

## ARTIGO ORIGINAL

### EPIDEMIOLOGIA, CLÍNICA E IMUNOLOGIA DA INFECÇÃO HUMANA POR *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* EM ÁREA ENDÊMICA DE LEISHMANIOSE VISCERAL NO PARÁ

EPIDEMIOLOGIC, CLINICAL AND IMMUNOLOGIC ON THE HUMAN *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* INFECTION IN ENDEMIC AREA OF VISCERAL LEISHMANIASIS IN PARÁ.

Mário de Souza ROSAS FILHO<sup>1</sup> e Fernando Tobias SILVEIRA<sup>2,3</sup>

#### RESUMO

**Objetivos:** identificar portadores de infecção assintomática e/ou sintomática por *Leishmania (L.) i. chagasi*, em área endêmica de leishmaniose visceral americana (LVA), Barcarena, Pará e avaliar a infecção do ponto de vista clínico-imunológico e determinar a prevalência da infecção. **Método:** estudo seccional de 946 indivíduos, ambos os sexos, 1 ano de idade, utilizando-se a reação intradérmica de Montenegro (RIM) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para diagnóstico da infecção. **Resultados:** foram diagnosticados 120 casos da infecção, com prevalência de 12.6%; 8 casos apresentaram alta soro-reatividade (1.280 a 10.240, IgG) para RIFI e ausência de reatividade para RIM, sendo 4 casos típicos de LVA e outros 4 infecção sub-clínica oligosintomática. **Conclusão:** os dois métodos imunodiagnósticos analizados, simultaneamente, com exame clínico dos infectados, permitiram identificar 5 perfis clínico-imunológicos: infecção assintomática (IA) 73.4%; infecção sub-clínica resistente (ISR) 15%; infecção sub-clínica oligosintomática (ISO) 3%; infecção sintomática (= LVA) 3% e infecção inicial indeterminada (III) 5%.

**DESCRITORES:** *Leishmania (L.) i. chagasi*; infecção; epidemiologia; prevalência

#### INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral americana (LVA) é uma antropozoonose identificada, pela primeira vez, na região amazônica brasileira por Penna (1934)<sup>1</sup>, em necrópsia de indivíduos falecidos com suspeita de febre amarela. Diagnosticou, casualmente, os primeiros 3 casos da doença no estado do Pará, procedentes dos municípios de Abaetetuba e Mojú.

Em 1937, Cunha e Chagas<sup>2</sup> deram o nome *Leishmania chagasi* ao agente causador da doença, hoje conhecido como *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*<sup>3</sup>. Em 1938, Chagas et al.<sup>4</sup> registraram mais 8 casos de LVA no município de Abaetetuba e a presença de cães infectados.

Observaram, ainda, que o inseto de hábito antropofílico, mais presente no interior das casas dos doentes, era o flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* Lutz e Neiva 1912, e sugeriram que, provavelmente, seria o transmissor da LVA.

Com a morte prematura de Chagas em 1940, os estudos sobre a LVA na Amazônia brasileira ficaram restritos às descrições clínico-epidemiológicas de achados isolados da doença<sup>5,6</sup>. Durante, aproximadamente, 46 anos que se seguiram ao primeiro registro da doença<sup>1</sup>, somente 32 casos foram registrados, o que conferiu à LVA um status de doença ocasional ou esporádica. Contudo, uma mudança progressiva na epidemiologia da LVA vem sendo

Recebido em 10.06.2007 – Aprovado em 19.09.2007

1- Médico infectologista da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará, Belém, Pará

2- Coordenador do Laboratório de Leishmanioses, Instituto Evandro Chagas, Belém, Pará

3- Professor Adjunto, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará.

observada, de tal modo que, no período recente de apenas dois anos (1984-1985), um total de 135 casos foram registrados na área peri-urbana da cidade de Santarém, no oeste do Pará<sup>7</sup>. Recentemente, nos últimos 5 anos, a média anual de casos da LVA no Pará cresceu para 235 casos<sup>8</sup>, assumindo um nível endêmico mais elevado até então.

A razão da expansão da LVA nos últimos anos é multifatorial, entre os quais destacam-se, o desmatamento desordenado, que culmina com a invasão do ambiente peri-domiciliar pelo flebotomíneo *Lu. longipalpis*; a presença de grande população do cão doméstico nas áreas endêmicas, susceptível à infecção pela *L. (L.) i. chagasi*, contribuindo para a manutenção do ciclo peri-domiciliar da endemia; a migração de populações não imunizadas de outras regiões; o desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico e, finalmente, a difusão entre os profissionais médicos e para-médicos sobre a importância do diagnóstico da LVA em indivíduos febris, principalmente crianças, procedentes de área endêmica<sup>9,10</sup>. Embora a casuística da LVA na Amazônia brasileira tenha crescido, drasticamente, nos últimos anos, principalmente no estado do Pará, poucos estudos de campo tem sido realizados no sentido de analisar a prevalência da infecção humana, sintomática (LVA ativa e forma sub-clínica) e/ou assintomática, por *L. (L.) chagasi*. Tais estudos, sem dúvida, são importantes para um melhor entendimento sobre a dinâmica da transmissão da *L. (L.) i. chagasi* para o homem. De fato, a única informação relativa à interação da resposta imune humana com a infecção pelo parasita tem vindo de pacientes com LVA, uma condição de imunosupressão que representa somente o topo do “iceberg” desta interação<sup>11,12</sup>.

A interação entre a *L. (L.) i. chagasi* e a resposta imune do homem pode resultar em um amplo espectro de manifestações clínicas, desde a infecção assintomática em indivíduos resistentes com resposta imune tipo Th1 (linfócito T-helper 1), caracterizada por hipersensibilidade, até a infecção sintomática em indivíduos susceptíveis com resposta imune tipo Th2 (linfócito T-helper 2), marcada por hiposensibilidade (anticorpogênese), que leva à doença aguda, leishmaniose visceral americana (LVA). Entre esses dois estágios polares, entretanto, alguns indivíduos podem apresentar uma condição clínico-imunológica intermediária chamada infecção sub-clínica oligosintomática, cujos achados clínicos e imunológicos não estão ainda claramente definidos<sup>13,14,15,16,17</sup>.

Desse modo, julgamos oportuno apresentar nossos resultados sobre uma pesquisa transeccional de prevalência, clínica e imunológica, utilizando a reação intradérmica de Montenegro (RIM) e a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) como métodos de diagnóstico, viabilizando uma nova abordagem sobre a dinâmica e o espectro clínico-imunológico da infecção humana por *L. (L.) i. chagasi* na amazônia brasileira.

## MÉTODO

### Tipo de estudo

Esta investigação baseou-se em estudo epidemiológico do tipo seccional em um grupo de 946 indivíduos, residentes em área endêmica de leishmaniose visceral na localidade Santana do Cafezal, município de Barcarena, norte do Estado do Pará. Visando determinar a presença da infecção assintomática e/ou sintomática por *L. (L.) i. chagasi*, os indivíduos foram avaliados pela reação intradérmica de Montenegro (RIM) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI), ambas realizadas com antígeno bruto e homólogo, formas promastigotas para RIM e amastigotas para RIFI.

### Área do estudo

Esta pesquisa foi conduzida na localidade Santana do Cafezal, que compreende uma comunidade de colonos residentes às margens do rio Cafezal, distante apenas 7 km da sede do município de Barcarena, a qual faz parte da região metropolitana de Belém, capital do Estado do Pará.

### Epidemiologia recente sobre a LV no município de Barcarena

No período compreendido de 2.000 a 2.004, o município de Barcarena registrou uma incidência média anual de 0.36 casos de leishmaniose visceral por 1.000 habitantes<sup>8</sup>, sendo 67% dos casos no sexo masculino e 56% em menores de 15 anos. No mesmo período, foram registrados 14 casos de AVL na localidade Santana do Cafezal, o que promoveu uma média anual de 2.8 casos da doença nesse período.

### Desenho do estudo e população envolvida

Com o intuito de obter um melhor entendimento da dinâmica de transmissão da infecção, a população foi estratificada em 3 grupos etários: 1 a 10 anos, 11 a 20 anos e >21 anos. Assim sendo, foi previsto serem utilizadas, simultaneamente, a RIM e a RIFI em todos os indivíduos previamente selecionados para a intervenção da prevalência,

quando seria feito o diagnóstico inicial de todos os indivíduos portadores de infecção assintomática e/ou sintomática pela *L. (L.) i. chagasi*. Além disso, foi previsto, também, que os indivíduos que apresentassem reatividade imunológica para RIM e/ou para RIFI, passariam por uma avaliação clínica, visando detectar qualquer tipo de sintomatologia compatível ou sugestiva da infecção por *L. (L.) i. chagasi*, que pudesse ser associada a um dos perfis de resposta imunológica diagnosticados.

### Critérios para identificação da infecção humana por *L. (L.) i. chagasi*

A definição de caso da infecção humana por *L. (L.) i. chagasi* foi baseada em avaliação diagnóstica com dois parâmetros imunológicos, a Reação Intradérmica de Montenegro (RIM) e a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Os dois testes imunológicos foram realizados com antígeno bruto e homólogo de *L. (L.) i. chagasi* (MCAO/BR/2004/M22967/Barcarena, Pará), formas promastigotas para RIM e amastigotas para RIFI. Entretanto, como a RIFI evidencia a imunidade humoral, associada à resposta CD4+ Th2 (anticorpogênese = susceptibilidade), e a RIM evidencia a imunidade celular, ligada à resposta CD4+ Th1 (hipersensibilidade = resistência)<sup>19</sup>, portanto, funções imunobiológicas específicas e opostas, a definição de infecção pela *L. (L.) i. chagasi* foi assumida como a presença de reatividade para uma ou ambas as reações imunodiagnósticas, a RIM e/ou a RIFI. Além disso, na tentativa de expressar a especificidade da RIM e da RIFI foi realizada uma avaliação semi-quantitativa dos resultados com escores de + a ++++ cruzes, da seguinte maneira: títulos sorológicos variando de 80 a 160 e de 320 a 640 receberam + e ++, enquanto que os títulos de 1.280 a 2.560 e de 5.120 a 10.240 (IgG) receberam +++ e +++, respectivamente. Por outro lado, as reações intradérmicas (RIM) exacerbadas (e"16 mm) receberam +++, as fortemente positivas (13-15 mm) +++, as moderadamente positivas (9-12 mm) ++ e as fracamente positivas (5-8 mm) +. Desse modo, foi assumido que as reações com título sorológico iguais a 80 (IgG) e aquelas que formaram pápulas ou indurações dérmicas iguais a 5 mm de diâmetro foram consideradas limitantes positivas ("cut-off") para a RIFI e RIM, respectivamente<sup>20,21,22</sup>.

### Procedimentos técnicos

Os procedimentos metodológicos usados para realização da RIM visando evidenciar a resposta imune de hipersensibilidade contra a infecção humana

por *L. (L.) i. chagasi* foram semelhantes àqueles utilizados em trabalhos prévios sobre a leishmaniose tegumentar americana (LTA)<sup>21,22</sup>, porém, com uma diferença bastante significativa relacionada à especificidade do antígeno empregado neste trabalho. Ou seja, considerando que a localidade Santana do Cafezal, município de Barcarena, fica localizada em área de ocorrência de ambos os tipos de leishmanioses, tanto a LVA como a LTA, foi necessário a utilização de um antígeno altamente específico para ser reconhecido pela resposta imune de hipersensibilidade induzida pelo agente da LVA, a *L. (L.) i. chagasi*. Por essa razão, visando garantir um alto grau de especificidade da RIM, foi usado um antígeno bruto, de formas promastigotas de fase estacionária de cultivo (meio RPMI 1640) de *L. (L.) i. chagasi* (MCAO/BR/2004/M22967/Barcarena, Pará), na concentração equivalente a  $10 \times 10^6$  parasitos/mL. O espectro de reatividade da reação já foi acima mencionado.

Por outro lado, para realização da RIFI tomou-se como referência o trabalho de Lima et al. (2003)<sup>20</sup>, que demonstraram ser o antígeno de formas amastigotas de *L. (L.) i. chagasi* mais específico e mais sensível do que os de formas promastigotas da mesma espécie, formas promastigotas de *Leishmania (L.) major-like* (Bio-Manguinhos, Brasil) e formas amastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis*. Para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina este método também provou ser mais específico que a RIFI e o ELISA de Bio-Manguinhos, Brasil<sup>23</sup>. Portanto, optou-se pela utilização, também, de um antígeno de alta especificidade para ser usado através da RIFI, visando garantir uma resposta imune humoral (IgG) altamente específica. Mais uma vez, o espectro de positividade esperado para o teste já foi apresentado acima.

### Análise estatística

A análise estatística dos resultados feita através do programa BioEstat 4.0 e os testes Qui-quadrado e Binomial foram usados para análise da significância das diferenças, com intervalo de confiança de 95%.

### Aspecto ético

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa de seres humanos do Instituto Evandro Chagas e protocolado com o número CEP/IEC 16/2003.

## **RESULTADOS**

### **Prevalência da infecção humana por L. (L.) i. chagasi na vila Santana do Cafezal, Barcarena, Pará**

Para avaliação da prevalência, foram examinados 946 indivíduos residentes na localidade Santana do Cafezal, sendo todos avaliados, simultaneamente, pela RIM e RIFI, cujo resultado mostrou que a taxa de prevalência da infecção pela RIM de 11.2% (106/946) foi significativamente maior ( $p < 0.0001$ ) que a obtida pela RIFI de 3.4% (32/946). Entretanto, quando essas taxas foram estimadas combinando as duas reações, foi observado que entre os 106 indivíduos RIM positivos, 18 (17%) eram também positivos pela RIFI e, que, entre os 32 positivos pela RIFI, os mesmos 18 (56.2%) eram positivos pela RIM. Esta combinação, usando os dois testes juntos, permitiu a identificação de uma taxa atual de prevalência da infecção de 12.6% (120/946) na comunidade.

### **Freqüência da infecção humana por L. (L.) i. chagasi segundo o sexo, a idade e a especificidade da RIM e da RIFI, na vila Santana do Cafezal, Barcarena, Pará**

De acordo com o sexo, a distribuição dos 120 casos da infecção diagnosticados por ocasião da intervenção da prevalência mostrou que não houve diferença ( $p > 0.05$ ) entre a taxa de infecção encontrada para os homens de 55.8% e das mulheres de 44.2%. Por outro lado, quando a freqüência da infecção foi examinada dentro dos grupos etários, foi visto que não houve diferença ( $p > 0.05$ ) entre as taxas dos dois grupos menores de idade, 1-10 vs. 11-20 anos de idade, 19.2% e 25.8%, respectivamente. Contudo, quando essas taxas foram comparadas com aquela (55%) relativa ao grupo de faixa etária maior,<sup>3</sup> 21 anos, as duas foram significativamente menores ( $p < 0.05$ ), indicando que mais da metade dos indivíduos infectados fazia parte do grupo de faixa de idade maior (Fig.1).

Com relação à especificidade da RIM e da RIFI, foi observado que entre os 106 casos reativos pela RIM 41.5% apresentaram reação exacerbada (+++), 14.1% reação fortemente positiva (++), 19.8% reação moderadamente positiva (++) e 24.6% reação fraca (+), indicando que 55.6% eram portadores de um forte (+++/+++) caráter de resistência imunológica (hipersensibilidade) contra a infecção (Fig. 2).

Ao contrário, entre os 32 casos reativos pela RIFI, 21.8% apresentaram baixa reatividade

sorológica (+), 53.1% moderada reatividade (++) , 18.8% forte reatividade (+++) e 6.3% exagerada reatividade (++++) (Fig. 3). Desse modo, somente 25.1% dos casos apresentaram elevada reatividade humoral, variando de forte (++) a exagerada (++++) resposta de anticorpos, demonstrando importante característica de susceptibilidade imunológica para a infecção. Desses, 4 eram casos típicos de LVA (2 crianças e 2 adultos), o que gerou uma taxa de prevalência da LVA de 0.42%, enquanto outros 4 casos (um adolescente e 3 adultos) exibiam algumas manifestações clínicas sugestivas de infecção sub-clínica oligosintomática.

### **Avaliação clínica e imunológica da infecção humana por L. (L.) i. chagasi na vila Santana do Cafezal, Barcarena, Pará**

No momento da avaliação foram diagnosticados, simultaneamente, pela RIM e RIFI um total de 120 indivíduos infectados, o que gerou uma taxa de prevalência da infecção de 12.6%. Destes, a grande maioria (73.4%) era assintomática, e com perfil de resposta imune caracterizado pela presença de hipersensibilidade e ausência de resposta humorai (RIM+/++/+ e RIFI-), motivo, pelo qual, foi denominado de perfil clínico-imunológico Infecção Assintomática (IA).

Por outro lado, a minoria (6.6%) apresentava perfil de resposta imune (RIM- e RIFI+++/++++) que podia estar associado a, pelo menos, dois perfis clínico-imunológicos: 1) Infecção Sintomática (IS= LVA) ou 2) Infecção sub-clínica oligosintomática (ISO). A diferença entre os dois perfis foi puramente clínica, já que o primeiro foi diagnosticado em 4 (3.3%) casos típicos de LVA (duas crianças e dois adultos), o que caracterizou uma taxa de prevalência para a LVA de 0.42%. O segundo, em outros 4 (3.3%) indivíduos (1 adolescente e 3 adultos) que tinham diferentes manifestações, associadas ou não, de duração imprecisa, que não caracterizavam, entretanto, o quadro clínico típico da LVA.

Além destes, havia ainda 15% de indivíduos infectados cujo perfil de resposta imune era reagente para ambos os testes (RIM+/++ e RIFI+/++) e que, da mesma maneira dos casos do perfil IA, eram todos assintomáticos, sugerindo um perfil clínico-imunológico intermediário de resistência (RIM+/++), denominado infecção sub-clínica resistente (ISR).

Por último, restaram apenas 5% de indivíduos infectados, todos assintomáticos também, cujo perfil

de resposta imune era, a princípio, preferencialmente do tipo humorai (RIM- e RIFI+//++), porém, com títulos sorológicos de baixa reatividade (80-640 IgG), razão pela qual foi considerado um grupo recém-infectado, ainda não definido do ponto de vista da sua evolução clínica e imunológica, assim, intitulado, perfil clínico-imunológico Infecção inicial indeterminada (III), com potencial para evoluir para os perfis de susceptibilidade imunológica SI (=LVA) e ISO (RIM- e RIFI+//++/++) ou de resistência imunológica ISR (RIM+//++ e RIFI+//+) e IA (RIM+//++ e RIFI-).

Desse modo, foi demonstrado que a freqüência do perfil clínico-imunológico IA de 73.4% foi significativamente maior ( $p < 0.05$ ) que dos outros perfis, ISR (15%), III (5%), IS (=LVA) (3%) e ISO (3%), assim como, a freqüência do perfil ISR foi maior ( $p < 0.05$ ) também que dos outros três perfis, III, IS (=LVA) e ISO, entre os quais não houve diferença ( $p > 0.05$ ) entre as suas freqüências (Fig. 4).

Com base nessa abordagem diagnóstica, foi possível distribuir os 120 casos da infecção em 5 perfis clínico-imunológicos, que representam uma nova proposta do espectro clínico e imunológico da infecção humana por *L. (L.) i. chagasi* (Fig. 5).

## DISCUSSÃO

Apesar de existirem evidências recentes sugerindo que a susceptibilidade à leishmaniose visceral parece fortemente controlada por mecanismo genético<sup>27,28</sup>, é possível que os fatores ambientais e nutricionais referidos estejam contribuindo no sentido de promover um melhor desempenho da resposta imune contra a infecção pela *L. (L.) i. chagasi*, haja vista que a prevalência (0.42%) da doença foi pouco expressiva neste estudo.

Com respeito à dinâmica de transmissão da infecção humana pela *L. (L.) i. chagasi*, faz-se importante salientar que esta questão recebeu dois tipos de abordagens. A primeira, através da análise isolada das taxas de prevalência da infecção, pela RIM e RIFI, o que possibilitou uma visão específica e, ao mesmo tempo, comparativa entre os dois tipos de respostas imunes, celular e humorai. A segunda, através da combinação dos resultados da RIM e da RIFI, ou seja, dos indivíduos que reagiram, simultaneamente, pela RIM e RIFI, o que permitiu determinar a prevalência real da infecção, numa tentativa de representar a verdadeira situação da infecção na área estudada.

Com base no primeiro tipo de análise, foi visto que a taxa de prevalência da infecção pela RIM de 11.2% foi significativamente superior ( $p < 0.05$ ) à da RIFI de 3.4%, demonstrando que, entre os indivíduos naturalmente infectados, havia uma parcela bem maior de casos da infecção com caráter de resistência imunológica (RIM positiva= hipersensibilidade), fato que pode ajudar a explicar os achados pouco expressivos referentes à prevalência (0.42%) da doença no presente estudo. Além disso, considerando que ambos os testes foram realizados com antígeno da mesma cepa de *L. (L.) i. chagasi*, forma promastigota para RIM e amastigota para RIFI, é absolutamente improvável que as diferenças encontradas nas avaliações de prevalência da infecção, entre a RIM e a RIFI, possam ser atribuídas a uma variabilidade na especificidade dos抗ígenos usados nesses testes.

Ainda no sentido de comparar as taxas da infecção entre um método de avaliação imune celular (RIM) e outro imune humorai (RIFI ou ELISA), sem dúvida merecem ser discutidos alguns trabalhos previamente publicados, porém, faz-se necessário lembrar que algumas diferenças de natureza metodológica e/ou epidemiológica podem influenciar nos resultados encontrados. A título de exemplo, faz-se oportuno mencionar um estudo prospectivo em área endêmica de alta transmissão de LVA no município de Jacobina, Estado da Bahia, nordeste do Brasil, utilizando extrato solúvel de *L. (L.) i. chagasi* como antígeno para reação intradérmica de Montenegro (RIM), visando o diagnóstico da infecção<sup>13</sup>. Portanto, diferentemente da metodologia do presente trabalho, os autores limitaram-se a determinar a prevalência da infecção somente pela RIM, cuja taxa foi de 34.1%. Desse modo, considerando que a expressão da infecção não se limita somente a um dos tipos de respostas imunes, celular ou humorai, ficou evidente que os resultados encontrados subestimaram a verdadeira situação epidemiológica da infecção. Além disso, os autores registraram, também, uma taxa de prevalência da doença de 3.1% em crianças até 15 anos, a qual se mostrou mais elevada do que a encontrada neste trabalho (0.42%). Esse fato, pode estar refletindo, possivelmente, dois aspectos inerentes a situação em Jacobina (Estado do Bahia): i) um nível de transmissão da infecção mais elevado, cuja prevalência pela RIM foi 34.1%, e/ou ii) um potencial de susceptibilidade genética à doença maior na população infantil local.

Outro exemplo, diz respeito a dois trabalhos que estudaram a dinâmica de transmissão da infecção

por *L. (L.) i. chagasi* no município de Raposa, Estado do Maranhão, nordeste do Brasil, porém, com duas diferenças de natureza metodológica em relação a este trabalho; a primeira, relacionada à participação de crianças de até 5 anos de idade no estudo, o que representou uma limitação ainda maior em relação aos outros trabalhos; a segunda, pelo fato dos autores terem decidido utilizar dois antígenos bastante diferentes para o diagnóstico da infecção: a) extrato solúvel de *L. (L.) amazonensis* para diagnóstico pela RIM e, b) extrato solúvel de *L. (L.) i. chagasi* para diagnóstico sorológico por ELISA<sup>24,25</sup>. Os resultados revelaram taxas de prevalência da infecção de 18.6% pela RIM e 13.5% por ELISA, sendo ambas maiores que as obtidas no presente trabalho, embora com perfil de resposta imune semelhante; ou seja, dentre os indivíduos infectados existia também uma parcela maior de indivíduos com resposta imune celular (RIM), demonstrando um importante potencial de resistência à infecção. Entretanto, chamou a atenção uma prevalência da infecção (13.5%) quatro vezes maior que a deste trabalho (3.4%), entre os indivíduos que manifestaram resposta humoral (anticorpogênese = susceptibilidade), o que talvez seja explicado pela concentração maior de indivíduos (crianças até 5 anos) mais suscetíveis do que os examinados neste trabalho.

Por último, em outro trabalho realizado também no Estado do Maranhão, município de São José de Ribamar, onde a prevalência da infecção foi estimada em crianças até 15 anos de idade, utilizou-se extrato purificado de *L. (L.) i. chagasi* para diagnóstico da infecção pela RIM, e antígeno bruto do parasito e proteína recombinante (rK39) para detecção por ELISA<sup>26</sup>. Os achados obtidos revelaram taxa de prevalência da infecção pela RIM de 61.7%, a mais elevada de todos os trabalhos em discussão, assim como, por ELISA, 19.7% com antígeno bruto e 19.4% com rK39, respectivamente, também as mais elevadas para a prevalência. Estes achados sugerem tratar-se de uma área com potencial de transmissão da infecção maior que em Jacobina, no Estado da Bahia, com prevalência da infecção pela RIM de 34.1%. De qualquer forma, deve ficar registrada a dificuldade de confrontar os resultados do presente trabalho com aqueles dos trabalhos citados<sup>13,24,25,26</sup> não só pelas diferenças dos preparados antigênicos usados nos testes imunológicos, como também, pelas diferenças de idade das amostragens dos indivíduos envolvidos nos estudos. Portanto, as comparações apresentadas devem ser vistas com a devida consideração.

Na Europa, região do Mediterrâneo, ao sul da Itália, antigo foco de leishmaniose visceral na Sicília, onde a doença tem como agente causal a *Leishmania (L.) infantum*, foi demonstrado através da RIM com antígeno (promastigotas) homólogo do parasito, taxa de prevalência da infecção de 16.6% em indivíduos de todas as idades<sup>29</sup>, constituindo o resultado mais parecido com o do presente estudo (prevalência pela RIM de 11.2%), e que pode estar refletindo alguma semelhança na dinâmica de transmissão entre a *L. (L.) infantum* e a *L. (L.) i. chagasi*.

Na África, especialmente no Sudão, onde a leishmaniose visceral representa um grave problema de saúde pública, sendo responsabilizada pela morte de cerca de 100.000 indivíduos durante parte da década de 80<sup>30</sup>, a situação epidemiológica da infecção humana por *Leishmania (L.) donovani*, o agente causal da doença, parece, sem dúvida, bastante delicada, haja vista que, ainda recentemente, foi detectada taxa de prevalência da infecção pela RIM, com antígeno de promastigotas do mesmo parasito, variando de 33 a 56% na população total de duas localidades, Mushrau Koka e Um-Salala, respectivamente, o que sugere uma transmissão mais intensa da infecção nessa região da África<sup>31</sup>.

O segundo tipo de análise epidemiológica foi baseado na combinação dos resultados entre a RIM e a RIFI, o que permitiu determinar a prevalência real da infecção, a qual representou a coordenada mais fidedigna da verdadeira situação epidemiológica da infecção na área estudada. Até o presente, parece que esse tipo de abordagem sobre a prevalência da infecção humana por *L. (L.) i. chagasi* constituiu uma observação inédita nas Américas. Assim sendo, com base nesse tipo de análise, foi encontrada uma prevalência real da infecção de 12.6% (120/946), o que representa, possivelmente, um achado único no Brasil. Dessa casuística, 55.8% dos casos pertenceram ao sexo masculino e 44.2% ao feminino, não havendo diferença significativa ( $p > 0.05$ ) entre os grupos infectados, confirmado que o sexo não representa uma variável influente na distribuição da infecção humana por *L. (L.) i. chagasi*. No tocante à prevalência da infecção por faixa de idade, foi interessante observar que os dois grupos de faixa menor, 1 a 10 e 11 a 20 anos, apresentaram taxas semelhantes ( $p > 0.05$ ) da infecção, 19.2% e 25.8%, respectivamente, e ambas menores ( $p < 0.05$ ) que a taxa de 55% encontrada no grupo de faixa maior (e "21 anos), sugerindo que a infecção vai sendo acumulada, progressivamente, com a idade. Esse achado, também

foi observado na infecção humana por *L. (L.) infantum* na região da Sicília, ao sul da Itália<sup>28</sup>.

Com relação à especificidade da RIM e da RIFI no contexto da prevalência da infecção, foi demonstrado que, dos 106 casos positivos pela RIM, 55.6% dos indivíduos apresentavam um forte caráter imunológico de resistência à infecção (hipersensibilidade +++;++++)<sup>13</sup>, fato que, possivelmente, está expressando uma amostra significativa de indivíduos infectados que, ao longo do tempo, vem recebendo, naturalmente, estímulos antigênicos repetidos através da picada infectante do flebotomíneo vetor (*Lutzomyia longipalpis*) na área do estudo. Nesse sentido, é possível que essas “doses infectantes naturais” representem uma estratégia importante para ser considerada em um futuro programa de prevenção com uma vacina contra a infecção.

Por outro lado, dos 32 casos positivos pela RIFI, observou-se que apenas 25% apresentavam perfil de susceptibilidade à LVA (e” 1280 IgG), enquanto 75% mostraram baixa reatividade sorológica (80-640 IgG), sugerindo que, na situação estudada, apenas uma minoria dos indivíduos com expressão de resposta imune CD4/Th2 era candidata a desenvolver a LVA, fato que só foi confirmado em 12.5% dos indivíduos soro-reagentes. Ainda nesse sentido, dentro do contexto da prevalência real da infecção (12.6%), cabe lembrar que a razão entre doença e infecção foi 1:30, enquanto em Jacobina, no Estado da Bahia, onde a prevalência da infecção pela RIM foi 34.1%, essa razão foi 1:18.5<sup>13,14</sup>, e em Raposa, no Estado do Maranhão, com prevalência da infecção também pela RIM de 18.6%, a razão foi 1:119<sup>24</sup>. Entretanto, faz-se necessário lembrar, novamente, que nessas localidades as taxas de prevalência da infecção foram obtidas de crianças com até 15 anos de idade.

Além das avaliações relativas à dinâmica da infecção, cabe enfatizar ainda que a avaliação semiquantitativa feita, simultaneamente, pela RIM e pela RIFI, associada ao respectivo exame clínico dos indivíduos infectados, foi capaz de identificar um largo espectro clínico e imunológico da infecção humana por *L. (L.) i. chagasi*, representado por 5 perfis clínico-imunológicos: 1) Infecção assintomática (IA) (RIM+/++++ e RIFI-), 2) Infecção sintomática (IS=LVA) e 3) Infecção sub-clínica oligosintomática (ISO), com perfis imunes iguais (RIM- e RIFI+++/++++)<sup>13</sup>, 4) Infecção sub-clínica resistente (ISR) (RIM+/++ e RIFI+/++) e, 5) Infecção inicial indeterminada (III)

(RIM- e RIFI+/++). Esses perfis permitiram estabelecer um diagnóstico clínico da presente situação da infecção na área do estudo, com a seguinte ordem de freqüência dos perfis clínico-imunológicos:

1. O perfil IA foi o mais freqüente, com 73.4% dos casos;
2. O perfil ISR foi o segundo mais freqüente, com 15% dos casos;
3. O perfil III foi o terceiro mais freqüente, com 5% dos casos;
4. O perfil IS (=LVA) foi o penúltimo nessa ordem, com 3.3% dos casos;
5. O perfil ISO foi o último, com 3.3% dos casos na prevalência da infecção.

Este estudo representou, também, a primeira experiência no sentido de propor o mais largo espectro clínico-imunológico da infecção humana por *L. (L.) i. chagasi* no Novo Mundo, usando uma metodologia simples, barata e reproduzível. Conforme referido, essa abordagem permitiu a identificação de 5 perfis clínico-imunológicos, dois a mais, o ISR (Infecção sub-clínica resistente) e o III (Infecção inicial indeterminada), que os três, IA (Infecção assintomática), IS (Infecção sintomática=LVA ativa) e ISO (Infecção sub-clínica oligosintomática), previamente já reconhecidos por outros autores<sup>13,14,15,16,17</sup>.

Este espectro proposto tem a vantagem de promover uma visibilidade melhor sobre as alternativas clínicas e imunológicas que tomam parte na interação entre a *L. (L.) i. chagasi* e a resposta imune do homem, além de representar uma ferramenta importante para ser usada em programas de controle da LVA. Além disso, a amplitude desse espectro com 5 perfis clínico-imunológicos pode estar refletindo, também, o polimorfismo genético associado aos mecanismos imunológicos responsáveis pela resistência contra a infecção humana por espécies de *Leishmania* que causam leishmaniose visceral<sup>27,28,32,33</sup>.

Este estudo mostrou, ainda, que a grande maioria (73.4%) dos indivíduos infectados residentes na área endêmica apresenta um perfil de resposta imune de resistência contra a infecção (RIM+/++++ e RIFI-), confirmando a importância da resposta imune Th1 (hipersensibilidade) no controle da infecção. Como resultado, todos os indivíduos identificados nesse perfil eram assintomáticos.

O perfil novo ISR (Infecção sub-clínica resistente), que também apresentou um importante nível de resistência imunológica (RIM+/++) contra a infecção, foi representado por significante parcela (15%) de indivíduos infectados na área. Desse modo,

se considerarmos os dois perfis juntos, IA e ISR, ambos representaram quase 90% (88.4%) de todos os indivíduos portadores da infecção na área endêmica.

Outro achado significante deste estudo foi identificar os indivíduos infectados no perfil III (Infecção inicial indeterminada), já que os mesmos apresentavam o mais incipiente estágio da infecção, com uma aparente tendência em desenvolver, preferencialmente, a resposta humorai, porém, sem uma definição ainda do seu perfil de resposta imunológica. Esta condição foi fundamental para considerá-lo uma infecção inicial indeterminada, com potencial para desenvolver-se tanto para os perfis de resistência imune, IA e ISR, como para os perfis de susceptibilidade imune, IS (= LVA) e ISO. Esta condição dúbia conferiu ao perfil III uma importância crucial em programas de controle da LVA humana, já que pode servir no monitoramento de indivíduos recém- infectados na área endêmica.

Neste estudo foi observado, também, que a idade pode influenciar o desenvolvimento da infecção. A este respeito, a maioria dos autores tem mostrado um número maior de casos com infecção sub-clínica oligosintomática do que com LVA, em crianças com até 15 anos de idade<sup>13,14</sup>, ou até 5 anos<sup>17</sup>. No presente trabalho, foram mostradas taxas de freqüência iguais de 3.3% para os perfis clínico-imunológicos IS (= LVA) e ISO, provavelmente, porque foram avaliados indivíduos de diferentes idades, sem prestigiar uma determinada faixa etária, sugerindo que nos trabalhos

citados pode ter havido uma concentração de indivíduos susceptíveis na amostra examinada.

De fato, a influência da idade no desenvolvimento da infecção foi demonstrada comparando-se a idade entre os dois perfis, já que a média de idade do perfil ISO (33.6 anos) foi maior ( $p < 0.05$ ) que a do perfil IS (10.7 anos), sugerindo que indivíduos maiores de idade parecem desenvolver uma resposta imune Th1 mais eficiente contra a infecção e uma condição menor para desenvolver o perfil SI (= LVA).

Por último, em trabalho recente, também, do tipo seccional realizado em outra localidade do nordeste do Estado do Pará, município de Cametá<sup>34</sup>, com incidência de LVA maior que no município de Barcarena<sup>8</sup>, foi possível confirmar a utilidade deste tipo de abordagem para avaliar a transmissão e o espectro clínico-imunológico da infecção humana por *L. (L.) i. chagasi* na referida localidade. A prevalência da infecção de 18.4% foi maior ( $p < 0.05$ ) que a encontrada em Santana do Cafetal (Barcarena) de 12.6%, e as taxas de freqüência dos perfis clínico-imunológicos ficaram estabelecidas na seguinte ordem: IA 47.5%, III 25.7%, ISR 22.3%, ISO 3.9% e IS (= LVA) 0.5%. Estes resultados sugerem que em uma área com elevado nível de transmissão da infecção, onde as taxas de freqüência dos perfis III e ISR são também altos, deve existir uma grande concentração de casos recentes da infecção (25.7%), sendo superada somente pela freqüência dos casos estabelecidos no perfil de resistência imunológica IA (47.5%).

## SUMMARY

### EPIDEMIOLOGIC, CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL THE HUMAN *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* INFECTION IN ENDEMIC AREA OF VISCERAL LEISHMANIASIS IN PARÁ

Mário de Souza ROSAS FILHO e Fernando Tobias SILVEIRA

**Objectives:** the objectives of the study were i) to identify individuals with the symptomatic and/or asymptomatic infection due to *Leishmania (L.) chagasi*, ii) to study the two types of infection, both clinically and immunologically, and iii) to determine the prevalence of infection at the beginning of the study. **Methods:** this was a transeccional study of a cohort of 946 individuals of both sexes, from one year old and upwards, living in endemic area of American visceral leishmaniasis (AVL), municipality of Barcarena, Pará, Brazil. For the diagnosis of infection, there were used the delayed hypersensitivity skin reaction (LST) and the indirect fluorescent antibody test (IFAT). **Results:** there were diagnosed 120 cases of infection, with the prevalence of 12.6%; 8 cases showed high sero-reactivity (1.280 to 10.240, IgG) to IFAT and no reaction to LST; being 4 cases of typical AVL and other 4 cases of sub-clinical oligosymptomatic infection. **Conclusion:** the two immunodiagnostic methods used, simultaneously, with the clinical examination enabled to identify 5 clinical-immunological profiles: Asymptomatic Infection (AI) 73.4%; Sub-clinical Resistant Infection (SRI) 15%; Sub-clinical Oligosymptomatic Infection (SOI) 3%; Symptomatic Infection (= AVL) 3% and, Indeterminate Initial Infection (III) 5%.

**KEY WORDS:** *Leishmania (L.) i. chagasi*; human infection; clinical and epidemiological prevalence-study.

## AGRADECIMENTOS

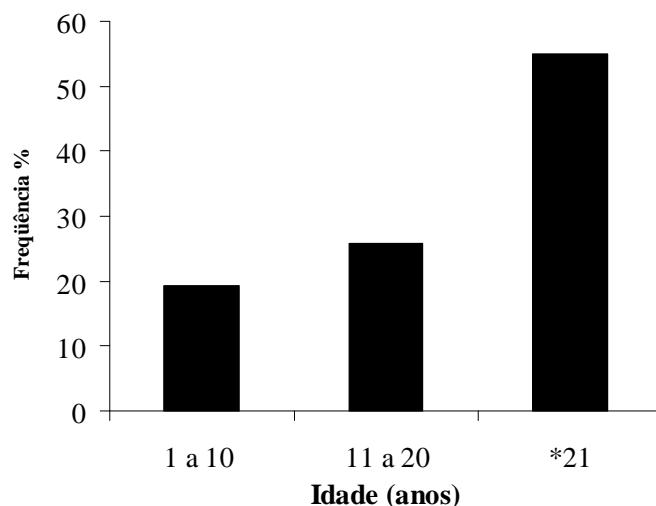
À equipe de técnicos do Laboratório de Leishmanioses do Instituto Evandro Chagas, pelo trabalho de campo realizado; ao Dr. Manoel Ayres, pela orientação na análise estatística dos resultados encontrados.

## REFERENCIAS

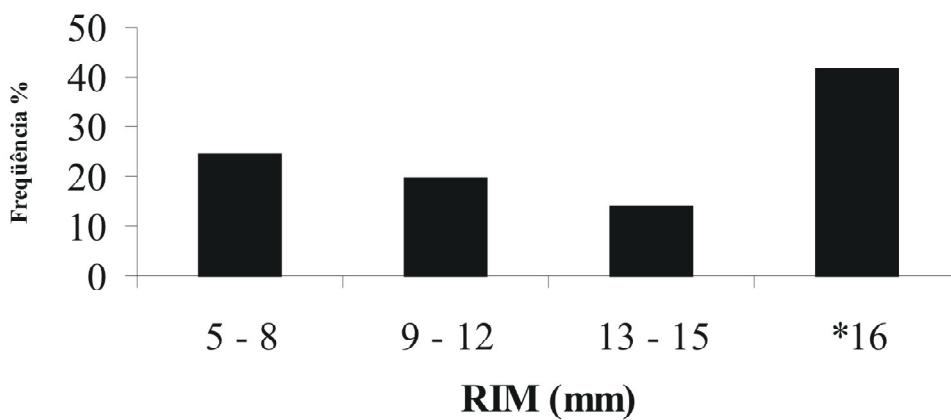
- 1- PENNA HA. Leishmaniose visceral no Brasil. *Brás Méd* 1934; 48: 949-950.
- 2- CUNHAAM, CHAGAS E. Nova espécie de protozoário do gênero *Leishmania* patogênico para o homem. *Leishmania chagasi* n.sp. Nota prévia. *Hospital (Rio de Janeiro)* 1937; 11: 3-9.
- 3- LAINSON R, RANGEL EF. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – A Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005; 100: 811-27.
- 4- CHAGAS E, CUNHA A, FERREIRA LC, DEANE L, DEANE G, GUIMARÃES FN, PAUMGARTTEN MJ, SÁ B. Leishmaniose visceral americana (Relatório dos trabalhos realizados pela Comissão Encarregada do Estudo da Leishmaniose Visceral Americana em 1937). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1938; 33: 89-229.
- 5- ALENCAR JE. Kala-zar in Brazil. *Sci Rep Inst Sup Sanitá* 1962; 2: 116-123.
- 6- COSTA O. Calazar no município de Cachoeira do Arari, estado do Pará. *Rev Serv Esp Saúde Pública, Rio de Janeiro*, 1966; 12: 91-98.
- 7- LAINSON R, SHAW JJ, RYAN L, RIBEIRO RSM, SILVEIRA FT. Presente situação da leishmaniose visceral na Amazônia, com especial referência a um novo surto da doença ocorrido em Santarém, Estado do Pará, Brasil. *Boletim Epidemiológico, Fundação SESP, Rio de Janeiro*, 1984; vol. 1: 1-8.
- 8- SECRETARIA EXECUTIVA DE SAÚDE DO ESTADO DO PARÁ (SESPA). Leishmanioses visceral e tegumentar americana. *Boletim Epidemiológico, Departamento de Controle de Endemias*, Belém, Pará, 2004; p. 6-8.
- 9- LAINSON R. Ecological interactions in the transmission of the leishmaniases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1988; 321: 389-404.
- 10- LAINSON R. Demographic changes and their influence on the epidemiology of the American leishmaniasis. In M Service, *Demographic and Vector Borne Disease*, CRC Press, Boca Raton, FL, 1989; 85-106.
- 11- LAINSON R, SHAW JJ. Leishmaniasis in the New World. In L Collier, A Balows, M Sussman (eds), *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*, 10<sup>th</sup> ed., Vol 5, *Parasitology*, Arnold, London, 2005; 313-349.
- 12- SILVEIRAF, SHAW JJ, BICHARA CNC, COSTAJML. Leishmaniose visceral americana. In RNG Leão, *Doenças Infecciosas e Parasitárias: Enfoque Amazônico*, Belém, PA, CEJUP, 1997; p. 631-644.
- 13- BADARÓ R, JONES TC, LORENÇO R, CERF BJ, SAMPAIO D, CARVALHO EM, ROCHA H, TEIXEIRA R, JOHNSON WD Jr. A prospective study of visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. *J Infect Dis* 1986a; 154: 639-649.
- 14- BADARÓ R, JONES TC, CARVALHO EM, SAMPAIO D, REED SG, BARAL A, TEIXEIRA R, JOHNSON Jr WD. New perspectives on a subclinical form of visceral leishmaniasis. *J Infect Dis* 1986b; 154: 1003-1012.
- 15- JERONIMO SMB, TEIXEIRA MV, DE QUEIROZ SOUZA 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; 30: 608-609.
- 16- HOLADAY BJ, POMPEU MM, EVANS T, BRAGA DN, TEIXEIRA MJ, SOUZA A DE Q, SADICK MD, VASCONCELOS AW, ARAMS JS, PEARSON RD. Correlates of *Leishmania*-specif immunity in the clinical spectrum of infection with *Leishmania chagasi*. *J Inf Dis* 1993; 167: 411-417.
- 17- GAMA MEA, COSTA JML, GOMES CMC, CORBETT CEP. Subclinical form of the American visceral leishmaniasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2004; 99: 889-893.
- 18- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Contagem nacional de populações. *Superintendência de estudos geográficos e sócio-econômicos*. Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2004.
- 19- AWASATHI A, MATHUR RK, SAHA B. Immune response to *Leishmania* infection. *Indian J Med Res* 2004; 119: 238-258.
- 20- LIMA LVR, DE SOUZA AAA, JENNINGS YL, CAMPOS MB, CORRÊA Z, DE JESUS R, EVERDOSA D, AYRES M, SILVEIRAF. Comparação da reatividade entre antígenos de *Leishmania (L.) amazonensis* e *L. (L.) chagasi* no sorodiagnóstico (RIFI) da leishmaniose visceral humana no estado do Pará. *Rev Soc Brás Méd Trop* 2003; 36 (Sup I): 312.
- 21- SILVEIRA FT, LAINSON R, SHAW JJ, DE SOUZA AA, ISHIKAWA EIA, BRAGA RR. Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in Amazonian Brazil, and the significance of a negative Montenegro skin-test in human infections. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1991; 85: 735-738.
- 22- SILVEIRA FT, BLACKWELL JM, ISHIKAWA EA, BRAGA RR, SHAW JJ, QUINNELL RJ, SOONG L, KIMA P, McMAHON-PRATT D, BLACK GF, SHAW M-A. T cell responses to crude and defined leishmanial antigens in patients from the lower Amazon region of Brazil infected with different species of *Leishmania* of the subgenera *Leishmania* and *Viannia*. *Parasite Immunol* 1998; 20: 19-26.
- 23- DE JESUS RCS, CORRÊA ZC, EVERDOSA DR, MARTINS AP, ELISEU LS, CAMPOS MC, JENNINGS YAA, ISHIKAWA EAI, DE SOUZA AAA, SILVEIRA FT. Comparação das técnicas de RIFI (ag. IEC x ag. Bio-Manguinhos) e ELISA no sorodiagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC), Estado do Pará, Brasil. *Rev Soc Brás Méd Trop* 2003; 36 (Sup I): 311.
- 24- CALDAS AJM, SILVA DRC, PEREIRA CCR, NUNES PMS, SILVA BP, SILVA AAM, BARRAL A, COSTA JML. Infecção por *Leishmania (Leishmania) chagasi* em crianças de uma área endêmica de leishmaniose visceral americana na ilha de São Luis-MA, Brasil. *Rev Soc Brás Méd Trop* 2001; 34: 445-451.

- 25- CALDAS AJM, COSTA JML, SILVA AAM, VINHAS V, BARRAL A. Risk factors associated with infection by *Leishmania chagasi* in north-east Brazil. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 2002; 96: 21-28.
- 26- NASCIMENTO MDSB, SOUZA EC, DA SILVA LM, DA CUNHA LEAL P, DE LIMA CANTANHEDE K, DE BARROS BEZERRA GF, DE CASTRO VIANA GM. 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, Rio de Janeiro*, 2005; 21: 1801-1807.
- 27- BLAKWELL JM, MOHAMED HS, IBRAHIM ME. Genetics and visceral leishmaniasis in the Sudan: seeking a link. *Trends in Parasitol* 2004; 6: 268-274.
- 28- JAMIESON SE, MILLER EM, PEACOCK CS, FAKIOLA M, WILSON ME, BALES-HOLST A, SHAW MA, SILVEIRA FT, SHAW JJ, JERONIMO SM, 16- BLACKWELL JM. Genome-wide scan for visceral leishmaniasis susceptibility genes in Brazil. *Genes Immun* 2007; 8: 84-90.
- 29- PAMPIGLIONE S, MANSON-BAHR PEC, LA PLACA M, BORGATTI MA, MUSUMECI S. Studies in Mediterranean leishmaniasis: 3. The leishmanin in skin test kala-azar. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1975; 69: 60-68.
- 30- ZILISTRA EE, EL-HASSAN AM, ISMAEL A, GHALIB HW. Endemic kala-azar in eastern Sudan: A longitudinal study on the incidence of clinical and subclinical infection and post-kala-azar dermal leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 51: 826-836.
- 31- KHALIL EA, ZILJSTRA EE, KAGER PA, EI HASSAN AM. Epidemiology and clinical manifestations of *Leishmania donovani* infection in two villages in an endemic area in easter Sudan. *Trop Med Int Heath* 2001; 7: 35-44.
- 32- PEACOCK CS, SANJEEVI CB, SHAW MA, COLLINS A, CAMPBELL RD, MARCH R, SILVEIRA F, COSTA J, COSTA CH, NASCIMENTO MD, SIDDIQUI R, SHAW JJ, BLACKWELL JM. Genetic epidemiologyof visceral leishmaniasis in northeastern Brazil. *Genet Epidemiol* 2001; 20: 383-396.
- 33- PEACOCK CS, SANJEEVI CB, SHAW MA, COLLINS A, CAMPBELL RD, MARCH R, SILVEIRA F, COSTA J, COSTA CH, NASCIMENTO MD, SIDDIQUI R, SHAW JJ, BLACKWELL JM. Genetic analysis of multicase families of visceral leishmaniasis in northeastern Brazil: no major role for class II or class III regions of HLA. *Genes Immun* 2002; 3: 350-358.
- 34- ROSAS-FILHO MS, BRITTO AB, BAARBOSA AP, OLIVEIRA VM, DA CRUZ GL, RIBEIRO LMF, FAÇANHA NA, BARBOSA CP, SALES SC, CARNEIRO LA, CRESCENTE JA, SOUZA AAA, CHAGAS EJ, CORBETT CEP, SILVEIRA FT. Caracterização das manifestações clínicas dos perfis clínico-imunológicos da infecção humana por *Leishmania (Leishmania) chagasi* em área endêmica de leishmaniose visceral no Pará, Brasil. *Rev Soc Brás Méd Trop* 2007; 40 (Sup 1): 115.

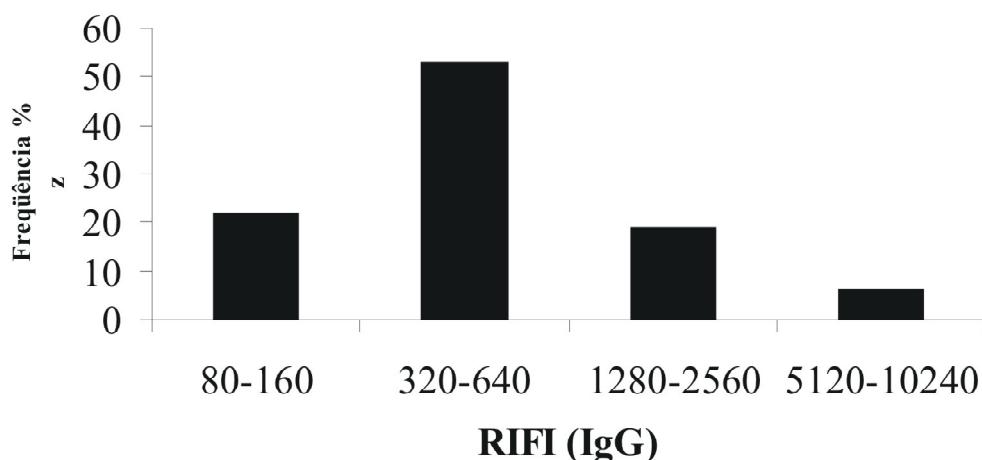
## Anexo 1 – Relação de Ilustrações



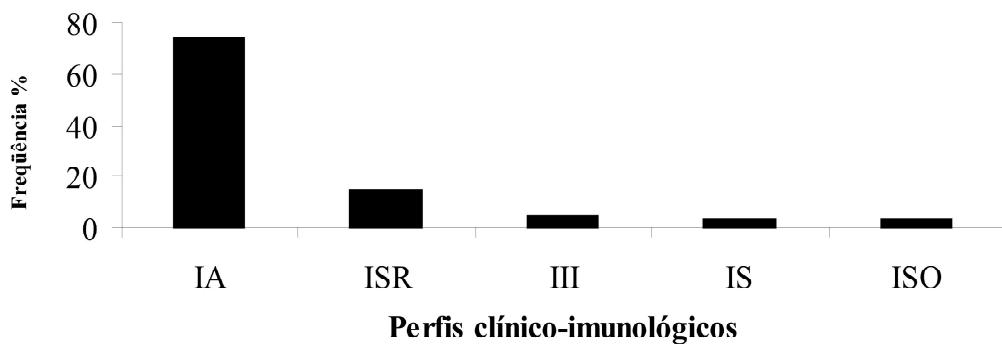
**Figura 1** - Distribuição da freqüência da infecção humana por *Leishmania (L.) chagasi* na localidade Santana do Cafetal, Barcarena, Pará, segundo a faixa de idade.



**Figura 2** – Distribuição da freqüência das reações intradérmicas de Montenegro (RIM), segundo os intervalos das reações (mm). \*



**Figura 3** – Distribuição da freqüência das reações de imunofluorescência indireta (RIFI), segundo os intervalos das reações sorológicas (IgG).



**Figura 4** – Distribuição da freqüência dos perfis clínico-imunológicos relativos à infecção humana por *Leishmania (L.) chagasi* na localidade Santana do Cafezal, Barcarena, Pará. IA: Infecção Assintomática; ISR: Infecção Sub-clínica Resistente; III: Infecção Inicial Indeterminada; IS: Infecção Sintomática (= Leishmaniose Visceral Americana) e, ISO: Infecção Sub-clínica Oligosintomática.

Polo Imunológico Susceptível	Polo Imunológico Resistente
Infecção Sintomática (LVA)	Infecção Assintomática
RIM-	RIM +++++
RIFI +++/++++	RIFI-
Infecção Sub-clínica Oligosintomática	Infecção Sub-clínica Resistente
RIM -	RIM +/++
RIFI +++/++++	RIFI +/++
Infecção Inicial Indeterminada	
RIM -	
RIFI +/++	

**Quadro 1** – Espectro clínico e imunológico da infecção humana por *Leishmania (L.) chagasi*.

RIFI: reação de imunofluorescência indireta (IgG)

RIFI ++++: 5.120-10240 (IgG)

RIFI +++: 1.280-2.560 (IgG)

RIFI ++: 320-640 (IgG)

RIFI +: 80-160 (IgG)

RIFI -: negativo

RIM: reação intradérmica de Montenegro

RIM ++++: positiva exacerbada ( 16 mm)

RIM +++: fortemente positiva (13-15 mm)

RIM ++: moderadamente positiva (9-12 mm)

RIM +: fracamente positiva (5-8 mm)

RIM -: negativa

IA: Infecção Assintomática

IS: Infecção Sintomática (= LVA)

ISO: Infecção Sub-clínica Oligosintomática

ISR: Infecção Sub-clínica Resistente

III: Infecção Inicial Indeterminada

#### **Endereço para correspondência:**

Mário de Souza Rosas Filho

E-mail: mariorosasfh@yahoo.com.br

Fone: 9941-9213