

## Prevalência de infecção por *Leishmania chagasi* utilizando os métodos de ELISA (rK39 e CRUDE) e intradermorreação de Montenegro em área endêmica do Maranhão, Brasil

Prevalence of infection by *Leishmania chagasi* using ELISA (rK39 and CRUDE) and the Montenegro skin test in an endemic leishmaniasis area of Maranhão, Brazil

Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento <sup>1</sup>  
 Edilberto Costa Souza <sup>1</sup>  
 Leopoldo Muniz da Silva <sup>1</sup>  
 Plínio da Cunha Leal <sup>1</sup>  
 Karleno de Lima Cantanhede <sup>1</sup>  
 Geusa Felipa de Barros Bezerra <sup>1</sup>  
 Graça Maria de Castro Viana <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Patologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil.

**Correspondência**  
 M. D. S. B. Nascimento  
 Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada, Departamento de Patologia, Universidade Federal do Maranhão.  
 Rua Duque Bacelar, quadra 33, casa 41, São Luís, MA 65067-510, Brasil.  
 cnsd\_ma@uol.com.br

### Abstract

*A prospective study was undertaken in 1,520 children less than 15 years of age in São José de Ribamar, Maranhão, Brazil, from June 1994 to January 1995, to evaluate the prevalence and characteristics (socioeconomic, environmental, and behavioral) associated with infection by Leishmania chagasi. Montenegro skin test (MST) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA-rK39 and CRUDE) test were used to detect infection. The statistical analysis used the  $\chi^2$  test with Yates correction and a p value less than 0.05 was considered statistically significant. Prevalence of infection was 61.7% as measured by MST, 19.4% according to ELISA (rK39), and 19.7% by ELISA (CRUDE). Association was detected between leishmaniasis in the family, water supply, application of insecticide, and infection by L. chagasi using MST. No association with infection by L. chagasi was detected using ELISA rK39 or CRUDE. More effective control measures are needed to reduce prevalence and to detect asymptomatic cases in this high percentage of infected children.*

*Visceral Leishmaniasis; Infection; Prevalence*

### Introdução

Estudos epidemiológicos em áreas endêmicas de leishmaniose visceral têm demonstrado que um considerável percentual de indivíduos apresenta evidências de infecção por *Leishmania (Leishmania) chagasi*, seja por meio de reações sorológicas ou por testes intradérmicos (IDRM) positivos, sem entretanto apresentar manifestações clínicas da doença. Nas áreas endêmicas de leishmaniose visceral, aproximadamente 20,0% das pessoas infectadas pela *L. chagasi* desenvolvem a doença clássica. A maioria dos infectados desenvolve doença subclínica que pode permanecer completamente assintomática ou assumir forma oligossintomática <sup>1,2,3,4,5,6</sup>.

As condições sócio-econômicas, ambientais e hábitos de vida são fatores significativos na epidemiologia da leishmaniose visceral em áreas endêmicas. Tais condições podem contribuir para que a leishmaniose visceral seja perpetuada nas áreas rurais e periurbanas, acometendo aglomerados humanos com baixo nível sócio-econômico que vivem em condições precárias de moradia. Na Ilha de São Luís, Maranhão, Brasil, os focos da doença localizam-se em regiões periurbanas originadas de áreas invadidas e ocupadas às custas de desmatamentos, contribuindo assim para uma maior exposição ao vetor da doença <sup>2,5,6</sup>.

Caldas et al. <sup>5</sup> verificaram que em uma área endêmica de leishmaniose visceral na Ilha de

São Luís, o tipo de casa predominante era com cobertura de palha, paredes de taipa e o piso de chão batido, não havendo coleta de lixo regular e sistema de abastecimento de água e esgotos, sendo que esta população estudada apresentou prevalência de infecção pelo IDR de 18,6% e incidência de 10,8%, enquanto que a sorologia por ELISA evidenciou prevalência de 13,5% e incidência de 28,0%, caracterizando assim, altos índices de infecção.

A presença do cão no domicílio e peridomicílio parece não ser um fator de risco para infecção tão significativa como a presença do vetor. Modelo matemático acerca da dinâmica da transmissão de leishmaniose visceral na Ilha de São Luís proposto por Nascimento <sup>2</sup> mostra que o controle vetorial é mais efetivo no combate à doença, sendo que a presença do cão não esteve associada à infecção por *L. chagasi*.

Assim, objetivou-se estudar a infecção por *L. chagasi* por meio de método sorológico por ELISA (rK39 e CRUDE) e reação intradérmica de Montenegro em menores de 15 anos, moradores de uma localidade no Município de São José de Ribamar, área endêmica de leishmaniose visceral no Estado do Maranhão, correlacionando a presença de infecção com variáveis sócio-econômicas e epidemiológicas.

## Método

A população do estudo foi composta por 1.520 menores de 15 anos de idade residentes na localidade de Jardim Tropical, Município de São José de Ribamar, leste da Ilha de São Luís. Tal localidade de alocações originou-se de invasões de migrantes oriundos do interior do estado, cujo padrão de moradia não obedece a critérios técnicos de construção, portanto, sem condições sanitárias adequadas. As condições econômicas e sócias da população são precárias, sendo que as atividades econômicas predominantes são agricultura de subsistência, pesca e extração vegetal de frutos, lenha e produção de carvão vegetal.

O período de estudo ocorreu entre junho de 1994 e janeiro de 1995, iniciando-se com a aplicação de questionário visando a compreender a ocorrência prévia de leishmaniose visceral, assim como fatores sócio-econômicos e demográficos associados à doença. A cada família foi apresentado o termo de consentimento livre e esclarecido, para que após concordância com o que havia sido exposto, a criança fosse submetida ao teste cutâneo de leishmanina usando antígeno purificado de *L. chagasi*. Os menores que apresentaram endurecimento  $\geq 5$  mm após

72 horas da aplicação do teste foram considerados intradermopositivos <sup>7</sup>.

A avaliação sorológica foi realizada por meio da técnica imunoenzimática de ELISA padronizada por Badaró et al. <sup>1</sup>. Os antígenos utilizados foram proteína recombinante rK39 e o antígeno bruto ou CRUDE, o qual é lisado do parasito. O rK39 é uma proteína recombinante constituída de uma seqüência de 298 aminoácidos que se repetem 5,5 vezes. Foi isolada da forma amastigota do parasita, possuindo peso molecular de 32,7Kda e um plasmídeo fusional que foi clonado da *L. chagasi* <sup>8</sup>. Os indivíduos da pesquisa foram aleatoriamente selecionados para realização do tipo de teste ELISA, sendo que 647 foram submetidos à ELISA com antígenos rK39, e 620 com o CRUDE.

Os dados foram tabulados no programa Epi Info 6.04, sendo utilizado na análise das variáveis categóricas o teste  $\chi^2$  com correção de Yates, adotando-se como significante  $p < 0,05$ .

## Resultados

Os 1.520 menores residentes em 566 domicílios compreendiam predominantemente o sexo feminino (51,0%) e a faixa etária de 5 a 9 anos (40,0%). A prevalência de infecção pela IDR foi de 61,7%. A prevalência pela sorologia por ELISA-rK39 e ELISA-CRUDE foi respectivamente de 19,7% e 19,4%. Das crianças na faixa etária de 5 a 9 anos, 38,0% foram intradermonegativos, não havendo relação estatisticamente significativa em relação ao sexo. Houve predominância de intradermopositivos entre as crianças que tinham acima de cinco anos de idade ( $p = 0,0000$ ).

Os menores intradermonegativos foram submetidos ao teste ELISA com os antígenos rK39 e CRUDE, sendo que os soropositivos compreendiam principalmente a faixa etária de 5 a 9 anos (Tabela 1).

A população estudada apresentou rendimento predominantemente menor que um salário mínimo vigente (65,0%), denotando a inexistência de uma fonte fixa de renda.

A Tabela 2 mostra a associação existente entre o teste intradérmico e a história de leishmaniose visceral no passado ( $p = 0,0000$ ), leishmaniose visceral na família ( $p = 0,0000$ ) e leishmaniose visceral em vizinhos ( $p = 0,01$ ), entretanto, a sorologia por ELISA não se mostrou associada a tais características. Possuir vizinho com leishmaniose visceral não esteve associado ao resultado dos testes sorológicos.

A população estudada foi predominantemente procedente de outras áreas endêmicas

Tabela 1

Distribuição dos menores de 15 anos segundo sexo e faixa etária e os resultados do teste intradérmico de Montenegro (IDRM) e ELISA por rK39 e CRUDE. São José de Ribamar, Maranhão, Brasil.

	IDRM +		IDRM -		rK39 +		rK39 -		CRUDE +		CRUDE -	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Sexo</b>	p = 0,19				p = 0,93				p = 0,86			
Masculino	475	63,0	274	37,0	59	19,2	247	80,8	59	20,0	234	80,0
Feminino	463	60,0	308	48,0	66	19,4	275	80,6	63	19,2	264	80,8
<b>Faixa etária (anos)</b>	p = 0,0000				p = 0,11				p = 0,02			
0-4	175	35,0	329	65,0	55	17,0	270	83,0	57	18,5	251	81,5
5-9	410	68,0	192	32,0	53	24,0	170	76,0	53	25,0	161	75,0
10-15	353	85,0	61	15,0	17	17,0	82	83,0	12	12,0	86	88,0

Tabela 2

Distribuição dos menores de 15 anos segundo Leishmaniose visceral no passado, na família, em vizinhos, última procedência e os resultados do teste intradérmico de Montenegro (IDRM) e ELISA por rK39 e CRUDE. São José de Ribamar, Maranhão, Brasil.

	IDRM +		IDRM -		rK39 +		rK39 -		CRUDE +		CRUDE -	
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%
<b>Leishmaniose visceral no passado</b>	p = 0,0000				p = 0,38				p = 0,90			
Sim	33	87,0	5	13,0	3	37,5	5	62,5	2	28,5	5	71,5
Não	905	61,0	577	39,0	122	19,0	517	81,0	120	19,5	493	80,5
<b>Leishmaniose visceral na família</b>	p = 0,00000				p = 0,95				p = 0,96			
Sim	120	76,0	37	24,0	9	18,0	41	82,0	8	16,0	42	84,0
Não	818	60,0	545	40,0	116	19,4	481	80,6	114	20,0	456	80,0
<b>Vizinho com leishmaniose visceral</b>	p = 0,017				p = 0,81				p = 0,97			
Sim	507	64,0	286	36,0	61	20,0	246	80,0	59	19,8	239	80,2
Não	431	59,0	296	41,0	64	19,0	276	81,0	63	19,6	259	80,4
<b>Última procedência</b>	p = 0,00000				p = 0,46				p = 0,20			
São Luís	400	64,7	218	35,3	50	20,5	194	79,5	52	22,0	185	78,0
São José de Ribamar	179	49,2	185	50,8	33	16,7	164	83,3	36	19,0	151	81,0
Paço do Lumiar	26	68,4	12	31,6	1	6,3	15	93,7	0	0,0	15	100,0
Interior do Estado	277	67,7	132	32,3	34	22,0	120	78,0	30	20,0	117	80,0
Outro Estado	56	61,5	35	38,5	7	19,0	29	81,0	4	12,0	30	88,0

de leishmaniose visceral. A relação entre o resultado do teste intradérmico e a procedência mostrou-se estatisticamente significativa. A sorologia por ELISA não mostrou diferença significativa em relação à procedência (Tabela 2).

A Tabela 3 mostra as características dos domicílios visitados, onde se evidenciou a simplicidade da estrutura física das habitações. Observou-se que 58,6% destas eram cobertas com palhas, 72,6% apresentavam paredes de taipa e apenas 2,5% possuíam água encanada. Destacou-se a associação da negatividade ao teste intradérmico com a ausência de portas ( $p = 0,01$ ), janelas ( $p = 0,03$ ) e o tipo de abastecimento de água do domicílio ( $p = 0,0000$ ). Ao analisarmos a parcela da população do estudo submetida ao ELISA com rK39 e CRUDE, não houve relação entre condições de habitação e a positividade ao teste.

O uso de mosquiteiro ( $p = 0,0004$ ) e a aspersão com inseticidas nos últimos seis meses ( $p =$

0,000) apresentaram-se associados à positividade ao teste cutâneo. Contudo, quando se relacionou a presença de anticorpos pelo teste ELISA, não houve diferença significativa. Em relação à existência de animais no domicílio, houve relação estatisticamente significativa com imunidade celular pelo teste de Montenegro, entretanto, a presença isolada do cão não mostrou diferença em relação ao resultado do teste intradérmico e sorológico (Tabela 4).

## Discussão

A leishmaniose visceral é uma doença endêmica na Ilha de São Luís desde a década de 80. Principalmente nos últimos vinte anos tem havido uma maior migração de pessoas das áreas rurais para as urbanas. Novos migrantes se fixam em aglomerações superlotadas e inadequadas, construídas nas periferias das grandes cidades,

Tabela 3

Distribuição dos menores de 15 anos segundo condições de habitação e os resultados do teste intradérmico de Montenegro (IDRM) e ELISA por rK39 e CRUDE. São José de Ribamar, Maranhão, Brasil.

	IDRM +		IDRM -		rK39 +		rK39 -		CRUDE +		CRUDE %	
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%
<b>Teto</b>	$p = 0,61$											
Palha	546	61,3	345	38,7	81	20,5	315	79,5	77	20,5	299	79,5
Telha	295	62,5	177	37,5	32	17,0	156	83,0	32	17,6	150	82,4
Zinco	97	61,8	60	38,2	12	19,0	51	81,0	13	21,0	49	79,0
<b>Parede</b>	$p = 0,09$											
Taipa	685	62,1	418	37,9	95	19,8	384	80,2	90	19,7	366	80,3
Palha	2	25,0	6	75,0	1	16,7	5	83,3	0	0,0	6	100,0
Reboco	251	62,3	158	37,7	29	18,0	133	82,0	34	21,25	126	78,75
<b>Piso</b>	$p = 0,85$											
Chão batido	590	62,2	359	37,8	81	19,5	335	80,5	78	19,6	319	80,4
Cimento/lajota	348	60,9	223	39,1	44	19,0	187	81,0	44	19,7	179	80,3
<b>Porta</b>	$p = 0,01$											
Sim	937	62,0	575	38,0	122	19,1	518	80,6	119	19,4	494	80,6
Não	1	12,5	7	87,5	3	42,9	4	57,1	3	42,9	4	57,1
<b>Janela</b>	$p = 0,03$											
Sim	937	61,9	576	38,1	124	19,3	518	80,7	122	19,8	493	80,2
Não	1	14,3	6	85,7	1	20,0	4	80,0	0	0,0	5	100,0
<b>Abastecimento</b>	$p = 0,000$											
Encanada	23	61,0	15	39,0	3	16,6	15	83,4	5	29,0	12	71,0
Cacimba	309	68,0	146	32,0	26	16,0	132	84,0	27	19,0	122	81,0
Artesiano	606	59,0	421	41,0	96	20,0	375	80,0	90	20,0	364	80,0

Tabela 4

Distribuição dos menores de 15 anos segundo presença de animais no peridomicílio, uso de inseticidas nos últimos 6 meses, uso de mosquiteiro e os resultados do teste intradérmico de Montenegro (IDRM) e ELISA por rK39 e CRUDE. São José de Ribamar, Maranhão, Brasil.

	IDRM +		IDRM -		rK39 +		rK39 -		CRUDE +		CRUDE -	
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%
<b>Animais</b>	p = 0,0000				p = 0,81				p = 0,97			
Sim	520	68,3	241	31,7	53	18,7	230	81,3	54	19,9	217	43,7
Não	418	55,1	341	44,9	72	19,8	292	80,2	68	19,5	349	56,3
<b>Cão doméstico</b>	p = 0,14				p = 0,94							
Sim	284	65,0	151	35,0	36	20,0	146	80,0	38	22,0	136	78,0
Não	654	60,0	431	40,0	89	19,0	376	81,0	84	19,0	362	81,0
<b>Uso de mosquiteiro</b>	p = 0,0004				p = 0,81				p = 0,97			
Sim	475	57,0	355	43,0	61	20,0	246	80,0	59	19,8	239	80,2
Não	463	67,0	227	33,0	64	19,0	276	81,0	63	19,6	259	80,4
<b>Uso de inseticida</b>	p = 0,00000				p = 0,71				p = 0,31			
Sim	449	70,0	196	30,0	42	18,0	187	81,2	67	18,0	301	82,0
Não	489	56,0	386	44,0	83	19,8	335	80,2	55	22,0	197	78,0

geralmente em áreas recentemente habitadas e ocupadas à custa de desmatamentos e queimadas<sup>5</sup>. Estas condições traduzem um excelente habitat para *Lutzomyia longipalpis* e a densidade desta espécie nas casas e nos abrigos dos animais pode alcançar níveis elevados<sup>2</sup>. Neste perfil sócio-geográfico é que se encontram muitos dos moradores da localidade de Jardim Tropical, Município de São José de Ribamar.

Sobressaíram-se intradermopositivos os maiores de cinco anos. Tais dados concordam com os encontrados na literatura, sendo que a positividade ao teste de hipersensibilidade tardia tende a aumentar com a idade, embora a resposta sorológica ao teste de ELISA não tenha demonstrado predomínio de grupos etários específicos<sup>2,9,10,11</sup>.

Dye & Willians<sup>12</sup>, baseados em dados de áreas endêmicas do Brasil, concluíram que crianças são mais susceptíveis à leishmaniose visceral quando são mais jovens e mais desnutridas, porém permanece desconhecida se a imunidade à leishmaniose visceral adquirida com a idade é sempre adquirida com resultado de infecção.

Evidenciamos nesta pesquisa que o sexo não demonstra predominância em relação à soropositividade e intradermorreação de Montenegro, dados concordantes com Pampiglione et al.<sup>13</sup> e Silva<sup>14</sup>.

A maior porcentagem de menores intradermonegativos era procedente de São Luís, capi-

tal do Estado, local onde se implantou inicialmente a endemia na década de 80. No início da década de 1990, o litoral ao norte da Ilha, assim como o centro da capital, encontrava-se densamente habitado. Assim, o fluxo migratório passou a se concentrar principalmente nos setores sul e leste da Ilha de São Luís, onde havia grandes faixas de terras disponíveis, servidas por estradas vicinais. Essa “periferização” da epidemia ocorreu no momento em que enquete populacional realizada pela Fundação Nacional de Saúde identificou um terço da população urbana da capital residindo em áreas de ocupação “ilegal” na periferia da cidade<sup>15</sup>. Demonstra-se assim o intenso fluxo populacional dentro da área endêmica da Ilha de São Luís, havendo necessidade de uma estratégia em saúde pública de controle da doença que contemple todo o contingente populacional e não somente focos isolados de doença<sup>5,15</sup>.

Estudo realizado por Abranson et al.<sup>16</sup> demonstrou que a leishmanina realizada em membros de familiares de casos de leishmaniose visceral pode sugerir a existência de exposição subclínica de um grande número de pessoas em áreas hiperendêmicas. Também Nascimento<sup>2</sup> e Cabello et al.<sup>17</sup> observaram o padrão intrafamiliar da infecção por *L. chagasi*. Nesta pesquisa, a presença de leishmaniose visceral na família ou em vizinhos foi associada à infecção pela IDRM.

A leishmanina e o método sorológico ELISA (antígeno CRUDE e rK39) foram utilizados nes-

ta pesquisa, visto a elevada reatividade observada nestes testes<sup>16,18</sup>. Entretanto, o teste de ELISA não é indicador de doença ativa, conforme informações de Badaró et al.<sup>9</sup>. Neste estudo, apesar de muitas variáveis estarem relacionadas à reatividade ao teste cutâneo com leishmanina, não houve associação quando relacionamos ao resultado do ELISA, dados concordantes com Caldas et al.<sup>6</sup>, cujo estudo não mostrou associação de variáveis clínicas e epidemiológicas ao teste ELISA, entretanto, havendo relação com a IDRM. O índice de infecção observado neste estudo foi superior a outras pesquisas realizadas no Ceará (4,5%), na Bahia (16,1%) e no Maranhão (46,7%)<sup>2,18,19</sup>. Estudo realizado em uma localidade (Raposa) no nordeste da Ilha de São Luís mostrou uma prevalência (IDRM) de 18,6% e 26,6%, valores estes inferiores aos encontrados nesta pesquisa<sup>6</sup>.

A análise do perfil sócio-habitacional da população em estudo demonstrou que a existência ou não de portas e janelas e o tipo de abastecimento de água estão relacionados ao teste intradérmico. Apenas 2,5% da população estudada possuía água encanada, o que indica que a maior parte se deslocava para promover o abastecimento de casa, fato que as expunha

mais facilmente ao vetor, estando esta variável associada à infecção<sup>2,20</sup>.

Analisando a presença de animais no peridomicílio, Nascimento<sup>2</sup> constatou que o cão isoladamente não representava fator de risco para leishmaniose visceral e a aspersão com inseticida mostrou-se fator protetor, o que não foi observado com o uso de mosquiteiro, devido ao uso inadequado. Neste estudo, não houve relação entre a presença do cão e o resultado do teste intradérmico<sup>21</sup>. Entretanto, a aspersão com inseticida nos últimos seis meses anteriores à pesquisa e o uso de mosquiteiro mostraram-se associados à infecção, o que sugere participação destes fatores na epidemia da doença na região<sup>22</sup>.

O elevado índice de infecção por *L. chagasi* observado na localidade estudada quando comparado à literatura, sugere a presença de formas assintomáticas em menores de 15 anos de idade. Medidas de controle devem ser efetivadas na área de estudo, visando não somente o controle vetorial, mas também implementando medidas em saúde coletiva que visem a uma melhoria global das condições de vida dessa população e que contemplem o contingente populacional como um todo.

## Resumo

*Realizou-se estudo prospectivo com 1.520 indivíduos menores de 15 anos no Município de São José de Ribamar, Maranhão, Brasil, de junho de 1994 a janeiro de 1995, com o objetivo de avaliar a prevalência e as características (fatores sócio-econômicos, ambientais e hábitos de vida) associadas à infecção por Leishmania chagasi. Realizou-se Intradermorreação de Montenegro (IDRM) e sorologia por Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA-rK39 e CRUDE). Na análise estatística foi utilizado o teste  $\chi^2$  com correção de Yates, sendo considerado significativo um valor de  $p < 0,05$ . A prevalência de infecção foi de 61,7% pela IDRM, 19,4% pelo ELISA-rK39 e 19,7% pelo ELISA-CRUDE. Foi observada associação entre leishmaniose na família ( $p = 0,001$ ), tipo de abastecimento de água ( $p = 0,000$ ) e aplicação de inseticida ( $p = 0,000$ ) com a infecção por *L. chagasi* pela IDRM. Nenhuma associação com infecção por *L. chagasi* foi observada utilizando-se a sorologia ELISA-rK39 ou CRUDE. Medidas de controle mais efetivas são necessárias para reduzir a prevalência da doença e detectar casos assintomáticos dentre o elevado percentual de infectados nessa localidade.*

*Leishmaniose Visceral; Infecção; Prevalência*

## Colaboradores

M. D. S. B. Nascimento desenvolveu os objetivos e a metodologia do estudo, participando da elaboração dos resultados e discussão dos mesmos. E. C. Souza participou da coleta de dados e elaboração dos resultados. L. M. Silva desenvolveu a metodologia, executou a análise estatística dos dados e participou da discussão dos resultados. P. C. Leal e K. L. Cantanhede participaram da coleta de dados e discussão dos resultados. G. F. B. Bezerra e G. M. C. Viana desenvolveram a metodologia do estudo e participaram da discussão dos resultados.

## Agradecimentos

Agradecemos ao Dr. Steven G. Reed, do Seattle Medical Institute, Estados Unidos, que gentilmente cedeu o antígeno extrato solúvel de *L. chagasi* utilizado na pesquisa e ao Prof. Dr. R. Badaró, da Universidade Federal da Bahia, pela realização dos testes sorológicos.

## Referências

1. Badaró R. Progressos nas pesquisas de leishmaniose visceral em Jacobina, Bahia. *Rev Soc Bras Med Trop* 1988; 21:159-64.
2. Nascimento MDSB. Epidemiologia da leishmaniose visceral na Ilha de São Luís-Maranhão, Brasil: análise da dinâmica da transmissão e dos fatores de risco relacionados ao desenvolvimento da doença [Tese de Doutorado]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo; 1996.
3. Costa JML, Viana GMC, Saldanha ACR, Nascimento MDSB, Alvim AC, Burattini MN, et al. Leishmania visceral no Estado do Maranhão. A evolução de uma epidemia. *Cad Saúde Pública* 1995; 11:321-4.
4. Superintendência de Controle de Endemias, Instituto Adolfo Lutz. Leishmaniose visceral americana – informe técnico. Brasília: Instituto Adolfo Lutz; 2000.
5. Gama MEA, Barbosa JS, Pires B, Cunha AKB, Freitas AL, Ribeiro IR, et al. Avaliação do nível de conhecimento que populações residentes em áreas endêmicas têm sobre leishmaniose visceral, Estado do Maranhão, Brasil. *Cad Saúde Pública* 1998; 14:381-90.
6. Caldas AJM, Silva DRC, Pereira CCR, Nunes PM, Silva BP, Silva AM, et al. Infecção por *Leishmania chagasi* em crianças de uma área endêmica de leishmaniose visceral americana na Ilha de São Luís-MA, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2001; 34:445-51.
7. Reed SG, Badaró RJ, Masur H, Carvalho EM, Lourenço R, Lisboa A, et al. Selection of a skin test antigen for american visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 1986; 35:79-85.
8. Burns Jr. JM, Shaeffler WG, Benson DR, Gotlieb N, Badaró R, Reed SG. Molecular characterization of a kinesis-related antigen of *Leishmania chagasi* that detects specific antibodies in Africa and America visceral leishmaniasis. *Proc Natl Acad Sci* 1993; 90:775-9.
9. Badaró R, Reed SG, Barral A, Orge G, Jones TC. Evaluation of the micro enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for antibodies in american visceral leishmaniasis. Antigen selection for detection of infection – specific responses. *Am J Trop Med* 1986; 35:72-8.
10. Melo MN, Mayrink W, Costa CA, Magalhães PA, Dias M, Williams P, et al. Padronização do antígeno de Montenegro. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1977; 19:161-4.
11. Silva LA. Estudo prospectivo de indivíduos com testes imunológicos e reação de cadeia de polimerase para calazar em Porteirinha, MG [Dissertação de Mestrado]. Uberaba: Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro; 2002.
12. Dye C, Willians BG. Malnutrition age and the risk of parasitic disease: visceral leishmaniasis revisited. *Proc Biol Sci* 1993; 254:33-9.
13. Pampiglione S, Manson-Bahr PEC, Placa M, Borgatti MA, Musumeci S. Studies on Mediterranean leishmaniose. 1975. The leishmanin skin test in kala-azar. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1975; 69:447-53.
14. Silva AR, Brazil R, Pedrozo CM, Branco MRC, Leite W. Aspectos epidemiológicos, clínicos e terapêuticos da leishmaniose visceral (Calazar) na Ilha de São Luís, Estado do Maranhão, Brasil, de 1982 a 1987. *Rev Soc Bras Med Trop* 1988; 21 Suppl: 112.
15. Mendes WS, Trovão JR, Silva AAM. Dinâmica da ocupação do espaço na Cidade de São Luís e a leishmaniose visceral. *Cad Saúde Pública* 2000; 16:872.
16. Abranson MA, Dietze R, Frucht DM, Schwantz R, Kenney RT. Comparison of New World Leishmaniasis in na endemic region of Brazil. *Clin Infect Dis* 1995; 20:1292-7.
17. Cabello PH, Lima AMVMD, Azevedo ES, Krieger H. Familial aggregation of *Leishmania chagasi* infection in northeastern Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 1995; 52:364-5.
18. Evans TG, Vasconcelos IAB, Lima JW, Teixeira JM, McAulliffe IT, Lopes UG, et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis in northeast Brazil. *J Infect Dis* 1992; 166:1124-32.
19. Badaró R, Jones TC, Carvalho EM, Pedral-Sampaio D, Reed SG, Barral A, et al. New perspectives on a subclinical form of visceral leishmaniasis. *J Infect Dis* 1986; 154:1003-11.
20. Southgate BA. Studies in the epidemiology of east african leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1964; 58:377-90.
21. Caldas AJM, Costa JML, Silva AAM, Vianhais V, Barral A. Risk factors associated with asymptomatic infection by *Leishmania chagasi* in northeast Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2002; 95:1-8.
22. Davis CR, Llanos CA, Canales J, Leon E, Alvarez E, Monge J, et al. The fall and rise of Andean cutaneous leishmaniasis: transient impact of the DDT campaign in Peru. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994; 88:389-93.

---

Recebido em 03/Ago/2004

Versão final rerepresentada em 30/Mar/2005

Aprovado em 03/Mai/2005