este valor subiu para $1,61 \pm 0,92$ cães/casa, com mediana de um cão/casa ($Q_{1/4}=1$ e $Q_{3/4}=2$). A distribuição dos valores não acompanhou a distribuição normal (teste de Kolmogorov-Smirnov=8,53; $p<0,001$).

Tabela 9. Distribuição dos cães nas residências dos indivíduos avaliados **na linha de base** segundo comunidades. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2009.

Comunidade	Cães por residência (Mediana)	Cães / residência categorizado		
		<i>Nenhum</i>	<i>1-3</i>	<i>Mais de 3</i>
Alto Bela Vista	1	43	30	-
Bananal I	1	46	20	-
Bananal II	1	35	31	-
Boa Vista	1	34	42	4
Córrego do Ouro	3	5	10	5
Curvas	1	41	23	1
Engenho Velho	1	75	42	-
Fercal I	1	41	35	-
Fercal II	1	19	8	-
Queima Lençol	2	32	24	1
Ribeirão-Pedreira	2	2	12	2
Rua do Mato	1	22	23	2
Mediana global e totais	Um cão/casa ($Q_{1/4}=1$ e $Q_{3/4}=2$)	395	290	15

Foram coletados dados de 428 cães em 305 moradias, incluindo dados individuais, clínicos e condições de moradia. A raça predominante foi a do cão mestiço (sem raça definida), em 387 (90,4%) cães (Figura 15). Cães machos foram mais numerosos do que as fêmeas (248 vs 180).

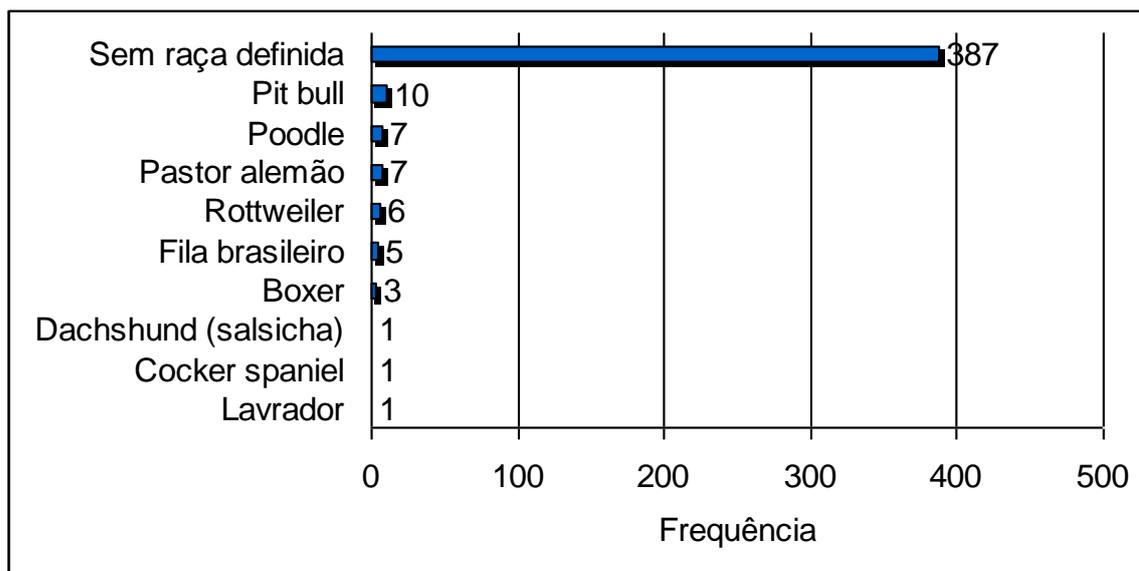


Figura 15. Número de cães registrados **na linha de base** segundo raça nas casas de crianças e adolescentes da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2009.

Desta amostra de cães, 414 (96,7%) tiveram como lugar de nascimento várias localidades do DF, e o restante de municípios do estado de Goiás (Cocalzinho, Formosa, Luziânia, Padre Bernardo, Planaltina, Pontalina e Valparaíso). Dentre os cães nascidos no DF, observou-se que 259 (62,6%) nasceram na própria comunidade de residência. As características avaliadas nos cães são apresentadas na tabela 10. Os cães com suspeita de LVC foram notificados à Direção de Vigilância Ambiental da Secretaria de Estado de Saúde para seu recolhimento.

Tabela 10. Características da população canina residente nas moradias das crianças e adolescentes avaliados **na linha de base**. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2009.

Características		Valores encontrados
Número de cães avaliados (n)		428 cães
Machos (%)		248 (57,9)
Cães sem raça definida (%)		90,4
Idade (mediana e quartis)		2 (Q _{1/4} =1 e Q _{3/4} =4) anos
UF de nascimento	DF (n° / %)	414 (96,7)
	GO (n° / %)	14 (3,3)
Cães nascidos na própria comunidade (n° / %)		259 (60,5)
Tempo de residência (mediana e quartis)		2 (Q _{1/4} =1 e Q _{3/4} =3) anos
Cães com residência na mesma moradia desde o nascimento (n° / %)		378 (88,3)
Cães procedentes de municípios com LVH*		9
Cães deslocados a municípios com LVH*		18
Local de pernoite dos cães (n° / %)	Exclusivamente dentro da casa	10 (2,3)
	Exclusivamente fora da casa	351 (82)
	Dentro e fora da casa	67 (15,7)
Cães vacinados contra a raiva (n° / %)		334 (78)
Cães com acompanhamento por veterinário (n° / %)		70 (16,4)
Antecedentes de doenças	Neoplasia genital (n)	03
	Sarna (n)	02
Sinais clínicos de leishmaniose visceral canina (n=11 cães)	Emagrecimento (n)	05
	Onicogribose (n)	01
	Queda de pêlos (n)	04
	Úlceras suspeitas de LVC (n)	03

* Os municípios com relato de leishmaniose visceral humana foram contrastados com a lista de municípios com casos notificados de LVH ao Ministério da Saúde.

No que respeita à presença de cães recolhidos pela Vigilância Ambiental por terem sorologia positiva para LVC nas residências avaliadas, observamos que 85 (12,1%) das famílias referiram que entregaram pelo menos um cão da casa por apresentar sintomas compatíveis com LVC aos empregados da Divisão de Vigilância Ambiental da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal. Estes visitaram as comunidades onde houve casos de LVH. Dos 85 cães suspeitos, 40 (47,1%) foram entregues por serem sororreagentes. Perguntou-se aos donos de casa e responsáveis das crianças e adolescentes avaliados sobre a criação de animais diferentes ao cão e presença de animais silvestres nos arredores da casa. Em 316 (45,1%) das residências houve relato de criação de outros animais (Tabela 11). Observou-se que conforme as comunidades vão ficando mais afastadas da área urbana, a porcentagem de casas com criação de animais de produção aumenta (Apêndice F). A criação destes animais não foi uniforme nas comunidades. Em cinco comunidades avaliadas encontramos que mais da metade das casas tinham criação de animais diferentes ao cão. Estas foram Boa Vista (55%), Córrego do Ouro (90%), Fercal II (51,9%), Ribeirão - Pedreira (100%) e Rua do Mato (61,7%).

Do total de moradias avaliadas, 225 (32,1%) dos pais ou responsáveis dos indivíduos avaliados referiram presença de mamíferos silvestres na vizinhança. A medida que as comunidades se faziam mais longínquas da área urbana de Sobradinho II, observou-se que a presença de animais silvestres se fez mais freqüente. Nas comunidades mais afastadas (Ribeirão - Pedreira e Córrego do Ouro), os moradores referiram ter observado mais espécies de mamíferos silvestres ao redor das moradias do que nas comunidades de características mais próximas da área urbana. Os resultados gerais encontram-se na tabela 10, e os resultados da presença de animais silvestres de acordo com a comunidade estudada encontram-se demonstrados no apêndice G.

Tabela 11. Presença de animais de criação e animais silvestres na vizinhança das residências das crianças e adolescentes avaliados **na linha de base**. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007- 2009 (n=700).

Presença de animais	Frequência		
	<i>Número</i>	<i>Proporção</i>	
Animais domésticos ou de criação	Cavalos	27	3,9
	Coelhos	13	1,9
	Galinhas	195	27,9
	Gatos	95	13,6
	Gado	23	3,3
	Aves não galináceas	102	14,6
	Patos	12	1,7
	Perus	4	0,6
	Porcos	39	5,6
	Mamíferos silvestres	Gambás	202
Macacos		40	5,7
Raposas		12	1,7
Tatus		10	1,4

5.6 Prevalência de infecção por *Leishmania*.

Foram aplicados o teste da intradermorreação de Montenegro, o teste imunocromatográfico *Kalazar detect*TM e a PCR com iniciadores dirigidos à região conservada do cinetoplasto do parasito. Todos os resultados dos testes imunocromatográficos mostraram resultado negativo. Dos testes moleculares aplicados, observou-se reação positiva em quatro indivíduos (0,6%). O teste da IDRМ foi positivo em 233 (33,3%) das crianças e adolescentes avaliados (Tabela 12).

Tabela 12. Prevalência de infecção por *Leishmania* estimada de acordo com o tipo de teste aplicado **na linha de base** em crianças e adolescentes avaliados na Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008.

Teste aplicado	Número de testes positivos	Prevalência (n=700)	IC 95%*
IDRM	233	33,28%	29,87 - 36,84
PCR	4	0,57%	0,18 - 1,37
IDRM + PCR**	235	33,57%	30,17 - 37,15
<i>Kalazar detect</i> TM	Zero	Zero	0 - 0,46

* Intervalo de confiança de 95% da prevalência.

** Positividade a qualquer um dos testes aplicados

Dos resultados de PCR, dois corresponderam a crianças com resultado da IDRМ positivo e dois com resultado negativo.

A prevalência não foi homogênea em todas as comunidades, variando de 19,2 (Alto Bela Vista) a 53,8% (Boa Vista), com os valores maiores nas comunidades mais longínquas da área urbana de Sobradinho (Tabela 13).

Tabela 13. Positividade do teste de intradermoreação de Montenegro em crianças e adolescentes avaliadas **na linha de base**, segundo comunidades de residência. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008 (n=700).

Comunidade	Positividade (Prevalência)		
	<i>Absoluta</i>	<i>Proporção</i>	<i>IC 95%*</i>
Alto Bela Vista	14/73	19,2	11,7 – 29,8
Bananal I	13/66	19,7	11,8 – 30,9
Bananal II	28/66	42,4	31,2 – 54,5
Boa Vista	43/80	53,8	42,9 – 64,3
Córrego do Ouro	9/20	45,0	25,8 – 65,8
Curvas	20/65	30,8	20,8 – 42,9
Engenho Velho	27/117	23,1	16,3 – 31,5
Fercal I	28/66	42,4	31,2 – 54,5
Fercal II	10/27	37,0	21,5 -55,8
Queima Lençol	22/57	38,6	27,0 – 51,6
Ribeirão-Pedreira	8/16	50,0	28,0 -72,0
Rua do Mato	11/47	23,4	13,5 – 37,4
Prevalência global	233/700	33,3	29,8 – 36,8

Observou-se que a positividade também não foi uniforme segundo a idade, mostrando depois dos oito anos maiores prevalências (Figura 16). Tendo como ponto de corte os 8 anos, observou-se que no grupo de crianças até sete anos a prevalência foi de 22,5% contra 39,7% no grupo de oito a catorze anos ($X^2=21,86$; $p<0,001$).

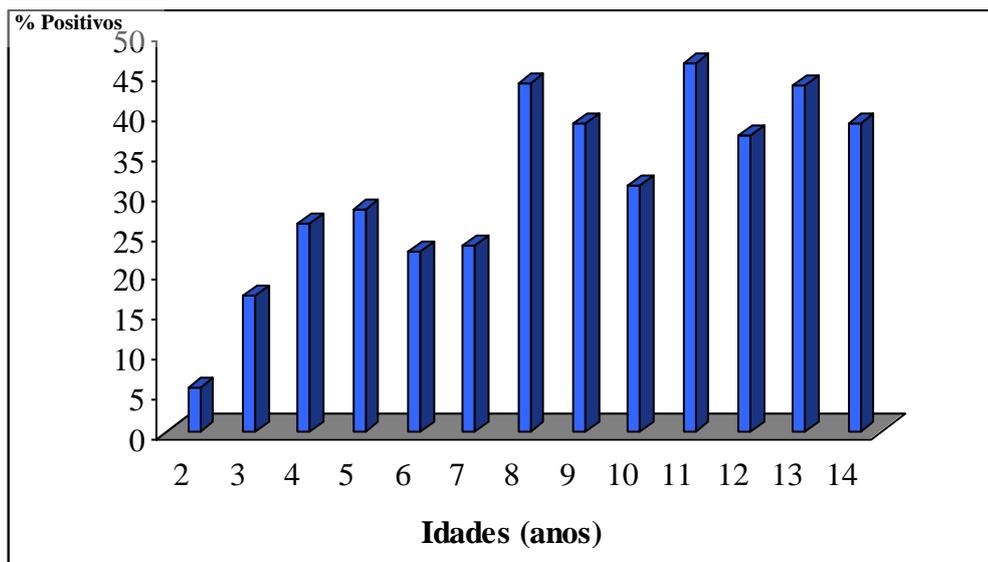


Figura 16. Positividade do teste de intradermoreação de Montenegro segundo a idade em crianças e adolescentes **na linha de base**. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2008 (n=700).

5.7 Resultados do acompanhamento das coortes

Esta avaliação foi realizada entre outubro de 2008 e junho de 2009, para respeitar o intervalo de um ano em relação à primeira. A ordem das comunidades avaliadas respeitou a ordem da primeira avaliação. Do total das 700 crianças e adolescentes, foi possível reavaliar todos os casos prevalentes de infecção assintomática por *Leishmania* (segundo a positividade na IDR) na linha de base (233 indivíduos). Nenhum destes apresentou sinais ou sintomas sugestivos de LV no momento da reavaliação e nem durante o ano transcorrido. Na avaliação clínica tampouco foram observados sinais compatíveis com LVH em nenhuma das crianças avaliadas, independente do resultado da IDR inicial. Uma criança da comunidade de Queima Lençol teve uma irmã de 15 meses com diagnóstico de LV, sendo internada e tratada satisfatoriamente em outubro de 2008. Outros dois contactantes com LVH foram uma criança da comunidade Queima Lençol cujo pai foi diagnosticado e tratado no Hospital Regional de Sobradinho e outra criança da comunidade Fercal II que teve um primo com LV.

Dos 467 indivíduos com resultado inicial de IDRMM negativo foi possível reavaliar 396 (84,8%). Os motivos para não reavaliá-los foram principalmente a mudança de endereço (13,5%), seguido pela recusa a continuar participando do estudo, observado em oito casos (1,7%). As características daqueles acompanhados foram similares às dos indivíduos perdidos no acompanhamento (Apêndice H). As características que poderiam ter mudado o risco de infecção por *Leishmania* durante o acompanhamento são demonstradas na tabela 14.

Tabela 14. Condições observadas no ano prévio à reavaliação pelo teste de Montenegro entre crianças e adolescentes **da coorte de suscetíveis** da região da Fercal (n=396). Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009.

Característica avaliada	Valores observados
Número de indivíduos com primeira IDRMM negativa reavaliados	396
Homens (n / %)	201 (50,8)
<i>Contactantes no domicílio ou na família</i>	
Contacto com doente com LV (n / %)	3 (0,8)
<i>Condições da moradia</i>	
Residência a menos de 100 metros de mata (n / %)	275 (69,4)
Residência a menos de 100 metros de um córrego ou riacho (n / %)	160 (40,4)
Passou a utilizar mosquiteiro no quarto (n / %)	34 (8,6)
Casa desinsetizada no último ano (n / %)	2 (0,5)
<i>Condição clínica dos cães da casa</i>	
Presença de novos cães (n / %)	112 (28,3)
Presença de cão novo nascido em área endêmica de LV (n / %)	3/112 (2,7)
Presença de cães suspeitos de LVC no último ano (n / %)	72 (18,2)
Presença de cão suspeito de LVC no momento da avaliação (n / %)	2/72 (2,8)
<i>Outras condições de risco potencial para contrair LV</i>	
Deslocamento para outra comunidade da Fercal por mais de uma semana (n / %)	24 (6,1)
Deslocamento para comunidade da Fercal com casos de LVH (n / %)	13/24 (54,2)
Viagem fora do Distrito Federal (n / %)	71 (17,9)
Viagem para município com relato de LVH autóctone (n / %)	61/71 (85,9)

Dos cães trazidos de municípios com LV, dois foram trazidos de Planaltina e um de Formosa, ambos os municípios do estado de Goiás. Dos 72 cães com suspeita de LVC, só foram encontrados dois no momento da avaliação, pois a maioria tinha sido recolhida pelo pessoal da Direção de Vigilância Ambiental da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal ou tinham morrido.

Dos 61 indivíduos que viajaram para municípios com transmissão de LV no ano posterior à realização do primeiro teste de Montenegro, 36 (59%) viajaram pra municípios do estado de Goiás. Doze (19,7%) viajaram para municípios da Bahia. Viagens para municípios de outros estados como Ceará (02), Maranhão (03), Minas Gerais (03), Paraíba (01), Pernambuco (01), Piauí (01), Rio Grande do Norte (01) e Tocantins (01) foram também registrados.

5.8 Incidência de infecção por *Leishmania* (segunda avaliação)

A avaliação dos suscetíveis incluiu novamente os três testes aplicados na linha de base. Das 396 crianças e adolescentes que tiveram o primeiro resultado de IDRM negativo, observou-se que 92 (23,2%) tiveram resultado positivo na segunda avaliação (Tabela 15). Esta incidência avaliada segundo a conversão do teste de Montenegro variou nas comunidades de zero a 43,8%, como demonstrado na tabela 16. O teste imunocromatográfico foi negativo em todos os soros avaliados e a PCR foi positiva em nove (2,3%) amostras.

Tabela 15. Resultados de incidência e prevalência periódica segundo os testes aplicados em crianças e adolescentes residentes na Fercal, Sobradinho, Brasília, Distrito Federal. 2007 - 2009.

Teste aplicado	Prevalência pontual (n=700)	Incidência (n=396)	IC 95% da incidência	Prevalência periódica (n=700)	IC 95% da prevalência periódica
IDRM	33,28%	23,23%	19,27 - 27,58	46,42%	42,75 - 50,13
PCR	0,57%	2,27%	1,11 - 4,13	1,86%	1,04 - 3,08
IDRM + PCR*	33,57%	24,75%	20,75 - 29,23	47,57%	43,90 - 51,27
<i>Kalazar detect™</i>	Zero	Zero	0 - 0,82	Zero	-

* Positividade a qualquer um dos testes aplicados

Dos resultados de PCR, três corresponderam a crianças com IDRM positivo e seis com o teste cutâneo negativo. Nenhuma criança apresentou PCR positiva nas duas avaliações.

Tabela 16. Distribuição da incidência aferida pela conversão do teste de intradermorreação de Montenegro em crianças e adolescentes **da coorte de suscetíveis** segundo comunidade de residência. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009 (n=396).

Comunidade	Positividade (Incidência)		
	<i>Absoluta</i>	<i>Porcentagem</i>	<i>IC95%</i>
Alto Bela Vista	11/54	20,4	11,6 - 36,1
Bananal I	14/37	37,8	24,0 - 53,9
Bananal II	7/35	20,0	9,7 - 36,2
Boa Vista	8/34	23,5	12,2 - 40,2
Córrego do Ouro	4/10	40,0	16,7 - 68,8
Curvas	4/34	11,8	4,1 - 27,2
Engenho Velho	11/73	15,1	8,5 - 25,2
Fercal I	10/33	30,3	17,3 - 47,5
Fercal II	7/16	43,8	23,1 - 66,9
Queima Lençol	11/29	37,9	22,6 - 56,1
Ribeirão-Pedreira	0/6	0	0 - 44,3
Rua do Mato	5/35	14,3	5,8 - 29,9
Incidência global	92/396	23,2	19,3 - 27,6

5.9 Análise estatística das variáveis contínuas

Previamente, foi avaliada a normalidade da distribuição dos valores das variáveis contínuas.

Nenhuma variável demonstrou distribuição normal (Tabela 17).

Tabela 17. Análise da normalidade das variáveis contínuas registradas **na linha de base** entre crianças e adolescentes residentes na Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2009 (n=700).

Características (variável)	Média	Mediana	Teste de Kolmogorov – Smirnov Z	Valor de p	Interpretação da distribuição
Idade (anos)	8,63	9,00	3,17	<0,01	Não gaussiana
Tempo de residência (anos)	7,38	7,00	2,01	<0,01	Não gaussiana
Instrução (anos de estudo)	2,52	2,00	4,93	<0,01	Não gaussiana
Antiguidade da casa (anos)	10,13	10,00	4,58	<0,01	Não gaussiana
Altitude da casa (metros sobre o nível do mar)	887,62	887,00	1,92	<0,01	Não gaussiana
Moradores por casa	4,69	4,00	4,98	<0,01	Não gaussiana
Cães por casa	0,70	0,00	8,53	<0,01	Não gaussiana

Observou-se que crianças e adolescentes com testes de IDRM positivo foram mais velhos comparados àqueles com testes negativos. Isto se repetiu quando comparados anos de estudo e tempo de residência na área, provavelmente associados à idade dos indivíduos avaliados. A altitude não mostrou influência no teste de IDRM. O número de moradores por casa não influenciou nos resultados, mas houve mais casos de IDRM positiva entre aqueles com mais cães por casa (Tabela 18).

Tabela 18. Análise estatística das variáveis contínuas registradas **na linha de base** entre crianças e adolescentes avaliados na Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2009 (n=700).

Características (variável)	Medianas		Teste de Mann-Whitney U	Valor de P
	<i>IDRM positiva</i>	<i>IDRM negativa</i>		
Idade (anos)	9,00	8,00	43956,00	<0,01
Tempo de residência na área (anos)	8,00	7,00	47622,50	0,01
Instrução (anos de estudo)	3,00	2,00	43385,00	<0,01
Antiguidade da casa (anos)	10,00	9,00	47555,50	0,01
Altitude da casa (metros sobre o nível do mar)	887,00	887,00	52954,50	0,57
Moradores por casa	5,00	4,00	52146,50	0,36
Cães por casa	1,00	0,00	47107,50	<0,01

5.10 Análise estatística por regressão logística

A análise de regressão logística univariada foi realizada com os resultados da IDRM. Não foram realizadas análises em relação aos outros desfechos (testes diagnósticos) pela baixa positividade destas provas. As variáveis incluídas na análise foram aquelas com plausibilidade biológica da ocorrência de um teste de IDRM positivo.

5.10.1 Análise da primeira avaliação

A avaliação das variáveis relacionadas ao indivíduo mostrou associação com a idade (OR=1,12; IC 95% 1,06 - 1,18), e tempo de residência (OR=1,06; IC 95% 1,02 - 1,11). Por questão de uma possível colinearidade ou interação, estas poderiam observar-se como uma única característica, que mostraria que quanto maior a idade, maior seria a probabilidade de um teste de IDRM positivo. Por serem variáveis numéricas e não serem lineares decidiu-se por torná-las categóricas para a análise posterior. A categorização continuou mostrando significância destas características. Fora destas características, o gênero masculino mostrou associação moderada com o desfecho avaliado (OR=1,33; IC95% 0,97 - 1,83). Nesta análise não foram identificadas características associadas à proteção, pois as duas que resultaram com

OR<1 tiveram uma variação além deste valor e não foram estatisticamente significativas. (Tabela 19).

Tabela 19. Análise de regressão logística univariada: variáveis relacionadas aos indivíduos como possíveis preditoras da positividade da intradermoreação de Montenegro entre crianças e adolescentes avaliados **na linha de base** nas comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2008 (n=700).

Características	OR	IC 95%*	Valor de p
Gênero masculino	1,33	0,97 – 1,83	0,07
Ter nascido em município com reporte de LVH autóctone	1,12	0,71 – 1,77	0,63
Idade em anos	1,12	1,06 – 1,18	<0,01
Ter mais de sete anos de idade	2,27	1,60 – 3,21	<0,01
Tempo de residência em anos	1,06	1,02 – 1,11	0,01
Tempo de residência na Fercal maior a sete anos	1,47	1,07 – 2,01	0,02
Ter morado em município com reporte de LVH autóctone	1,31	0,84 – 2,01	0,23
Antecedente familiar de LV	2,03	0,65 – 6,37	0,22
Ter morado em casa com cães com suspeita de LV	0,92	0,57 – 1,50	0,75
Não usar mosquiteiro	1,15	0,64 – 2,05	0,64

* Intervalo de confiança de 95% do *odds ratio* (OR)

As características das moradias avaliadas mostraram associação com a antiguidade da casa registrada de forma contínua ou categorizada segundo a mediana (Tabela 20).

Tabela 20. Análise de regressão logística univariada: variáveis relacionadas à moradia dos indivíduos como possíveis preditoras da positividade da intradermoreação de Montenegro entre crianças e adolescentes avaliados **na linha de base** nas comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008 (n=700).

Características	Coefficiente	OR	IC 95%*	Valor de p
Antiguidade da casa em anos	0,03	1,03	1,01 – 1,05	0,01
Antiguidade da casa > 9 anos	0,37	1,44	1,05 – 1,98	0,02
Número de moradores na residência	0,04	1,04	0,94 – 1,14	0,47
Elevação da moradia em metros	<0,01	1,00	0,99 – 1,01	0,66
Casa não borrifada no último ano	-0,09	0,92	0,46 – 1,84	0,81

* Intervalo de confiança de 95% do *odds ratio* (OR)

Nas características relacionadas à presença de animais nas moradias ou nas redondezas destas, observou-se que o número de cães em casa, assim como o fato destes dormirem fora da casa mostraram associação com a IDRM positiva. A presença de vários animais, tanto de criação quanto silvestres, também mostrou associação com o desfecho avaliado (Tabela 21).

Tabela 21. Análise de regressão logística univariada: variáveis relacionadas à presença de animais nas moradias ou nas redondezas das casas dos indivíduos como possíveis preditoras da positividade da intradermoreação de Montenegro entre crianças e adolescentes avaliados **na linha de base** nas comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2008 (n=700).

Características	Coefficiente	OR	IC 95%*	Valor de p
<i>Características da população canina avaliada nas moradias</i>				
Número de cães em casa	0,24	1,27	1,09 – 1,48	<0,01
Pelo menos um cão nascido em município com transmissão autóctone de LV	0,46	1,59	0,45 – 5,61	0,47
Cães deslocados para município com transmissão autóctone de LV	0,25	1,28	0,58 – 2,84	0,55
Cães que pernoitam no quintal da casa	0,41	1,50	1,09 – 2,08	0,01
Cães com sinais compatíveis com LVH	-0,12	0,89	0,25 – 3,11	0,85
<i>Características de outros tipos de animais de criação presentes nas moradias</i>				
Criação de cavalos	0,96	2,61	1,20 – 5,67	0,02
Criação de coelhos	-0,52	0,60	0,16 – 2,19	0,44
Criação de gado	0,99	2,70	1,17 – 6,25	0,02
Criação de galinhas	0,25	1,29	0,91 – 1,82	0,15
Criação de gatos	0,23	1,26	0,81 – 1,98	0,31
Criação de aves não galináceas	0,30	1,35	0,88 – 2,09	0,17
Criação de patos	1,05	2,86	0,90 – 9,12	0,08
Criação de perus	-0,71	<0,01	0	0,99
Criação de porcos	0,79	2,21	1,16 – 4,24	0,02
<i>Características de potenciais reservatórios silvestres de LV nos arredores das moradias</i>				
Presença de gambás	0,42	1,52	1,08 – 2,14	0,02
Presença de macacos	-0,04	0,96	0,49 – 1,90	0,91
Presença de raposas	-0,41	0,66	0,18 – 2,48	0,54
Presença de tatus	1,12	3,06	0,85 – 10,95	0,09

* Intervalo de confiança de 95% do *odds ratio* (OR)

Posterior à análise de regressão logística univariada realizou-se a análise multivariada com as características que obtiveram valor de $p < 0,20$ na análise “one step” prévia. Das variáveis

contínuas, decidiu-se por manter só “número de cães em casa” por não poder ser categorizada segundo sua mediana, pois esta era igual a zero. O restante deste tipo de variáveis foi adicionado na análise como variáveis categóricas. Sob estes parâmetros, selecionaram-se 14 variáveis. Previamente, todas as variáveis foram submetidas ao teste de multicolinearidade, para garantir que fossem independentes entre si. Esta análise segundo os critérios de Menard⁽¹⁶⁸⁾ e Myers⁽¹⁶⁹⁾ não mostrou colinearidade entre nenhuma das variáveis selecionadas para análise de regressão múltipla (Apêndice I).

Procedeu-se então à análise das 14 variáveis selecionadas dentre as 34 avaliadas na análise univariada. O resultado final mostrou que a infecção humana definida pelo teste de intradermorreação de Montenegro positivo está associada com a idade maior de sete anos (OR=3,04; IC 95% 1,86 – 4,99) e com a presença de gambás nas redondezas das moradias dos indivíduos avaliados (OR=1,46; IC 95% 1,02 – 2,10). As outras variáveis não mostraram associação com o desfecho (Tabela 22). Foi testada a interação gênero/idade tanto na apresentação da variável “idade” de forma contínua quanto de forma categorizada (até sete anos e maior dessa idade) e não se mostrou associada com a positividade da IDRM.

Tabela 22. Análise de regressão logística multivariada das variáveis selecionadas dentre as características associadas como possíveis preditoras da positividade da intradermorreação de Montenegro entre crianças e adolescentes avaliadas **na linha de base** das comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2008 (n=700).

Características (variáveis)	OR	IC 95%*	Valor de p
Gênero masculino	1,35	0,97 – 1,88	0,08
Ter mais de sete anos de idade	3,04	1,86 – 4,99	<0,01
Tempo de residência maior a sete anos	0,63	0,40 – 1,00	0,05
Antiguidade da casa maior de nove anos	1,26	0,90 – 1,77	0,18
Número de cães em casa	1,09	0,87 – 1,38	0,45
Cães que pernoitam no quintal da casa	1,19	0,76 – 1,87	0,45
Criação de cavalos	1,27	0,43 – 3,73	0,66
Criação de gado	1,06	0,35 – 3,23	0,92
Criação de galinhas	0,87	0,57 – 1,32	0,50
Criação de aves não galináceas	1,22	0,77 – 1,93	0,41
Criação de patos	2,07	0,57 -7,45	0,27
Criação de porcos	1,32	0,55 – 3,20	0,54
Presença de gambás	1,46	1,02 – 2,10	0,04
Presença de tatus	1,76	0,45 – 6,85	0,42

* Intervalo de confiança de 95% do *odds ratio* (OR)

Posterior à análise de regressão logística “*one step*” realizada, decidiu-se realizar uma análise do tipo “*stepwise forward*”, na que incluímos as características (variáveis) que demonstraram associação estatística com valor de $p < 0,20$.

Usando esta abordagem obteve-se três variáveis com significância estatística. Das duas variáveis significativamente associadas na análise “*one step*”, só a variável “presença de gambás” continuou mostrando significância estatística (Tabela 28). O teste de Hosmer e Lemeshow para este modelo mostrou um valor de $p=0,66$ com cinco graus de liberdade. Isto

indica que o modelo tem um bom ajuste aos dados apresentados. A estatística de Cox & Snell R^2 foi de 0,06 para o modelo, enquanto o valor da estatística de Nagelkerke R^2 foi de 0,09.

Tabela 23. Análise multivariada do tipo “*stepwise forward*” com as variáveis da avaliação **na linha de base** como possíveis preditoras da positividade da intradermorreação de Montenegro entre crianças e adolescentes das comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008 (n=700).

Características (variáveis)	OR	IC 95%*	Valor de p
Gênero masculino	1,95	1,19 – 3,17	0,01
Criação de aves não galináceas	2,23	1,19 – 4,18	0,01
Presença de gambás	1,97	1,17 – 3,32	0,01

* Intervalo de confiança de 95% do *odds ratio* (OR)

5.10.2 Análise da coorte de suscetíveis (segunda avaliação)

A segunda avaliação foi realizada nos 396 indivíduos que apresentaram resultado negativo na IDRМ da primeira avaliação. Estes foram reavaliados e com os resultados foi realizada a mesma análise praticada para o inquérito inicial. Algumas variáveis que poderiam estar associadas ao risco de converter o resultado do teste estão demonstradas na tabela 23.

Tabela 24. Características identificadas no acompanhamento **da coorte** formada por crianças e adolescentes suscetíveis na linha de base. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009 (n=396).

Característica	Frequência	Proporção (%)
<i>Características associadas ao indivíduo</i>		
Contato com indivíduo doente com LV	3	0,8
Viajou para município com transmissão de LV	61	15,4
Começou a usar mosquiteiro	34	8,6
<i>Características associadas à moradia</i>		
Casa borrifada no ano prévio	2	0,5
Casa localizada a < 100 m da mata	275	69,4
Casa localizada a < 100 m de fonte de água (rio, riacho, córrego, nascente, etc.)	160	40,4
<i>Características associadas aos animais de criação na casa</i>		
Presença de cão doente na casa	72	18,2
Cão morto ou recolhido na casa	70	17,7
Presença de novo cão em casa	112	28,3
Presença de novo cão procedente de município com transmissão de LV	3 / 112	2,7

Posteriormente, realizou-se a análise de risco deste grupo examinando as variáveis avaliadas no primeiro inquérito e aquelas que mudaram durante o período. Para analisar o risco de apresentar o desfecho de interesse um ano após a avaliação inicial foram calculados valores de *odds ratio* utilizando-se a abordagem de um estudo de coorte. A análise mostrou significativos os riscos de ser homem (OR=1,92 ; IC95 1,19 - 3,10), a presença de pelo menos um cão nascido em município com transmissão autóctone de LV (OR=6,86 ; IC95 1,24 - 38,10), criação de aves não galináceas (OR=2,21 ; IC95 1,20 - 4,06) e a presença de gambás nas redondezas das moradias (OR=1,78 ; IC95 1,08 - 2,96). Algumas variáveis se mostraram como fatores de proteção (OR<1), no entanto, todas apresentaram intervalos de confiança que

incluíram a unidade. Não foi avaliada a variável “criação de perus”, pois nenhum dos indivíduos do grupo reavaliado apresentou esta característica, o que impossibilitou a análise.

Analísaram-se as características da coorte de suscetíveis pela análise univariada do tipo “one step”. A análise seguiu a mesma lógica do que a avaliação do inquérito, começando pelas variáveis dependentes do indivíduo examinado. A avaliação dos fatores relacionados ao indivíduo mostrou que existiu associação estatística significativa entre o desfecho e o gênero masculino (OR=1,92; IC 95% 1,19 – 3,10) (Tabela 24).

Tabela 25. Análise de regressão logística univariada: características dos indivíduos identificadas como possíveis preditoras da conversão da intradermoreação de Montenegro entre crianças e adolescentes **da coorte de suscetíveis** acompanhados durante um ano nas comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009 (n=396).

Características (variáveis)	OR	IC 95%*	Valor de p
Gênero masculino	1,92	1,19 – 3,10	0,01
Ter nascido em município com transmissão autóctone de LVH	1,11	0,52 – 2,37	0,78
Ter mais de sete anos de idade na primeira avaliação	1,24	0,77 – 1,99	0,38
Tempo de residência maior a sete anos na primeira avaliação	1,25	0,79 – 2,00	0,35
Ter morado em município com transmissão autóctone de LV	1,28	0,63 – 2,59	0,50
Antecedente familiar de LV	1,10	0,22 – 5,56	0,91
Presença de sinais ou sintomas sugestivos de LVH (na primeira avaliação)	1,22	0,52 – 2,84	0,64
Ter morado em casa com cães com suspeita de LV	1,59	0,97 – 2,62	0,07
Não usar mosquiteiro	2,17	0,94 – 4,98	0,07
Ter viajado para município com transmissão autóctone de LV no último ano	0,69	0,34 – 1,39	0,30

* Intervalo de confiança de 95% do *odds ratio* (OR)

Após avaliar as variáveis relativas às casas segundo regressão logística univariada do tipo “one step”, observou-se que nenhuma teve associação com o desfecho de ter um teste de IDR positivo (Tabela 25).

Tabela 26. Análise de regressão logística univariada: características da moradia dos indivíduos como possíveis preditoras da conversão da intradermoreação de Montenegro entre crianças e adolescentes **da coorte de suscetíveis** acompanhados durante um ano nas comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009 (n=396).

Características (variáveis)	Score	OR	IC 95%*	Valor de p
Antiguidade da casa maior de nove anos (na primeira avaliação)	0,07	1,07	0,67 – 1,71	0,77
Casa localizada a menos de 100 metros do mata	-0,12	0,88	0,54 – 1,46	0,63
Casa localizada a menos de 100 metros de fonte de água (rio, riacho, nascente, etc)	-0,13	0,88	0,55 – 1,42	0,60
Número de moradores	0,00	0,99	0,86 – 1,16	0,99
Elevação da moradia	<-0,01	0,99	0,99 – 1,01	0,99
Casa não borrifada nos anos prévios	1,10	3,00	0,69 – 13,13	0,15

* Intervalo de confiança de 95% do *odds ratio* (OR)

A avaliação das variáveis associadas aos animais criados ou observados nas redondezas das casas mostrou associação com a criação de aves não galináceas (OR=2,21 ; IC95 1,20 – 4,06) e com a observação da presença de gambás no peridomicílio (OR=1,78 ; IC95 1,08 – 2,96). As características que resultaram com ORs menores a um tiveram intervalos de confiança que incluíram a unidade (Tabela 26).

Tabela 27. Análise de regressão logística univariada: características relativas à presença de animais nas moradias ou nas redondezas das casas dos indivíduos como possíveis preditoras da conversão da intradermoreação de Montenegro entre crianças e adolescentes **da coorte de suscetíveis** acompanhados durante um ano nas comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008-2009 (n=396).

Características (variáveis)	OR	IC 95%*	Valor de p
Número de cães em casa na avaliação inicial	0,98	0,78 – 1,23	0,98
Pelo menos um cão nascido em município com transmissão autóctone de LV	1,59	0,97 – 2,62	0,07
Cães deslocados para município com transmissão autóctone de LV	2,58	0,77 – 8,64	0,13
Cães que pernoitam no quintal da casa	1,18	0,73 – 1,92	0,51
Cães com sinais compatíveis com LVH	0,65	0,07 – 5,78	0,70
Criação de cavalos	0,73	0,16 – 3,43	0,69
Criação de coelhos	2,72	0,72 – 10,34	0,14
Criação de galinhas	1,23	0,73 – 2,05	0,44
Criação de gado	0	0	0,99
Criação de gatos	1,30	0,67 – 2,52	0,45
Criação de aves não galináceas	2,21	1,20 – 4,06	0,01
Criação de patos	1,10	0,11 – 10,73	0,93
Criação de porcos	0,65	0,18 – 2,29	0,50
Presença de gambás	1,78	1,08 – 2,96	0,03
Presença de macacos	1,51	0,64 – 3,60	0,35
Presença de raposas	0,47	0,06 – 3,84	0,48
Presença de tatus	0	0	0,99

* Intervalo de confiança de 95% do *odds ratio* (OR)

Realizou-se a seleção das variáveis que apresentaram valores de $p < 0,20$ para serem submetidas à análise multivariada. Antes de proceder à análise multivariada, realizou-se a análise de colinearidade. O resultado mostrou ausência de colinearidade, portanto, todas as variáveis selecionadas foram contempladas na análise multivariada (Apêndice J).

Procedeu-se à análise multivariada, que demonstrou significância estatística entre uma prova de IDRМ positiva e a presença de gambás nas redondezas dos domicílios (OR=3,22 ; IC95 1,35 – 7,68). Três das variáveis incluídas nesta análise já apareciam na análise multivariada com os dados da primeira avaliação (Tabela 27). A estatística de Cox & Snell R² foi de 0,16 para este modelo, enquanto o valor da estatística de Nagelkerke R² foi de 0,24. Foi testada a interação gênero/idade tanto na apresentação da variável idade de forma contínua como categorizada (até sete anos e maior dessa idade na linha de base) e não houve associação com a positividade na IDRМ.

Tabela 28. Análise de regressão logística multivariada das características selecionadas dentre aquelas identificadas como possíveis preditoras da conversão da intradermorreação de Montenegro entre crianças e adolescentes **da coorte de suscetíveis** das comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008-2009 (n=396).

Características (variáveis)	OR	IC 95%*	Valor de p
Gênero masculino	1,70	0,74 – 3,89	0,21
Ter morado em casa com cães com suspeita de LV	2,25	0,98 – 5,15	0,05
Não usar mosquiteiro	2,14	0,42 – 11,03	0,36
Casa não borrifada nos anos prévios	1,48	0,16 – 13,46	0,73
Cães deslocados para município com transmissão autóctone de LV	2,02	0,35 – 11,64	0,43
Criação de coelhos	2,26	0,35 – 14,46	0,39
Criação de aves não galináceas	2,79	0,97 – 8,04	0,05
Presença de gambás	3,22	1,35 – 7,68	0,01

* Intervalo de confiança de 95% do *odds ratio* (OR).

Foi realizada a estimativa das associações pelo método “*stepwise forward*” com as variáveis que obtiveram valor de $p < 0,20$. Segundo este modelo manteve-se a associação entre a intradermorreação de Montenegro positiva e presença de gambás no peridomicílio. As duas

características que mostraram associação moderada na análise multivariada do tipo “*one step*” (ter morado em casa com cães suspeitos de LV e criação de aves domésticas diferentes às galináceas) mostraram significância estatística (Tabela 29) com esta abordagem. O teste de Hosmer e Lemeshow para esta análise mostrou valor de 0,75 com seis graus de liberdade. A estatística de Cox & Snell R^2 foi de 0,15 para o modelo, enquanto o valor da estatística de Nagelkerke R^2 foi de 0,22.

Tabela 29. Análise multivariada do tipo “*stepwise forward*”, com as variáveis consideradas na avaliação **da coorte** de crianças e adolescentes suscetíveis como possíveis preditoras da conversão da intradermorreação de Montenegro. Fercal, Sobradinho, Brasília, Distrito Federal. 2008 - 2009 (n=396).

Características (variáveis)	OR	IC 95%*	Valor de p
Ter morado em casa com cães com suspeita de LV	2,28	1,02 – 5,10	0,04
Criação de aves não galináceas	2,94	1,08 – 8,02	0,04
Presença de gambás	3,19	1,37 – 7,45	0,01

* Intervalo de confiança de 95% do *odds ratio* (OR)

Foram avaliadas as interações entre as características que mostraram significância nas análises multivariadas e não foram identificadas interações associadas com o desfecho que apresentassem significância estatística suficiente para serem testadas no modelo.

Esta análise foi reavaliada adicionando as variáveis que tinham sido submetidas à análise multivariada da primeira avaliação e observou-se que as variáveis que mostraram significância moderada na análise da tabela 27 tornaram-se estatisticamente significativas. As variáveis associadas foram: ter morado em casa com cães com suspeita de LV ($p=0,04$) e criação de aves diferentes às galináceas ($p=0,04$). A variável que mostrou significância moderada foi a criação de galinhas em casa, com $p=0,05$. A variável presença de gambás

manteve-se significativamente associada (Apêndice K). A estatística de Cox & Snell R^2 foi de 0,23 para o modelo, enquanto o valor da estatística de Nagelkerke R^2 foi de 0,35.

5.11 Análise espacial

Como relatado na metodologia, por tratar-se de uma área com comunidades mal delimitadas e por existirem amplas áreas de chácaras sem sujeitos estudados (por ausência destes ou por serem áreas geograficamente cegas – como morros, encostas, fontes de água, áreas de mineração, etc.) decidiu-se pela classificação nas quatro áreas já descritas (numeradas de esquerda à direita). Mediante o uso da técnica de alisamento de Kernel bivariado, obteve-se um mapa que mostra as áreas de maior densidade de infecção por *Leishmania*. Estas áreas foram avaliadas tendo como denominador da razão os casos negativos da própria área.

No primeiro mapa, onde as intensidades correspondem aos quintis de cada área de forma individual, observamos que na maioria das áreas avaliadas a maior intensidade encontra-se na periferia, provavelmente associada à presença de áreas de mata residual. Neste lugar seria mais provável o contato com os vetores, o que acarretaria estes resultados. A única exceção foi a área I (Córrego do Ouro e Ribeirão – Pedreira), onde as áreas mais “quentes” estiveram localizadas no meio da região. Nestas últimas comunidades não foi observado aumento da razão de densidades nas periferias, por tratar-se de áreas de características predominantemente rurais (Figura 17).

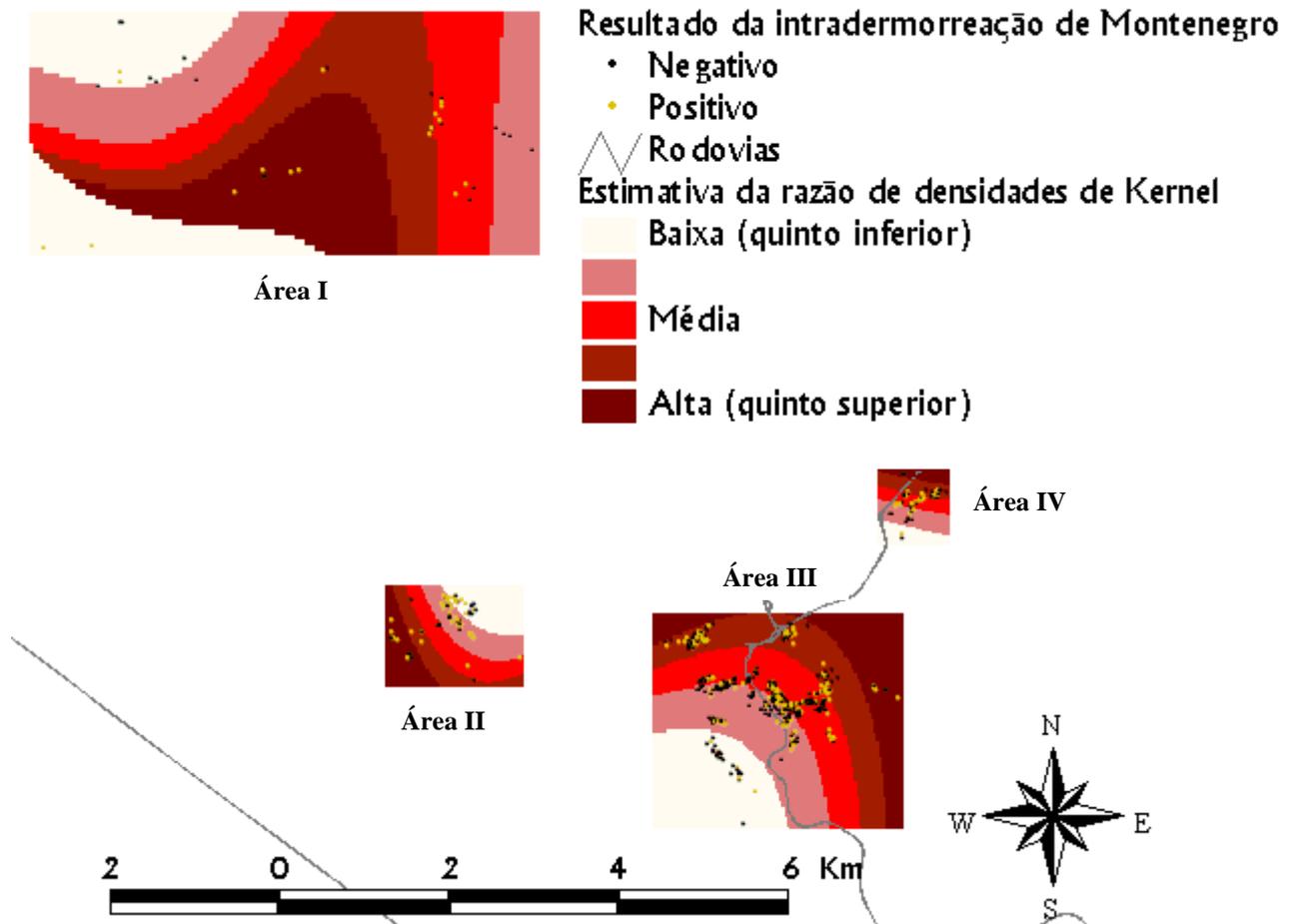


Figura 17. Mapa de distribuição da razão de densidades de infecção por *Leishmania* entre crianças e adolescentes segundo quintis em cada uma das quatro áreas estudadas **na linha de base**. Fercal, Sobradinho, Brasília – Distrito Federal. 2007 - 2008.

Foi construído um segundo mapa com as razões de densidade de Kernel representadas segundo os quintis da área III (Comunidades do PFS de Engenho Velho, Fercal I e II), por ser esta onde se concentraram a maioria dos indivíduos avaliados. Observou-se que segundo esta escala, as áreas II (Boa Vista) e IV (Queima Lençol) apresentaram maior densidade de casos com respeito à área usada como referência. Na área I observou-se que a maior parte corresponde também à maior intensidade deste achado, porém também aparecem áreas de menor intensidade (Figura 18)

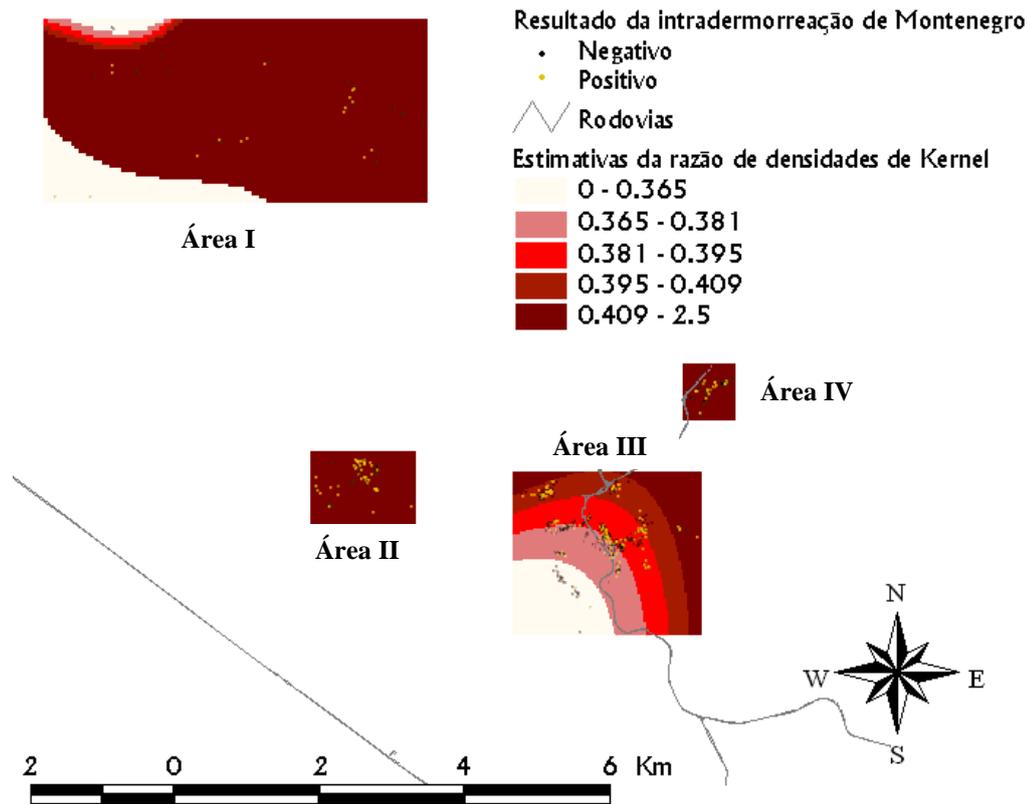


Figura 18. Mapa de distribuição da razão de densidades de infecção por *Leishmania* entre crianças e adolescentes em cada uma das quatro áreas estudadas segundo a intensidade da área de maior concentração dos indivíduos avaliados **na linha de base**. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008.

A análise de conglomerados (*clusters*) foi realizada para avaliar a concentração de casos em cada área analisada. Esta mostrou a presença de vários conglomerados, definidos pela proximidade de pelo menos dez casos positivos. Teve que se fazer uma exceção com relação à área I, já que o número total de indivíduos avaliados foi bastante menor comparado às outras áreas, pois unicamente contava com 36 avaliações. Para esta área, definiu-se conglomerado como a agregação de pelo menos cinco casos de positividade ao teste de Montenegro. Na área I (Córrego do Ouro e Ribeirão – Pedreira) foram identificados dois conglomerados, localizados no centro de cada comunidade (Figura 19).

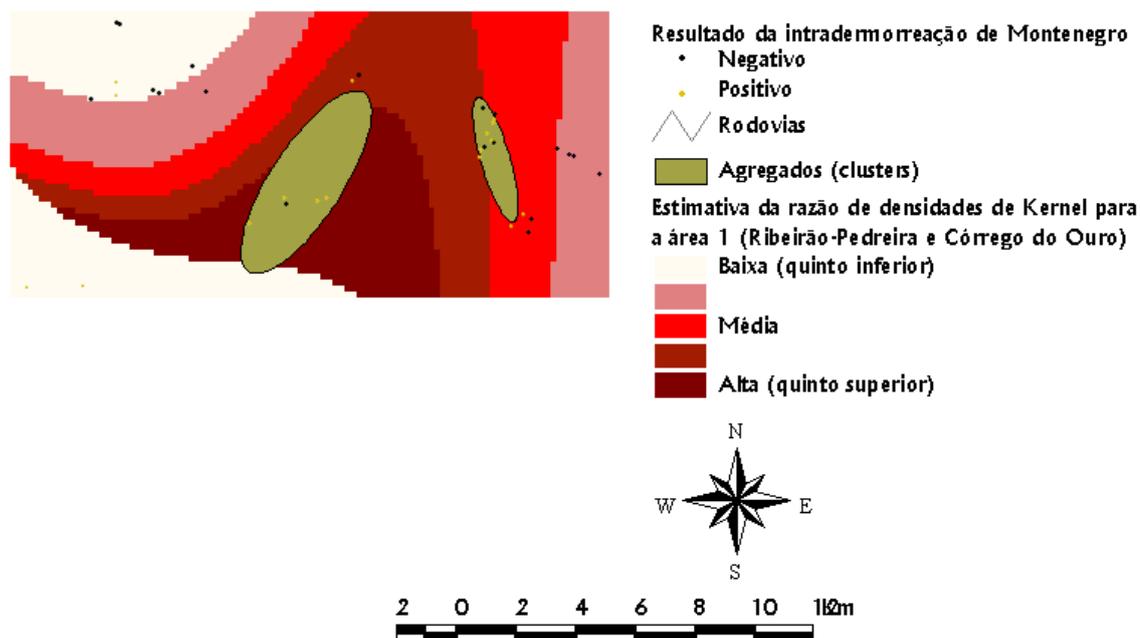


Figura 19. Mapa de distribuição de conglomerados na área I. Comunidades de Córrego do Ouro e Ribeirão – Pedreira. Fercal, Sobradinho, Brasília – Distrito Federal. 2007 – 2008.

Na área II (Boa vista) foi identificado um único *cluster*, localizado geograficamente no território de maior número de residências (Figura 20).

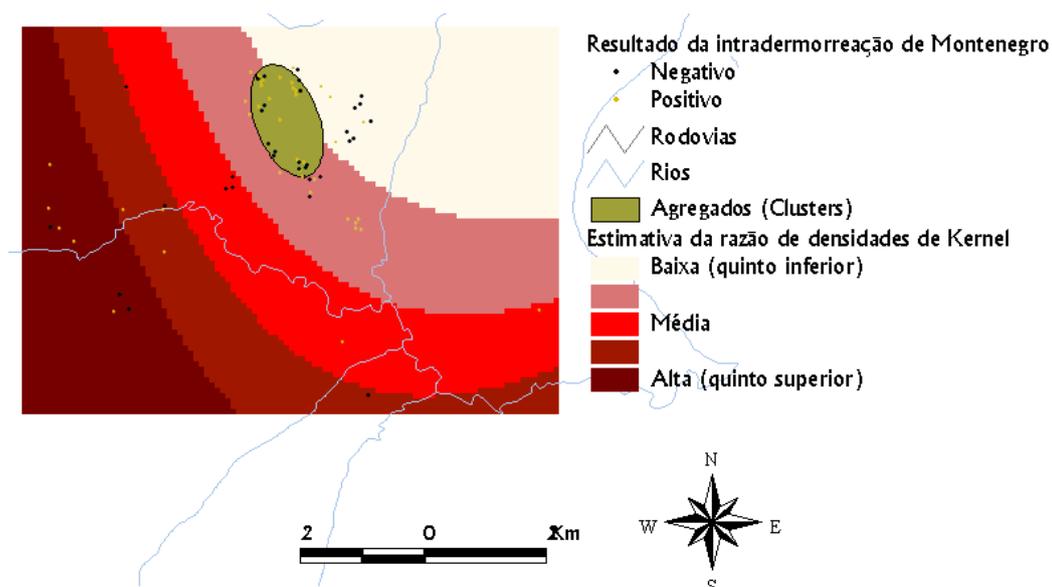


Figura 20. Mapa de distribuição de conglomerados na área II. Comunidade de Boa Vista Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008.

A análise de clusters na área III (Comunidades do PFS de Engenho Velho), Fercal I e II mostrou sete conglomerados. Observados de esquerda a direita, temos dois conglomerados na comunidade Fercal I, um na comunidade Alto Bela Vista, dois na comunidade Engenho Velho (próximos entre si), um na comunidade de Fercal II e o localizado mais à esquerda corresponde a um conglomerado na comunidade de Bananal II (Figura 21).

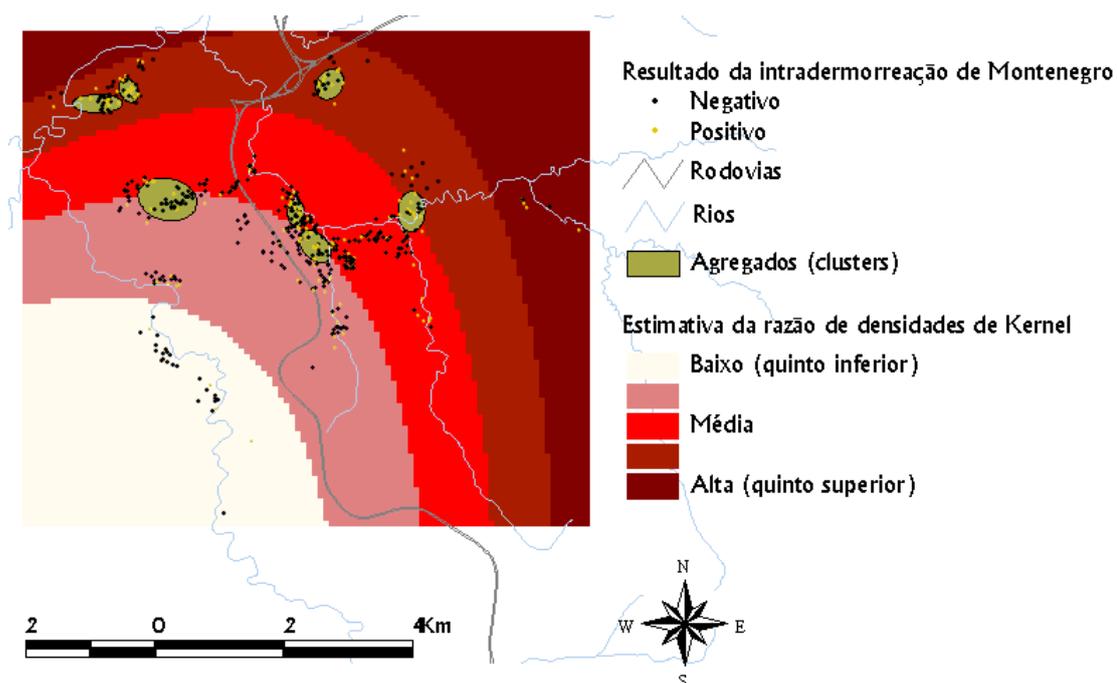


Figura 21. Mapa de distribuição de conglomerados na área III. Região de Engenho Velho, Fercal I e II. Fercal, Sobradinho, Brasília – Distrito Federal. 2007 – 2008.

Finalmente, na área IV (Queima Lençol), foi identificado um conglomerado, localizado ao longo da rua de entrada à comunidade (Figura 22).

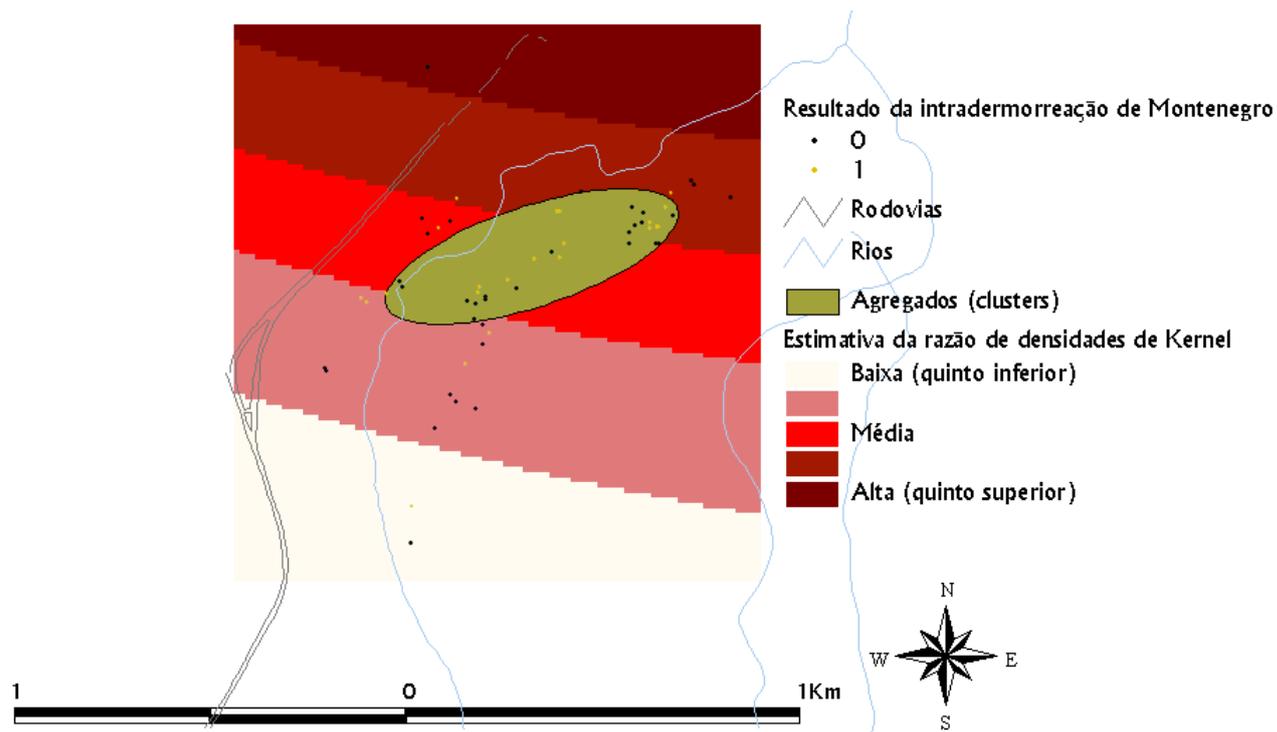


Figura 22. Mapa de distribuição de conglomerados na área IV. Comunidade de Queima Lençol. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008.

5.11.1 Análise da segunda avaliação

A abordagem dos resultados da segunda avaliação foi semelhante à metodologia utilizada para os dados da primeira avaliação e produziu mapas similares, tanto da avaliação geral segundo quintis, da avaliação que teve como referência os parâmetros da área III e a localização de conglomerados em cada área.

Foram utilizados os mesmos métodos de interpolação da primeira avaliação, resultando numa melhor suavização quando se usou o método normal, com raio fixo de 1750 metros. O primeiro mapa mostra que as áreas de concentração dos casos positivos à intradermorreação de Montenegro localizaram-se ao leste das áreas, com exceção da área IV, em que a maior concentração esteve à direita da comunidade, com uma faixa estreita mostrando a maior razão de densidade (Figura 23)

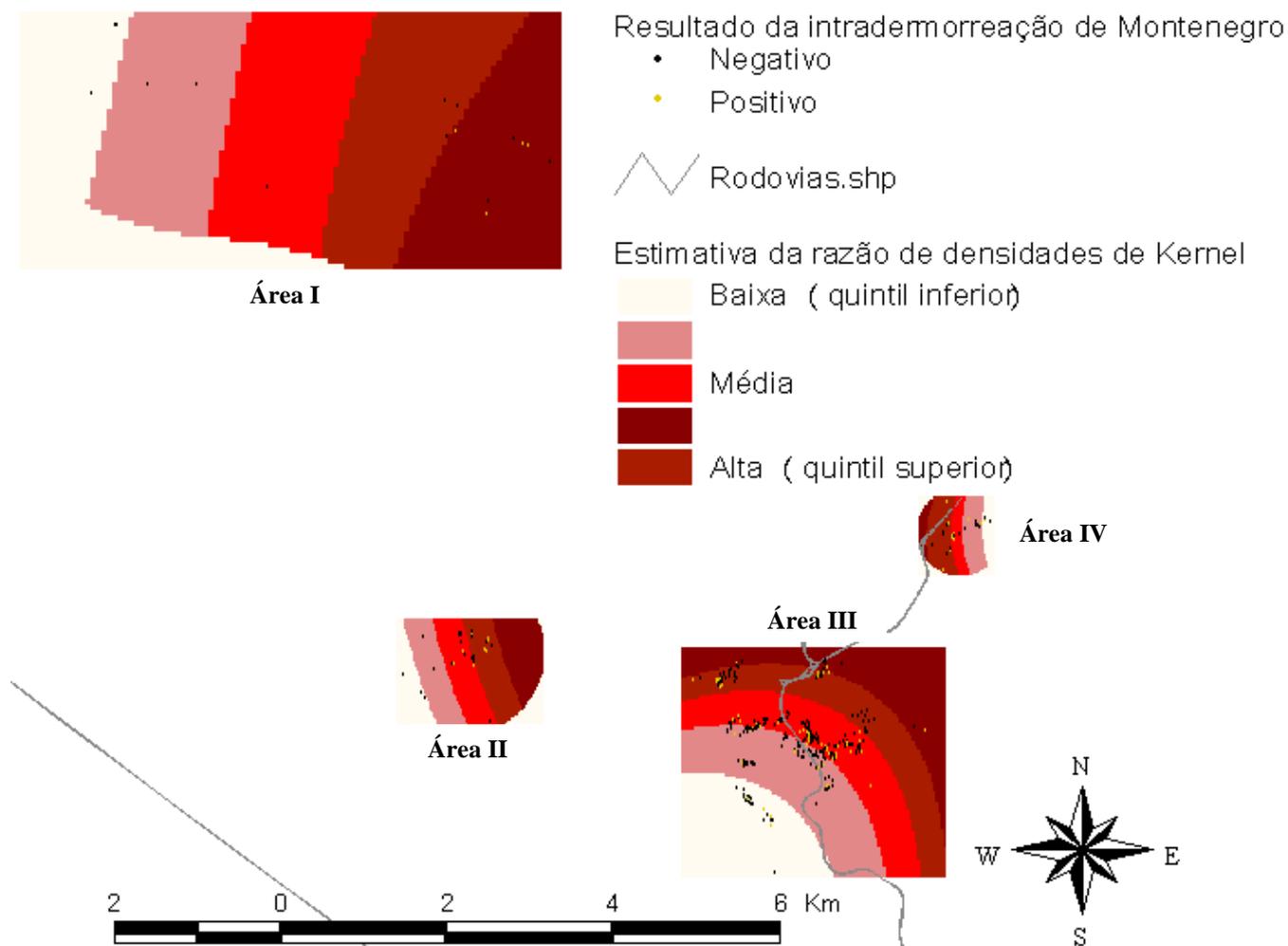


Figura 23. Mapa de distribuição da razão de densidades de infecção por *Leishmania* entre crianças e adolescentes **da coorte de suscetíveis** segundo quintis em cada uma das quatro áreas estudadas. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 – 2009.

Quando foi comparada a razão das densidades em relação à área III, observou-se que as comunidades I, II e IV mostraram áreas maiores de alta densidade de casos positivos semelhante ao demonstrado no mapa II. A exceção foi a comunidade de Ribeirão – Pedreira, que como mostrado na tabela 16 não apresentou indivíduos com positividade à IDRM, mostrando-se no mapa como uma grande área de baixa densidade de infecção (Figura 24).

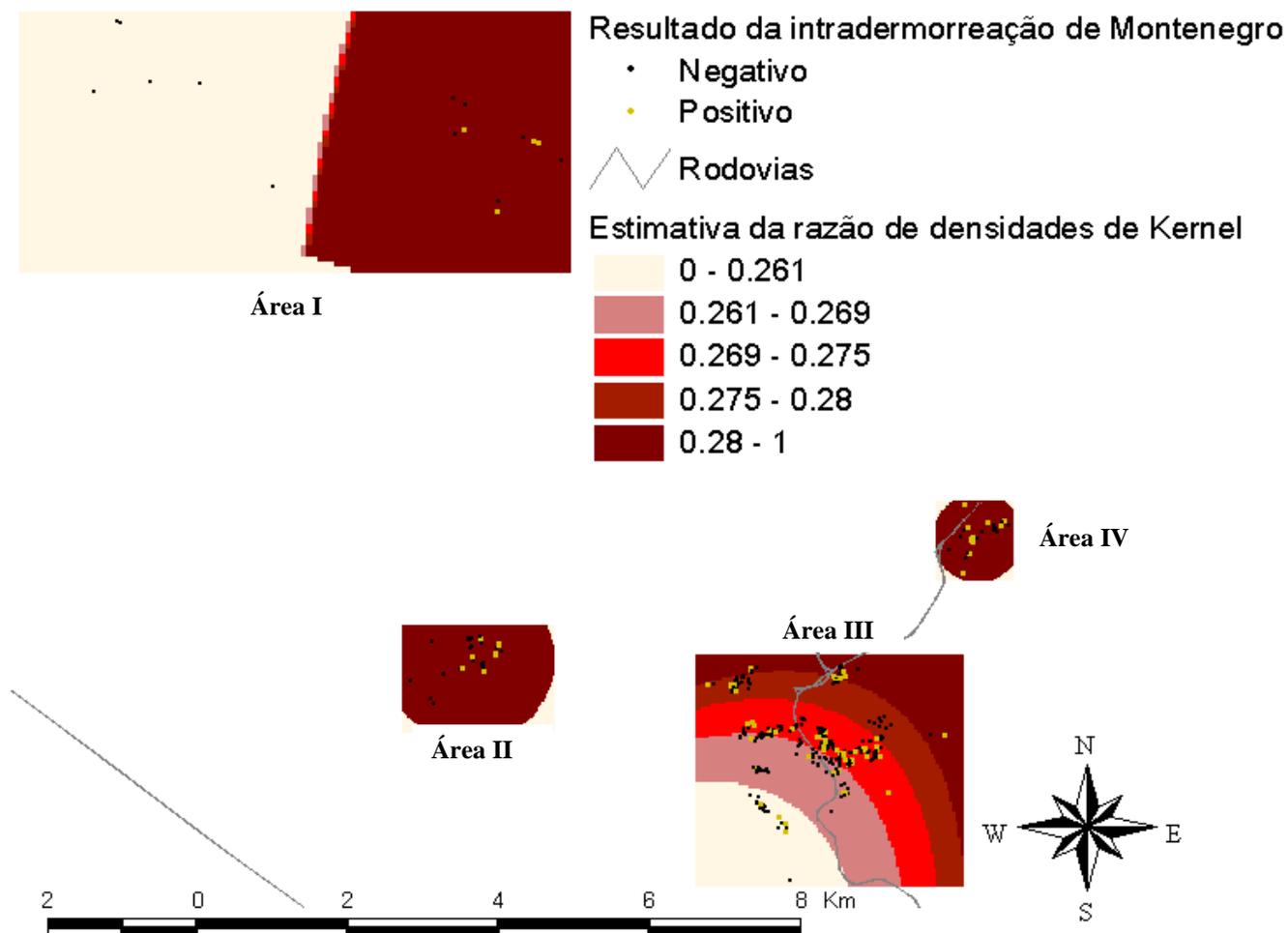


Figura 24. Mapa de distribuição da razão de densidades de infecção por *Leishmania* entre crianças e adolescentes em cada uma das quatro áreas estudadas segundo a intensidade da área de maior concentração dos indivíduos avaliados **na coorte de suscetíveis**. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009.

Na análise de presença de conglomerados foram utilizados os métodos descritos previamente, sendo escolhido o método normal com raio fixo de 500 metros para identificar um mínimo de três casos por cada conglomerado. Com este método, não foi possível identificar conglomerados na área I, que tinha um número muito pequeno de avaliações (n=16). Na área II foi identificado um conglomerado, na zona lesta da comunidade. (Figura 25)

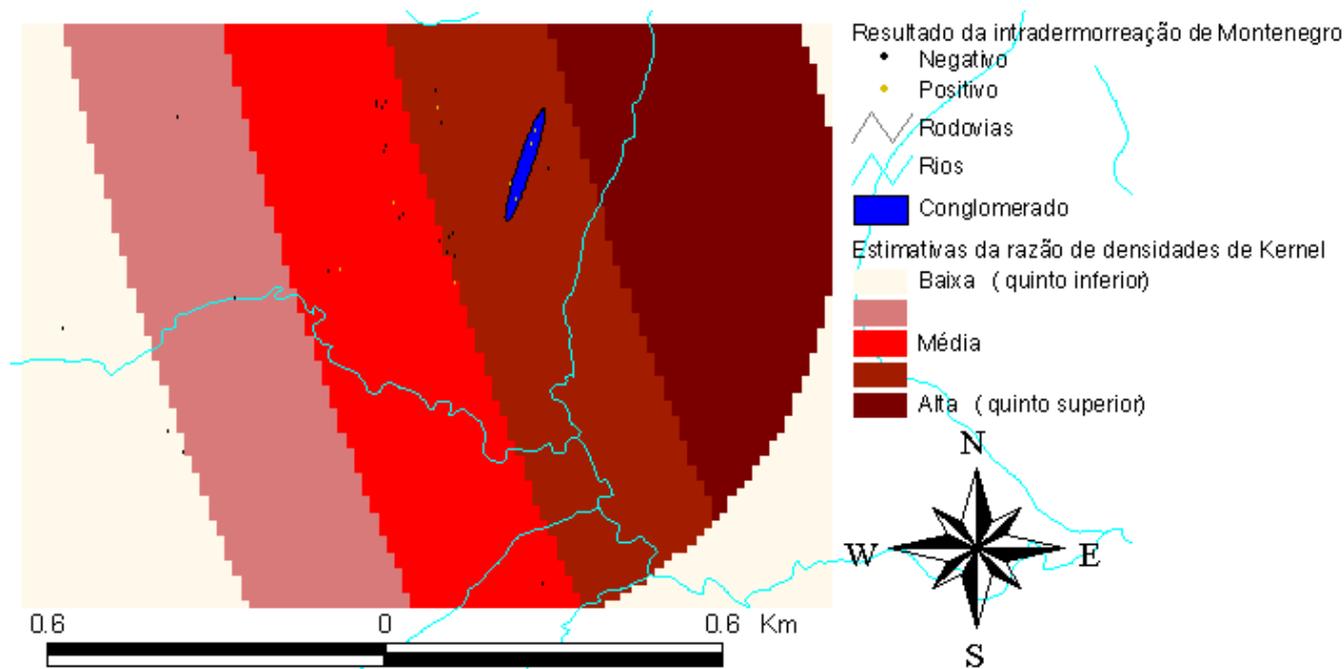


Figura 25. Mapa de distribuição de conglomerados na área II. Comunidade de Boa Vista Fercal, Sobradinho, Brasília – Distrito Federal. 2008 - 2009.

A avaliação da área III sob os mesmos parâmetros permitiu a localização de cinco conglomerados. De esquerda à direita foi evidente o primeiro conglomerado na comunidade de Fercal I e na seqüência os conglomerados das comunidades de Alto Bela Vista, Engenho velho, Fercal I (mais ao norte) e Bananal I (Figura 26). Na comunidade de Fercal I, o conglomerado corresponde à zona chamada de Morro do Piauí, por conta de ter um grande contingente de migrantes desse estado. No Alto Bela Vista, o conglomerado localizou-se no meio da comunidade, ao longo da via principal desta. No Engenho Velho novamente observou-se o conglomerado na área denominada de Prainha, na beira oeste do córrego. Chamou a atenção o aparecimento de um conglomerado na comunidade de Bananal I, que tinha mostrado pequena freqüência de positividade na primeira avaliação, mas que na segunda mostrou-se como uma das comunidades da área com maior número de casos de infecção. Na comunidade de Fercal II, a maior intensidade e a localização do conglomerado foram observados mais próximos da mata, do lado leste da comunidade.

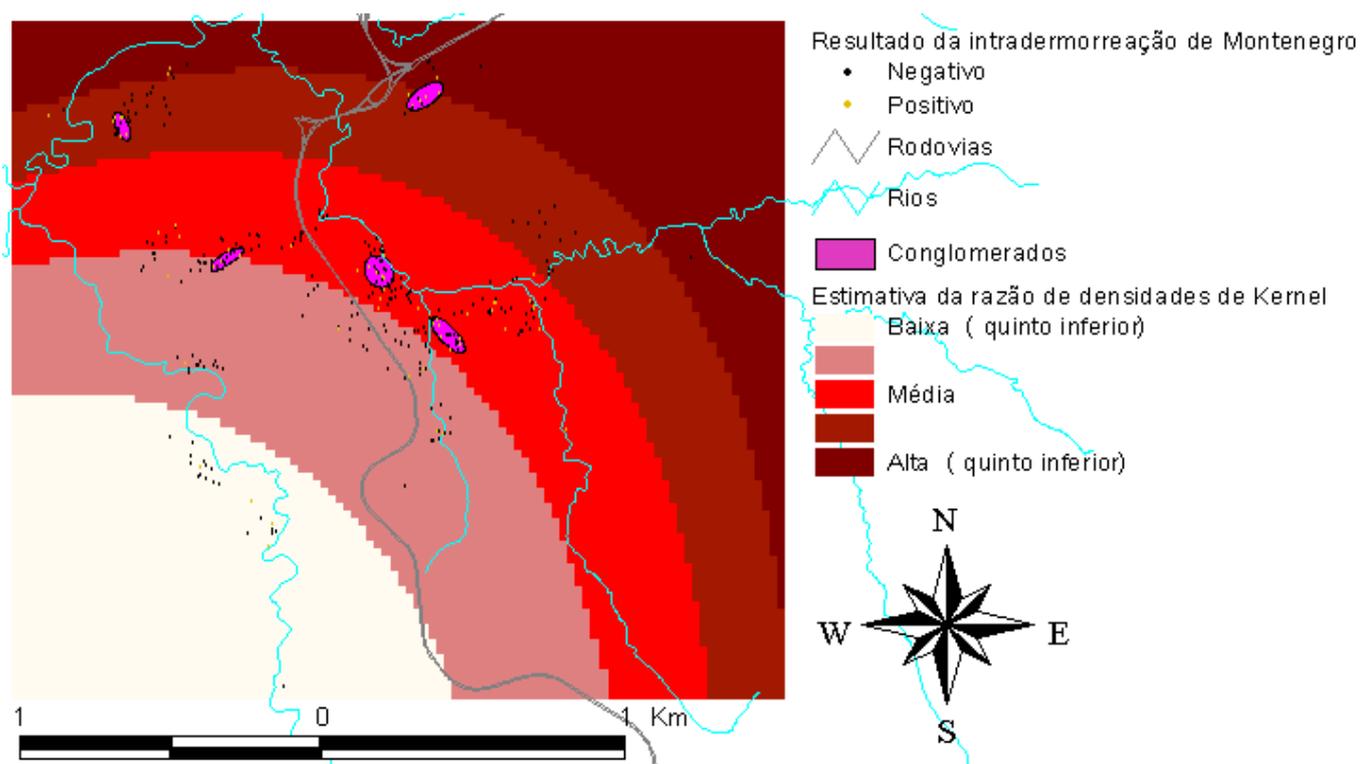


Figura 26. Mapa de distribuição de conglomerados na área III. Região de Engenho Velho, Fercal I e II. Fercal, Sobradinho, Brasília – Distrito Federal. 2008 - 2009.

Por último, na comunidade IV (Queima Lençol), foi localizado um conglomerado, na entrada da comunidade. Perto deste conglomerado houve um caso de LV numa criança no ano 2008 (Figura 27).

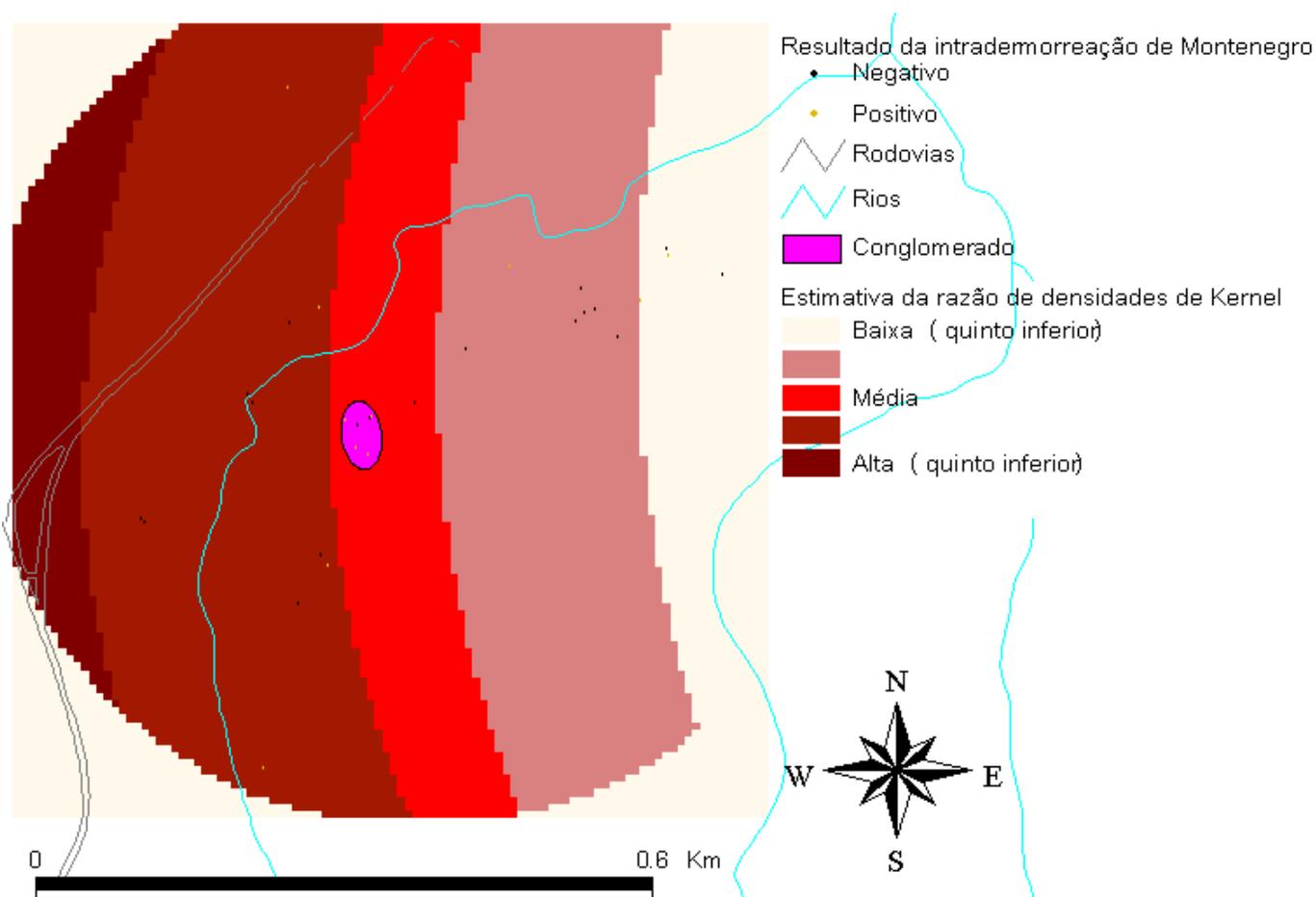


Figura 27. Mapa de distribuição de conglomerados na área IV. Comunidad de Queima Lençol. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009.

6. DISCUSSÃO

O estudo demonstrou a existência de infecção assintomática por *Leishmania* spp. na área da Fercal. A magnitude da infecção assintomática na área estudada foi superior ao esperado (33,28%) e em algumas comunidades alcançou prevalência semelhante à observada em regiões endêmicas onde a transmissão tem acontecido por décadas (Tabela 1). A prevalência de infecção observada foi similar à relatada por Cunha e colaboradores, que avaliaram crianças e adultos assintomáticos numa área de introdução recente da LV no estado da Bahia⁽¹¹⁹⁾. Na cidade de Natal, cinco anos após o relato do primeiro caso humano, Jerônimo e colaboradores descreveram 38% de positividade entre coabitantes e vizinhos de pessoas com infecção sintomática⁽¹⁶⁴⁾. Em Teresina, em pesquisa realizada com o mesmo método utilizado no presente estudo, Gouvêa e colaboradores descreveram uma prevalência de infecção de 36,7%⁽¹⁷⁰⁾. A área estudada por estes últimos pesquisadores é uma área de endemicidade antiga, com descrição de casos de LVH por um período de mais de 25 anos. No presente estudo foi evidente que a transmissão continuou de forma intensa a julgar pelos resultados de incidência demonstrados.

6.1 A intradermorreação de Montenegro para a avaliação da infecção

A intradermorreação de Montenegro foi escolhida como teste para definir o estado de infecção por apresentar algumas vantagens:

- Ser barata, de fácil aplicação e leitura.
- Não precisar de aparelhos ou laboratórios para sua aplicação, leitura e interpretação.
- Possibilitar a aferição da infecção por espécies de *Leishmania* causadoras de LV em áreas sem presença de LTA.

6.1.1 O significado da IDRM negativa: Alguns estudos sugerem que as pessoas com teste de IDRM negativo não são apenas os que não tiveram contato com o parasito, mas também os que poderiam ter tido contato sem desenvolver a reatividade para o teste e seriam os mais suscetíveis de adoecer de LVH⁽⁸⁴⁾. Neste sentido, Jerônimo e colaboradores descrevem que a positividade à IDRM representa uma característica genética de resistência imunológica à infecção sintomática^(164, 171). Por conta disto, a característica teria agregação familiar e não seria necessário avaliar todos os componentes de uma família, tal e como se procedeu no presente estudo. No entanto, pacientes que se recuperam de quadros sintomáticos de LVH apresentam posteriormente IDRM positiva⁽⁶²⁾.

6.1.2 O significado da IDRM positiva: A área da Fercal apresenta casos esporádicos de leishmaniose cutânea e não existem relatos da forma mucosa da doença. Isto leva a acreditar que a positividade desta prova refletiria a magnitude de pessoas infectadas por *L. chagasi*. Em populações onde a LTA é de ocorrência recente e esporádica, a prevalência de infecção assintomática segundo IDRM tem se mostrado entre zero e 3,8%⁽¹⁷²⁾; enquanto em áreas de alta endemicidade como Corte de Pedra - BA, este número ascende a 47%⁽¹⁷³⁾. Este fato, associado à raridade dos casos de LTA na região, reforça a idéia de que na Fercal a IDRM aferiu a infecção causada por *L. chagasi*. Estudos prévios reforçam a idéia que a IDRM é um teste sensível para a detecção da LV assintomática⁽¹²⁹⁾.

Já em relação ao poder sensibilizante dos antígenos de *Leishmania* que reduziria a especificidade da IDRM em aplicações subsequentes, existem dados na literatura que apontam para o poder sensibilizante de vários tipos de antígenos, quando aplicados com seis semanas de diferença⁽¹⁷⁴⁾. Especificamente para a IDRM, a capacidade sensibilizante do teste tem sido descrita quando as aplicações ocorrem com intervalos curtos entre si (um a três meses)^(175, 176). Quando o intervalo de tempo é maior, esta sensibilização diminui, sendo fato demonstrado para a IDRM⁽¹⁷⁷⁾ como para outras provas de hipersensibilidade tardia⁽¹⁷⁸⁾. O

estudo de Weigle e colaboradores⁽¹⁷⁷⁾ refere que um intervalo adequado para evitar este efeito seria de um ano, tal como utilizado no presente trabalho. De Luca e colaboradores, estudando o poder sensibilizante da IDRМ com vistas ao desenvolvimento de testes marcadores de proteção por meio de vacinas para *Leishmania*, descrevem que o poder sensibilizante diminui a medida que passa o tempo entre as aplicações⁽¹⁷⁹⁾. A proporção de indivíduos positivos na segunda avaliação (23,2%) é bastante menor à referida no estudo de José e colaboradores onde a positividade variou entre 40-60%⁽¹⁷⁶⁾. Algumas pessoas alérgicas aos conservantes – especialmente o timerosal - podem dar reações positivas com este teste, e até desenvolver reações de hipersensibilidade imediata⁽¹⁸⁰⁾. O reagente usado na IDRМ neste estudo não continha timerosal como conservante, mas continha fenol entre os componentes. O intervalo de um ano entre aplicações da IDRМ usado neste estudo oferece segurança de que se obteve uma mínima taxa de sensibilização, como mostrada no estudo mais recente de Satti e colaboradores⁽¹⁸¹⁾. O questionário aplicado e o exame clínico praticado em todos os participantes garantiram também a possibilidade da positividade tratar-se de um episódio recente ou passado de LTA, onde a reatividade a este teste pode durar pelo menos 20 anos⁽¹⁸²⁾.

6.2 Avaliação sorológica para diagnóstico da infecção assintomática por *L. chagasi*

O teste imunocromatográfico rápido foi escolhido por ter apresentado positividade em estudos prévios sobre LV assintomática no Brasil^(120, 135, 138). Estudos em Minas Gerais mostraram que este teste rápido tem pouca positividade em inquéritos populacionais, com positivities de 5,6% em Sabará⁽¹²⁰⁾ e 4,3% em Porteirinha⁽¹³⁵⁾. Em Montes Claros - MG, um estudo mostrou - como neste estudo - positividade zero para o teste *Kalazar detect* entre doadores de sangue com testes de imunofluorescência positiva para *Leishmania*⁽¹⁸³⁾. Já na região de Araçatuba (SP) um estudo mostrou positividade de 18,4% numa das áreas estudadas, e de 4,8% na

outra⁽¹³⁸⁾. Em regiões com LV causada por *L. donovani* a positividade tem se mostrado maior, com taxas de 13,7% em Bihar (Índia)⁽¹²⁵⁾ e de 63,3% entre pessoas com reatividade ao teste de ELISA com antígeno cru em várias localidades da Turquia⁽¹²⁸⁾. Os estudos feitos em Araçatuba (SP) com resultados que demonstraram a maior positividade no Brasil e o de Porteirinha (MG) foram realizados com a mesma fita utilizada neste estudo; os demais estudos foram realizados com outras fitas o que dificulta as comparações. Isto poderia explicar a diferença nos valores, talvez por se tratar de um teste menos sensível para detectar os casos assintomáticos de LVH. O teste imunocromatográfico que avalia a presença de anticorpos contra o antígeno recombinante k39 é desenhado para detectar LV ativa⁽¹⁸⁴⁾. Braz e colaboradores sugerem que a avaliação do antígeno k39 deve ser utilizada por sua alta sensibilidade e especificidade, o que ajuda na diferenciação dos casos ativos dos autolimitados⁽¹⁸⁵⁾. Desde as descrições iniciais, o antígeno k39 é utilizado para detectar pessoas com LV neste estágio⁽¹¹⁷⁾ e nunca foi validado rigorosamente para o diagnóstico da infecção assintomática pelas dificuldades óbvias relacionadas à definição do padrão-ouro para realizar o estudo de validação. Quando se utiliza em assintomáticos, ainda poderia ter valor preditivo no desenvolvimento da doença ativa. Um estudo na Índia mostrou este fato, descrevendo que 69% das pessoas com o teste positivo evoluíram para a LV em um ano⁽¹⁸⁶⁾. Em pessoas tratadas por LV, este teste pode ficar positivo ainda depois de 10 anos do tratamento, mas a tendência é sua negatização em um tempo relativamente curto⁽¹⁸⁷⁾. Os indivíduos que autolimitam a infecção espontaneamente, apresentam resultados negativos ao teste em pouco tempo⁽¹¹⁷⁾.

A exploração do comportamento da população assintomática em relação à produção de anticorpos contra *Leishmania* teria sido útil, independentemente da possibilidade de classificar os indivíduos como infectados ou não-infectados, no entanto, este ensaio não foi possível de ser realizado por dificuldades operacionais que acabaram causando a perda da

soroteca antes de realizar os testes com a técnica de ELISA. Estudos prévios referem que a sorologia tem baixa sensibilidade na avaliação de casos assintomáticos de LVH, pela pobre resposta imune humoral destes indivíduos^(122, 188). O estudo feito em Belo Horizonte (MG) que utilizou várias técnicas sorológicas mostrou que o rendimento dos diferentes testes sorológicos (ELISA com antígeno cru, ELISA com antígenos k39 e IFI) estão aquém do esperado. Este mesmo estudo afirma que por conta disto, a sorologia não seria eficiente como única abordagem para a detecção de casos assintomáticos em área endêmica⁽¹³⁷⁾.

6.3 Testes moleculares para o diagnóstico da infecção assintomática por *L. chagasi*.

O teste molecular aplicado neste estudo obteve resultados muito menores aos descritos previamente. Este tipo de teste apresentou positividade de até 27,4% no Sudão⁽⁸⁴⁾. No Brasil, a positividade para este teste tem variado entre 7,2% em Teresina (Piauí)⁽¹¹⁸⁾ e 18,1% em Belo Horizonte (Minas Gerais)⁽¹³⁷⁾. Estes dois estudos foram realizados em familiares de pessoas com LV, o que poderia explicar a maior positividade encontrada quando comparada à de indivíduos assintomáticos selecionados de forma aleatória. A pequena carga parasitária em pacientes assintomáticos pode explicar nosso baixo rendimento na prova molecular⁽¹⁸⁹⁾. O baixo rendimento também poderia ser explicado pela menor sensibilidade da prova aplicada no Laboratório de Leishmaniose do NMT/UnB, que tem se mostrado boa para avaliar presença de DNA de *Leishmania* em tecido (pele e medula óssea)^(190, 191), mas cujo rendimento em sangue é inferior ao de outros laboratórios⁽¹¹¹⁾. Outro fator a ser considerado é a possível periodicidade da circulação de DNA no sangue periférico com infecção assintomática que podem apresentar DNA parasitário circulante por períodos curtos⁽¹⁹²⁾. O parasito pode ser encontrado no sangue periférico num momento pontual, o que despertaria à

imunidade adaptativa tanto humoral quanto celular, levando a seu desaparecimento da corrente sanguínea⁽¹³⁷⁾.

6.4 Relação entre os resultados da IDRM e dos testes sorológicos e moleculares

Outros estudos reforçam a idéia que a IDRM é um teste sensível para a detecção da LV assintomática⁽¹²⁹⁾. O fato que nem todos os pacientes com o teste positivo apresentem DNA parasitário no sangue não deve, necessariamente, ser interpretado como uma falta de especificidade, mas como demonstração da circulação rápida do parasito na corrente sanguínea. Testes moleculares positivos apresentam-se também em indivíduos assintomáticos com sorologias negativas^(118, 121), e acredita-se que isto comprovaria a periodicidade e rápida passagem do parasito no sangue, que não dá tempo para montar uma resposta de anticorpos suficiente para ser detectada pelos métodos sorológicos. Este mesmo fenômeno já tinha sido observado em cães^(193, 194), mas humanos assintomáticos - com exceção dos doadores de sangue - provavelmente não tenham importância como reservatórios de LV^(121, 131). O estudo feito por Moreno e colaboradores numa área próxima à cidade de Belo Horizonte (MG) mostrou também esta discordância entre testes sorológicos⁽¹⁹⁵⁾. Usando como padrão ouro testes moleculares (PCR e hibridização de sondas), este estudo conclui que os testes sorológicos não são confiáveis como ferramenta diagnóstica da forma assintomática da LVH.

6.5 Prevalências e incidência de infecção assintomática por *Leishmania* spp na área da Fercal

A prevalência (33,3%; IC95% 29,9% – 36,8%), e incidência (23,2%; IC95% 19,3% – 27,6%) estimadas para a área da Fercal baseou-se nos resultados da IDRM. A prevalência do período foi de 46,4% (IC95% 42,8% – 50,1%). A prevalência encontrada está de acordo com estudos prévios em áreas de introdução recente da doença na Bahia e no Rio Grande do Norte, que

encontraram positivities de 32% e 38%, respectivamente^(119, 164). Já quando foram avaliadas áreas de transmissão mais antiga no Brasil, os resultados foram muito variados, com intervalo de 2,9 - 71% no Brasil^(118, 137). Fora do Brasil, estudos que utilizaram IDRM têm mostrado variações importantes, com valores desde 11% em doadores de sangue na Espanha⁽¹²¹⁾ até 77,1% em trabalhadores assintomáticos de um parque nacional no Sudão⁽⁸⁴⁾. Acredita-se que a prevalência identificada no presente estudo seja decorrente do fato de que sendo uma área de introdução recente da infecção por espécies de *Leishmania*, exista susceptibilidade generalizada da população residente, o que acaba causando a infecção de uma grande quantidade de crianças e adolescentes. Esta afirmação não pode ser estendida aos adultos da área, já que não foram contemplados na população de estudo e pelo fato de que a maioria destes é migrante de outras regiões, alguns dos que já poderiam ter tido contato prévio com parasitos do gênero *Leishmania*. No entanto, se o padrão corresponder a uma epidemia, seria esperado que os adultos tivessem um comportamento semelhante. A evolução das crianças identificadas como infectadas por meio da IDRM deve ser favorável a julgar pelos resultados dos trabalhos de Jerônimo e colaboradores que descreveram que esta possibilidade é pequena depois do segundo ano da infecção⁽¹¹⁵⁾.

Já a incidência anual demonstrada neste trabalho é diferente da encontrada em estudos prévios. No Brasil, estudos que utilizaram a IDRM relataram incidência variando 6,9% em Cametá (PA)⁽¹³³⁾ até 10,8% em Raposa (MA)⁽¹³⁴⁾. Usando o teste de ELISA rk39 numa área de LVH causada por *Leishmania donovani* em Mimensingh (Bangladesh), Bern e colaboradores encontraram incidência de 6,31% de LV assintomática⁽¹⁹⁶⁾. Um fato interessante é que a incidência foi maior nas comunidades que apresentavam menor prevalência na avaliação na linha de base. Isto leva a pensar que o comportamento da infecção assintomática seria afetado pelo esgotamento dos suscetíveis nas comunidades de maior prevalência e a maior disponibilidade destes naquelas comunidades de menor prevalência

durante a avaliação inicial, sugerindo a heterogeneidade no comportamento da disseminação da infecção na população. Embora possa acreditar-se que houve um efeito de intervenção no sentido do reporte às autoridades para o retiro de cães suspeitos de LV e pela informação recebida pela população no momento da entrevista que podem ter mudado o comportamento das famílias, os dados de incidência mostraram que a taxa de infecção continuou a aumentar na área no período avaliado. Esta característica seria própria de uma área de introdução recente da LV. Uma característica que explicaria a ausência de casos de LVH sintomática no período estudado é a pequena quantidade de crianças e adolescentes desnutridos observados, cujo aumento poderia ter significado o aparecimento da doença em algum dos indivíduos. Apesar da limitação descrita acima da ausência de aferição e registro dos dados antropométricos das crianças, durante as avaliações clínicas, não foi identificado nenhum caso de desnutrição moderada ou grave que precisasse de intervenção terapêutica. A desnutrição como fator de risco para o desenvolvimento de LVH já foi observada em estudos realizados na região nordeste^(79, 91).

A incidência encontrada neste estudo sugere que nas áreas de introdução recente de LV, a infecção assintomática por *Leishmania* acomete uma grande proporção da população de crianças e adolescentes. Posteriormente, serão discutidas as associações encontradas com alguns fatores de risco, mas foi percebido que alguns fatores descritos em outros estudos não seriam relevantes na situação atual da Fercal. Assim, em dois anos, praticamente a metade da amostra estudada apresentou-se infectada a julgar pela prevalência periódica de 46,4%. Considerando os coeficientes de incidência e a prevalência obtidos se a infecção tivesse um crescimento vegetativo sem outros condicionantes, em aproximadamente 5 anos, mais de $\frac{3}{4}$ da população seria acometida pela infecção. Reconhecendo-se que aqueles com o teste de IDRM negativo seriam os mais suscetíveis a adoecer, este teste poderia ajudar na vigilância ativa dos casos depois da consolidação da endemicidade da região. Os serviços poderiam

ocupar-se dos indivíduos negativos à IDRM, especialmente como tarefa do programa de saúde da família, que tem como prioridade a prevenção.

A observação em outras áreas tem mostrado que a relação de assintomáticos para doentes de LV é bastante variada. No Brasil, existem estudos na Bahia mostrando esta relação em 18:1⁽⁹⁴⁾; no Ceará (CE) este valor vai para 11:1⁽¹¹⁴⁾ e no Maranhão de 119:1. O estudo feito no Maranhão descreveu este fato em crianças menores de seis anos, descrevendo que esta taxa é de 28:1 se usado o teste de ELISA⁽¹¹⁶⁾. Neste estudo não tivemos nenhum doente -após acompanhamento de 48 meses- entre os indivíduos avaliados para poder avaliar esta relação. Este tempo seria adequado para avaliar o aparecimento de algum doente, pois o tempo de incubação da LVH é descrito entre 10 dias e 24 meses⁽⁶²⁾.

6.6 Fatores associados à positividade da intradermorreação de Montenegro

A análise dos dados da avaliação na linha de base mostrou catorze características potencialmente associadas à prevalência de infecção por *Leishmania* mensurada pela IDRM. Depois da análise por regressão logística multivariada só duas características permaneceram associadas ao desfecho. Estas foram ter mais de sete anos de idade (OR=3,04; IC 95% 1,86 – 4,99) e a presença de gambás nas redondezas das casas dos indivíduos avaliados (OR=1,46; IC 95% 1,02 – 2,10)

Estudos prévios descreveram a associação da idade com a presença de infecção assintomática por LV. Estes estudos mostram associações de magnitude variável, mas a maioria concorda em que o risco começa a aumentar antes dos 10 anos. Na Itália, Biglino e colaboradores diagnosticaram a infecção por meio de teste de *Western blot* e descreveram que a idade que se associa com a condição de infecção era de 65 anos ou mais⁽¹¹²⁾. O primeiro estudo de prevalência de IDRM na Espanha mostrou que a idade é importante na infecção segundo este marcador imunológico, mas neste estudo não foi avaliada uma idade de corte para o

desfecho⁽¹⁹⁷⁾. Nosso estudo coincide com o de Badaró e colaboradores, que descreveram em Jacobina (Bahia) que a positividade para a IDRM aumenta a partir dos sete anos⁽⁹¹⁾. No município de Raposa (MA), Caldas e colaboradores indicaram como ponto de corte associado a esta condição é a idade maior de 23 meses, mostrando que crianças em áreas endêmicas são infectadas precocemente⁽¹³⁴⁾. Em outro município do Maranhão, esta idade correspondeu a cinco anos, onde 56,7% das crianças e adolescentes foram positivos à IDRM, frente a 35% abaixo dessa idade ($p=0$). Em Teresina (PI), Werneck e colaboradores relataram associação da IDRM com a idade, mas esta associação não se repetiu quando o desfecho foi a soropositividade. Embora nesse estudo não foi descrita a idade na qual aconteceria o maior incremento na positividade, é possível observar que depois dos dezenove anos a positividade quase duplica em relação aos menores dessa idade⁽¹⁹⁸⁾. Já em área de introdução recente da doença na Bahia, Cunha e colaboradores não acharam a associação de infecção com idade, e com nenhuma das características avaliadas⁽¹¹⁹⁾. O estudo realizado em área de baixa endemicidade no município de Araçatuba (SP) por Barão e colaboradores também não mostrou associação deste desfecho com idade⁽¹³⁸⁾. Na região Centro-Oeste, o estudo desenvolvido em Três Lagoas (MS) não descreve associação da positividade aos testes sorológicos (ELISA e RIFI) com a idade entre familiares assintomáticos de pessoas com antecedente de LV⁽¹³⁶⁾.

Sobre a presença de gambás, este foi o animal mais descrito nas moradias avaliadas. A questão para a investigação desta exposição foi aberta, e destinava-se a saber a presença de animais silvestres no peridomicílio, sendo registrados só os mamíferos. A presença de gambás foi relatada em maior proporção inclusive quando comparada à dos animais de criação de mais freqüentes nas residências, excetuando-se o cão. O papel deste marsupial como reservatório da LV já tem sido comprovado^(199, 200) e alguns autores o consideram como potencial reservatório em áreas urbanas⁽²⁰⁰⁾. Embora as primeiras referências sobre o seu

potencial como reservatório datam de inícios da década de 80, no Brasil seu papel foi pouco estudado, sendo mais freqüentes os relatos na Colômbia e na Venezuela⁽²⁰¹⁻²⁰³⁾. O papel do gambá não estaria limitado à transmissão de *L. chagasi*, senão também à transmissão de espécies associadas a leishmaniose tegumentar^(204, 205). Na Colômbia o gambá foi um dos dois animais -junto com um roedor silvestre- que se mostrou como a melhor fonte alimentar de *Lu. evansi* (vetor da LV no norte colombiano)⁽²⁰³⁾. No Rio de Janeiro, este marsupial também tem sido associado à LVC⁽⁶⁵⁾. Como relatado no estudo realizado em Belo Horizonte⁽²⁰⁰⁾, o gambá poderia representar um importante reservatório da LV, a ser tomado em consideração dentro das medidas de controle da doença. Um estudo feito também em Belo Horizonte com os casos de LVH de 1999 - 2000 mostrou que a presença de animais no peridomicílio está relacionada com a ocorrência da doença, cogitando a possibilidade de marsupiais - além de cães, cavalos, gado e porcos - estarem implicados nesta observação. Este estudo também relatou a associação destes casos com a interação gênero masculino/idade maior que 15 anos e com as características do peridomicílio⁽²⁰⁶⁾.

A maioria das características que se qualificaram para a inclusão na análise multivariada é coerente com as discussões que têm orientado as explicações descritas para a LV como doença, mas não necessariamente como infecção assintomática. O gênero masculino é explicado pela maior tendência dos homens de se expor em ambientes silvestres com fins laborais ou de lazer. Já em crianças explica-se pela tendência a cobrir só a parte inferior e deixar mais da metade do corpo descoberto por causa do calor das zonas tropicais. É descrito que mulheres são mais resistentes do que homens para o desenvolvimento das leishmaniases, fato influenciado por fatores hormonais que dirigem a resposta imune para um padrão de resposta do tipo Th1⁽²⁰⁷⁾. Este padrão é associado à resistência às infecções por parasitos do gênero *Leishmania*. Estas observações são mais bem descritas quando se trata de LV doença, especialmente a nível experimental, mas para infecções assintomáticas precisam-se de

maiores estudos que confirmem esta observação. Considerou-se que o tempo de residência acompanha à característica de idade, mas no teste de colinearidade não se mostraram associadas e na análise final não mostrou associação com o desfecho de infecção. Como já avaliado em outros estudos, a borrifação da casa não se mostrou como fator de proteção^(119, 170). No entanto, a borrifação demonstrou algum efeito em estudo realizado em Teresina⁽²⁰⁸⁾. Nas características dos cães, observou-se que ter maior número de cães em casa e fazê-los pernoitar fora da residência poderiam estar associados ao desfecho de infecção humana. Quando se trata de LV doença, descreve-se que os casos de LVH acontecem em áreas com maiores taxas de prevalência de LVC⁽²⁰⁹⁾. Esperar-se-ia que quanto maior o número de cães no domicílio, maior seria a atração exercida sobre os vetores, que no seu caminho encontrariam o homem como fonte alimentar. O hábito de fazê-los pernoitar fora da casa também aumentaria a possibilidade de atração de mais flebótomos, já que as fêmeas apresentam costumes de picada vespertino - noturnas. Nas estatísticas finais da primeira avaliação, nenhuma característica dos cães mostrou-se associada ao desfecho. A lógica do ciclo de vida da *Leishmania* leva a supor que estas duas características incidiriam na maior probabilidade do morador estar infectado, mas estas associações não tem sido consistentes e outros estudos não conseguiram demonstrá-las^(136, 170). O cão representa um risco para LVH no sentido coletivo, e não no sentido individual. Por este motivo as pesquisas que tomam o cão como fator de risco individual têm observado resultados diferentes sobre seu papel na LVH como infecção ou doença. Alterar essa abordagem individual para uma visão mais coletiva requer um investimento dos serviços de saúde para uma melhor compreensão do perfil dos proprietários de cães⁽²¹⁰⁾. Sobre a presença de outros animais na casa ou no peridomicílio, para grande parte desses houve inicialmente associação que não permaneceu após a análise multivariada. Um estudo numa área rural da Colômbia descreveu que gado e porcos são mais atrativos para flebótomos do que galinhas⁽²¹¹⁾. O estudo feito em Teresina

(PI) por Gouvêa e colaboradores avaliou também a presença de animais em casa e não mostrou associações significativas⁽¹⁷⁰⁾.

A presença de aves domésticas diferentes das galináceas (como gansos, periquitos, louros, canários, etc) nas casas é um fato que foi encontrado nas análises e que é pouco descrito. Um estudo na área urbana de Sabará - MG mostrou que a criação de aves encontra-se associada à maior taxa de infecção por *Leishmania*. Este estudo usou técnicas moleculares (PCR mais hibridização com sondas do complexo *Leishmania donovani*) como padrão-ouro, pelo que foi mais específico na identificação dos indivíduos afetados por espécies viscerotrópicas de *Leishmania*⁽¹⁸⁹⁾. É conhecido que a criação de animais nos quintais, especialmente de galinhas, leva a uma abundância de fontes de alimentação que aumenta a densidade de flebótomos numa área⁽³⁸⁾. Na Bahia, observou-se que as casas de pacientes com LVH (doença), tem 4,21 mais probabilidades de ter galinhas nos quintais comparadas com as casas sem casos de calazar⁽²¹²⁾. Esta mesma associação - sobre a presença de galinhas nos quintais - tem sido observada como risco para infecção canina por *Leishmania*⁽²¹³⁾. As galinhas não só atraem flebótomos às moradias, mas também reservatórios da LV como raposas e gambás, pelo que representam um risco para infecção por estes parasitos⁽⁵⁾. Pela alta temperatura corporal média (41°C), as galinhas não representam potencial como reservatório destes parasitos⁽²¹⁴⁾, mas outras aves como o ganso e o faisão poderiam representar um risco adicional na epidemiologia da LV⁽²¹⁵⁾. Neste estudo não foi realizada a separação quando avaliamos a presença de “aves não galináceas”, mas a maioria tratou-se de canários, periquitos ou gansos. Em um domicílio foi encontrado até um tucano de criação doméstica, que entrou na mesma classificação. Os estudos sobre fontes alimentares referem-se em geral a “aves” como uma das preferências dos flebótomos, mas sem precisar a espécie^(211, 216-218). Consideram-se necessários estudos adicionais para avaliar se a presença de aves diferentes às

galináceas tem o mesmo poder de atração para flebótomos ou ainda seu potencial como reservatórios.

Na segunda avaliação, três das nove características incluídas na análise multivariada já tinham sido identificadas na análise do inquérito inicial. Desta vez a ausência de borrifação apareceu como fator de risco a ser avaliado, mas no final não mostrou associação, reforçando a idéia de que esta medida não controla a infecção por *Leishmania*, tanto tegumentar quanto visceral^(119, 170, 173). A presença de cães que foram em algum momento deslocados para áreas com presença de LV mostra que este fato coloca em risco às pessoas de deslocar ou até introduzir a doença numa área previamente indene. Esta hipótese foi levantada em observações prévias sobre a introdução da LV em áreas livres da doença, onde se acreditava que cães doentes eram deslocados a áreas previamente livres da doença com condições propícias para a implantação do ciclo de transmissão (basicamente presença de vetores e humanos ou cães suscetíveis). Análises adicionais não mostraram associação na presença de cães deslocados para estas áreas com presença de cães soropositivos, cães mortos, cães entregues para a vigilância ambiental da SESDF ou casos de LV na família. Isto sugere que estes cães deslocados voltam e se convertem em hospedeiros assintomáticos, dispersando a doença nas moradias e arredores. Como referido na parte introdutória, a mobilidade de vetores e reservatórios silvestres causada pelo desmatamento e pela penetração do homem na mata seria um dos principais fatores que levam à proximidade entre o parasito e o suscetíveis domésticos. A necessidade de moradia e local de trabalho levam o homem a se expor a doenças que não existiam antes desta proximidade ser tão evidente.

Das características avaliadas na análise multivariada, a que mostrou maior força de associação com o desfecho foi novamente a presença de gambás no peridomicílio. As outras características associadas foram morar em casa com presença de cães suspeitos de LV (OR=2,28 ; IC95=1,02 – 5,10 ; p=0,04) e criação de aves domésticas diferentes às galináceas

(OR=2,94 ; IC95=1,08 – 8,02 ; p=0,04). Ou seja, das quatro características que se associaram com a IDRM positiva na primeira avaliação, duas reapareceram associadas na segunda, mostrando a consistência da associação. Acredita-se que estas duas características devam ser especialmente estudadas para avaliar o seu potencial em relação ao desenvolvimento de medidas de controle. Pelo fato da Fercal ser uma área com menos de 5 anos de antiguidade do primeiro caso de LVH, deveríamos considerá-la como uma área epidêmica para LV, o que explicaria algumas discordâncias com estudos feitos em áreas endêmicas.

6.7 Limitações do estudo

6.7.1 Abrangência da população estudada: Duas comunidades da área da Fercal não foram contempladas na amostragem, pois não contavam com agente comunitário de saúde e ficavam relativamente longe das estradas principais da região. Uma foi a comunidade do Catingueiro, de características basicamente rurais e a outra a comunidade do Lobeiral, de características semelhantes a um assentamento recente. Considerando que comunidades vizinhas de condições similares foram contempladas na amostragem, provavelmente a sua exclusão não causou grande impacto na aferição do desfecho principal tendo em vista que o tamanho amostral foi suficiente para se obter uma estimativa precisa da prevalência de infecção. A comunidade de Catingueiro está localizada entre as comunidades de Boa Vista e Ribeirão - Pedreira, que mostraram prevalências de infecção de 53,8 e 50%, respectivamente. A comunidade de Lobeiral está localizada entre Fercal II e Queima Lençol, que mostraram prevalência de 37 e 38%, respectivamente.

6.7.2 Acompanhamento da coorte de suscetíveis: Pela escassez de pessoal e materiais para a pesquisa, o estudo ficou limitado a duas avaliações de caráter transversal, uma na linha de base e a segunda um ano após a primeira. Esta abordagem dificultou a análise dos possíveis fatores de risco que se apresentaram durante o período transcorrido entre as duas avaliações.

Não foi feito o registro exato do tempo de aparecimento (ou mudança) de alguma característica importante para o desfecho de interesse. Por exemplo, se um indivíduo suscetível, que durante a avaliação na linha de base não estava exposto a um cão no domicílio, adquiriu um cão no período entre as duas avaliações, na segunda avaliação foi considerado como exposto a esse risco independentemente do tempo da exposição, já que não foi possível o registro preciso dessa temporalidade. Nesse sentido, a idéia de utilizar variáveis que incorporavam a informação de tempo de exposição até a ocorrência do desfecho não foi possível. Da mesma maneira, o tempo de ocorrência exata da infecção entre a primeira e a segunda avaliação não foi identificado com precisão, pois não foi possível fazer avaliação pelo menos trimestralmente da coorte de suscetíveis.

6.7.3 Perdas durante a inclusão na linha de base: Inicialmente, 30 responsáveis rejeitaram a participação no estudo, correspondendo a 4,1% das residências sorteadas para a inclusão. Estas perdas foram mais freqüentes nas primeiras duas comunidades incluídas no estudo, cinco perdas na primeira e quatro na segunda. No restante das comunidades, as perdas foram mais homogêneas. Este efeito provavelmente foi devido ao desconhecimento e temor por parte dos pais ou responsáveis perante um teste e uma abordagem que nunca tinha sido oferecida nessas comunidades.

6.7.4 Perdas durante o acompanhamento da coorte de suscetíveis: Na segunda avaliação foi possível avaliar 100% dos indivíduos que tiveram IDRM positiva na linha de base. Na coorte de suscetíveis houve 15,2% de perdas. Considerando que os indivíduos suscetíveis perdidos durante o acompanhamento tinham características semelhantes às dos indivíduos que permaneceram acompanhados na coorte e tendo em vista que o tamanho amostral permitiu manter a precisão das estimativas, acredita-se que esta proporção de perdas não tenha afetado as conclusões relativas à magnitude da incidência da infecção.

6.7.5 Características individuais relevantes não aferidas no estudo: Outra limitação importante foi a de não avaliar alguns fatores relevantes tais como: o estado nutricional, uma estimativa precisa da renda familiar, nível de instrução dos pais ou responsáveis; distância entre os canis, galinheiros e outros criadouros de animais e a residência casas, e a distância entre a residência e a áreas de mata ou fontes de água (estas foram avaliadas empiricamente mediante a extensão de uma fita que media 100 metros, assim que unicamente tínhamos uma referência se este valor era maior ou menor de 100 metros).

6.7.6 Ausência de profissionais veterinário e biólogo na equipe de campo: os dados relativos aos cães sintomáticos foram baseados no relato dos donos pela ausência de profissionais qualificados para examinar detalhadamente os animais. A ausência de resultados impressos dos exames realizados nos cães impediu ter uma prova material da positividade destes animais referidos no estudo. O dado da infecção canina foi registrado com base na informação do dono do cão que referiu que os técnicos da Vigilância Ambiental solicitaram a entrega dos cães sororeagentes.

Embora houve estas limitações e provavelmente algumas outras não identificadas, conseguiu-se obter resultados significativos e associações que se repetiram nos dois momentos do estudo com a metodologia utilizada.

6.8 Análise espacial

Esta abordagem permitiu uma análise adicional às típicas abordagens epidemiológicas no sentido de mostrar áreas de maior frequência de casos de infecção. Os dados obtidos na linha de base mostraram que a maior frequência de infecções estava localizada nas periferias das comunidades, com exceção da área I. Por serem áreas de ocupação recente e com presença de mata residual nas periferias, provavelmente esta seria a causa deste achado. Nestas áreas seria

mais provável o contato do homem com flebotomíneos e o contato destes insetos com reservatórios potenciais da LV.

Já na área I (comunidades de Córrego do Ouro e Ribeirão-Pedreira) a área com maior intensidade de infecção foi localizada no centro da comunidade de Ribeirão-Pedreira. Estas comunidades têm características rurais, um pouco diferentes das características das outras três áreas. Nestas comunidades seria difícil classificar espaços como “periferias”, já que as residências localizam-se no meio da mata. A concentração no centro do polígono de referência deve-se à maior concentração de moradias nesse espaço. Nesta, a frequência de infecção encontrada beirou o 50%, o que reforça a hipótese de que a localização central da maior intensidade deve-se a que neste centro existem mais residências.

O mapa gerado com os dados referenciais de intensidade da área III (comunidades do PFS de Engenho Velho, Fercal I e II), mostrou que as outras áreas têm intensidades maiores a esta referência. Isto é válido totalmente na área II (Boa Vista) e na área IV (Queima Lençol), enquanto na área I a maior parte do polígono também apresenta esta intensidade. Revisando a frequência de infecção por comunidades confirma-se que fora da área III as outras áreas apresentam maior frequência de infecção, o que explica este resultado gráfico. A maior presença de mata no caso das áreas I e II e a ocupação mais recente da área IV explicariam este achado.

Na análise de conglomerados para a primeira avaliação, observou-se que houve dois na área I, justamente um na comunidade de Ribeirão-Pedreira (oeste) e outro no Córrego do Ouro (leste). Na área II o conglomerado ficou localizado ao redor do centro da comunidade de Boa Vista, onde também existe maior número de residências. Embora a área de maior frequência de infecções encontra-se ao oeste do polígono, este conglomerado mostra a importância desta abordagem, pois demonstra uma aglomeração de casos em uma área não descrita pela suavização estatística. Na área III houve sete conglomerados. Considerou-se como mais

importantes os localizados na comunidade de Fercal I (noroeste) e de Engenho Velho (centro do mapa), pois estas comunidades apresentaram dois conglomerados cada. Na Fercal I observou-se que a frequência de casos aumentou, de uma média aproximada de 30% no PFS de Engenho Velho para cerca de 40% na primeira. No Engenho Velho estes conglomerados localizaram-se ao oeste do córrego que atravessa a comunidade, que são áreas economicamente menos favorecidas, com casas em condições mais precárias e proximidade da mata. Já houve um caso de LVH nesta área, o que faz acreditar que esta área deva ser acompanhada para realizar um diagnóstico precoce se aparecer algum outro caso. Na parte mais próxima do córrego várias residências foram derrubadas pela Defesa Civil em janeiro de 2008 por encontrar-se em área de risco de alagamento. O risco para estas famílias deslocadas (algumas para fora da área da Fercal) é que tenham levado com elas cães infectados para áreas indenes, o que poderia produzir focos adicionais de LV no Distrito Federal. Na área IV foi encontrado um conglomerado, localizado ao longo da principal rua da comunidade, e no início das ruas perpendiculares a esta. A área IV é de ocupação mais recente, observando-se que até na entrada da comunidade ainda tem algumas chácaras. Acredita-se que neste caso a localização deste conglomerado deva-se à soma destes dois fatores: proximidade com a mata residual e a ocupação recente da área.

Com relação aos dados espaciais obtidos na segunda avaliação, observou-se inicialmente que todas as áreas mostram maior frequência de infecções nas regiões periféricas, quase todas localizadas ao leste de cada área avaliada, com exceção da área IV. Na área I o fenômeno poderia ser explicado pelo fato de que todos os casos positivos ocorreram na comunidade de Córrego do Ouro (leste), sem casos positivos em Ribeirão-Pedreira. Provavelmente nas áreas II e III deva-se à presença de áreas de mata e chácaras nessas periferias. Já na área IV observou-se que a região com maior intensidade fica próxima à BR 205 leste. Este dado contradiz o achado nas comunidades em todos os mapas prévios, e a explicação para este

comportamento precisa de maior investigação. Talvez a presença de um conglomerado oculto pudesse explicar este achado.

Quando se retomou a área III como referência, todas as outras comunidades mostraram maior intensidade do fenômeno da infecção. Isto com exceção da comunidade de Ribeirão-Pedreira (oeste da área I) pelos motivos já referidos.

A avaliação de conglomerados teve de ser realizada com menor número de pontos positivos, pois a amostra diminuiu e não foi possível repetir esta abordagem com o número utilizado para a primeira avaliação. Nesta abordagem não foram detectados conglomerados na área I. Acredita-se que o pequeno número de casos avaliados e menor número de casos positivos na área impediu a detecção de conglomerados. Na área II houve um conglomerado na parte leste afastada aproximadamente uns 500 metros do centro da comunidade. Este conglomerado provavelmente esteja associado à presença de mata e chácaras nessa área. Na área III houve maior concentração de conglomerados, com cinco no total. Na comunidade de Bananal I, provavelmente deva-se à menor prevalência encontrada na primeira avaliação, o que deixou maior número de suscetíveis a serem infectados posteriormente, como efetivamente aconteceu. Na área IV, houve um conglomerado perto da rodovia e da escola local. Como comentado previamente, houve um caso de LVH dentro deste conglomerado.

Fora do achado da ausência de conglomerados na área I e o novo conglomerado no Bananal I, não foram encontradas tendências de aumento da infecção ou seu avanço para áreas previamente indenes. Com os dados obtidos, acredita-se que a infecção por *Leishmania* vem avançando nas comunidades da Fercal com um padrão lento como notado desde a primeira avaliação.

A análise espacial é uma ferramenta que pode auxiliar na avaliação do risco e identificação de “focos” de doenças e ao mesmo tempo, permitindo que as medidas de proteção e prevenção sejam reforçadas tendo definidas as áreas prioritárias (“áreas quentes”). As duas abordagens

(suavização estatística e detecção de conglomerados) utilizadas mostraram que são complementares e que deveriam ser utilizadas em conjunto.

6.9 Perspectivas

Com este estudo chama-se a atenção sobre a importância e distribuição da infecção assintomática por *Leishmania* numa área de introdução recente da LV. Novos estudos que superem as limitações enfrentadas nesta pesquisa poderão confirmar a consistência dos achados. A inclusão de variáveis relevantes que não foram registradas por razões operacionais, certamente contribuirá para o desenvolvimento das pesquisas futuras. O significado real da positividade ao teste de Montenegro é um assunto a ser avaliado também. Um acompanhamento às coortes formadas poderia tentar dirimir se a negatividade realmente indica um estado de ausência de infecção ou de maior predisposição ao desenvolvimento da doença. O mesmo acontece com a interpretação da positividade a esta prova, para avaliar se fora do estado de infecção assintomática esta representa um “certificado de resistência” ao desenvolvimento da LV. Acredita-se que outro passo neste sentido seria também avaliar familiares e vizinhos dos casos apresentados pelo teste de IDRM, para confirmar se as positivities seguem uma tendência familiar, o que reforçaria a hipótese da agregação dos casos de LV determinada por características genéticas.

Sobre os fatores associados ao risco de infecção, a continuidade do acompanhamento das coortes poderá gerar informação mais precisa para definir esta situação. A validação dos fatores em novas coortes constituídas a partir das exposições relevantes enfrentará o desafio de abordar um problema cuja variabilidade é explicada com certa dificuldade pelos modelos aqui apresentados. O acompanhamento permanente da qualidade dos exames laboratoriais, principalmente os de natureza molecular, é essencial para demonstrar a consistência da sensibilidade analítica das provas para evitar a subdetecção de infecção. O Laboratório de Leishmanioses do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília realizará a

comprovação da sensibilidade analítica da PCR utilizada e identificará a espécie de *Leishmania* nos produtos amplificados a partir das amostras dos pacientes deste estudo, utilizando a técnica de PCR-RFLP.

Apesar da identificação de características associadas ao risco de infecção, foi evidente no desenvolvimento da regressão logística que o conjunto de variáveis selecionadas não consegue prever uma proporção considerável da variabilidade observada no desfecho a julgar pelas estatísticas de Cox & Snell e Nagelkerke. Isto significa que outras variáveis não aferidas no presente estudo determinam majoritariamente o fenômeno da infecção. Variáveis não avaliadas neste estudo como estado nutricional, distância de criadouros de animais, tipo de vegetação predominante nas residências, tipo de solo, etc. poderiam ser avaliadas em estudos posteriores á procura de fatores diferentes aos já estudados.

O uso da análise espacial poderá ser utilizado no acompanhamento dos sujeitos desta pesquisa e aplicado também em outras proximamente, com a finalidade de ter uma abordagem mais completa da zona a ser estudada e avaliar a implantação de medidas preventivas e seu impacto na prevenção da leishmaniose visceral humana.

Sugere-se a necessidade de medidas de controle de animais silvestres e domésticos associados à positividade ao teste de intradermoreação de Montenegro, assim como o monitoramento a longo prazo dos indivíduos suscetíveis.

7. CONCLUSÕES

1. A prevalência, incidência e prevalência periódica de infecção assintomática por *Leishmania* entre crianças e adolescentes da área da Fercal, localizada na região administrativa de Sobradinho, em Brasília (Distrito Federal) aferidas por meio da intradermorreação de Montenegro foram de 33,3%, 23,3% e 46,4% respectivamente.
2. O teste imunocromatográfico usado (*Kalazar detect™ rapid test*) não se mostrou útil para a identificação de indivíduos com infecção assintomática na área estudada.
3. A PCR mostrou baixa positividade para a detecção de indivíduos com infecção assintomática por *Leishmania* e esta foi variável e inconsistente.
4. Na avaliação da linha de base foram encontradas associações entre o gênero masculino, ter mais de sete anos, criação de aves domésticas diferentes às galináceas e a presença de gambás no peridomicílio com a positividade ao teste de intradermorreação de Montenegro.
5. Na avaliação da coorte de suscetíveis - um ano após a primeira avaliação - as associações encontradas foram morar em casas com presença de cães suspeitos de leishmaniose visceral canina, criação de aves domésticas diferentes às galináceas e a presença de gambás no peridomicílio
6. A incidência de infecção assintomática detectada pelo teste de intradermorreação de Montenegro na coorte de suscetíveis foi maior nas comunidades com menor prevalência inicial.
7. A análise espacial mostrou que as comunidades mais afastadas da área urbana de Sobradinho mostram maiores frequências de infecção por *Leishmania*, provavelmente associada com a maior cobertura vegetal de mata, assim como maior abundância de vetores e reservatórios.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Desjeux P. Leishmaniasis. Public health aspects and control. Clin Dermat. 1996 Sep-Oct;14(5):417-23.
2. Gontijo CMF, Melo MN. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. Rev Bras Epidem. 2004;7(3):338-49.
3. Lainson R, Shaw JJ. Evolution, classification and geographical distribution. In: Peters W, Killick-Kendrick R, editors. The Leishmaniasis in Biology and Medicine. Londres: Academic Press; 1987. p. 1-120
4. Kuhls K, Mauricio IL, Pratlong F, Presber W, Schonian G. Analysis of ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences of the *Leishmania donovani* complex. Microbes Infect. 2005 Aug-Sep;7(11-12):1224-34.
5. Dantas-Torres F. Final comments on an interesting taxonomic dilemma: *Leishmania infantum* versus *Leishmania infantum chagasi*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2006 Dec;101(8):929-30.
6. Shaw JJ. Further thoughts on the use of the name *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* for the aetiological agent of American visceral leishmaniasis. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2006 Aug;101(5):577-9.
7. 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.
8. Yamey G, Torreele E. The world's most neglected diseases. BMJ. 2002 Jul 27;325(7357):176-7.
9. World Health Organization. Report of the Second WHO Meeting on Emerging Infectious Diseases. Document WHO/CDS/BVI/95.2. Geneva, Switzerland: World Health Organization. January 1995.

10. The Sabin Vaccine Institute. About NTDS. Washignton, DC. 2010 [Acesado em 19 de fevereiro de 2010]; Disponível em: <http://www.globalnetwork.org/about-ntds>.
11. World Health Organization. Department of Control of Neglected Tropical Diseases. Neglected tropical diseases, hidden successes, emerging opportunities. Genova. Suíça: World Health Organization; 2009.
12. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Leishmaniose visceral. Guia de Vigilância Epidemiológica. 6a ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2005.
13. Monteiro S, Lacerda M, Arias J. Controle da leishmaniose visceral no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1994;27(1):67-72.
14. Migone LE. Un caso de Kalazar en Assunción (Paraguay). *Bull Soc Pathol Exot*. 1913;6:118-20.
15. Penna HA. Leishmaniose Visceral no Brasil. *Brasil Médico*. 1934;48:949-50.
16. Marques da Cunha A, Chagas E. Leishmaniose visceral. Estudos sobre o parasito. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1937;32(3):329.
17. Chagas E, Cunha AMd, Castro GMdO, Ferreira LC, Romana C. Leishmaniose visceral americana (nova entidade mórbida do homem na América do Sul): relatório dos trabalhos realizados pela comissão encarregada do estudo da Leishmaniose Visceral Americana em 1936. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1937;32(3):321-89.
18. Chagas E, Cunha AM, Ferreira LC, Deane L, Deane G, Guimarães FN, et al. Leishmaniose visceral americana. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1938;33(1):89-229.
19. Deane LM. Leishmaniose visceral no Brasil, estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará. Rio de Janeiro: Serviço Nacional de Educação Sanitária; 1956.

20. Walters LL, Modi GB, Chaplin GL, Tesh RB. Ultrastructural development of *Leishmania chagasi* in its vector, *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Am J Trop Med Hyg.* 1989 Sep;41(3):295-317.
21. Sacks D, Kamhawi S. Molecular aspects of parasite-vector and vector-host interactions in leishmaniasis. *Annu Rev Microbiol.* 2001;55:453-83.
22. Pimenta PF, Modi GB, Pereira ST, Shahabuddin M, Sacks DL. A novel role for the peritrophic matrix in protecting *Leishmania* from the hydrolytic activities of the sand fly midgut. *Parasitology.* 1997 Oct;115 (Pt 4):359-69.
23. Lainson R, Shaw JJ. Epidemiology and ecology of leishmaniasis in Latin-America. *Nature.* 1978 Jun 22;273(5664):595-600.
24. Handman E, Hocking RE, Mitchell GF, Spithill TW. Isolation and characterization of infective and non-infective clones of *Leishmania tropica*. *Mol Biochem Parasitol.* 1983 Feb;7(2):111-26.
25. Katakura K, Kobayashi A. Acid phosphatase activity of virulent and avirulent clones of *Leishmania donovani* promastigotes. *Infect Immun.* 1988 Nov;56(11):2856-60.
26. Turin M. *Leishmania*. USA. Boston, USA. 2008 [Acesado em 11 de maio de 2010]; Disponível em: <http://www.biologycorner.com/bio1/protista.html>.
27. Da Cunha AM. Infecções experimentais na leishmaniose visceral americana. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1938;33(4):581-98.
28. Adler S. Notas sobre *Leishmania chagasi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1940;35(1):173-5.
29. Da Cunha AM. A aglutinacao e o diagnostico diferencial dos leishmanias. *Brasil Médico.* [(Abstract)]. 1938;52:849-55.(Resumo).
30. Senekjie HA. American visceral leishmaniasis. *J Parasit.* 1944;30(5):303-8.
31. Cupolillo E, Grimaldi G, Jr., Momen H. A general classification of New World *Leishmania* using numerical zymotaxonomy. *Am J Trop Med Hyg.* 1994 Mar;50(3):296-311.

32. Mauricio IL, Stothard JR, Miles MA. The strange case of *Leishmania chagasi*. *Parasit today*. 2000 May;16(5):188-9.
33. Lukes J, Mauricio IL, Schonian G, Dujardin JC, Soteriadou K, Dedet JP, et al. Evolutionary and geographical history of the *Leishmania donovani* complex with a revision of current taxonomy. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007 May 29;104(22):9375-80.
34. Barral A, Pedral-Sampaio D, Grimaldi Junior G, Momen H, McMahon-Pratt D, Ribeiro de Jesus A, et al. Leishmaniasis in Bahia, Brazil: evidence that *Leishmania amazonensis* produces a wide spectrum of clinical disease. *Am J Trop Med Hyg*. 1991 May;44(5):536-46.
35. Oliveira Neto MP, Grimaldi G, Jr., Momen H, Pacheco RS, Marzochi MC, McMahon Pratt D. Active cutaneous leishmaniasis in Brazil, induced by *Leishmania donovani chagasi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1986 Jul-Sep;81(3):303-9.
36. Ponce C, Ponce E, Morrison A, Cruz A, Kreutzer R, McMahon-Pratt D, et al. *Leishmania donovani chagasi*: new clinical variant of cutaneous leishmaniasis in Honduras. *Lancet*. 1991 Jan 12;337(8733):67-70.
37. BenSaid M, Guerbouj S, Saghrouni F, Fathallah-Mili A, Guizani I. Occurrence of *Leishmania infantum* cutaneous leishmaniasis in central Tunisia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2006 Jun;100(6):521-6.
38. Arias JR, Monteiro PS, Zicker F. The reemergence of visceral leishmaniasis in Brazil. *Emerg Infect Dis*. 1996 Apr-Jun;2(2):145-6.
39. dos Santos SO, Arias J, Ribeiro AA, de Paiva Hoffmann M, de Freitas RA, Malacco MA. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American visceral leishmaniasis. *Med Vet Entomol*. 1998 Jul;12(3):315-7.

40. Travi BL, Velez ID, Brutus L, Segura I, Jaramillo C, Montoya J. *Lutzomyia evansi*, an alternate vector of *Leishmania chagasi* in a Colombian focus of visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1990 Sep-Oct;84(5):676-7.
41. Travi BL, Montoya J, Gallego J, Jaramillo C, Llano R, Velez ID. Bionomics of *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae) vector of visceral leishmaniasis in northern Columbia. *J Med Entomol.* 1996 May;33(3):278-85.
42. De Souza MA, Sabroza PC, Marzochi MC, Coutinho SG, De Souza WJ. Leishmaniose visceral no Rio de Janeiro. 1-Flebotomíneos da área de procedência de caso humano autóctone. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1981 Apr-Jun;76(2):161-8.
43. Lainson R, Dye C, Shaw JJ, Macdonald DW, Courtenay O, Souza AA, et al. Amazonian visceral leishmaniasis--distribution of the vector *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) in relation to the fox *Cerdocyon thous* (linn.) and the efficiency of this reservoir host as a source of infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1990 Jan-Mar;85(1):135-7.
44. Young DG, Arias JR. Flebótomos: vectores de leishmaniasis en Las Américas. Washington, D.C., USA: Pan American Health Organization 1992.
45. Missawa NA, Dias ES. Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the municipality of Varzea Grande: an area of transmission of visceral leishmaniasis in the state of Mato Grosso, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007 Dec;102(8):913-8.
46. Sherlock IA. Ecological interactions of visceral leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1996 Nov-Dec;91(6):671-83.
47. Ferreira G. Adult male of *Lutzomyia longipalpis*. USA. San Francisco, CA, USA: PLoS. Public Library of Science; 2009 [Acesado em 11 de maio de 2010]; Disponível em: <http://www.plosntds.org/article/slideshow.action;jsessionid=A54F62913F0FBC038611E2CB919D261A?imageURI=info%3Adoi%2F10.1371%2Fimage.pntd.v03.i01.g001&uri=info%3Adoi%2F10.1371%2Fimage.pntd.v03.i01>.

48. Schlein Y, Jacobson RL, Messer G. *Leishmania* infections damage the feeding mechanism of the sandfly vector and implement parasite transmission by bite. Proc Natl Acad Sci USA. 1992 Oct 15;89(20):9944-8.
49. Lainson R, Shaw JJ. The role of animals in the epidemiology of South American Leishmaniasis. In: Lumsden WHR, Evans DA, editors. Biology of the Kinetoplastida. New York: Academic Press; 1979. p. 1-116.
50. Theodos CM, Titus RG. Salivary gland material from the sand fly *Lutzomyia longipalpis* has an inhibitory effect on macrophage function in vitro. Parasite Immunol. 1993 Aug;15(8):481-7.
51. Marzochi MC, Marzochi KB. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil: emerging anthroponosis and possibilities for their control. Cad Saúde Pública. 1994;10 Suppl 2:359-75.
52. Baneth G, Koutinas AF, Solano-Gallego L, Bourdeau P, Ferrer L. Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. Trends Parasitol. 2008 Jul;24(7):324-30.
53. Gontijo CMF, Melo MN. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. Rev Bras Epidemiol. 2004;7(3):338-49.
54. Marzochi MCdA, Sabroza PC, Toledo LMd, Marzochi KBF, Tramontano NC, Rangel-Filho FB. Leishmaniose visceral na cidade do Rio de Janeiro - Brasil. Cad Saúde Pública. 1985;1(1):5-17.
55. Deane L. Leishmaniose visceral no Brasil, estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará. Rio de Janeiro: Serviço Nacional de Educação Sanitária; 1956.
56. Quinnell RJ, Courtenay O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. Parasitology. 2009 Dec;136(14):1915-34.

57. Travi BL, Tabares CJ, Cadena H, Ferro C, Osorio Y. Canine visceral leishmaniasis in Colombia: relationship between clinical and parasitologic status and infectivity for sand flies. *Am J Trop Med Hyg.* 2001 Mar-Apr;64(3-4):119-24.
58. 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.
59. Mancianti F, Gramiccia M, Gradoni L, Pieri S. Studies on canine leishmaniasis control. 1. Evolution of infection of different clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1988;82(4):566-7.
60. Baneth G, Shaw SE. Chemotherapy of canine leishmaniasis. *Vet Parasitol.* 2002 Jul 2;106(4):315-24.
61. Ikeda-Garcia FA, Lopes RS, Marques FJ, de Lima VM, Morinishi CK, Bonello FL, et al. Clinical and parasitological evaluation of dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi* submitted to treatment with meglumine antimoniate. *Vet Parasitol.* 2007 Feb 28;143(3-4):254-9.
62. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. 1a ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2006. p. 120.
63. Camargo-Neves VL, Katz G, Rodas LA, Poletto DW, Lage LC, Spinola RM, et al. Utilização de ferramentas de análise espacial na vigilância epidemiológica de leishmaniose visceral americana - Araçatuba, São Paulo, Brasil, 1998-1999. *Cad Saúde Pública.* 2001 Sep-Oct;17(5):1263-7.
64. Silva ES, Gontijo CM, Pacheco RS, Fiuza VO, Brazil RP. Visceral leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001 Apr;96(3):285-91.

65. Cabrera MA, Paula AA, Camacho LA, Marzochi MC, Xavier SC, da Silva AV, et al. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of risk factors. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2003 Mar-Apr;45(2):79-83.
66. 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.
67. Deane LM, Deane MP. Leishmaniose visceral urbana (no cão e no homem) em Sobral, Ceará. *Hospital*. 1955;47:75-87.
68. Martin-Sanchez J, Acedo C, Munoz-Perez M, Pesson B, Marchal O, Morillas-Marquez F. Infection by *Leishmania infantum* in cats: epidemiological study in Spain. *Vet Parasitol*. 2007 Apr 30;145(3-4):267-73.
69. da Silva AV, de Souza Candido CD, de Pita Pereira D, Brazil RP, Carreira JC. The first record of American visceral leishmaniasis in domestic cats from Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Trop*. 2008 Jan;105(1):92-4.
70. Sherlock IA, Miranda JC, Sadigursky M, Grimaldi Junior G. Natural infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia, Didelphidae) with *Leishmania donovani*, in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1984 Oct-Dec;79(4):511.
71. Silva ES, Pirmez C, Gontijo CM, Fernandes O, Brazil RP. Visceral leishmaniasis in the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in south-east Brazil. *Vet Rec*. 2000 Oct 7;147(15):421-2.
72. 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.

73. Courtenay O, Quinnell RJ, Garcez LM, Dye C. Low infectiousness of a wildlife host of *Leishmania infantum*: the crab-eating fox is not important for transmission. *Parasitology*. 2002 Nov;125(Pt 5):407-14.
74. Grimaldi G, Jr., Tesh RB. Leishmaniasis of the New World: current concepts and implications for future research. *Clin Microb Rev*. 1993 Jul;6(3):230-50.
75. Berman JD, Lee LS. Activity of oral drugs against *Leishmania tropica* in human macrophages in vitro. *Am J Trop Med Hyg*. 1983 Sep;32(5):947-51.
76. Green SJ, Crawford RM, Hockmeyer JT, Meltzer MS, Nacy CA. *Leishmania major* amastigotes initiate the L-arginine-dependent killing mechanism in IFN-gamma-stimulated macrophages by induction of tumor necrosis factor-alpha. *J Immunol*. 1990 Dec 15;145(12):4290-7.
77. Davis CE, Belosevic M, Meltzer MS, Nacy CA. Regulation of activated macrophage antimicrobial activities. Cooperation of lymphokines for induction of resistance to infection. *J Immunol*. 1988 Jul 15;141(2):627-35.
78. Green SJ, Meltzer MS, Hibbs JB, Jr., Nacy CA. Activated macrophages destroy intracellular *Leishmania major* amastigotes by an L-arginine-dependent killing mechanism. *J Immunol*. 1990 Jan 1;144(1):278-83.
79. Cerf BJ, Jones TC, Badaro R, Sampaio D, Teixeira R, Johnson WD, Jr. Malnutrition as a risk factor for severe visceral leishmaniasis. *J Infect Dis*. 1987 Dec;156(6):1030-3.
80. Alvar J, Canavate C, Gutierrez-Solar B, Jimenez M, Laguna F, Lopez-Velez R, et al. *Leishmania* and human immunodeficiency virus coinfection: the first 10 years. *Clin Microbiol Rev*. 1997 Apr;10(2):298-319.
81. Berman JD. Human leishmaniasis: clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. *Clin Infect Dis*. 1997 Apr;24(4):684-703.

82. Mock BA, Nacy CA. Hormonal modulation of sex differences in resistance to *Leishmania major* systemic infections. *Infect Immun*. 1988 Dec;56(12):3316-9.
83. Alexander J. Sex differences and cross-immunity in DBA/2 mice infected with *L. mexicana* and *L. major*. *Parasitology*. 1988 Apr;96 (Pt 2):297-302.
84. Ibrahim ME, Lambson B, Yousif AO, Deifalla NS, Alnaiem DA, Ismail A, et al. Kala-azar in a high transmission focus: an ethnic and geographic dimension. *Am J Trop Med Hyg*. 1999 Dec;61(6):941-4.
85. Wilson ME, Jeronimo SM, Pearson RD. Immunopathogenesis of infection with the visceralizing *Leishmania* species. *Microb Pathog*. 2005 Apr;38(4):147-60.
86. Mohamed HS, Ibrahim ME, Miller EN, Peacock CS, Khalil EA, Cordell HJ, et al. Genetic susceptibility to visceral leishmaniasis in the Sudan: linkage and association with IL4 and IFNGR1. *Genes Immun*. 2003 Jul;4(5):351-5.
87. Bucheton B, Abel L, El-Safi S, Kheir MM, Pavsek S, Lemainque A, et al. A major susceptibility locus on chromosome 22q12 plays a critical role in the control of kala-azar. *Am J Hum Genet*. 2003 Nov;73(5):1052-60.
88. Bucheton B, Abel L, Kheir MM, Mirgani A, El-Safi SH, Chevillard C, et al. Genetic control of visceral leishmaniasis in a Sudanese population: candidate gene testing indicates a linkage to the NRAMP1 region. *Genes Immun*. 2003 Mar;4(2):104-9.
89. Lipoldova M, Demant P. Genetic susceptibility to infectious disease: lessons from mouse models of leishmaniasis. *Nat Rev Genet*. 2006 Apr;7(4):294-305.
90. 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.

91. Badaro R, Jones TC, Lorenco R, Cerf BJ, Sampaio D, Carvalho EM, et al. A prospective study of visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. *J Infect Dis.* 1986 Oct;154(4):639-49.
92. Ho M, Koech DK, Iha DW, Bryceson AD. Immunosuppression in Kenyan visceral leishmaniasis. *Clin Exp Immunol.* 1983 Feb;51(2):207-14.
93. Gama ME, Costa JM, Gomes CM, Corbett CE. Subclinical form of the American visceral leishmaniasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004 Dec;99(8):889-93.
94. Badaro R, Jones TC, Carvalho EM, Sampaio D, Reed SG, Barral A, et al. New perspectives on a subclinical form of visceral leishmaniasis. *J Infect Dis.* 1986 Dec;154(6):1003-11.
95. Ministério. da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. 1a ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2006.
96. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Leishmaniose visceral grave: normas e condutas. 1a ed: Brasília - DF: Editora do Ministério da Saúde;; 2006. p. 60 p.
97. Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Boletim eletrônico epidemiológico. 2002. p. 11. Brasília-DF.
98. Lainson R. Ecological interactions in the transmission of the leishmaniasis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1988 Oct 31;321(1207):389-404.
99. Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Boletim epidemiológico. 1999. p. 48. Brasília (DF).
100. Franke CR, Ziller M, Staubach C, Latif M. Impact of the El Niño/Southern Oscillation on visceral leishmaniasis, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2002 Sep;8(9):914-7.

101. Manson-Bahr PEC, Southgate BA, Harvey AEC. Development of kala-azar in man after inoculation with a *Leishmania* from a Kenya sandfly. *BMJ*. 1963;I:1208-10.
102. Garcia AL, Parrado R, Rojas E, Delgado R, Dujardin JC, Reithinger R. Leishmaniasis in Bolivia: comprehensive review and current status. *Am J Trop Med Hyg*. 2009 May;80(5):704-11.
103. Salomon O, Sinagra A, Nevot M, Barberian G, Paulin P, Estevez J, et al. First visceral leishmaniasis focus in Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2008 Feb;103(1):109-11.
104. Cousiño B. Vigilancia y Control de la Leishmaniasis en el Paraguay. Informe Final de la Reunión de Expertos OPS/OMS sobre Leishmaniasis Visceral en las Américas. Río de Janeiro. In: PANAFTOSA, editor. 2006. p. 152.
105. Costa CH, Pereira HF, Araujo MV. [Visceral leishmaniasis epidemic in the State of Piauí, Brazil, 1980-1986]. *Rev Saúde Pública*. 1990 Oct;24(5):361-72.
106. Profeta da Luz ZM, Pimenta DN, Cabral AL, Fiuza VO, Rabello A. A urbanização das leishmanioses e a baixa resolutividade diagnóstica em municípios da Região Metropolitana de Belo Horizonte. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2001 May-Jun;34(3):249-54.
107. Grimaldi G, Jr., Tesh RB, McMahon-Pratt D. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the New World. *Am J Trop Med Hyg*. 1989 Dec;41(6):687-725.
108. de La Rosa R, Pineda JA, Delgado J, Macias J, Morillas F, Mira JA, et al. Incidence of and risk factors for symptomatic visceral leishmaniasis among human immunodeficiency virus type 1-infected patients from Spain in the era of highly active antiretroviral therapy. *J Clin Microbiol*. 2002 Mar;40(3):762-7.
109. Paredes R, Muñoz J, Diaz I, Domingo P, Gurgui M, Clotet B. Leishmaniasis in HIV infection. *J Postgrad Med*. 2003 Jan-Mar;49(1):39-49.

110. Cruz I, Morales MA, Nogueira I, Rodriguez A, Alvar J. *Leishmania* in discarded syringes from intravenous drug users. *Lancet*. 2002 Mar 30;359(9312):1124-5.
111. Carranza-Tamayo CO, de Assis TS, Neri AT, Cupolillo E, Rabello A, Romero GA. Prevalence of *Leishmania* infection in adult HIV/AIDS patients treated in a tertiary-level care center in Brasilia, Federal District, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2009 Jul;103(7):743-8.
112. Biglino A, Bolla C, Concialdi E, Trisciuglio A, Romano A, Ferroglio E. Asymptomatic *Leishmania infantum* infection in an area of northwestern Italy (Piedmont region) where such infections are traditionally nonendemic. *J Clin Microbiol*. 2009 Jan;48(1):131-6.
113. D'Oliveira Junior A, Costa SR, Barbosa AB, Orge MdG, Carvalho EM. Asymptomatic *Leishmania chagasi* infection in relatives and neighbors of patients with visceral leishmaniasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1997 Jan-Feb;92(1):15-20.
114. Evans TG, Teixeira MJ, McAuliffe IT, Vasconcelos I, Vasconcelos AW, Sousa Ade A, et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis in northeast Brazil. *J Infect Dis*. 1992 Nov;166(5):1124-32.
115. Jeronimo SM, Teixeira MJ, Sousa A, Thielking P, Pearson RD, Evans TG. Natural history of *Leishmania (Leishmania) chagasi* infection in Northeastern Brazil: long-term follow-up. *Clin Infect Dis*. 2000 Mar;30(3):608-9.
116. Caldas AJ, Silva DR, Pereira CC, Nunes PM, Silva BP, Silva AA, et al. Infecção por *Leishmania (Leishmania) chagasi* em crianças de uma área endêmica de leishmaniose visceral americana na Ilha de São Luis-MA, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2001 Sep-Oct;34(5):445-51.

117. Badaró R, Benson D, Eulalio MC, Freire M, Cunha S, Netto EM, et al. rK39: a cloned antigen of *Leishmania chagasi* that predicts active visceral leishmaniasis. *J Infect Dis.* 1996 Mar;173(3):758-61.
118. 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.
119. Cunha S, Freire M, Eulalio C, Critosvao J, Netto E, Johnson WD, Jr., et al. Visceral leishmaniasis in a new ecological niche near a major metropolitan area of Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1995 Mar-Apr;89(2):155-8.
120. Moreno EC, Melo MN, Lambertucci JR, Serufo JC, Andrade AS, Antunes CM, et al. Diagnosing human asymptomatic visceral leishmaniasis in an urban area of the State of Minas Gerais, using serological and molecular biology techniques. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2006 Sep-Oct;39(5):421-7.
121. Riera C, Fisa R, Udina M, Gallego M, Portus M. Detection of *Leishmania infantum* cryptic infection in asymptomatic blood donors living in an endemic area (Eivissa, Balearic Islands, Spain) by different diagnostic methods. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2004 Feb;98(2):102-10.
122. Marty P, Lelievre A, Quaranta JF, Rahal A, Gari-Toussaint M, Le Fichoux Y. Use of the leishmanin skin test and western blot analysis for epidemiological studies in visceral leishmaniasis areas: experience in a highly endemic focus in Alpes-Maritimes (France). *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1994 Nov-Dec;88(6):658-9.
123. Moral L, Rubio EM, Moya M. A leishmanin skin test survey in the human population of l'Alacanti region (Spain): implications for the epidemiology of *Leishmania infantum* infection in southern Europe. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2002 Mar-Apr;96(2):129-32.

124. Gramiccia M, Bettini S, Gradoni L, Ciarmoli P, Verrilli ML, Loddo S, et al. Leishmaniasis in Sardinia. 5. Leishmanin reaction in the human population of a focus of low endemicity of canine leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1990 May-Jun;84(3):371-4.
125. Gidwani K, Kumar R, Rai M, Sundar S. Longitudinal seroepidemiologic study of visceral leishmaniasis in hyperendemic regions of Bihar, India. *Am J Trop Med Hyg.* 2009 Mar;80(3):345-6.
126. Fakhar M, Motazedian MH, Hatam GR, Asgari Q, Kalantari M, Mohebbali M. Asymptomatic human carriers of *Leishmania infantum*: possible reservoirs for Mediterranean visceral leishmaniasis in southern Iran. *Ann Trop Med Parasitol.* 2008 Oct;102(7):577-83.
127. Alborzi A, Pourabbas B, Shahian F, Mardaneh J, Pouladfar GR, Ziyaeyan M. Detection of *Leishmania infantum* kinetoplast DNA in the whole blood of asymptomatic individuals by PCR-ELISA and comparison with other infection markers in endemic areas, southern Iran. *Am J Trop Med Hyg.* 2008 Dec;79(6):839-42.
128. Dogan N, Bor O, Dinleyici EC, Toz SO, Ozbel Y. Investigation of anti-Leishmania seroprevalence by different serologic assays in children inhabiting in the northwestern part of Turkey [resumo]. *Mikrobiyol Bul.* 2008 Jan;42(1):103-11.
129. Riera C, Fisa R, Lopez-Chejade P, Serra T, Girona E, Jimenez M, et al. Asymptomatic infection by *Leishmania infantum* in blood donors from the Balearic Islands (Spain). *Transfusion.* 2008 Jul;48(7):1383-9.
130. Adini I, Ephros M, Chen J, Jaffe CL. Asymptomatic visceral leishmaniasis, northern Israel. *Emerg Infect Dis.* 2003 Mar;9(3):397-8.
131. Scarlata F, Vitale F, Saporito L, Reale S, Vecchi VL, Giordano S, et al. Asymptomatic *Leishmania infantum/chagasi* infection in blood donors of western Sicily. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008 Apr;102(4):394-6.

132. Federico G, Damiano F, Caldarola G, Fantini C, Fiocchi V, Ortona L. A seroepidemiological survey on *Leishmania infantum* infection. Eur J Epidemiol. 1991 Jul;7(4):380-3.
133. Silveira FT, Lainson R, De Souza AA, Campos MB, Carneiro LA, Lima LV, et al. Further evidences on a new diagnostic approach for monitoring human *Leishmania (L.) infantum chagasi* infection in Amazonian Brazil. Parasitol Res. 2010 Jan;106(2):377-86.
134. Caldas AJ, Costa JM, Silva AA, Vinhas V, Barral A. Risk factors associated with asymptomatic infection by *Leishmania chagasi* in north-east Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2002 Jan-Feb;96(1):21-8.
135. Romero HD, Silva Lde A, Silva-Vergara ML, Rodrigues V, Costa RT, Guimaraes SF, et al. Comparative study of serologic tests for the diagnosis of asymptomatic visceral leishmaniasis in an endemic area. Am J Trop Med Hyg. 2009 Jul;81(1):27-33.
136. Oliveira AL, Paniago AM, Sanches MA, Dorval ME, Oshiro ET, Leal CR, et al. Asymptomatic infection in family contacts of patients with human visceral leishmaniasis in Três Lagoas, Mato Grosso do Sul State, Brazil. Cad Saúde Pública. 2008 Dec;24(12):2827-33.
137. de Gouvea Viana L, de Assis TS, Orsini M, da Silva AR, de Souza GF, Caligiorne R, et al. Combined diagnostic methods identify a remarkable proportion of asymptomatic *Leishmania (Leishmania) chagasi* carriers who present modulated cytokine profiles. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2008 Jun;102(6):548-55.
138. Barão SC, de Fonseca Camargo-Neves VL, Resende MR, da Silva LJ. Human asymptomatic infection in visceral leishmaniasis: a seroprevalence study in an urban area of low endemicity. Preliminary results. Am J Trop Med Hyg. 2007 Dec;77(6):1051-3.
139. Nascimento Mdo D, Souza EC, da Silva LM, Leal Pda C, Cantanhede Kde L, Bezerra GF, et al. Prevalência de infecção por *Leishmania chagasi* utilizando os métodos de ELISA

(rK39 e CRUDE) e intradermorreação de Montenegro em área endêmica do Maranhão, Brasil. Cad Saúde Pública. 2005 Nov-Dec;21(6):1801-7.

140. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema nacional de vigilância em saúde: relatório de situação: Goiás. 2da ed: Ministério da Saúde; 2006. p. 23 págs.

141. Britto AEGdS. O impacto da construção da usina hidroelétrica e Corumbá IV, Goiás, na saúde - Estudo observacional. Goiânia-GO: Dissertação [Mestrado em Ciências Ambientais]. Universidade Católica de Goiás; 2007.

142. Wikipedia. Mapa de localização da região administrativa de Sobradinho no Distrito Federal, Brasil. Brasil. 2007; [Acesado em 10 de fevereiro de 2010]. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Distrito_Federal_RA_Sobradinho.svg.

143. de Carvalho MSL, de Oliveira C, da Silva SMB, Oliveira E. Investigação entomológica em área de surto de leishmaniose visceral em Sobradinho, Distrito federal. Período: fevereiro a março de 2006. XLIII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 2007 Março de 2007; Campos do Jordão-SP.

144. de Carvalho M, de Oliveira C, Oliveira E, da Silva S, Yoshizawa M, Vilarinhos P, et al. Levantamento preliminar da fauna flebotômica do Distrito Federal. XX Reunião anual de pesquisa aplicada em doença de Chagas e VII de Leishmanioses; 2004 Outubro de 2004; Uberaba - MG.

145. Secretaria. de Estado de Saúde do Distrito Federal. Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde do Distrito Federal. Núcleo de Pesquisas em Entomologia e Animais Peçonhentos. Flebotômicos do Distrito Federal. Relatório. Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal; 2005. p. 3.

146. Vexenat JA. Temperatura, um fator limitante na atividade de *Lutzomyia whitmani*. Brasília. Dissertação [Mestrado em Ciências Biológicas]. Universidade de Brasília; 1991.

147. de Carvalho MSL, de Oliveira C, da Silva S, Oliveira E, editors. Investigação entomológica em área de surto de leishmaniose visceral em Sobradinho, Distrito Federal. Período: fevereiro a março de 2006. XLIII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 2007; Campos do Jorsão - SP.
148. Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal. Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde. Núcleo de Pesquisas em Entomologia e Animais Peçonhentos. Localidades de ocorrência de flebotomíneos vetores de leishmaniose tegumentar americana e leishmaniose visceral (LV) no Distrito Federal. Período: janeiro/2006 a maio/2007. Relatório. 2007. p. 2.
149. de Carvalho MSL, Bredt A, Meneghin E, de Oliveira E, editors. Flebotomíneos (Diptera:Psychodidae) em áreas de ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Distrito federal, 2006 a 2008. 45 Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 2009; Recife - PE.
150. Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal. Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde do Distrito Federal. Núcleo de Pesquisas em Entomologia e Animais Peçonhentos. Levantamento de flebotomíneos realizado no Distrito Federal para verificação da presença do *Lutzomyia longipalpis*, o vetor da leishmaniose visceral. Periodos: maio a julho/2008 e julho a novembro de 2008. Relatório. 2008. p. 2.
151. Secretaria. de Estado de Saúde do Distrito Federal. Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde do Distrito Federal. Núcleo de Pesquisas em Entomologia e Animais Peçonhentos. Vigilância do *Lutzomyia longipalpis* - Periodos: Janeiro a Junho/2009 e Julho a Dezembro/2009. Relatório. 2009. p. 2.
152. Marshall RJ. A Review of Methods for the Statistical Analysis of Spatial Patterns of Disease. J R Statist Soc. 1991;154(3):421-41.
153. Correia VR, Carvalho MS, Sabroza PC, Vasconcelos CH. Remote sensing as a tool to survey endemic diseases in Brazil. Cad Saúde Pública. 2004 Jul-Aug;20(4):891-904.

154. Werneck GL, Costa CH, Walker AM, David JR, Wand M, Maguire JH. The urban spread of visceral leishmaniasis: clues from spatial analysis. *Epidemiology*. 2002 May;13(3):364-7.
155. Werneck GL, Costa CH, Walker AM, David JR, Wand M, Maguire JH. Multilevel modelling of the incidence of visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. *Epidemiol Infect*. 2007 Feb;135(2):195-201.
156. Correia VR, Monteiro AM, Carvalho MS, Werneck GL. Uma aplicação do sensoriamento remoto para a investigação de endemias urbanas *Cad Saúde Pública*. 2007 May;23(5):1015-28.
157. Cerbino Neto J, Werneck GL, Costa CH. Factors associated with the incidence of urban visceral leishmaniasis: an ecological study in Teresina, Piauí State, Brazil. *Cad Saúde Pública*. 2009 Jul;25(7):1543-51.
158. Assuncao RM, Reis IA, Oliveira CD. Diffusion and prediction of Leishmaniasis in a large metropolitan area in Brazil with a Bayesian space-time model. *Stat Med*. 2001 Aug 15;20(15):2319-35.
159. Bailey T, Gatrell A. *Interactive spatial data analysis*. Essex: Longman Scientific & Technical; 1995.
160. Flauzino RF, Souza-Santos R, Barcellos C, Gracie R, Magalhaes Mde A, Oliveira RM. Spatial heterogeneity of dengue fever in local studies, City of Niterói, Southeastern Brazil. *Rev Saúde Pública*. 2009 Dez;43(6):1035-43.
161. Levine N, Associates. *Crime Stat III*. 3.2 ed. Houston, TX, USA.
162. Cook-Mozaffari P. Mortality and incidence data suitable for geographical analysis by “small” areas. In: Elliott P, editor. *Methodology of Enquiries into Disease Clustering*. Londres: London School of Hygiene and Tropical Medicine; 1988. p. 7-16.

163. Knox E. Detection of clusters. In: Elliott P, editor. *Methodology of Enquiries into Disease Clustering*. Londres: London School of Hygiene and Tropical Medicine; 1988. p. 17-22.
164. 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-Aug;88(4):386-8.
165. Disch J, Maciel FC, de Oliveira MC, Orsini M, Rabello A. Detection of circulating *Leishmania chagasi* DNA for the non-invasive diagnosis of human infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2003 Jul-Aug;97(4):391-5.
166. Reed SG, Badaro R, Masur H, Carvalho EM, Lorencó R, Lisboa A, et al. Selection of a skin test antigen for American visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg*. 1986 Jan;35(1):79-85.
167. Sokal JE. Editorial: Measurement of delayed skin-test responses. *N Engl J Med*. 1975 Sep 4;293(10):501-2.
168. Menard S. *Applied logistic regression analysis*. (Sage University Papers Series on Quantitative Applications in the Social Sciences, series no. 07-106) Thousand Oaks (CA): Sage; 2002.
169. Myers R. *Classical and modern regression with applications*. Boston (MA): Duxbury; 1990.
170. Gouvea MV, Werneck GL, Costa CH, de Amorim Carvalho FA. Factors associated to Montenegro skin test positivity in Teresina, Brazil. *Acta Trop*. 2007 Nov-Dec;104(2-3):99-107.
171. Jerônimo SM, Holst AK, Jamieson SE, Francis R, Martins DR, Bezerra FL, et al. Genes at human chromosome 5q31.1 regulate delayed-type hypersensitivity responses associated with *Leishmania chagasi* infection. *Genes Immun*. 2007 Oct;8(7):539-51.

172. Salomón OD, Sosa Estani S, Monzani AS, Studer C. Brote epidêmico de leishmaniasis cutânea em Puerto Esperanza, Misiones, 1998. *Medicina (B Aires)*. 2001;61(4):385-90.
173. Noronha EF. Avaliação do efeito do uso de mosquiteiros impregnados com inseticida sobre a transmissão de leishmaniose tegumentar americana em área de colonização antiga. Brasília. Tese [Doutorado em Medicina Tropical]. Universidade de Brasília; 2003.
174. Keystone EC, Demerieux P, Gladman D, Poplonski L, Piper S, Buchanan R. Enhanced delayed hypersensitivity skin test reactivity with serial testing in healthy volunteers. *Clin Exp Immunol*. 1980 Apr;40(1):202-5.
175. Borges VC, Ruiz MC, Gomes PM, Colombo AR, Silva Lde A, Romero HD, et al. Intradermorreação de Montenegro após sucessivas repetições do teste em Porteirinha, MG. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003 Mar-Apr;36(2):249-51.
176. José FF, Silva IMd, Araújo MI, Almeida RP, Bacellar O, Carvalho EM. Avaliação do poder sensibilizante da reação de Montenegro. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1991;34(6):537-42.
177. Weigle KA, Valderrama L, Arias AL, Santrich C, Saravia NG. Leishmanin skin test standardization and evaluation of safety, dose, storage, longevity of reaction and sensitization. *Am J Trop Med Hyg*. 1991 Mar;44(3):260-71.
178. Lesourd BM, Wang A, Moulias R. Serial delayed cutaneous hypersensitivity skin testing with multiple recall antigens in healthy volunteers: booster effect study. *Ann Allergy*. 1985 Nov;55(5):729-35.
179. De Luca PM, Mayrink W, Santiago MA, Nogueira R, Conceicao-Silva F, Melo G, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled study on the immunogenicity of the leishmanin skin test. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2003 Nov-Dec;97(6):709-12.
180. Fagundes A, Marzochi KB, Marzochi MC. Ocorrência de reação imediata generalizada à intradermorreação de Montenegro. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003 May-Jun;36(3):413-4.

181. Satti I, el Hassan A, Khalil el TA, Akuffo H. The effect of repeated leishmanin skin testing on the immune responses to *Leishmania* antigen in healthy volunteers. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2002 Sep-Oct;96(5):565-7.
182. Cuba CAC, Marsden PD, Barretto AC, Jones TC, Richards F. The effect of different concentrations of leishmanial antigen in skin testing to evaluate delayed hypersensitivity in american cutaneous leishmaniasis. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1985;18(4):231-6.
183. Urias EVR, Carvalho SFG, Oliveira CL, Carvalho MdLM, Teles LF, Rodrigues MC, et al. Prevalência de adultos infectados por *Leishmania leishmania chagasi* entre doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. . *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2009;31(5):348-54.
184. Singh S, Gilman-Sachs A, Chang KP, Reed SG. Diagnostic and prognostic value of K39 recombinant antigen in Indian leishmaniasis. *J Parasitol.* 1995 Dec;81(6):1000-3.
185. 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.
186. Singh S, Kumari V, Singh N. Predicting kala-azar disease manifestations in asymptomatic patients with latent *Leishmania donovani* infection by detection of antibody against recombinant K39 antigen. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2002 May;9(3):568-72.
187. De Almeida Silva L, Romero HD, Prata A, Costa RT, Nascimento E, Carvalho SF, et al. Immunologic tests in patients after clinical cure of visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg.* 2006 Oct;75(4):739-43.
188. Badaro R, Reed SG, Carvalho EM. Immunofluorescent antibody test in American visceral leishmaniasis: sensitivity and specificity of different morphological forms of two *Leishmania* species. *Am J Trop Med Hyg.* 1983 May;32(3):480-4.

189. 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-Dec;38(6):456-63.
190. Ampuero J, Rios AP, Carranza-Tamayo CO, Romero GA. Genus-specific kinetoplast-DNA PCR and parasite culture for the diagnosis of localised cutaneous leishmaniasis: applications for clinical trials under field conditions in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009 Nov;104(7):992-7.
191. Carranza-Tamayo C, Romero G, editors. Diagnóstico de leishmaniose visceral por meio da reação em cadeia de polimerase (PCR): experiência do Laboratório de Leishmanioses do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília. XXIII Reunião Anual de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas e XI Reunião de Pesquisa Aplicada em Leishmanioses; 2007; Uberaba: Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.
192. le Fichoux Y, Quaranta JF, Aufeuve JP, Lelievre A, Marty P, Suffia I, et al. Occurrence of *Leishmania infantum* parasitemia in asymptomatic blood donors living in an area of endemicity in southern France. J Clin Microbiol. 1999 Jun;37(6):1953-7.
193. Iniesta L, Fernandez-Barredo S, Bulle B, Gomez MT, Piarroux R, Gallego M, et al. Diagnostic techniques to detect cryptic leishmaniasis in dogs. Clin Diagn Lab Immunol. 2002 Sep;9(5):1137-41.
194. Berrahal F, Mary C, Roze M, Berenger A, Escoffier K, Lamouroux D, et al. Canine leishmaniasis: identification of asymptomatic carriers by polymerase chain reaction and immunoblotting. Am J Trop Med Hyg. 1996 Sep;55(3):273-7.
195. Moreno EC, Goncalves AV, Chaves AV, Melo MN, Lambertucci JR, Andrade AS, et al. Inaccuracy of enzyme-linked immunosorbent assay using soluble and recombinant antigens to detect asymptomatic infection by *Leishmania infantum*. PLoS Neglect Trop Dis. 2009;3(10):e536.

196. Bern C, Haque R, Chowdhury R, Ali M, Kurkjian KM, Vaz L, et al. The epidemiology of visceral leishmaniasis and asymptomatic leishmanial infection in a highly endemic Bangladeshi village. *Am J Trop Med Hyg.* 2007 May;76(5):909-14.
197. Acedo Sanchez C, Martin Sanchez J, Velez Bernal ID, Sanchis Marin MC, Louassini M, Maldonado JA, et al. Leishmaniasis eco-epidemiology in the Alpujarra region (Granada Province, southern Spain). *Int J Parasitol.* 1996 Mar;26(3):303-10.
198. Werneck GL, Rodrigues L, Santos MV, Araujo IB, Moura LS, Lima SS, et al. The burden of *Leishmania chagasi* infection during an urban outbreak of visceral leishmaniasis in Brazil. *Acta Trop.* 2002 Jul;83(1):13-8.
199. Hanson WL, Chapman WL, Jr., Hendricks LD. *Leishmania donovani* in the opossum (*Didelphis marsupialis*). *J Parasitol.* 1980 Aug;66(4):700-1.
200. Schallig HD, da Silva ES, van der Meide WF, Schoone GJ, Gontijo CM. *Didelphis marsupialis* (common opossum): a potential reservoir host for zoonotic leishmaniasis in the metropolitan region of Belo Horizonte (Minas Gerais, Brazil). *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2007 Fall;7(3):387-93.
201. 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-Apr;83(2):195.
202. Scorza JV, Rezzano S, Cesar Marquez J. *Didelphis marsupialis*: reservorio primario de *Leishmania* spp. en la ciudad de Trujillo, Venezuela. *Rev Cubana Med Trop.* 1984 May-Aug;36(2):194-200.
203. Adler GH, Becerra MT, Travi BL. Feeding success of *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae) experimentally exposed to small mammal hosts in an endemic focus of *Leishmania chagasi* in northern Colombia. *Biomédica.* 2003 Dec;23(4):396-400.

204. Yoshida EL, Correa FM, Pacheco RS, Momen H, Grimaldi Junior G. *Leishmania mexicana* in *Didelphis marsupialis aurita* in Sao Paulo State, Brazil. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1985 Jul-Aug;27(4):172.
205. Lainson R, Shaw JJ, Ready PD, Miles MA, Povoá M. Leishmaniasis in Brazil: XVI. Isolation and identification of *Leishmania* species from sandflies, wild mammals and man in north Para State, with particular reference to *L. braziliensis guyanensis* causative agent of "pian-bois". Trans R Soc Trop Med Hyg. 1981;75(4):530-6.
206. Oliveira CD, Diez-Roux A, Cesar CC, Proietti FA. A case-control study of microenvironmental risk factors for urban visceral leishmaniasis in a large city in Brazil, 1999-2000. Rev Panam Salud Pública. 2006 Dec;20(6):369-76.
207. Snider H, Lezama-Davila C, Alexander J, Satoskar AR. Sex hormones and modulation of immunity against leishmaniasis. Neuroimmunomodulation. 2009;16(2):106-13.
208. Costa CH, Tapety CM, Werneck GL. Controle da leishmaniose visceral em meio urbano: estudo de intervenção randomizado fatorial Rev Soc Bras Med Trop. 2007 Jul-Aug;40(4):415-9.
209. Oliveira CD, Assuncao RM, Reis IA, Proietti FA. Spatial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brasil, 1994-1997. Cad Saúde Pública. 2001 Sep-Oct;17(5):1231-9.
210. Oliveira CD, Morais MH, Machado-Coelho GL. Visceral leishmaniasis in large Brazilian cities: challenges for control. Cad Saúde Pública. 2008 Dec;24(12):2953-8.
211. 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.

212. Rodrigues A, Santos AD, Feitosa L, Santana C, Nascimento E, Moreira Jr E. Criação peridomiciliar de galináceos aumenta o risco de leishmaniose visceral humana. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1999;32:12-3.
213. Moreira ED, Jr., de Souza VM, Sreenivasan M, Lopes NL, Barreto RB, de Carvalho LP. Peridomestic risk factors for canine leishmaniasis in urban dwellings: new findings from a prospective study in Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2003 Oct;69(4):393-7.
214. Alexander B, de Carvalho RL, McCallum H, Pereira MH. Role of the domestic chicken (*Gallus gallus*) in the epidemiology of urban visceral leishmaniasis in Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2002 Dec;8(12):1480-5.
215. Otranto D, Testini G, Buonavoglia C, Parisi A, Brandonisio O, Circella E, et al. Experimental and field investigations on the role of birds as hosts of *Leishmania infantum*, with emphasis on the domestic chicken. *Acta Trop.* 2010 Jan;113(1):80-3.
216. de Oliveira AG, Marassa AM, Consales CA, Dorval ME, Fernandes CE, de Oliveira GR, et al. Observations on the feeding habits of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Campo Grande, an endemic area of visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Acta Trop.* 2008 Sep;107(3):238-41.
217. Missawa NA, Lorosa ES, Dias ES. Preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) em área de transmissão de leishmaniose visceral em Mato Grosso. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008 Jul-Aug;41(4):365-8.
218. Marassa AM, Consales CA, Galati EA, Nunes VL. Identificação do sangue ingerido por *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) e *Lutzomyia (Lutzomyia) almerioi* (Galati & Nunes, 1999) pela técnica imunoenzimática do ELISA de captura, no sistema avidina-biotina. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2006 Mar-Apr;39(2):183-6.

Apêndice A. Ficha de coleta de dados aplicada na pesquisa.

FICHA DE COLETA DE DADOS (POPULAÇÃO HUMANA)

Ficha N° <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Data de coleta de dados: ___/___/___	
Dados pessoais	
Nome: _____	
Idade _____ anos	
Sexo: Masculino <input type="checkbox"/> Feminino <input type="checkbox"/>	
Local de nascimento: _____ UF: _____	
Data de nascimento: ___/___/___	
Comunidade de residência: _____ UF: DF	
Tempo de residência: _____ anos	
Antecedentes.	
Residências passadas e tempo (descrever o município)	
Município	Anos
Localização geográfica da casa (UTM)	UTM
	Elev
	23L
Sabe reconhecer ao vetor da Leishmaniose? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
Convívio com cães doentes (cães positivos no exame de sangue) Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
Famíliares com Leishmaniose visceral Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
Antecedentes patológicos	
Doenças não infecciosas: _____	
Doenças infecciosas:	
- Doença de Chagas <input type="checkbox"/>	- Toxoplasmose <input type="checkbox"/>
- Tuberculose <input type="checkbox"/>	- Hanseníase <input type="checkbox"/>
- Malária <input type="checkbox"/>	- Leishmaniose tegumentar <input type="checkbox"/>
- Outras: _____	

Dados clínicos (Sinais, sintomas e achados laboratoriais)				
	Sim	Não	Data de início	Observações
Febre > 2 sem				
Hepatomegalia				Medida em cm:
Esplenomegalia				Medida em cm:
Tosse				
Diarréia				
Emagrecimento				
Icterícia				
Edema				
Palidez				
Outros				
Lesão de pele				Local: Número:

Resultado dos testes aplicados

	Montenegro	ELISA	ELISA rk39	Imunofluorescência	PCR
Data					
Título					
Interpretação					
Conclusão diagnóstica					

FICHA DE COLETA DE DADOS (POPULAÇÃO CANINA)

Ficha N° <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	coleta de Data : __/__/__
Identificação Nome do cão: _____ Raça: _____ Sem raça definida: <input type="checkbox"/> Idade do cachorro _____ anos Sexo: Macho <input type="checkbox"/> Fêmea <input type="checkbox"/> Local de nascimento: _____ UF: ____ Tempo de residência: _____ anos	

Local de residência anterior: _____ UF: _____				
Antecedentes/Hábitos				
Criação:	Dentro da casa	<input type="checkbox"/>	Dentro e fora da casa	<input type="checkbox"/>
	Fora da casa	<input type="checkbox"/>		
Levado para área endêmica de LV (nordeste):	0 (Não)	<input type="checkbox"/>	1 (Sim)	<input type="checkbox"/>
Vacinado contra a raiva no último ano:	0 (Não)	<input type="checkbox"/>	1 (Sim)	<input type="checkbox"/>
Já tomou vacina particular? (pagada):	0 (Não)	<input type="checkbox"/>	1 (Sim)	<input type="checkbox"/>
Detalhes:	_____			
Doenças no cachorro:	_____			
Dados clínicos				
Sinais, sintomas e achados laboratoriais				
	Sim	Não	Data de início	Observações
Diarréia				
Emagrecimento				
Crescimento unha				
Lesão de pele				Local: Número:
Outros				

FICHA DE COLETA DE DADOS (CASAS)

Ficha N°	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Data de coleta de dados: ___/___/___
Dados da moradia		
Endereço:	_____	
Nome do dono:	_____	
Antiguidade:	_____ anos	
Situação:	Própria <input type="checkbox"/>	Alugada <input type="checkbox"/>
	Cedida <input type="checkbox"/>	Outros <input type="checkbox"/>
	Alvenaria <input type="checkbox"/>	Madeira <input type="checkbox"/>
	Papelão <input type="checkbox"/>	Pau-a-pique <input type="checkbox"/>
Material:	Outros <input type="checkbox"/>	Descrever: _____
	Rede pública <input type="checkbox"/>	Córrego/Riacho/Rio <input type="checkbox"/>
	Poço artesiano <input type="checkbox"/>	Lagoa <input type="checkbox"/>
	Caminhão pipa <input type="checkbox"/>	Fonte natural <input type="checkbox"/>
Provisão de água:	Outros <input type="checkbox"/>	Descrever: _____
	Rede pública <input type="checkbox"/>	
	Fossa séptica <input type="checkbox"/>	
	Jogado em fonte natural <input type="checkbox"/>	Descrever: _____
Esgoto:	Jogado na rua <input type="checkbox"/>	Descrever: _____
	Rede pública <input type="checkbox"/>	
	Rede pública <input type="checkbox"/>	Não possui <input type="checkbox"/>
	Gerador próprio <input type="checkbox"/>	
Energia:	Número de moradores: _____	
Número de cães:	0 (Não) <input type="checkbox"/>	1 (Sim) <input type="checkbox"/>
	Número: _____	

Presença de outros animais na casa:	0 (Não)	<input type="checkbox"/>	1 (Sim)	<input type="checkbox"/>
Descrever tipo:	_____			
Já viu animais (bichos) do mato dentro da casa?	0 (Não)	<input type="checkbox"/>	1 (Sim)	<input type="checkbox"/>
Qual animal	_____		(animais)?	
Presença de insetos incômodos:	0 (Não)	<input type="checkbox"/>	1 (Sim)	<input type="checkbox"/>
Uso de mosquiteiros nos quartos:	0 (Não)	<input type="checkbox"/>	1 (Sim)	<input type="checkbox"/>
Impregnado (com repelente)	0 (Não)	<input type="checkbox"/>	1 (Sim)	<input type="checkbox"/>
Controle da Leishmaniose visceral				
Cachorros suspeitos de LV na casa	0 (Não)	<input type="checkbox"/>	1 (Sim)	<input type="checkbox"/>
Borrifada no presente ano	0 (Não)	<input type="checkbox"/>	1 (Sim)	<input type="checkbox"/>
			Data:	_____

Apêndice B. Ficha de coleta de dados aplicada no acompanhamento.

**FICHA DE ACOMPANHAMENTO: PROJETO LEISHMANIOSE VISCERAL NA
FERCAL**

Ficha N° _____

Nome: _____

Comunidade de residência inicial: _____

Comunidade atual: A mesma Outra: _____

& Se a criança não foi mais encontrada na comunidade, preencha a seguinte pergunta:

Qual o motivo? Mudou Está internado Faleceu Perdeu-se

& Se a criança não participar desta nova avaliação, preencha a seguinte pergunta:

Qual o motivo? Pais recusaram Criança recusou Não encontrada

Mudou no último ano? Sim Não

Mora a menos de cem metros do mato? Sim Não

Mora a menos de cem metros de um córrego ou riacho? Sim Não

Teve algum cachorro doente na casa no último ano? Sim Não

Qual foi a doença? Leishmaniose Desconhecida Outra: _____

Perdeu algum cachorro no último ano? Sim Não

Qual foi o motivo? Doença Perdeu-se Acidente Deu de presente

Mandou para a roça Entregou para a carrocinha

Tem algum cachorro novo na casa? Não Sim Quantos? 1 2 3 4 5

De onde vêm os cachorros novos? Sobradinho Brasília Fercal *(qual comunidade?)* _____

A criança passou mais de uma semana em alguma outra comunidade da Fercal no último ano? Não Sim *(qual foi a comunidade?)* _____

A criança viajou para algum lugar fora de Brasília no último ano? Não Sim *(para onde viajou?)* _____

A criança teve algum contato com alguém com leishmaniose no último ano? Não Sim

A criança começou a usar mosquiteiro para dormir no último ano? Não Sim

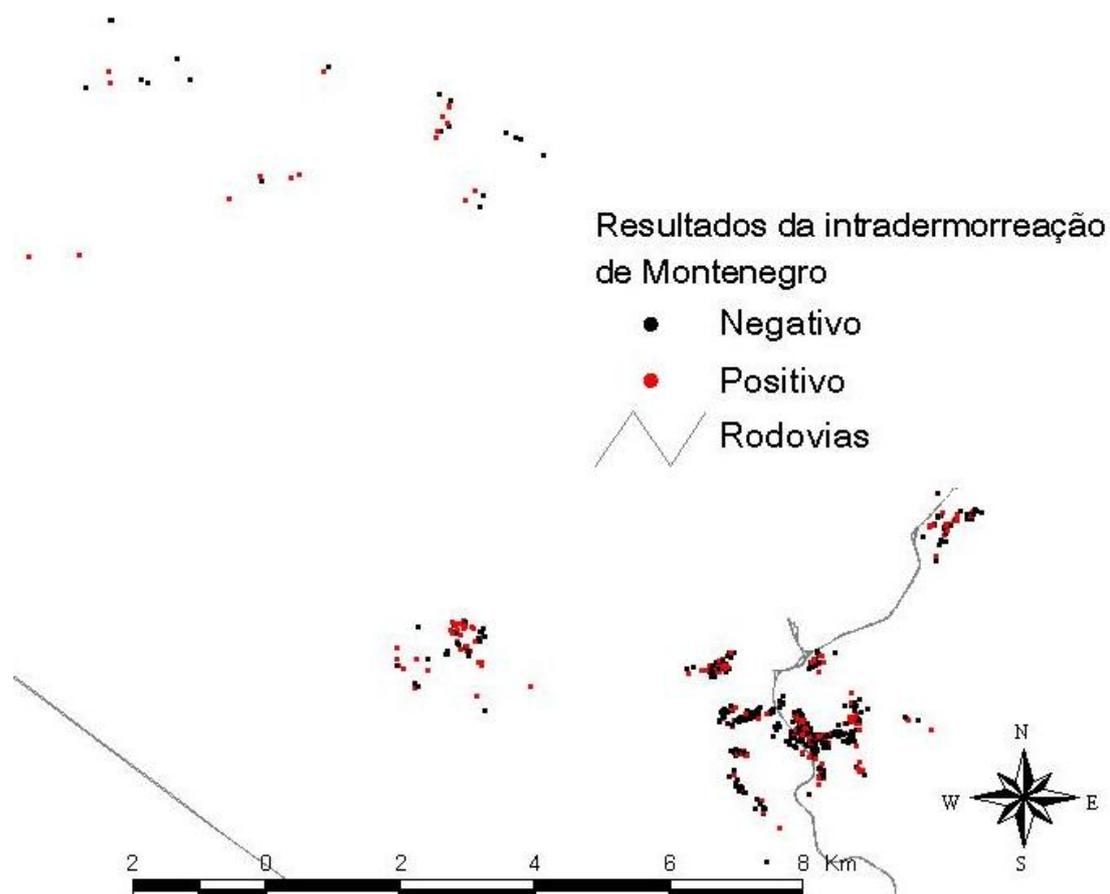
Teve alguém que adoeceu gravemente na sua casa no último ano? Não Sim

Quantas pessoas adoeceram: _____

Qual foi a causa (diagnóstico)? _____

Sua casa foi dedetizada no último ano? Não Sim

Apêndice C. Distribuição espacial dos indivíduos incluídos no estudo segundo resultados da intradermorreação de Montenegro na linha de base. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 -2008.



Apêndice D. Termo de consentimento informado, livre e esclarecido aplicado na pesquisa.

CONSENTIMENTO INFORMADO, LIVRE E ESCLARECIDO.

Título da Pesquisa: Caracterização e acompanhamento geo-referenciado do primeiro foco de leishmaniose visceral em Brasília-DF

Pesquisadores responsáveis: César Omar Carranza-Tamayo e Gustavo Adolfo Sierra Romero

Você ou seu filho está sendo convidado a participar voluntariamente de uma pesquisa, e para isto, sendo esclarecido sobre o significado do trabalho e os procedimentos que serão realizados durante sua participação.

INFORMAÇÕES GERAIS

A leishmaniose visceral, chamada também de Calazar, é uma doença causada por um parasito chamado *Leishmania*, que infeta ao ser humano pela picada de um inseto chamado flebótomo, mosquito-palha, birigui ou tatuquira. A infecção causa febre por vários dias, emagrecimento, aumento do tamanho do fígado e do baço e alterações no sangue como anemia, baixa de defesa do organismo e possibilidade de sangramentos. Esta doença pode ser transmitida também aos cachorros, quando estes são picados pelo mesmo inseto.

DESCRIÇÃO DA PESQUISA

Objetivo: Avaliar a quantidade de pessoas que apresentam testes positivos para leishmaniose na região do Fercal e detectar os casos de leishmaniose visceral que acontecem na região.

Descrição do estudo: A população da região da Fercal, pertencente á região administrativa de Sobradinho (Brasília-DF) será convidada a participar do presente estudo. Quem aceitar fará uma entrevista, na que serão realizadas algumas perguntas pessoais, outras sobre a casa e mais algumas sobre os cães que moram na casa. As pessoas serão examinadas buscando sinais sugestivos de leishmaniose visceral. Após estes procedimentos, será coletada uma amostra de aproximadamente 05 mL de sangue da veia do braço (aproximadamente uma colher de sopa). O sangue será submetido aos testes para diagnóstico de leishmaniose visceral, chamados de ELISA e teste de Montenegro. Uma parte da amostra coletada será guardada para estudos posteriores sobre a leishmaniose visceral. A autorização que será solicitada também inclui a possibilidade de guardar as amostras congeladas no laboratório do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília que poderão ser utilizadas no futuro com o seu

consentimento para outras pesquisas sobre as leishmanioses. Os pacientes com febre de mais de duas semanas, fígado ou baço crescido e/ou com alguma anormalidade no sangue serão encaminhados ao Centro de saúde 03, para serem submetidos a diversos exames que o médico responsável considere importantes para determinar a presença ou não da leishmaniose visceral. Todas estas provas são feitas normalmente quando há suspeita de leishmaniose visceral. Aqueles que forem diagnosticados com leishmaniose visceral receberão o tratamento indicado pelo Ministério da Saúde.

Benefícios: sua participação neste trabalho ajudará aos médicos responsáveis pelo seu tratamento a conhecer seu estado de portador ou não de leishmaniose, com testes normalmente não utilizados. Este dado será de ajuda para um rápido diagnóstico, caso no futuro apresente sintomas suspeitos da doença. O fato de você não participar do presente trabalho não leva à perda do seu direito à melhor assistência médica disponível na rede de saúde.

Riscos possíveis : os procedimentos médicos a serem realizados (entrevista, exame clínico, punção venosa para coleta de sangue) têm risco mínimo. As punções podem causar dor local no momento da coleta.

Métodos alternativos disponíveis: atualmente se conta com muitos testes para o diagnóstico da leishmaniose visceral, embora o ideal é observar o parasito em uma amostra de algum órgão do paciente. Dos testes no sangue, o único disponível na rede pública do Distrito Federal é a Imunofluorescência indireta.

Permissão para revisão dos dados/ Sigilo e Confidencialidade: todos os seus dados registrados serão considerados sigilosos, ou seja, todo esforço será feito no sentido de resguardar o sigilo sobre os dados fornecidos por você, bem como dos resultados de seus exames.

Compreensão por parte dos participantes: Eu pude fazer perguntas relativas aos exames e objetivos da pesquisa e os pesquisadores estiveram aptos a respondê-las. Autorizo, por este documento, aos pesquisadores responsáveis a me incluir neste projeto de pesquisa. Fui informado e entendi que posso retirar meu consentimento e interromper minha participação neste projeto a qualquer momento, e que a suspensão do meu consentimento não impedirá que continue a receber a assistência médica necessária nem levará a penalização alguma. Poderei discutir as questões relacionadas aos meus direitos e os problemas relacionados com minha participação neste projeto, durante ou depois de sua realização, com o Dr. César Carranza-Tamayo, pelo telefone (061) 96874886 ou com o Dr. Gustavo Romero no Núcleo de

Medicina Tropical da Universidade de Brasília, situado no Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte, Brasília-DF. Telefone (061) 32735008.

CONSENTIMENTO

Com base no exposto acima, dou meu consentimento para que meu filho _____ participe voluntariamente desta pesquisa. Tenho conhecimento que a minha cooperação com os compromissos marcados (consultas, exames) é essencial para o sucesso do projeto.

Nome do pai (mãe) ou responsável: _____

Local:

Assinatura do responsável

Data _____

Assinatura do pesquisador

Data _____

Apêndice E. Carta de Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

Universidade de Brasília
Faculdade de Medicina
Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos

Campus Universitário, Asa Norte – CEP 70910-9000 – Brasília, DF - Tel.: (061) 3307-2520 / 3273-4069

ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

Registro de projeto: CEP-FM 073/2006

Título: Caracterização e acompanhamento geo-referenciado do primeiro foco de transmissão de leishmaniose visceral humana em Brasília-DF

Pesquisador responsável: Gustavo Adolfo Sierra Romero

Documentos analisados: Folha de rosto, carta de encaminhamento, declaração de Responsabilidade, protocolo de pesquisa, termo de consentimento livre e esclarecido, cronograma, bibliografia pertinente e currículo(s) de pesquisador(es)

Data de entrada: 31/10/2006

Proposição do(a) relator(a)

() **Aprovação**

() **Não aprovação**

Data da primeira análise pelo CEP-FM/UnB: 13/12/2006

Data do parecer final do projeto pelo CEP-FM/UnB: 28/03/2007

PARECER

Com base na Resolução CNS/MS Nº 196/96, que regulamenta a matéria, o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília decidiu **APROVAR**, na reunião ordinária de 28/03/2007, conforme parecer do(a) relator(a), o projeto de pesquisa acima especificado, quanto aos seus aspectos éticos.

- 1 – Modificações no protocolo devem ser submetidas ao CEP, assim como a notificação imediata de eventos adversos graves;
- 2 – O(s) pesquisador(es) deve(m) apresentar relatórios periódicos do andamento da pesquisa ao CEP-FM.

Brasília, 29 de março de 2007.


Prof.^a Elaine Maria de Oliveira Alves
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
Faculdade de Medicina-UnB

Apêndice F. Distribuição das comunidades de acordo com a criação de animais nas residências das crianças e adolescentes avaliados no estudo. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2009.

Comunidade	Espécie animal de criação nas moradias																			
	<i>Cães</i>		<i>Cavalos</i>		<i>Coelhos</i>		<i>Galinhas</i>		<i>Gatos</i>		<i>Gado</i>		<i>Pássaros</i>		<i>Patos</i>		<i>Perus</i>		<i>Porcos</i>	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Alto Bela Vista	30	41,0	1	1,4	-	-	18	24,6	15	20,5	2	2,8	5	6,8	1	1,4	-	-	2	2,8
Bananal I	20	30,3	-	-	1	1,5	7	10,6	2	3,0	-	-	8	12,1	-	-	-	-	1	1,5
Bananal II	31	47,0	-	-	3	4,5	18	27,3	6	9,1	1	1,5	12	18,2	1	1,5	-	-	2	3,0
Boa Vista	46	57,5	3	3,8	1	1,3	28	35	9	11,3	7	8,9	16	20	2	2,6	-	-	8	10,0
Córrego do Ouro	15	75,0	13	65,0	-	-	18	90,0	7	35,0	3	15	-	-	-	-	-	-	8	40,0
Curvas	24	36,9	1	1,5	-	-	16	24,6	8	12,3	1	1,5	7	10,8	1	1,5	-	-	2	3,0
Engenho Velho	42	35,9	-	-	4	3,4	21	17,9	13	11,1	-	-	19	16,2	2	1,7	-	-	1	0,9
Fercal I	25	37,9	2	3,0	-	-	14	21,2	4	6,1	1	1,5	13	19,7	-	-	-	-	2	3,0
Fercal II	8	29,6	-	-	2	7,4	5	18,5	5	18,5	-	-	6	22,2	-	-	-	-	-	-
Queima Lençol	25	43,9	-	-	1	1,8	16	28,1	8	14,0	-	-	11	19,3	1	1,8	-	-	3	5,4
Ribeirão-Pedreira	14	87,5	7	43,8	-	-	13	81,3	10	62,5	8	50,0	1	6,3	2	12,5	2	10,0	6	37,5
Rua do Mato	25	53,2	-	-	1	2,1	21	44,7	8	17,0	-	-	4	8,5	2	4,2	2	4,2	4	8,4

Apêndice G. Presença de mamíferos silvestres na vizinhança das residências das crianças e adolescentes estudados segundo localidade. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007-2009.

Comunidade	Presença de mamíferos silvestres		Espécie de mamífero silvestre observada na vizinhança							
			<i>Gambás</i>		<i>Macacos</i>		<i>Raposas</i>		<i>Tatus</i>	
	n	%	n	%	n	%	N	%	n	%
Alto Bela Vista	30	41,1	29	39,7	1	1,4	1	1,4	1	1,4
Bananal I	12	18,2	12	18,2	1	1,5	-	-	-	-
Bananal II	29	43,9	27	40,9	5	7,6	3	4,5	2	3,0
Boa Vista	15	18,8	13	16,3	-	-	1	1,3	3	3,8
Córrego do Ouro	15	75,0	11	55,0	6	30,0	2	10,0	1	5,0
Curvas	34	52,3	31	47,7	3	4,6	2	3,1	-	-
Engenho Velho	16	13,7	14	12,0	10	8,5	-	-	-	-
Fercal I	15	22,7	15	22,7	1	1,5	-	-	-	-
Fercal II	2	7,4	2	7,4	-	-	-	-	-	-
Queima Lençol	31	54,4	27	47,4	6	10,5	-	-	-	-
Ribeirão-Pedreira	12	75,0	11	68,8	-	-	3	18,8	3	18,8
Rua do Mato	14	29,7	10	21,3	7	14,9	-	-	-	-
Total	225	32,1	202	28,9	40	5,7	12	1,7	10	1,4

Apêndice H. Comparação das características basais dos indivíduos que permaneceram na coorte e dos perdidos durante o acompanhamento. Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009.

Característica	Indivíduos com IDRM negativa no inquérito inicial		Valor de p
	<i>Acompanhados</i> (porcentagens ou medianas) n=396	<i>Perdidos</i> (porcentagens ou medianas) n=71	
Gênero masculino	50,76%	47,89%	0,66
Idade	8,00 anos	9,00 anos	0,63
Antecedente de doenças infecciosas	25,76%	19,72%	0,28
Antecedente familiar de LV	1,41%	1,26%	1,00
Presença de sinais ou sintomas sugestivos de LVH	7,58%	4,23%	0,31
Presença de cães na casa	41,41%	30,99%	0,10
Residência em casa com cães com sorologia positiva para LV	6,06%	4,23%	0,78
Não usar mosquiteiro	90,91%	92,96%	0,57
Antiguidade da casa > 9 anos	49,75%	40,85%	0,17
Número de moradores por residência	4,00 pessoas	4,00 pessoas	0,44
Residência em casa cedida	4,04%	4,23%	1,00
Moradia construída em madeira	5,56%	11,27%	0,11
Esgoto da rede pública	3,54%	2,82%	1,00
Altitude da moradia	887,00 metros	887,00 metros	0,92
Casa não borrifada no último ano	94,95%	94,37%	0,77
Número de cães em casa (medianas)*	0 cães	0 cães	0,23
Presença de pelo menos um cão nascido em município com transmissão autóctone de LV	1,83%	9,09%	0,11
Cães deslocados para municípios de transmissão autóctone de LV	7,32%	13,64%	0,39
Cães que pernoitam no quintal da casa	34,09%	23,94%	0,09
Presença de pelo menos um cão doente	0,61%	-	0,87
Presença de outros animais diferentes ao cão na casa	44,70%	33,80%	0,09
Presença de mamíferos silvestres	29,55%	26,76%	0,63

*Comparação da dispersão das medianas (acompanhados 0-5 cães/casa, média 0,59 cães/residência vs perdidos 0-5 cães/casa, média 0,62 cães/residência)

Apêndice I. Análise de multicolinearidade* das variáveis selecionadas para regressão múltipla dentre as características associadas ao teste positivo de intradermoreação de Montenegro entre crianças e adolescentes das comunidades da Fercal. Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2007 - 2008.

Características (variáveis)	Tolerância	FIV*
Gênero masculino	0,97	1,03
Idade > 7 anos	0,45	2,21
Tempo de residência > 7 anos	0,44	2,26
Antiguidade da casa > 9 anos	0,94	1,07
Número de cães em casa	0,47	2,13
Cães que pernoitam no quintal da casa	0,55	1,82
Criação de cavalos	0,55	1,81
Criação de gado	0,61	1,64
Criação de galinhas	0,75	1,33
Criação de aves não galináceas	0,94	1,06
Criação de patos	0,89	1,13
Criação de porcos	0,58	1,73
Presença de gambás	0,94	1,07
Presença de tatus	0,92	1,09

FIV: Fator de inflação da variância

*Segundo os critérios de Menard, a tolerância não pode ser menor que 0,1. Myers acrescenta que o valor FIV não pode ultrapassar de 10, para afastar colinearidade.

Apêndice J. Análise de multicolinearidade das variáveis selecionadas para regressão múltipla dentre as características associadas ao teste positivo de intradermoreação de Montenegro entre uma coorte de crianças e adolescentes das comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008-2009.

Características (variáveis)	Tolerância	FIV*
Gênero masculino	0,95	1,05
Ter morado em casa com cães com suspeita de LV	0,93	1,07
Não usar mosquiteiro	0,89	1,12
Casa não borrifada nos anos prévios	0,98	1,02
Pelo menos um cão nascido em município com transmissão autóctone de LV	0,74	1,36
Cães deslocados para município com transmissão autóctone de LV	0,71	1,40
Criação de coelhos	0,92	1,09
Criação de aves não galináceas	0,90	1,11
Presença de gambás	0,96	1,04

FIV: Fator de inflação da variância

Apêndice K. Análise de regressão logística multivariada usando as variáveis selecionadas dentre as características avaliadas como possíveis preditoras de positividade do teste positivo de intradermorreação de Montenegro nas duas avaliações de crianças e adolescentes das comunidades da Fercal, Sobradinho, Brasília - Distrito Federal. 2008 - 2009.

Características (variáveis)	OR	IC 95*	Valor de p
Gênero masculino	1,84	0,76 - 4,46	0,18
Ter mais de sete anos de idade	0,61	0,05 - 6,85	0,69
Tempo de residência maior a sete anos	1,57	0,14 - 17,43	0,71
Antiguidade da casa maior de nove anos	1,46	0,56 - 3,80	0,44
Número de cães em casa	0,68	0,42 - 11,13	0,14
Cães que pernoitam no quintal da casa	1,84	0,47 - 7,29	0,38
Criação de cavalos	1,88	0,13 - 27,28	0,65
Criação de gado	0	-	0,99
Criação de galinhas	2,53	0,99 - 6,48	0,05
Criação de patos	0,49	0,03 - 7,61	0,61
Criação de porcos	0,73	0,09 - 6,12	0,77
Ter morado em casa com cães com suspeita de LV	2,56	1,01 - 6,45	0,04
Não usar mosquiteiro	2,09	0,38 - 11,47	0,40
Casa não borrifada nos anos prévios	1,28	0,11 - 14,90	0,84
Pelo menos um cão nascido em município com transmissão autóctone de LV	8E+009	-	0,99
Cães deslocados para município com transmissão autóctone de LV	2,43	0,32 - 18,26	0,39
Criação de coelhos	2,56	0,36 - 18,04	0,35
Criação de aves não galináceas	3,59	1,09 - 11,84	0,04
Presença de gambás	3,62	1,32 - 9,93	0,01
Presença de tatus	0	-	0,99

* Intervalo de 95% de confiança do *odds ratio* (OR)