

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**PREVALÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DA LEISHMANIOSE
VISCERAL CANINA EM LOCALIDADES DO DISTRITO DO
TIRIRICAL NO MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS, MARANHÃO**

Nádia Selene Guimarães Costa Vendruscolo

São Luís – MA
2010

Nádia Selene Guimarães Costa Vendruscolo

**PREVALÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DA LEISHMANIOSE
VISCERAL CANINA EM LOCALIDADES DO DISTRITO DO TIRIRICAL NO
MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS, MARANHÃO**

Dissertação apresentada como
requisito parcial para obtenção do grau
de Mestre em Ciência Animal

Área de Concentração: Medicina Veterinária Preventiva

Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Lucia Abreu Silva

São Luís - MA
2010

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em 17 de setembro de 2010
pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. José Sampaio de Mattos Júnior
Doutor em Geografia- UEMA
1ª Membro

Prof.ª Alcina Vieira de Carvalho Neta
Doutora em Ciência Animal- UEMA
2º Membro

Prof.ª Dra. Ana Lucia Abreu Silva
Orientadora/UEMA

Dedico esta Dissertação,

*aos cães que participaram desta pesquisa e a todos os animais por
serem uma das manifestações do amor de Deus aqui na terra,
oferecendo-nos alimento, servindo como transporte e nos doando
companhia, lealdade e amor incondicionais*

A vocês, minha eterna gratidão!

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por me guiar todos os dias de minha vida e ao longo desta caminhada.

Aos meus pais, Antonio Pereira Costa e Maria do Nazaré Guimarães Costa, por terem me dado a vida e educação, além dos ensinamentos de amor e respeito ao próximo.

Ao meu marido, companheiro e grande amor da minha vida, Régis Ferreira Vendruscolo, por todo o carinho, incentivo, apoio incondicional, paciência e compreensão nos momentos de ausência, nervosismo e de mau-humor durante a realização deste trabalho.

A Universidade Estadual do Maranhão, por toda a estrutura e pela oportunidade de realização da Pós-Graduação.

A Prof.^a Dra. Ana Lucia Abreu Silva, pela orientação, pelos ensinamentos repassados, e por confiar em mim para execução deste trabalho.

A Fundação de amparo à pesquisa e ao desenvolvimento tecnológico do Maranhão (FAPEMA), pelo suporte financeiro concedido.

A Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual do Maranhão, pela oportunidade e apoio.

Ao Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) pelas informações concedidas indispensáveis para realização desta pesquisa.

Ao Instituto Municipal da Cidade, Pesquisa e Planejamento Urbano e Rural (INCID), pelos dados fornecidos referentes ao município de São Luís.

A Médica Veterinária, Maria do Carmo, diretora da Divisão de Controle de Vetores do Centro de Controle de Zoonoses, por toda atenção e por ter permitido o acesso aos registros de casos de leishmaniose visceral humana e canina.

Ao meu amigo, professor e orientador sempre, Prof.^o Dr. Rudson Almeida de Oliveira, pela amizade inestimável, apoio, confiança e por suas palavras mágicas que sempre me trouxeram conforto nos momentos difíceis e angustiantes ao longo desta caminhada na graduação e pós-graduação.

Ao querido professor Msc. Hailton Rogéris, a quem tenho tamanha admiração e carinho, por ter me apresentado à Doutrina Espírita, que iluminou a minha vida e me trouxe as respostas e o entendimento dos quais eu precisava.

Ao técnico-pesquisador Jucivan Ribeiro Lopes, do laboratório de Geoprocessamento do Núcleo Geoambiental da Universidade Estadual do Maranhão, pela sua preciosa atenção e colaboração no acesso ao banco de dados e na elaboração dos mapas temáticos.

Ao prof.^o Msc. Maurício Rangel, do departamento de geociências da Universidade Federal do Maranhão, por todos os ensinamentos sobre geoprocessamento e os softwares ArcGis e Spring.

Ao Prof.^o Dr. Antonio Augusto Moura da Silva, do departamento de Saúde Pública, do Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva da Universidade Federal do Maranhão, por ter me orientado na análise estatística e por todo apoio a mim oferecido.

Ao Prof.^o Dr. Valene, por seu inestimável apoio e incentivo sempre.

A amiga Médica Veterinária, Alberluce Castro de Menezes, pela sua valiosa amizade ao longo de todos esses anos, por todo amor, atenção, apoio e ajuda sempre.

A amiga Médica Veterinária, Ana Maria Monteles Silva Diniz, exemplo de competência profissional e amor aos animais, que muito me ajudou nesta pesquisa, sempre com palavras de conforto e otimismo, e por sua amizade verdadeira.

A amiga Médica veterinária, Sofia Sousa Sales, pela querida amizade, convivência, troca de experiências, incentivo e colaboração valiosa nos momentos mais importantes desta dissertação.

Aos acadêmicos de veterinária, Gabriel Xavier, Isabelle Oliveira, Isadora de Fátima, Mysa, Silvana, Carlos Eduardo e Alessandra, pela importantíssima ajuda, sob sol e chuva, nos dias de coleta a campo, sempre dispostos a aprender e colaborar com a pesquisa.

Aos colegas de curso de Mestrado, Francisca Andréa, Elba Pereira, George Montalvane, Ana Paula Pereira, Joyce Bittencourt, Danilo Bezerra, Márcia Santos, Caroline Machado, Selma Abib e Sonizeth Santana, por todos os momentos compartilhados ao longo desta trajetória;

A todos os professores do Curso de Mestrado em Ciência Animal, por nos repassarem seus conhecimentos com muita dedicação e compromisso.

Aos meus filhos Flyper (*in memorian*), Ruck, Lyon e Puca por suavizarem os momentos mais difíceis desta jornada me oferecendo muito amor e carinho sempre.

Enfim, agradeço a todos que durante essa caminhada estiveram sempre ao meu lado, me apoiando e incentivando. Meus eternos agradecimentos!

*“Se projetas alguma coisa, ela te sairá bem, e a luz brilhará em
teus caminhos”.*

Jó 22, 28.

VENDRUSCOLO, N. S. G. C. **PREVALÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA EM LOCALIDADES DO DISTRITO DO TIRIRICAL NO MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS- MARANHÃO.** [PREVALENCE AND SPATIAL DISTRIBUTION OF CANINE VISCERAL LEISHMANIASIS IN LOCALITIES FROM TIRIRICAL DISTRICT IN THE MUNICIPALITY OF SÃO LUÍS, MARANHÃO] 2010.111 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2010.

RESUMO

No final da década de 90, verificou-se um aumento do número de casos, expansão geográfica e a urbanização da leishmaniose visceral no Brasil. As alterações climáticas, desmatamentos, migração para centros urbanos, saneamento básico precário e descontinuidade das ações de controle, são incriminados como fatores responsáveis pela endemicidade desta zoonose. O cão é considerado o principal reservatório epidemiológico da LV no ambiente doméstico, sendo que os casos caninos geralmente precedem os humanos. Por ser o distrito do Tirirical o maior notificador de casos caninos e humanos da LV, nos últimos vinte anos no município de São Luís-MA, objetivou-se determinar a prevalência e distribuição espacial da LVC em localidades da zona urbana e rural do distrito, a fim de encontrar relação com as condições sócioeconômicas, ambientais e a ocorrência do fenômeno El Niño. 270 cães, de seis localidades, foram avaliados utilizando a técnica molecular PCR, com aplicação de questionário aos proprietários para identificação de possíveis fatores de risco, assim como a realização do georreferenciamento das residências no momento da colheita. Verificou-se uma prevalência canina de 37,04% (n=100) no distrito, sendo a zona rural a que obteve maior prevalência (42,22%), porém sem diferença estatística. A análise univariada não associou nenhuma variável perguntada no questionário, como fator de risco para LVC. Condições precárias de saneamento básico, a proximidade com o aterro municipal, aliadas à baixa renda dos moradores, à alta densidade populacional e à expansão urbana desordenada nas localidades estudadas, são provavelmente algumas das causas responsáveis pelas altas taxas de prevalência nesse distrito. Observou-se que o efeito indireto do El Niño também contribuiu com uma maior prevalência da leishmaniose canina, devido ao aumento da migração de pessoas com seus animais para o no município de São Luís.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral canina, PCR, variáveis sócioeconômicas e ambientais, geoprocessamento, São Luís.

VENDRUSCOLO, N. S. G. C. **PREVALENCE AND SPATIAL DISTRIBUTION OF CANINE VISCERAL LEISHMANIASIS IN LOCALITIES FROM TIRIRICAL DISTRICT IN THE MUNICIPALITY OF SÃO LUÍS, MARANHÃO** [PREVALÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA EM LOCALIDADES DO DISTRITO DO TIRIRICAL NO MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS, MARANHÃO] 2010. 111 f. Dissertation (Master of Animal Science) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2010.

ABSTRACT

In the end of 90's decade it was observed an augment of the number of cases, geographic expansion and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. The climate changes, deforestation, migration of people to urban areas, poor sanitation conditions and discontinuity of control measures are incriminated as responsible factor by the endemicity of this zoonosis. Canine is considered as main epidemiological reservoir of human visceral leishmaniasis in domestic environment, normally the canine cases precede human cases. The district of Tirirical was chosen due to higher number of human and canine cases during the last twenty years. The aim of this work was to determine the prevalence and spatial distribution in urban and rural zone of this district in order to verify if there is relation among socioeconomic and environmental conditions with El Niño occurrence. Blood samples were collected from 270 canines from six localities, which were submitted to PCR technique. Besides, the georeferencing data, a questionnaire was applied to identify the risk factor. The results showed that using the molecular technique the prevalence of canine visceral leishmaniasis was 37.04%, although no statistical difference had been observed, the animals from rural area presented a higher prevalence (42.22%). The univariate analysis did not reveal any association with the questions answered by the dog owner's as risk factors for leishmaniasis. Despite that, we believe that precarious conditions of sanitation, nearness of municipal sanitary embankment, untidy urban area expansion probably have been contribute to maintenance of the higher prevalence of this district. It was also observed that the indirect effect of the El Niño phenomena has influence in the prevalence of this canine disease once that during the occurrence of the El Niño phenomena increased the flux of migration to São Luís Municipality.

Key words: canine visceral leishmaniasis, PCR, socioeconomic and environmental variables, geoprocessing and São Luís.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 Histórico.....	18
2.2 Distribuição geográfica.....	20
2.3 O Parasito.....	21
2.4 Epidemiologia.....	21
2.5 Leishmaniose visceral canina.....	24
2.6 Vetor.....	27
2.7 Diagnóstico.....	29
2.8 Distribuição espacial de doenças e o geoprocessamento.....	33
3 OBJETIVOS.....	35
3.1 Geral.....	35
3.2 Específicos.....	35
4 MATERIAIS E MÉTODO.....	36
4.1 Seleção da área de estudo.....	37
4.2 Seleção da população.....	39
4.3 Amostragem.....	39
4.4 Colheita de dados.....	40
4.5 Análise estatística.....	45
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
6 CONCLUSÕES.....	76
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	76
REFERÊNCIAS.....	78
APÊNDICE.....	98

LISTA DE TABELAS

	Página
1. Prevalência da infecção por <i>L. chagasi</i> em cães de seis localidades do distrito do Tirirical, utilizando a técnica molecular PCR, São Luís- MA, 2010.....	46
2. Análise univariada da zona de origem como fator de risco para LV em cães no distrito do Tirirical, São Luís-MA, 2010.....	50
3. Média percentual das variáveis demográficas, sócioeconômicas e ambientais das localidades do distrito do Tirirical, de acordo com o IBGE (2000), e prevalência da LVC, São Luís-MA, 2010.....	51
4. Análise univariada dos fatores de risco relacionados ao hospedeiro canino para LVC nas localidades do distrito do Tirirical, São Luís- MA, 2010.....	53
5. Análise univariada dos fatores de risco sócioeconômicos e ambientais para LVC nas localidades do distrito do Tirirical, São Luís- MA, 2010.....	54
6. Registros do número de casos de leishmaniose visceral humana, percentual de reatores para leishmaniose visceral canina, valores anuais de temperatura média, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica do município de São Luís, e ocorrência do El Niño, no período de 1999 a 2009, São Luís, 2010.....	72

LISTA DE MAPAS

	Página
1. Ilha de São Luís com a divisão municipal e população urbana e rural por município. Escala 1:50.000. São Luís, 2010. Fonte: NUGEO/UEMA; IBGE(2007).....	38
2. Localização espacial dos sete distritos sanitários do município de São Luís. Escala 1:50.000. São Luís, 2010.....	59
3. Sete distritos sanitários do município de São Luís com os pontos georreferenciados e positivos para infecção por <i>L. chagasi</i> , no distrito do Tirirical. Escala 1:50.000. São Luís, 2010.....	62
4. Uso e crescimento urbano da Ilha de São Luís no período de 1984 a 2004. Escala 1:50.000. São Luís, 2010.....	63
5. Uso e crescimento urbano da Ilha de São Luís no período de 1984 a 2004, com a sobreposição dos pontos georreferenciados e positivos para infecção por <i>L. chagasi</i> , no distrito do Tirirical. Escala 1:50.000. São Luís, 2010.....	65
6. Uso da terra (ano 2004) na Ilha de São Luís. Escala 1:50.000. São Luís, 2010.....	67
7. Distância em linha reta do aterro municipal da ribeira para os pontos georreferenciados e positivos para infecção por <i>L. chagasi</i> , no distrito do Tirirical. Escala 1:50.000. São Luís, 2010.....	69
8. Ocupação urbana (ano 1984) da Ilha de São Luís. Escala 1:50.000. São Luís, 2010.....	103
9. Ocupação urbana (ano 2004) da Ilha de São Luís. Escala 1:50.000. São Luís, 2010.....	105

LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Eletroforese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo. Visualização da amplificação do KDNA de <i>L. chagasi</i> em três amostras, realizada na PCR a partir dos primers RV1 e RV2. São Luís, 2010.....	48
2. Detalhe da imagem de satélite CBERS (ano 2004) do distrito do Tirirical com os pontos positivos para <i>L. chagasi</i> de acordo com a localidade. Escala 1:50.000, resolução espacial 30m. São Luís, 2010.....	60

APÊNDICE

	Página
1. Questionário Epidemiológico.....	99
2. Variáveis escolhidas dos setores censitários do Censo Demográfico- IBGE (2000).....	100
3. Imagem de satélite CBERS (ano 2004) da Ilha de São Luís com a divisão territorial dos quatro municípios e divisão dos sete distritos sanitários do município de São Luís-MA. Escala 1:50.000, resolução espacial 30m. São Luís, 2010.....	101
4. Ocupação urbana (ano 1984) da Ilha de São Luís - Imagem de satélite LandSat, resolução espacial 30m. Escala 1:50.000, São Luís, 2010.....	102
5. Ocupação urbana (ano 2004) da Ilha de São Luís - Imagem de satélite CBERS, resolução espacial 30m. Escala 1:50.000, São Luís, 2010.....	104
6. Imagens das seis localidades do distrito do Tirirical trabalhadas na pesquisa.....	106
7. Imagens do trabalho a campo.....	110

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CCZ- Centro de Controle de Zoonoses

CEEA/CMV/UEMA - Comitê de Ética em Experimentação Animal do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão

CBERS- China-Brazil Earth Resources Satellite (Satélite Sino-brasileiro de Recursos Terrestres)

DTN – Doença Tropical Negligenciada

FUNASA- Fundação Nacional de Saúde

GPS- Global Positioning System (Sistema de Posicionamento Global)

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IEA- Associação Internacional de Epidemiologia

INCID- Instituto Municipal da Cidade, Pesquisa e Planejamento Urbano e Rural

INPE- Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais

IVDN- Índice de vegetação de diferença normalizada

LANDSAT 5 -TM- Land Satellite (Satélite da Superfície Terrestre) 5, Thematic Mapper (sensor mapeador temático)

LV – Leishmaniose Visceral

LVH - Leishmaniose Visceral Humana

LVC- Leishmaniose Visceral Canina

NUGEO- Núcleo Geoambiental da UEMA

OIE- Organização Mundial de Saúde Animal

PVCLV- Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral

PCR- Polymerase Chain Reaction (Reação em Cadeia da Polymerase)

SEMUS - Secretaria Municipal de Saúde

SIG – Sistema de Informação Geográfica

SR – Sensoriamento Remoto

SAD 69- Datum Sulamericano de 1969

UTM- Universal Transverso de Mercator

WHO/ OMS - World Health Organization/ Organização Mundial da Saúde

1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses são consideradas, pela Organização Mundial da Saúde (OMS), uma das seis mais importantes doenças infecciosas mundiais, de caráter zoonótico, cujo parasito é transmitido por insetos conhecidos popularmente como flebotomíneos, possuindo reservatórios silvestres e domésticos na natureza (SANCHEZ-TEJEDA et al., 2001). Estão distribuídas no Velho e Novo Mundo com ampla diversidade epidemiológica, sendo causadas por aproximadamente 20 espécies de *Leishmania*, protozoário transmitido pela picada da fêmea do flebotomíneo (LACHAUD et al., 2002).

A leishmaniose visceral (LV) ou calazar, causada por *Leishmania chagasi*, é uma doença crônica com sintomatologia sistêmica, frequentemente fatal, atingindo crianças, adultos jovens ou pessoas imunodeprimidas, comum na região do Mediterrâneo e América Latina (CORRÊA & CORRÊA, 1992; VERONESI & FOCACCIA, 1996; LACHAUD et al., 2002). No Estado do Maranhão a expansão da LV ocorre predominantemente nas áreas periurbanas dos municípios localizados na Ilha de São Luís.

A OMS relata que o impacto causado pelas leishmanioses na saúde pública tem sido subestimado por muitos anos. Ao longo dos últimos 10 anos, têm surgido novas regiões endêmicas, onde se observa aumento significativo na prevalência das leishmanioses. O número de casos não registrados deve ser substancial, pois a notificação é obrigatória em apenas 32 dos 88 países afetados, onde 350 milhões de pessoas estão em risco (READY, 2008).

No ambiente doméstico, o cão é considerado o principal reservatório epidemiológico da leishmaniose visceral, o que gera dificuldades no controle da doença (PETERS & KILLICK-KENDRICK, 1987; SANTA ROSA & OLIVEIRA, 1997; CARDOSO & CABRAL, 1998; CAMPINO, 2002), sendo reconhecida como um grave problema de saúde animal (MARTY et al., 1992; SEMIÃO-SANTOS et al., 1995).

Por vários anos a leishmaniose visceral canina (LVC) não estava incluída na lista das doenças de notificação obrigatória pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), no entanto, dada a importância para a saúde

pública, não só na região do Mediterrâneo, mas também em muitos países tropicais da América Latina, a partir de 2005 foi inserida na lista de doenças notificadas (OIE, 2005).

Os vetores da LV são dípteros do gênero *Phlebotomus*, no Velho Mundo, e *Lutzomyia* no continente americano. No Brasil o *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) é o mais importante vetor (GONTIJO & MELO, 2004; CAMARGO-NEVES, 2005). Estudos realizados na ilha de São Luís, Estado do Maranhão mostram que o *L. longipalpis* adapta-se ao convívio com o homem e os animais domésticos (REBÊLO et al., 1999a,b). Esses vetores podem ser encontrados durante a noite, em todos os meses do ano, associados com animais domésticos e com o homem, nas suas habitações (REBÊLO, 2001).

O ambiente e as doenças tropicais estão relacionados com as condições sanitárias e o comportamento humano, tanto pelas atividades pessoais como organizações sociais. O aumento dos fatores de risco relacionados às mudanças ambientais, naturais e antrópicas, está tornando as leishmanioses um crescente problema de saúde pública em muitos países por todo o mundo (DESJEUX, 2001).

De acordo com Costa et al. (1995), a presença de migrantes em áreas endêmicas nas periferias urbanas de São Luís contribuiu como fonte de infecção de indivíduos susceptíveis; e a domiciliação do vetor *L. longipalpis* poderia ser estimulado por fatores como a urbanização recente por destruição de ecótopos silvestres, pela oferta de fontes alimentares humanas e animais, pela arborização abundante em quintais, criadouros ou acúmulo de lixo, presença de abrigos de animais silvestres dentro do perímetro urbano.

Estudos realizados por pesquisadores da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) demonstraram que a prevalência em duas localidades do município de São José de Ribamar foi de 21% (Quinta) e 25% (Vila Sérgio Tamer), ambos os municípios da Ilha de São Luís (GUIMARÃES et al., 2005). No município de São Luís, dados recentes mostram que em determinadas localidades do distrito do Tirirical a soroprevalência pode atingir índices superiores a 70% (OLIVEIRA et al., 2006).

A pesquisa de Mendes et al. (2002), demonstrou que a ocupação espacial no município de São Luís e a expansão da leishmaniose visceral nos anos de 1982 a 1996, com casos da enfermidade ao longo da evolução da epidemia em São Luís, teve uma distribuição espacial e concentração semelhantes a apresentada pelo fluxo migratório na cidade durante o período estudado.

Há um risco permanente por todo o mundo do ressurgimento das leishmanioses não somente devido ao aparecimento de novos fatores de risco, mas também pelo inesperado aumento de casos identificados. Uma permanente atenção baseada numa contínua educação em saúde e uma rigorosa vigilância incluindo sistemas de alerta rápido são cruciais para reduzir os riscos. Novas metodologias como os sistemas de informações geográficas (SIG) e sensoriamento remoto (SR) podem trazer uma contribuição positiva para esses esforços (DESJEUX, 2001).

Os Sistemas de Informações Geográficas (SIG) têm se destacado como uma das tecnologias de geoprocessamento, principalmente nas análises que envolvem fatores ambientais e epidemiológicos. Os SIG's têm sido apontados como instrumentos de integração de dados ambientais com dados de saúde, permitindo uma melhor caracterização e mesmo quantificação da exposição (proximidade a fontes de emissão de poluentes, presença de focos de vetores de doença) e seus possíveis resultados, os agravos à saúde (BARCELLOS et. al, 1997; ROJAS et. al, 1999).

A oferta de sensores com diversas resoluções espectrais, espaciais e temporais, aliado aos sistemas de informação geográfica e técnicas de modelagem estatística, aumenta as possibilidades de uso do sensoriamento remoto (SR) no estudo de endemias (CORREIA et al., 2005). O georreferenciamento dos dados permite mostrar correlação entre os setores em que há ocorrência de infecção humana e aqueles com altas taxas de prevalência canina, assim como destes com os setores em que existem densidades mais elevadas de *L. longipalpis*, ainda que em base apenas visual, sem que fosse testada esta associação (CAMARGO-NEVES et al., 2001).

Levando-se em consideração o número reduzido de trabalhos científicos no Estado do Maranhão, na área da saúde que utilize tecnologias de geoprocessamento para auxiliar no entendimento sobre a influência ambiental como fator contribuinte na endemicidade da leishmaniose visceral canina, justifica-se a realização desta pesquisa.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico

A leishmaniose visceral foi descrita inicialmente na Grécia em 1835 e recebeu o nome de ponos ou hapoplinacon. Trinta e quatro anos depois recebeu na Índia, a denominação de kala-azar que em hindu significa febre negra. Essa denominação foi devido ao discreto aumento da pigmentação da pele em pacientes com a doença (MARZOCHI et al., 1981).

Em 1900, William Leishman identificou as formas amastigotas em uma punção aspirativa de baço de um soldado indiano que viera a óbito em consequência do kala-azar. Em 1903 Charles Donovan, em um estudo independente encontrou o mesmo parasito em outro paciente. No mesmo ano, Major Ross classificou esse parasito em *Leishmania donovani* criando assim o gênero *Leishmania* (BADARÓ & DUARTE, 1996; PRATA & SILVA, 2005).

Em 1908, na Tunísia, Nicolle confirmou a hipótese que o cão participava da cadeia epidemiológica da leishmaniose, como hospedeiro intermediário. Posteriormente foram relatados casos da doença canina em países asiáticos como Índia e China; e na Espanha, Itália, Grécia, Malta, França, Argélia e em outros países mediterrâneos.

Entre 1936 e 1939, Evandro Chagas realizou extensos estudos que demonstraram a doença no homem e em cães, bem como a infecção do flebótomo *L. longipalpis*, que foi incriminado como provável vetor. Em 1936, Evandro Chagas descreveu o primeiro caso in vivo de leishmaniose visceral no Brasil e em 1937, Cunha e Chagas estabeleceram o seu agente etiológico,

denominando-o de *Leishmania donovani chagasi* (BADARÓ & DUARTE, 1996; GENARO, 2003).

Marques da Cunha ainda em 1938, também descreveu em detalhes a infecção canina e o parasitismo dérmico, e mostrou que a evolução da LV em cães era igual à da região mediterrânea (PESSÔA, 1963).

O primeiro surto de LV no Brasil foi relatado no Ceará por Pessôa, em 1953, que chamou a atenção para novos aspectos epidemiológicos da doença, isto é, a predominância na área rural, mas também de ocorrência nas zonas suburbanas e urbanas. No período de 1953 a 1965 foi plenamente reconhecida como endêmica no Brasil e de maior expressividade na América Latina (PESSÔA, 1963; RIBEIRO, 2003).

Em 1956, no Brasil, Deane e Alencar elucidaram os aspectos epidemiológicos da Leishmaniose no Ceará, definiram se tratar de zoonose e encontraram um reservatório silvestre infectado, a raposa (*Lycalopex vetulus*), e sugeriram métodos diagnósticos que facilitaram as investigações e conhecimento da doença (MARZOCHI et al., 1981).

No ano de 1958, Forattini encontrou roedores silvestres infectados com *L. donovani* em florestas do Estado de São Paulo (DEANE & VERONESI, 1962).

A reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) foi estudada por Duxbury e Sadun em 1964, sendo indicada como opção de diagnóstico sorológico (ALVES & BEVILACQUA, 2004). Nos anos 70 inicia o uso dos testes imunoenzimáticos Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), como valioso instrumento de diagnóstico (MEDEIROS et al., 2005).

A LVH passa a ser doença de notificação compulsória no Brasil em 1978 (BRASIL, 2003). Em 1985, na Espanha, foi descrito o primeiro caso de coinfeção Leishmania/HIV. A partir daí diversos casos têm sido relatados inclusive no Brasil (MEDEIROS et al., 2005).

2.2 Distribuição geográfica

A LV pode ser classificada como doença de ampla abrangência geográfica, presente em todos os continentes, exceto Antártica e Oceania. É registrada em 94 países, 67 no Velho Mundo e 27 no Novo Mundo (CAMARGO-NEVES, 2005).

É endêmica em 62 países. Aproximadamente 90% dos casos ocorrem em cinco países: Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão e Brasil. A doença atinge principalmente as populações pobres desses países. Na Índia o caráter é predominantemente urbano (GONTIJO & MELO, 2004).

Nas Américas são registrados casos autóctones. Os países Argentina, Bolívia, Colômbia, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Paraguai, Venezuela e Brasil, são responsáveis por 90% dos casos que ocorrem no continente americano (MARTÍN, 1979; VARGAS-DIAZ & YÉPEZ, 2004).

O segundo país com maior número de casos na América do Sul é a Venezuela; tem registro de cerca de 150 casos em 14 das 23 unidades federativas onde se considera a existência de três grandes focos (PESSÔA & MARTINS, 1988; VARGAS-DIAZ & YÉPEZ, 2004; MEDEIROS et al., 2005).

No Brasil, foi detectada em quase todos os Estados brasileiros, inclusive no Rio Grande do Sul (SOUZA et al., 2009). As principais áreas atingidas, em escala de importância são as regiões Nordeste, Sudeste, Norte e Centro-Oeste (CAMARGO-NEVES & SANTUCCI, 2000-2001; FREHSE et al., 2010). Em relação ao Nordeste, destacam-se os Estados do Maranhão, Piauí, Ceará e Bahia (COSTA & PEREIRA, 1990).

No Estado do Maranhão, desde o ano de 1982, a LV representa uma endemia, com surtos epidêmicos nos anos de 1984-1985, 1993-1994 e 1998-2001, sendo que nos anos de 1999 e 2000 o Estado foi o maior notificador de casos à Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). A Ilha de São Luís responde por uma importante parcela destes casos, com destaque para os municípios de São Luís e Paço do Lumiar (NASCIMENTO et al., 2006).

2.3 O Parasito

Existe uma grande polêmica em torno da origem da LV no Novo Mundo. Há duas hipóteses: de acordo com a primeira, o agente causal da LV foi introduzido na época da colonização européia por meio de humanos e cães que haviam contraído a *L. Infantum* na Bacia do Mediterrâneo. A outra hipótese, mais aceita pela maioria dos pesquisadores brasileiros, postula que o parasito foi introduzido com os canídeos e há milhares de anos habitam o Continente Americano, sendo, portanto, uma zoonose autóctone das Américas, onde raposas *Lycalopex vetulus* e *Cerdocyon thous* desempenham o papel de reservatórios naturais. De acordo com a hipótese dos brasileiros a espécie causadora da doença no Novo Mundo é a *Leishmania chagasi*. As altas taxas de infecção em canídeos originários da Amazônia sugerem a origem autóctone. Por outro lado, estudos com técnicas bioquímicas e moleculares consideram a *L. chagasi* e a *L. infantum* uma única espécie e aceitam a hipótese de origem recente nas Américas (MAURICIO et al., 2000; GONTIJO & MELO, 2004).

2.4 Epidemiologia

Na América Latina, postula-se que o ciclo de transmissão da *L. chagasi* foi estabelecido devido à abundância do vetor (*L. longipalpis*) no ambiente peridoméstico. O parasitismo e a doença são observados em climas tropicais, subtropicais e climas temperados, onde existem condições propícias para o desenvolvimento do inseto-vetor. Dessa forma, após uma estação de chuva bem marcada, ocorre um aumento na densidade dos flebotomíneos transmissores, o que culmina com um surto da doença três meses após o período chuvoso (DEANE & DEANE, 1962).

Alguns casos esporádicos de leishmaniose têm sido relatados mesmo em locais onde flebotomíneos estão ausentes ou presentes em densidades muito baixas, como no leste dos Estados Unidos e Canadá (DUPREY et al., 2006) e na Alemanha (HARMS et al., 2003; NAUCKE & SCHMITT, 2004). Segundo estes autores, a maioria dos casos ocorre em cães,

provavelmente devido à importação de cães ou proprietários que viajam e levam seus cães para regiões endêmicas, seguida da transmissão vertical da mãe para o filhote. A transmissão vertical em humanos é raramente relatada.

No final da década de 90, verificou-se um aumento do número de casos, expansão geográfica e a urbanização da doença no Brasil. O Ministério da Saúde convocou em 2000 um comitê de especialistas para reavaliar as estratégias de controle e redirecionar as ações visando a racionalização da atuação. Em 2003 é publicado o Manual do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral - PVCLV (BRASIL, 2003).

Nas últimas décadas ocorreram profundas mudanças na estrutura agrária do Brasil, que resultaram na migração de grande contingente populacional para centros urbanos, levando para a periferia das cidades, populações humanas e caninas de áreas rurais onde a doença era endêmica. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas (IBGE), 85% da população do país vive em áreas urbanas, criando condições favoráveis para a emergência e reemergência de doenças (BRASIL, 2002; GONTIJO & MELO, 2004).

Como a urbanização é um fenômeno relativamente novo, pouco se conhece sobre a epidemiologia da LV nos focos urbanos, porém as relações entre os componentes da cadeia de transmissão no cenário urbano são mais complexas e variadas que no meio rural (GONTIJO e MELO, 2004; MEDEIROS et al., 2005).

No Brasil, em algumas regiões, as condições precárias de vida da população, desmatamento, ocupação desordenada e irregular dos ambientes urbanos, desnutrição e imunossupressão são alguns dos fatores que estão relacionados com a disseminação da LV nas últimas décadas (GUIMARÃES et al., 2005; WERNECK, 2010).

Alterações ambientais muitas vezes modificam os padrões de transmissão de doenças transmitidas por vetores, através de seus efeitos nas diferentes escalas ecológicas (ecozonas, biomas e ecótopos). O Clima poderia modificar o espaço e a distribuição temporal das leishmanioses, porque os diferentes ciclos de transmissão possuem paisagens epidemiológicas distintas.

Mudanças climáticas podem afetar a distribuição da leishmaniose de três formas: Diretamente, através do efeito da temperatura sobre o desenvolvimento do parasito; indiretamente, pelo efeito da temperatura e outras variáveis ambientais sobre as diversas espécies de flebotomíneos que atuam como vetores; indiretamente, através de mudanças sócioeconômicas que afetam a quantidade de contato humano com os ciclos de transmissão (READY, 2008).

Quanto ao efeito direto da mudança climática é sabido que fêmeas de flebotomíneos procuram abrigo e locais de descanso para a digestão do sangue e que a temperatura afeta o desenvolvimento de formas infectantes de *Leishmania* em vísceras de flebotomíneos (BATES, 2007).

As leishmanioses são relacionadas às mudanças ambientais provocadas por desmatamento, construção de barragens, e por novos sistemas de irrigação, urbanização e migração de pessoas não imunes para áreas endêmicas. Epidemias têm atrasado significativamente a implementação de programas de desenvolvimento; isto é particularmente verdadeiro na bacia amazônica, as regiões tropicais dos países andinos, Marrocos e Arábia Saudita (WHO, 2010).

Vários fatores são atribuídos à expansão da ocorrência da LV no Brasil, entre eles as mudanças ambientais como as alterações climáticas e os desmatamentos que reduziram a disponibilidade de alimento para o inseto transmissor no ambiente rural, e que, como alternativas mais acessíveis, encontra o cão e o homem para realizarem o repasto. A redução dos investimentos em saúde e educação e a descontinuidade das ações de controle, assim como a adaptação do vetor aos ambientes modificados pelo homem, além do pouco conhecimento sobre as variantes genéticas, hábitos alimentares e reprodutivos são fatores contribuintes para permanência desta zoonose. Novos fatores imunossupressivos, como a infecção pelo HIV e dificuldades de controle da doença em grandes aglomerados urbanos, com problemas de desnutrição, condições precárias de moradia e saneamento básico podem ser citados (BRASIL, 2002; MEDEIROS et al., 2005, WERNECK et al., 2007).

Carvalho et al. (2000) definem os dados sócioambientais como informações sobre a população e geralmente incluem idade, escolaridade, condição de emprego, renda, condições de moradia - abastecimento de água, esgotamento sanitário, coleta de lixo, número de banheiros e cômodos do domicílio, entre outros.

A análise do perfil sócioambiental da população acometida no Maranhão demonstrou relação com o tipo de abastecimento de água. Apenas 2,5% da população estudada, dispunha de água encanada, indicando que a maior parte se deslocava para promover o abastecimento de casa, se expondo mais ao vetor, e esta variável foi associada à infecção (NASCIMENTO et al., 2005).

2.5 Leishmaniose visceral canina

No Brasil, os primeiros estudos em relação à LVC são do Estado do Pará, com relatos de vários casos (CHAGAS et al., 1938); no Piauí, nos municípios de Luís Correia, Buriti dos Lopes, Campo Maior, Piracuruca (ALENCAR, 1958); no Ceará, em Sobral, Massapê, Viçosa (DEANE & DEANE, 1954); em Pernambuco, no município de Exu (PONDÉ et al., 1942) e em Minas Gerais, nos municípios de Tarumirim e Café (BRENER, 1957). Em São Luís, Estado do Maranhão, os primeiros relatos de aspectos clínicos da LVC foram descritos por Cardoso et al. (1984).

Marzochi & Marzochi (1997), afirmam que o papel do cão na LV é bem conhecido; em todos os focos endêmicos da doença humana, esses animais apresentam alta prevalência de infecção e riqueza de parasitismo cutâneo, sendo elevada a proporção de infecções inaparentes. A prevalência em áreas endêmicas pode atingir 20 a 60% dos sororreagentes; nesses locais, a incidência na população humana é de cerca de 1 a 2% (FEITOSA et al., 2000; BRASIL, 2003).

O cão apresenta variação no quadro clínico da LV, passando de animais aparentemente saudáveis a oligossintomáticos, podendo chegar a

estágios graves da doença com intenso parasitismo cutâneo (FEITOSA et al., 2000; SILVA et al., 2001; RONDON et al., 2008).

A maioria dos cães infectados não apresenta sinais clínicos (LANOTTE et al., 1975; MANCIANTI et al., 1986; CABRAL et al., 1998; SIDERIS et al., 1999), e há evidências de que as taxas de prevalência da infecção são maiores que as encontradas por estudos sorológicos. Por isso, testes diagnósticos confiáveis são requisitados para a detecção da LVC em cães sintomáticos e assintomáticos (LACHAUD et al., 2002).

A LVC pode ser considerada uma doença imunomediada devido à capacidade do parasito em modificar o sistema imunológico do hospedeiro (FERRER et al., 1991). Dependendo da imunocompetência do hospedeiro, os sinais clínicos tornam-se evidentes dentro de um período que varia entre três meses a vários anos (FERRER et al., 1995).

Cães com idade inferior a nove meses raramente apresentam anticorpos anti -Leishmania positivos, devido ao longo período de incubação (SOUZA, 2005). Não há predisposição racial, alguns trabalhos inferem maior incidência em cães de caça e nos de grande porte, possivelmente por ficarem mais expostos aos vetores (KOUTINAS et al., 1999). Estudo conduzido em São Paulo não verificou associação entre sexo, idade, raça ou comprimento do pêlo; foi verificada maior freqüência da infecção em cães de maior porte e nos que dormiam no peridomicílio (GLASSER, 2005). Já França-Silva (2003), numa amostra de quase 34.000 casos, verificou maior incidência em cães de pêlo curto.

Estudos realizados por Leandro et al. (2001) em cães natural e experimentalmente infectados por *L. infantum*, detectaram que cães com doença progressiva apresentaram resposta imunológica celular e humoral. Por outro lado identificaram um grupo de cães assintomáticos que desenvolveu resposta linfoproliferativa significativa para o antígeno do parasito associada a ausência de resposta humoral. E, paradoxalmente, um outro grupo de cães assintomáticos apresentou simultaneamente resposta celular e humoral.

Os sinais mais comuns da LVC são alterações dermatológicas como a alopecia simétrica, local ou generalizada e sem prurido, que inicia pela cabeça, principalmente ao redor dos olhos, expondo grandes áreas de pele ao vetor. As lesões cutâneas têm sido explicadas tanto pela ação direta do parasito no folículo piloso quanto por distúrbio metabólico do ácido pantotênico provocado pelas lesões hepáticas, ou ainda por deposição de imunocomplexos na pele, que induz um processo auto-imune desencadeador da alopecia. Seborréia localizada ou generalizada, dermatites, úlceras cutâneas e hiperqueratose, descamação e queratite intersticial são outras alterações que podem ser identificadas (FERRER et al., 1988; FEITOSA et al., 2000; GENARO, 2003; BRASIL, 2003; GUIMARÃES et al., 2005).

Desta forma, o cão tem sido considerado o mais susceptível do ciclo de transmissão de *L. chagasi*, mas a infecção não significa necessariamente, a doença ativa, e cães infectados da mesma área endêmica podem desenvolver diferentes respostas imunológicas, como as avaliadas pela reação de hipersensibilidade tardia específica em teste de *Leishmania* na pele, e por ensaios de estimulação *in vitro* usando antígenos de *Leishmania* (CARDOSO & CABRAL, 1998).

Depois da infecção, alguns cães podem controlar o parasito e não desenvolver a doença por curto prazo, algumas vezes, por anos ou por toda vida; entretanto, outros cães infectados apresentam a doença progressiva. Dependendo da imunocompetência do hospedeiro, na LVC os sintomas podem tornar-se evidentes no período de um mês a sete anos (KEENAN et al., 1984; SLAPPENDEL, 1988).

Cerca de 90% dos animais apresentam sintomatologia cutânea, contudo são raras alterações dermatológicas na ausência de outros sinais da doença (SLAPPENDEL, 1988). Estudos realizados por um longo prazo, na região de Priorato (Catalunia, Espanha), revelaram que 15% de todos os cães infectados foram capazes de manter a doença sob controle ou mesmo evoluíram para a cura espontânea (FISA et al., 1999).

2.6 Vetor

Menos de 50 das 1.000 espécies de flebotomíneos são vetores da leishmaniose humana e canina no mundo (KILLICK-KENDRICK, 1990; DESJEUX, 2001), e isto é explicado pela incapacidade de muitas espécies de flebotomíneos desenvolverem estágios infectantes no sistema digestório (BATES, 2007), ou a falta de contato ecológico entre flebotomíneos e os reservatórios (READY, 2000).

A distribuição geográfica de *L. longipalpis* é ampla e parece estar em expansão. No Brasil ocorre nos Estados do Ceará (MAINGON et al., 2002), Maranhão (REBÊLO 2001), Pará (TORRES et al., 2002), São Paulo (CAMARGO-NEVES et al., 2002), Rio de Janeiro (SOUZA et al., 2002), Minas Gerais (FRANÇA-SILVA et al., 2005), Mato Grosso (RIBEIRO & MISSAWA, 2002), Mato grosso do Sul (OLIVEIRA et al., 2002), Goiás (SANTOS et al., 2002) e, recentemente no Rio Grande do Sul (SOUZA et al., 2009).

No Brasil o vetor da leishmaniose recebe várias denominações como cangalha, cangalhinha, birigui, tatuíra, mosquito palha, asa dura, arrupiado e pela égua. Estes insetos medem de um a três milímetros de comprimento e possuem o corpo e asas pilosas (ALMEIDA, 2003; BRASIL, 2003). Voam em pequenos saltos, o que limita o deslocamento e os mantêm ao nível do solo, próximos a vegetação, bem como em raízes e/ou troncos de árvores, além de tocas de animais (CAMARGO-NEVES & SANTUCCI, 2000-2001). Preferem ambientes sombreados com muitas árvores, como vales, encostas de morros com vegetação ou pequenas grutas com pouca luz e alta umidade, onde ficam protegidos do vento. Os criadouros preferenciais são locais com acúmulo de matéria orgânica em decomposição e alta umidade, principalmente folhas, frutos, raízes, fezes de animais e húmus (RODAS e POLETTTO, 2000-2001).

Para seu desenvolvimento requerem temperaturas entre 20 e 30°C, umidade superior a 80% e matéria orgânica (CAMARGO-NEVES & SANTUCCI, 2000-2001). O ciclo de vida completo compõe-se das fases

embrionária, larvária, pupa e adulto. O tempo de desenvolvimento do ovo ao adulto é de aproximadamente 30 a 40 dias em temperatura favorável. Temperaturas inferiores reduzem o crescimento larvário e a atividade do inseto adulto, prolongando o tempo do ciclo (ALMEIDA, 2002). O tempo entre a postura e a eclosão dos ovos é de 7 a 10 dias (BRASIL, 2003).

As formas adultas estão adaptadas a diversos ambientes e têm atividade crepuscular e noturna. No domicílio e peridomicílio são encontradas próximas a fontes de alimento e durante o dia ficam em locais sombreados protegidos do vento e de predadores naturais (BRASIL, 2003).

As fêmeas têm longevidade estimada em 20 dias; tornam-se hematófagas e adquirem hábitos noturnos, preferencialmente, a partir do por do sol até a madrugada (RODAS e POLETTTO, 2000-2001).

O *L. longipalpis* apresenta uma densidade populacional muito variada ao longo do ano e local. A taxa de infecção dos flebótomos é de 0,5% a 7,4% (RODAS e POLETTTO, 2000-2001; NEVES, 2003). Durante ou após os meses chuvosos verifica-se um aumento da população de flebótomos (NEVES, 2003).

Estão adaptados ao meio urbano onde encontram condições para proliferação, reprodução e infecção; perpetuam-se em diferentes biótipos e nenhuma outra espécie de flebotomíneo é mais sinantrópica que o *L. longipalpis* (GONTIJO & MELO, 2004; CAMARGO-NEVES, 2005; MEDEIROS et al., 2005).

Essa espécie era encontrada somente nas matas das regiões Norte e Nordeste participando do ciclo primário ou silvestre. Já no final da década de 80, verificou-se que estava distribuída por todo Brasil, exceto na região Sul. Porém, recentemente Souza et al. (2009) identificaram a presença desta espécie após a confirmação de um caso de LV no Estado do Rio Grande do Sul. Nas periferias de grandes centros urbanos é encontrada no domicílio e no peridomicílio, galinheiros e pombais são o grande foco desses insetos, seguidos dos chiqueiros. Apesar das aves serem refratárias, são fortes atrativos para os flebótomos e, já foi verificado que onde ocorre doença

canina ou humana sempre há galinheiro no quintal ou nas proximidades (NEVES, 2003; BRASIL, 2003).

Estudo sobre a fonte alimentar de *L. longipalpis*, revela que este inseto se alimenta, ao mesmo tempo, com sangue humano, de marsupiais (mucura) e de canídeos, reforçando a hipótese de que a transmissão da LV esteja ocorrendo realmente no ambiente antrópico. Estes achados reforçam a necessidade do estudo de animais sinantrópicos como possíveis reservatórios de *L. chagasi* (DIAS et al. , 2003).

2.7 Diagnóstico

O diagnóstico clínico da LVC é muitas vezes um problema para o veterinário. Há um amplo espectro de sinais clínicos, desde animais aparentemente saudáveis, passando por oligossintomáticos, até estágios severos da doença. Uma característica importante é a permanência da doença clinicamente inaparente por longos períodos. Nos cães, a doença é sistêmica crônica e pode levar o animal à morte. Dependendo da fase da doença e das condições imunológicas, muitos cães infectados se apresentam assintomáticos. Entretanto, já foi demonstrado que cães infectados, mesmo assintomáticos, são fonte de infecção para os flebotomíneos e, conseqüentemente, têm papel ativo na transmissão de *Leishmania* (PALATNICK DE SOUZA et al., 2001).

Diferentes técnicas laboratoriais podem ser utilizadas para o diagnóstico da LV. Dentre os métodos diretos utilizados, o exame parasitológico direto para identificação dos parasitos em esfregaços de linfonodo, baço e medula óssea constitui-se num método eletivo, podendo-se utilizar o cultivo deste material em diferentes meios de cultura para isolamento dos parasitos (POZIO et al., 1981; MOREIRA et al., 2002). Todavia, os métodos diretos são invasivos e geralmente mal sucedidos em detectar o parasito em cães assintomáticos (POZIO et al., 1981). Esta alternativa diagnóstica também pode ser associada a processos imunológicos para

alcançar alta sensibilidade, através de uma técnica denominada Imunohistoquímica (SELLS & BURTON, 1981; FERRER et al., 1998).

Um dos métodos mais utilizados é o diagnóstico indireto da doença, como a pesquisa de anticorpos em soro, que requer amostras não invasivas e possui sensibilidade acima de 70% em cães sintomáticos (LANOTTE et al., 1974; HARITH et al., 1986; REED et al., 1990; BERNADINA et al., 1997; QUINNELL et al., 2001;). Esse método tem sido bastante empregado em inquéritos epidemiológicos e pode ser feito por diferentes exames como o de imunofluorescência indireta (RIFI), ensaio imunoenzimático (ELISA), aglutinação direta e fixação do complemento (HARITH et al., 1989; COSTA et al., 1991; MUKERJI et al., 1991; VEXENAT et al., 1993; MILLESIMO et al., 1996).

A reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) foi estudada por Duxbury e Sadun em 1964, sendo indicada como opção de diagnóstico sorológico (ALVES & BEVILACQUA, 2004). Nos anos 70 iniciou-se o uso dos testes imunoenzimáticos (Enzyme Linked Immunosorbent Assay- ELISA), como valioso instrumento de diagnóstico (MEDEIROS et al., 2005).

No Brasil, os testes mais utilizados no diagnóstico de LV humana e canina são o RIFI e ELISA, sendo considerado, sobretudo este último, o teste de eleição para inquéritos populacionais (GONTIJO & MELO, 2004).

Entretanto, é difícil determinar por estas técnicas a proporção de cães infectados que de fato desenvolvem uma resposta imunológica específica detectável. Vários estudos em área endêmica têm mostrado que animais infectados, particularmente os assintomáticos, frequentemente permanecem soronegativos (SLAPPENDEL, 1988; NEOGY et al., 1992; PINELLI et al., 1994; ASHFORD et al., 1995), concluindo que a sorologia não é um bom indicador da infecção (ASHFORD et al., 1995; CAMPINO et al., 2000).

De acordo com o Manual do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral do Ministério da Saúde (BRASIL, 2003), o diagnóstico da LVC constitui um problema para os serviços públicos de saúde, principalmente devido a três fatores: a variedade de sinais clínicos não

patognômicos, inespecificidade das alterações histopatológicas e a inexistência de um teste diagnóstico sorológico 100% específico e sensível.

A imprecisão dos métodos sorológicos, que no caso da RIFI se expressam por valores de sensibilidade que variam de 90-100% e especificidade de 80% para amostras de soro (ALVES & BEVILACQUA, 2004), tem sido uma das razões alegadas por médicos veterinários e proprietários de cães para contestarem a eutanásia dos soropositivos.

No Brasil, o Ministério da Saúde recomenda a utilização do teste ELISA indireto para a triagem inicial dos cães suspeitos e a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para a confirmação dos casos positivos. O material recomendado para o diagnóstico sorológico da LVC é o soro sanguíneo e, em algumas situações, o eluato de sangue embebido em papel de filtro, considerando-se positivos os soros reagentes nas diluições $\geq 1:40$ (BRASIL, 2003).

Machado et al. (2007), em Belo Horizonte, ao compararem os exames de RIFI e ELISA realizados em cinco laboratórios para o diagnóstico da LVC, identificaram uma alta sensibilidade e especificidade para ambos os exames, reduzindo a possibilidade de resultados falsos positivos e falsos negativos, indicando boa qualidade diagnóstica, corroborando com as medidas estabelecidas no Programa de Vigilância e Controle do Ministério da Saúde referentes principalmente à identificação do reservatório canino.

Os resultados de Moreira et al. (2002) mostraram que o método de imunofluorescência direta (RIFI) apresentou maior sensibilidade quando comparado a pesquisa direta do parasito pela coloração de Romanowsky. Os autores recomendam que o método de RIFI deve ser utilizado para confirmação dos casos suspeitos de leishmaniose visceral canina em regiões endêmicas, onde o encontro de formas amastigotas do parasito pode não ser freqüente, face ao considerável incremento de sensibilidade quando comparado ao exame microscópico de rotina.

A Reação em Cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction-PCR*), descrita por Kary Mullis no final da década de 80 (MULLIS & FALOOMO, 1987; MULLIS, 1990) consiste na amplificação de quantidade muito

pequena de DNA, visando à produção *in vitro* de milhões de cópias dessa sequência, ou seja, uma simples e rápida amplificação de uma fita de DNA.

De acordo com Gontijo & Melo (2004), a partir da década de 80, várias técnicas de biologia molecular foram desenvolvidas para a detecção e identificação precisa dos parasitos do gênero *Leishmania*, sem necessidade de isolamento do parasito em cultura. Métodos de hibridização com sondas específicas e técnicas de amplificação de ácidos nucleicos, incluindo a reação em cadeia da polimerase - transcriptase reversa (RT- PCR) para detecção de RNA e PCR para detecção de DNA, estão disponíveis para identificação do parasito.

Por isso, são inúmeras as pesquisas que mostram a utilização da biologia molecular, como ferramenta importante no diagnóstico da LVC (LACHAUD et al., 2002; MANNA et al., 2004; MADEIRA et al., 2004; SILVA et al., 2005).

A PCR tem sido recentemente utilizada como um método de alta especificidade e sensibilidade na identificação de DNA parasitário em tecidos e fluidos provenientes de casos humanos e caninos de LV (AVILES et al., 1999; REALE et al., 1999; FISA et al., 2001; QUINNELL et al., 2001; SILVA et al., 2001; LACHAUD et al., 2002; IKONOMOPOULOS et al., 2003; MANNA et al., 2004)

2.8 Distribuição espacial de doenças e o geoprocessamento

O conceito de epidemiologia foi definido pela Associação Internacional de Epidemiologia (IEA) como o estudo dos fatores que determinam a frequência e a distribuição das doenças nas coletividades humanas. Sendo assim, de acordo com Rouquayrol & Almeida Filho (1999), a distribuição é o estudo da frequência das doenças de ocorrência em massa, em função das variáveis ambientais e populacionais, ligadas ao tempo e ao espaço.

Os Sistemas de Informações Geográficas – SIG's são sistemas computacionais, usados para o entendimento dos fatos e fenômenos que

ocorrem no espaço geográfico. A sua capacidade de reunir uma grande quantidade de dados convencionais de expressão espacial, estruturando-os e integrando-os adequadamente, torna-os ferramentas essenciais para a manipulação das informações geográficas (CARVALHO et al., 2000).

O georreferenciamento é definido como o processo de associação de um dado a um mapa ou endereço e pode ser efetuado de três formas básicas: associação a um ponto, a uma linha ou a uma área. O resultado desse processo é a criação de elementos gráficos que podem ser usados para a análise espacial (BARCELLOS et. al , 2008).

O uso do georreferenciamento na área de saúde tem história bastante recente, principalmente no Brasil. As primeiras aplicações de georreferenciamento datam da década de 50, utilizando computadores de grande porte para o planejamento urbano e, posteriormente, para a análise ambiental (ROJAS et al., 1999). Na gestão de saúde o georreferenciamento cada vez mais vem sendo utilizado, porque fornece novos subsídios para o planejamento e novas ações de controle, baseadas na análise da distribuição espacial das doenças, localização dos serviços de saúde e dos riscos ambientais, entre outros (BARCELLOS & BASTOS, 1996).

Na área da Saúde, os SIG's têm se tornado ferramentas de grande utilidade. Sua capacidade de integrar diversas operações, como captura, armazenamento, manipulação, seleção e busca de informação, análise e apresentação de dados, auxilia o processo de entendimento da ocorrência de eventos, predição, tendência, simulação de situações, planejamento e definição de estratégias no campo da Vigilância em Saúde (BARCELLOS et. al , 2008). Por haver essa relação direta entre o espaço geográfico e os eventos de saúde, o Ministério da Saúde do Brasil atualmente utiliza o geoprocessamento como uma ferramenta importante na obtenção de informações sobre os processos sociais e ambientais presentes na determinação de doenças.

Atualmente o setor da saúde no Brasil possui um extenso banco de dados, que são armazenados e subdivididos em diversos sistemas de informações: Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM), Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos (Sinasc), Sistema de Informação de

Agravos de Notificação (Sinan), Sistema de Informações Hospitalares do Sistema Único de Saúde (SIH/SUS), Sistema de Informações Ambulatoriais do Sistema Único de Saúde (SIA/SUS), entre outros. Seguindo a lógica do Sistema Único de Saúde (SUS), de um sistema de cobertura nacional e arquitetura hierárquica, os dados desses sistemas de informações são gerados no nível local e repassados, no sentido ascendente, às demais esferas de governo (BARCELLOS et. al , 2008).

Para que os dados gerados pelos sistemas de informações em saúde sejam mapeados, os eventos de saúde devem ser relacionados a um conjunto de objetos geográficos ou unidades espaciais previamente construídas, como bairros, setores censitários, lotes ou trechos de logradouros. Assim, um dos primeiros passos para o georreferenciamento desses dados é o reconhecimento do estágio atual da cartografia urbana existente nas cidades (BARCELLOS et. al , 2008). Por ser de responsabilidade da gestão municipal, muitas cidades brasileiras não possuem uma base cartográfica atual e digitalizada de seu território, sendo um entrave para a análise da relação entre os eventos de saúde e sua distribuição espacial.

O setor censitário é uma das unidades espaciais mais utilizadas no geoprocessamento na área da saúde, e definido segundo Carvalho et al. (2000), como uma área mínima sob responsabilidade de cada recenseador que abrange um conjunto médio de 300 domicílios, que são agregados em municípios, Estados e país sucessivamente.

Nesta última década, a tecnologia de SR também está sendo bastante empregada em elaborados estudos de endemias, devido à oferta de sensores com diversas resoluções espectrais, espaciais e temporais, que aliados aos sistemas de informação geográfica e técnicas de modelagem estatística, aumentam as possibilidades de conhecimento sobre as características ambientais que contribuem para ocorrência de doenças. (CORREIA et al., 2005).

Camargo-Neves et al. (2001) realizaram a análise espacial da LV em Araçatuba, Estado de São Paulo, dividindo a área urbana em setores, e concluíram que o georreferenciamento dos dados permite mostrar correlação

entre os setores em que há ocorrência da infecção humana e aqueles com altas taxas de prevalência canina, tal como destes com os setores em que existem densidades mais elevadas de *L. longipalpis*, sendo de suma importância a construção de um SIG voltado para vigilância epidemiológica.

3 OBJETIVOS

3.1. Geral

✓ Determinar a prevalência e distribuição espacial da leishmaniose visceral canina em localidades do distrito do Tirirical, município de São Luís, Maranhão.

3.2. Específicos

✓ Realizar o diagnóstico molecular da infecção por *Leishmania chagasi* utilizando a técnica Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em amostras sanguíneas de cães domiciliados em seis localidades do distrito do Tirirical;

✓ Determinar a prevalência de cães por meio da identificação do DNA de *L. chagasi* em seis localidades do distrito do Tirirical;

✓ Comparar as prevalências da infecção entre as localidades da zona urbana e zona rural;

✓ Identificar possíveis fatores de risco associados ao cão, homem e ambiente, obtendo informações a partir de questionário aplicado aos proprietários dos cães;

✓ Elaborar o mapa temático dos distritos sanitários do município de São Luís, uma vez que ele não existe na cartografia digitalizada oficial;

✓ Verificar a distribuição espacial e as principais causas da LVC no distrito do Tirirical, a partir do geoprocessamento, relacionando com as condições sócioeconômicas e ambientais da área;

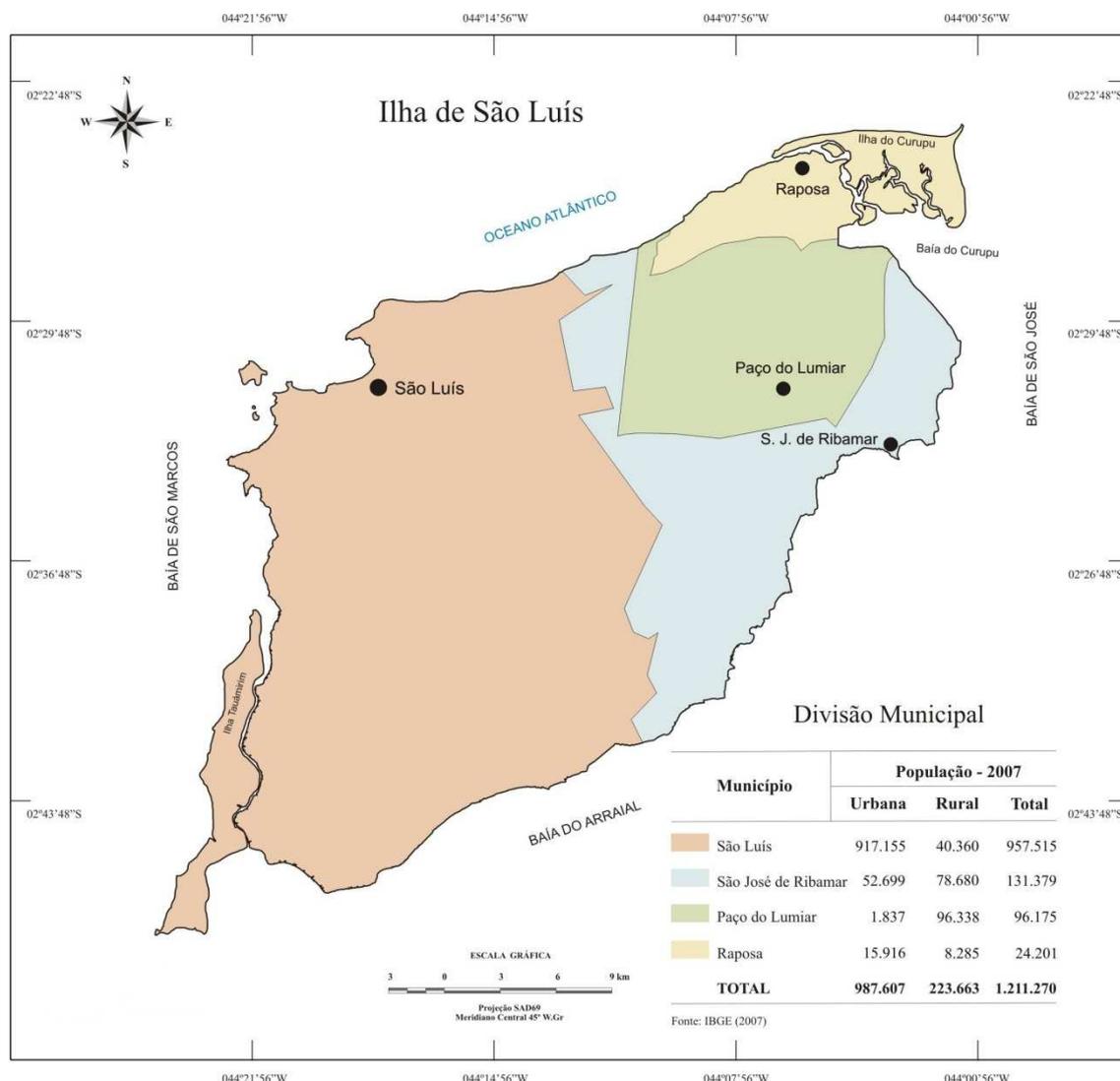
✓ Analisar dados de meteorologia do município de São Luís e a ocorrência do fenômeno meteorológico El Niño para verificar se existe relação com a ocorrência da doença.

4 MATERIAIS E MÉTODO

A presente pesquisa trata-se de um estudo epidemiológico analítico observacional transversal, desenvolvido segundo as etapas: seleção da área de estudo, seleção da população, amostragem, colheita de dados e análise estatística.

4.1 Seleção da área de estudo

O município de São Luís, capital do Estado do Maranhão, está localizado a oeste da Ilha de São Luís (Ilha do Maranhão), situada ao norte do Estado que pertence à região Nordeste do Brasil. A área está localizada entre as coordenadas geográficas 02°28'12" e 02°48'09" de latitude sul e 44°10'18" e 44°35'37" de longitude oeste. Possui o clima tropical chuvoso (quente úmido), segundo classificação de Köppen, com a temperatura variando de 22°C a 33°C, com média de 26,7°C, umidade relativa do ar acima de 85% e precipitação pluviométrica média anual de aproximadamente 2.000 mm, apresentando duas estações bem definidas, uma chuvosa, de janeiro a julho, e a outra, seca, de agosto a dezembro (PREFEITURA DE SÃO LUÍS, 2006; LABMET/NUGEO/CCA/UEMA, 2010). De acordo com o IBGE (2007), possui uma população de 957. 515 habitantes e área territorial de 827, 1 km² (mapa 1).



MAPA 1: Ilha de São Luís com a divisão municipal e população urbana e rural por município. Escala 1:50.000. São Luís, 2010.
 Fonte: NUGEO/UEMA; IBGE (2007)

Segundo registros de inquéritos sorológicos realizados pelo Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) de São Luís, desde a década de 80, o município é uma área endêmica para LV, com prevalências anuais bem próximas, demonstrando assim sua plena adaptação às condições ambientais da região.

Os sete distritos sanitários, em que o município de São Luís está dividido, apresentam áreas territoriais, densidades populacionais e características sócioeconômicas diferentes (PREFEITURA DE SÃO LUÍS, 2008).

Como critério de seleção da área de estudo, escolheu-se para esta pesquisa, entre os distritos sanitários, o distrito do Tirirical, por ser o que possui a maior prevalência da leishmaniose visceral humana e canina nas duas últimas décadas (OLIVEIRA et al., 2006).

Durante o período de fevereiro a agosto de 2009, este estudo foi realizado em seis localidades no distrito do Tirirical, distribuídas da seguinte forma: três localidades da zona urbana (Conjunto São Raimundo, Santa Efigênia e Cidade Olímpica), e três da zona rural (Cruzeiro de Santa Bárbara, Santa Bárbara e Tajaçuaba), de acordo com a classificação adotada pela secretaria municipal de saúde do município de São Luís (SEMUS).

A pesquisa foi aprovada no Comitê de Ética e Experimentação Animal do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão (CEEA/CMV/UEMA), parecer nº 012/2007.

4.2 Seleção da população

A população em estudo foi constituída por cães domiciliados nas zonas urbana e rural do distrito do Tirirical, de ambos os sexos, com ou sem raça definida, com idade mínima de quatro meses, cujos proprietários aceitaram participar após o conhecimento dos objetivos e importância do estudo mediante consentimento livre e esclarecido.

4.3 Amostragem

Para se estabelecer o tamanho da amostra (n), foi adotado, como valor de referência, a prevalência observada por Oliveira et al. (2006), que foi de 78%, no distrito do Tirirical. A fórmula adotada foi a de Thrusfield (2004), considerando-se uma margem de erro de 5% e um nível de confiança de 95%, obtendo um tamanho amostral mínimo de 263 amostras (n= 263), sendo que nas ações de campo foi colhido o sangue periférico de 45 cães por localidade, totalizando assim, 270 amostras (n = 6 localidades X 45 cães = 270).

4.4 Colheita de Dados

A colheita de dados foi constituída pelas etapas de colheita das amostras, georreferenciamento, aplicação do questionário epidemiológico, realização da técnica molecular PCR para o diagnóstico da infecção canina, e posteriormente pelo geoprocessamento dos dados obtidos nas etapas anteriores.

4.4.1 Colheita das amostras

Inicialmente os proprietários foram esclarecidos quanto ao objetivo e a importância da pesquisa. Após a devida contenção dos animais, procedida de limpeza e desinfecção da área com álcool iodado, amostras de sangue foram colhidas por punção venosa na veia cefálica, utilizando-se de agulha, adaptador e tubo vacutainer descartável estéril de 05 mL contendo anticoagulante, e devidamente identificado com o número da amostra e nome do cão. As amostras eram armazenadas em caixa térmica com gelo reciclável, e, ao retornar das atividades de campo, eram transferidas, em duplicata, para tubos plásticos de polipropileno (eppendorf®), sendo então congeladas até a realização da técnica molecular.

4.4.2 Georreferenciamento

Realizou-se com um receptor GPS (*Global Position System*) Garmin® modelo 45XL, o georreferenciamento das residências dos cães testados, a partir de coordenadas geográficas (latitude e longitude) enviadas, por no mínimo, quatro satélites orbitais, adotando-se como registro dados do tipo vetorial (pontos). Posteriormente os pontos foram inseridos no banco de dados geográficos.

4.4.3 Aplicação do questionário epidemiológico

Em cada residência foi aplicado um questionário para identificar possíveis fatores de risco para a LV nas localidades. Foram consideradas as variáveis sócioeconômicas do proprietário (idade, escolaridade e renda familiar), variáveis do animal (idade, raça, cor e comprimento do pêlo, estado geral, presença de sinais clínicos de LV, assistência veterinária, acesso à rua), e ambientais (presença de mosquitos, métodos de proteção, criação de outras espécies, presença de animais silvestres, proximidade de mata); assim como avaliação do conhecimento do proprietário sobre a enfermidade (Apêndice).

4.4.4 Técnica molecular Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

As etapas extração de DNA, amplificação do DNA e eletroforese foram realizadas no Laboratório de Patologia Molecular, do curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão- UEMA.

4.4.4.1 Extração do DNA

Utilizou-se o kit comercial (Wizard[®] Genomic DNA Purification Kit 500 isolations - Promega[®]), um sistema de extração e purificação de DNA, que submete uma alíquota de 300 µL de sangue periférico a lavagens sucessivas com soluções pré-determinadas, obtendo-se no final do processo um material adequado à amplificação. A extração do DNA foi realizada de acordo com o protocolo do fabricante.

4.4.4.2 Amplificação do DNA

O mix é uma mistura de reagentes (Taq polymerase, dNTPs-deoxinucleotídeos trifosfatos, Mg²⁺ - cátion divalente, tampão, cátions monovalentes-usualmente K⁺, molde de DNA) necessários para realização da técnica de PCR. Para o presente estudo, utilizou-se o Master Mix Promega[®], uma solução comercial pronta para uso. De acordo com o protocolo do fabricante, foram determinadas as quantidades de reagentes utilizados,

dispostos da seguinte forma: 12,5 µL de master mix; 1,5 µL de primer forward (RV1 5'CTTTTCTGGTCCCGCGGGTAGG 3'); 1,5 µL de primer reverse (RV2 5' CCACCTGGCCTATTTTACACCA 3'); 4,5 µL de água livre de DNase Promega® e 5,0 µL da diluição de DNA extraído por amostra, totalizando assim 25 µL por microtubo de reação. Em cada reação foi usado controle positivo, que consistiu de uma amostra proveniente de um cão positivo sorologicamente e parasitologicamente para *Leishmania* spp.; e água ultrapura (milli-Q) como controle negativo.

Após adição do master mix, dos reagentes e da amostra, cada microtubo contendo a mistura foi levado ao termociclador Biocycler® MJ96+, onde iniciou-se o processo de amplificação, em que o material avaliado foi submetido a diferentes temperaturas em intervalos de tempo determinados pelo programa escolhido. O programa utilizado para amplificação do DNA *L. chagasi* foi proposto por Lachaud et al. (2002) , determinando 40 ciclos, seguindo a sequência abaixo:

- 94 °C por quatro minutos (desnaturação inicial)
- 94 °C por 30 segundos (desnaturação)
- 59 °C por 30 segundos (anelamento)
- 72 °C por 30 segundos (extensão)

Após os 40 ciclos as amostras completaram a extensão final a 72 °C por 10 minutos. Em seguida foram mantidas a 4 °C até a fase seguinte de eletroforese.

4.4.4.3 Eletroforese

O produto final da PCR foi analisado por eletroforese em gel de agarose a 1%, com brometo de etídio. Para cada produto final (amostra) adicionou-se 5µL do corante Blue/Orange Loading Dye 6x Promega® (anteriormente diluído em 1x) para visualização da corrida. O marcador de peso molecular (MPM) utilizado foi o 1Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen®), voltagem de 100V, 75 mA, 50W em 50 minutos de corrida, obtendo-se para a

amostra positiva, um produto de 145 pb, o que corresponde à presença do DNA de *L.chagasi*.

4.4.5 Geoprocessamento

Geograficamente a área de trabalho foi definida tomando-se como referência o distrito do Tirirical, com os bairros (localidades) devidamente selecionados para esta pesquisa, onde foram realizadas as colheitas das informações, sendo as localidades adotadas como unidade espacial de referência para a ocorrência de cães positivos e negativos para LVC.

Posteriormente, para correlacionar a ocorrência da infecção com as características socioeconômicas e ambientais do distrito do Tirirical, adotou-se como unidade espacial de referência o setor censitário, uma vez que o município de São Luís não possui registros dessas variáveis por bairros ou localidades. Para isso foram utilizadas as informações do IBGE, referentes ao último censo demográfico, realizado no ano 2000. Este censo subdivide as regiões de coleta em setores censitários.

Foram utilizadas como base do mapeamento, as informações geográficas do Núcleo Geoambiental (NUGEO/CCA/UEMA), elaboradas para a Ilha de São Luís. Essas informações correspondem aos limites municipais, estradas e vias de acesso, população e uso urbano. A esse banco foi adicionada a divisão geográfica dos bairros (localidades) do município de São Luís, de acordo com o Instituto da Cidade (INCID). Esta informação subsidiou a elaboração do mapa temático dos sete distritos sanitários, conforme divisão da secretaria municipal de saúde (SEMUS).

Foram acrescentados ao banco de dados geográficos, os setores censitários como base para a espacialização das variáveis socioeconômicas e ambientais, obtidas do censo demográfico do IBGE (2000), assim como dados meteorológicos do município de São Luís (temperatura média, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica), além dos últimos anos de ocorrência do fenômeno El Niño.

Após a alimentação com as informações geográficas, os pontos georreferenciados com casos positivos e negativos da LVC foram então adicionados ao sistema, permitindo assim, a formação de um banco com dados ambientais e de saúde de forma integrado, possibilitando a constituição de mapas temáticos, favorecendo as análises da distribuição espacial da infecção para a área delimitada do distrito do Tirirical, que representa a área definida para esta pesquisa.

O banco de dados foi estruturado a partir do Sistema de Informação Geográfica (SIG), adotando-se o software SPRING (Sistema de Processamento de Informações Georreferenciadas - INPE/SP) versão 4.2, com projeção UTM e Datum SAD 69. Foram utilizadas imagens de satélite CBERS e LandSat 5-TM nas órbitas/ponto: 221/62 e 220/62, referentes aos anos de 1984 e 2004, e escala de mapeamento de 1:50.000, considerando-se que a resolução espacial das imagens é de 30m.

Na delimitação das áreas urbanas as imagens foram realçadas, ampliando-se o contraste entre os diferentes elementos da imagem.

4.5 Análise Estatística

Os dados obtidos foram tabulados, compactados e apresentados em forma de tabelas. Estimou-se a prevalência de animais positivos para *L. chagasi* e posteriormente, realizou-se análise das variáveis qualitativas e quantitativas estudadas.

Para identificar quais dos fatores estudados encontravam-se associados com a infecção, foi utilizado o modelo de regressão logística de Poisson (BARROS & HIRAKATA, 2003) sem ajuste. Inicialmente foi realizada a análise univariada de cada variável independente em relação à variável resposta técnica molecular PCR, categorizada em Sim (se positivo) e Não (se negativo), permanecendo no modelo somente as variáveis que apresentassem um $p < 0,05$. Nesta etapa, também foram estimados os índices de risco relativo

(IRR) com intervalos de confiança de 95%. Para o presente estudo foram analisadas as variáveis referentes à zona de origem, ao proprietário, ao cão e ao ambiente. Os dados foram analisados no programa STATA 10.0, com nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos em relação ao número de cães positivos para infecção por *L. chagasi*, utilizando a técnica molecular PCR, de acordo com as localidades de origem, estão discriminados na tabela 1.

TABELA 1: Prevalência da infecção por *L. chagasi* em cães de seis localidades do distrito do Tirirical, utilizando a técnica molecular PCR, São Luís- MA, 2010

Zona	Localidades	Positivos	
		n	%
Urbana	Conjunto São Raimundo	10	22,22
	Cidade Olímpica	15	33,33
	Santa Efigênia	18	40,00
Rural	Santa Bárbara	16	35,55
	Cruzeiro de Santa Bárbara	19	42,22
	Tajaçuaba	22	48,89
TOTAL		100	37,04

Verificou-se que do total de 270 cães testados, 37,04% (n=100) foram positivos para o DNA de *L. chagasi* (figura 2). Os valores de prevalência do trabalho são superiores aos encontrados por Carvalho Filho (2008) que

verificou uma prevalência de 22,16% em cães de raça pura do município de São Luís-MA; por Barboza et al. (2006), na região metropolitana de Salvador-BA, que obtiveram 18,40% de um total de 147 amostras analisadas; por Naveda et al. (2006), que verificaram a prevalência de 1,4% em 2.185 cães da cidade de Pedro Leopoldo-MG. Já, Cortada et al. (2004) encontraram 75,3% de positividade em cães de Anastácio- MS. Tais diferenças podem estar relacionadas a fatores como área avaliada, método diagnóstico empregado, além do tamanho da amostra utilizada. Entretanto, os resultados dos estudos indicam que a infecção por este parasito, ocorre em prevalências importantes nas áreas estudadas.

Observou-se que a prevalência da infecção por *L. chagasi* encontrada neste estudo (37,04%) fazendo o uso da PCR foi alta, porém menor do que a encontrada no trabalho de Cortada et al. (2004). Isto se deve ao fato de que esses autores utilizaram testes sorológicos, que possuem boa sensibilidade, porém baixa especificidade, com muitos falso-positivos levando a resultados superestimados.

A opção em utilizar o diagnóstico molecular nesta pesquisa se deve ao fato de que a PCR é capaz de detectar a *Leishmania* em cães assintomáticos e soronegativos (REALE et al., 1999; QUINNELL et al., 2001; SOLANO-GALLEGO et al., 2001; LACHAUD et al., 2002), e em cães sintomáticos e soronegativos (LACHAUD et al., 2002).

Segundo Lachaud et al. (2002), a PCR utilizando sangue periférico, demonstrou ser altamente sensível e específica, podendo detectar a *Leishmania* em portadores saudáveis não detectáveis por outros métodos.

Já Nunes et al. (2007), no entanto, concluíram que a PCR não é uma boa ferramenta para triagem diagnóstica em populações, devido à baixa sensibilidade e especificidade, quando comparada à RIFI. Esta discordância se deve ao fato de que, apesar de terem utilizado o mesmo par de primers, a programação dos ciclos foi diferente nos dois estudos, e os autores da última pesquisa citam ainda problemas com a qualidade das amostras, uma vez que as colheitas de sangue total foram realizadas por agentes de saúde que não

homogeneizaram as amostras, resultando em amostras com presença de coágulos que dificultaram a extração do DNA alvo.

Outro fator que pode colaborar para a baixa sensibilidade da PCR em amostras de sangue é o grau de parasitemia dos animais infectados, uma vez que a duração, constância e intensidade da parasitemia em hospedeiros caninos ainda é desconhecida (FISA et al., 2001; LACHAUD et al., 2002). A questão do teste “padrão ouro” para a confirmação do parasito permanece aberta ao debate, mas a PCR pode ajudar nesta definição.

De acordo com Brasil (2003), a detecção de DNA em sangue periférico constitui método não-invasivo para o diagnóstico da LV, com sensibilidade de 94% e especificidade de 100%, devendo ser considerado como método de primeira linha, em serviços cuja infraestrutura permita a execução da técnica. Entretanto, para grandes inquéritos epidemiológicos, o diagnóstico molecular ainda é inviável, pelo seu alto custo com materiais e aparelhos específicos, sendo mais utilizado em casos isolados na clínica e em pesquisas científicas.

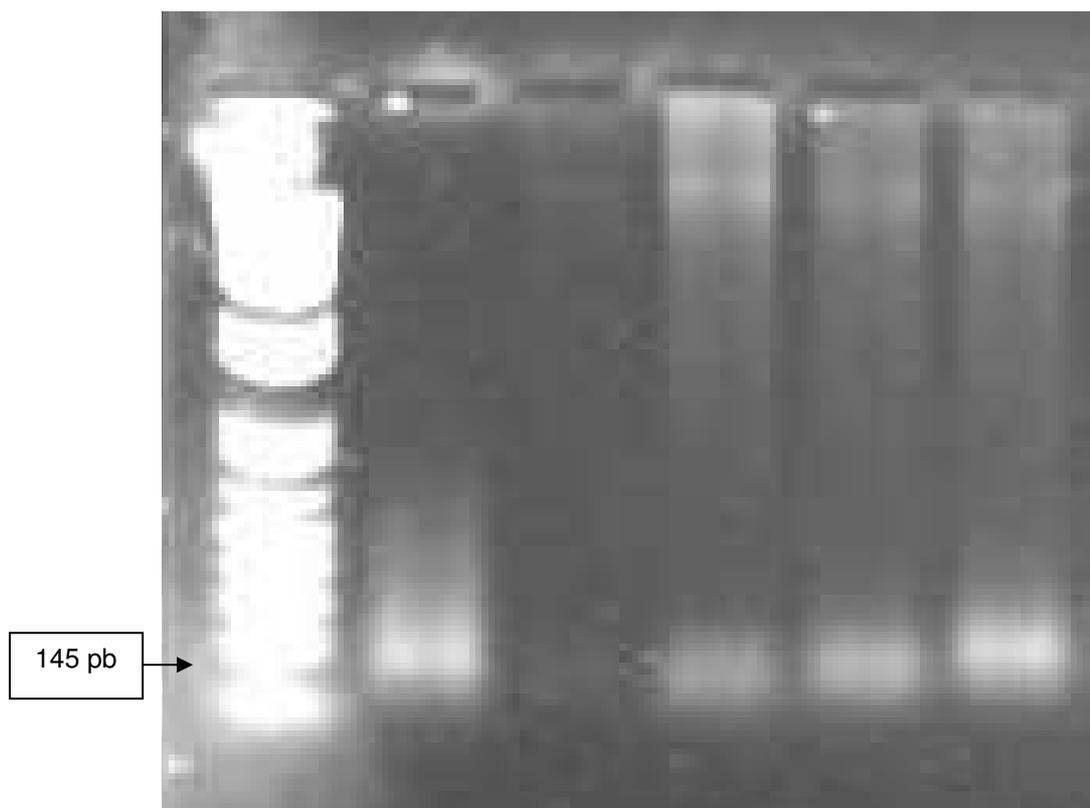


FIGURA 1: Eletroforese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo. Visualização da amplificação do KDNA de *L. chagasi* em três amostras, realizada na PCR a partir dos primers RV1 e RV2. São Luís, 2010.

Muitos trabalhos indicam a PCR como método diagnóstico para LV, por ser capaz de detectar o DNA do parasito em aspirados de medula óssea, linfonodo e sangue periférico (REALE et al., 1999; ROURA et al., 1999; REITHINGER et al., 2000; ZERPA et al., 2000; MARTIN-SANCHEZ et al., 2001; SOLANO-GALLEGO et al., 2001; LACHAUD et al., 2002).

De acordo com o manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral, o município de São Luís está classificado como área de transmissão intensa e, por esse motivo, não foi realizado nenhum diagnóstico por método direto devido à confirmação do exame parasitológico canino não ser obrigatória em áreas com transmissão esporádica, moderada ou intensa (BRASIL, 2003).

Quanto a origem, o bairro Santa Efigênia com 40,00% (n=18), foi a localidade da zona urbana que obteve a maior prevalência da infecção, seguido do bairro Cidade Olímpica com 33,33% (n=15), e do Conjunto São Raimundo

com 22,22% (n=10). Entre as localidades da zona rural, o povoado Tajaçuaba com 48,89% (n= 22) foi o que obteve a maior prevalência da infecção, seguido do Cruzeiro de Santa Bárbara com 42,22% (n=19) e a menor prevalência foi encontrada na Santa Bárbara com 35,55% (n=16) (tabela 1). Dentre as amostras positivas, 43 eram da zona urbana e 57 correspondiam à zona rural, revelando assim uma prevalência de 31,85% e 42,22%, respectivamente.

Contudo, a análise univariada não evidenciou diferença significativa entre as duas zonas ($p > 0,05$) (tabela 2).

TABELA 2: Análise univariada da zona de origem como fator de risco para LV em cães no distrito do Tirirical, São Luís- MA, 2010

Zona	Leishmaniose Visceral - LV				
	N	% Ponderada	Valor de p	IRR	IC 95%
Urbana	43	31,85	Referência		
Rural	57	42,22	0.163	0,75	0,51- 1,12

Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Monteiro et al. (2005), porém discordam de Naveda et al. (2006), que encontraram diferença significativa entre a área urbana, com 1,1% de prevalência, e a área rural, com 4,2%, podendo estar associada à entrada de cães positivos oriundos de localidades endêmicas, à presença de 78% dos animais com acesso à rua, e ao ambiente favorável à presença do vetor na área rural.

Embora a leishmaniose mantenha algumas características rurais, essa zoonose vem se urbanizando, fato que possivelmente equilibrou sua prevalência entre as zonas estudadas nesta pesquisa, sugerindo que as seis localidades possuem condições semelhantes para a ocorrência da infecção.

Os valores de prevalência obtidos neste trabalho indicam uma intensa atividade de transmissão nas duas zonas estudadas, sugerindo a

existência local de variáveis facilitadoras do ciclo biológico do parasito e do vetor, bem como do processo de transmissão do parasito aos hospedeiros, constituindo-se em potenciais fatores de risco para os caninos residentes.

Foi possível identificar a campo que as características de infraestrutura e saneamento eram precárias tanto na zona urbana como na zona rural (apêndice). Os dados obtidos do IBGE (2000) e processados para as seis localidades reforçam esta afirmação (tabela 3).

TABELA 3: Média percentual das variáveis demográficas, sócioeconômicas e ambientais das localidades do distrito do Tirirical, de acordo com o IBGE (2000), e prevalência da LVC, São Luís-MA, 2010

BAIRRO	Situação	Prevalência LVC (%)	Densidade Demográfica: hab/Km ²	% de responsáveis renda de até 3 SM	% de dom. sem rede abast. água	% de dom. sem rede de esgoto ou FS	% dom. sem banheiro	% dom. sem col. lixo
São Raimundo	ArUrb	22,22	7892	79,22	4,18	33,76	3,56	11,11
Cidade Olímpica	ArUrb	33,33	10394	92,47	95,21	99,32	63,01	98,63
Santa Efigênia	ArUrb	40,00	11623	84,43	75,23	88,20	28,48	46,71
Santa Bárbara	ZoRur	35,55	832	86,85	54,62	98,69	33,67	67,71
Cruzeiro SB	ZoRur	42,22	3073	88,49	84,04	98,50	57,04	84,38
Tajaçuaba	ZoRur	48,89	144	88,64	84,23	99,68	29,97	94,32

SM- salários Mínimos

Dom. sem rede abast. água- domicílios sem rede de abastecimento de água

FS- fossa séptica

Col. lixo- coleta de lixo regular

Verificou-se que a grande maioria dos moradores das seis localidades era de baixa renda, variando de um até três salários mínimos, sendo a Cidade Olímpica com o maior percentual (92,47%), seguida da Tajaçuaba (88,64%). As localidades com maior densidade demográfica foram Santa Efigênia (11.623) e Cidade Olímpica (10.394). Com relação ao percentual de domicílios sem rede de abastecimento de água, domicílios sem banheiro e sem coleta de lixo regular, a localidade Cidade Olímpica foi a que obteve os piores índices com 95,21%, 63,01% e 98,63% respectivamente. A Tajaçuaba apresentou quase totalidade de domicílios sem rede de esgoto ou fossa séptica (99,68%). Com exceção do Conjunto São Raimundo, todas as localidades apresentaram índices ruins para as variáveis ambientais analisadas.

Ao relacionarmos com os resultados encontrados para LVC, percebe-se que a maior prevalência da infecção foi verificada na localidade de Tajaçuaba (48,89%), com característica predominantemente rural e apresentando precárias condições de saneamento básico; e a menor prevalência foi no Conjunto São Raimundo (22,22%), que obteve os melhores resultados, revelando assim que as condições de moradia e saneamento básico também são fatores contribuintes para o surgimento e a manutenção desta parasitose.

Estes resultados corroboram com Brasil (2002), Guimarães et al. (2005), Medeiros et al. (2005), Nascimento et al. (2005), Werneck et al. (2007), Cerbino Neto et al. (2009), e Werneck (2010).

Em relação aos fatores de risco para LVC avaliados por meio do questionário epidemiológico aplicado aos proprietários, observou-se que todas as variáveis relacionadas ao hospedeiro canino (raça, idade do cão, cor da pelagem, comprimento da pelagem, assistência veterinária, acesso à rua e ocorrência de doenças anteriores) não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$), conforme verificado na tabela abaixo (tabela 4).

TABELA 4: Análise univariada dos fatores de risco relacionados ao hospedeiro canino para LVC nas localidades do distrito do Tirirical, São Luís, 2010

Variáveis		Leishmaniose Visceral - LV																																																															
		N	% Ponderada	Valor de p	IRR	IC 95%																																																											
Raça	SRD	226	38,00	Referência 0,535	0,84	0,47- 1,47																																																											
	Raça pura	44	31,82				Idade	4-12 meses	91	38,4	Referência 0,526 0,812	0,85	0,53- 1,37	13-36 meses	103	33,0	>36 meses	76	40,7	Cor do pêlo	Cor única	179	36,3	Referência 0,784	1,06*	0,70- 1,60	Bicolor	91	38,4	Comprimento do pêlo	Curto	201	39,3	Referência 0,298	0,77	0,48- 1,25	Longo	69	30,4	Assistência Veterinária	Não	206	35,9	Referência 0,589	1,13*	0,72- 1,77	Sim	64	40,6	Acesso à rua	Não	128	38,3	Referência 0,750	0,94	0,63- 1,39	Sim	142	35,9	Doenças anteriores	Não	165	39,4	Referência 0,426	0,85
Idade	4-12 meses	91	38,4	Referência 0,526 0,812	0,85	0,53- 1,37																																																											
	13-36 meses	103	33,0																																																														
	>36 meses	76	40,7																																																														
Cor do pêlo	Cor única	179	36,3	Referência 0,784	1,06*	0,70- 1,60																																																											
	Bicolor	91	38,4																																																														
Comprimento do pêlo	Curto	201	39,3	Referência 0,298	0,77	0,48- 1,25																																																											
	Longo	69	30,4																																																														
Assistência Veterinária	Não	206	35,9	Referência 0,589	1,13*	0,72- 1,77																																																											
	Sim	64	40,6																																																														
Acesso à rua	Não	128	38,3	Referência 0,750	0,94	0,63- 1,39																																																											
	Sim	142	35,9																																																														
Doenças anteriores	Não	165	39,4	Referência 0,426	0,85	0,56- 1,28																																																											
	Sim	105	33,3																																																														

Já a tabela 5 mostra a análise univariada dos fatores de risco sócioeconômicos e ambientais associados à LVC nas seis localidades do distrito do Tirirical.

TABELA 5: Análise univariada dos fatores de risco sócioeconômicos e ambientais para LVC nas localidades do distrito do Tirirical, São Luís, 2010

Variáveis		Leishmaniose Visceral - LV				
		N	% Ponderada	Valor de p	IRR	IC 95%
Renda Familiar	1-3 sal. Mín.	224	38,8	Referência 0, 285	0,73	0,41- 1,30
	>3 sal. Min.	46	28,3			
Conhecimento da transmissão	Não	226	35,8	Referência 0, 465	1,20*	0,73- 1,99
	Sim	44	43,2			
Vetor dentro de casa	Não	27	33,3	Referência 0, 739	1,12*	0,57- 2,23
	Sim	243	37,4			
Vetor quintal	Não	106	33,0	Referência 0, 384	1,20*	0,79- 1,81
	Sim	164	39,6			
Repelente	Não	168	38,7	Referência 0, 567	0,89	0,59- 1,34
	Sim	102	34,3			
Mosquiteiro	Não	159	38,3	Referência 0, 668	0,91	0,61- 1,37
	Sim	111	35,1			
Ventilador	Não	84	30,9	Referência 0, 271	1,28*	0,82- 2,00
	Sim	186	39,8			
Criação de outras espécies	Não	86	37,2	Referência 0, 975	0,99	0,65- 1,51
	Sim	184	36,9			
Cão com calazar	Não	215	36,2	Referência 0, 631	1,12*	0,69- 1,80
	Sim	54	40,7			
Calazar na família	Não	251	36,2	Referência 0, 444	1,30*	0,66- 2,59
	Sim	19	47,3			
Presença de animais silvestres	Não	108	35,2	Referência 0, 683	1,09*	0,73- 1,63
	Sim	162	38,3			
Proximidade de mata	Não	52	23,1	Referência 0, 069	1,75*	0,96- 3,19
	Sim	218	40,4			

Verificou-se que nenhuma das variáveis analisadas (renda familiar, conhecimento dos meios de transmissão, presença do vetor dentro casa e no quintal, utilização de método de proteção contra os insetos, criação de outras espécies animais na residência, criação anterior de um cão com LV, presença

de calazar na família, presença de animais silvestres e proximidade de mata) apresentou-se como fator de risco para a infecção por *L. chagasi* ($p > 0,05$).

Estes resultados estão de acordo com os de Glasser (2005), que não encontraram as variáveis idade, raça e comprimento do pêlo associadas à doença; e com França-Silva et al. (2003), ao observarem que os cães, independente da idade, têm a mesma probabilidade de contrair LVC. Por outro lado, Desjeux (2001), WHO (2002) e Naveda et al. (2006), afirmam que as variáveis idade, ausência de assistência veterinária, acesso à rua, presença de vetores nas residências, proximidade à áreas de mata, presença de animais silvestres, são fatores de risco para a doença. Já Moreno et al. (2002) e França-Silva (2003), relacionam a presença de cão de pêlo curto como fator de risco para a doença. E, Carvalho Filho (2008), descreve que cães com idade superior a 36 meses foram mais susceptíveis tendo duas vezes mais chances de adquirir a LV, assim como uma predisposição maior para os cães machos, uma vez que são criados fora de casa (quintal) e têm mais acesso à rua do que fêmeas.

Tais diferenças podem estar relacionadas com o tamanho da amostra utilizada, área de estudo, método diagnóstico empregado, imunidade do animal, além das informações colhidas dos proprietários, que no momento da entrevista, por desatenção ou intencionalmente, poderiam fornecer respostas que não traduzissem a realidade.

A técnica de regressão logística multivariada não foi realizada, uma vez que nenhuma associação significativa foi encontrada na análise univariada.

Apesar das variáveis não terem sido consideradas significativas para a ocorrência da infecção, algumas como idade (> 36 meses), cor do pêlo (bicolor), desconhecimento do modo de transmissão da doença, presença do vetor dentro de casa e no quintal, o não uso do ventilador, presença anterior de cão com calazar, ausência de assistência veterinária, calazar na família, presença de animais silvestres e proximidade de mata, apresentaram IRR um pouco acima de 1, indicando a possibilidade de haver associação dessas variáveis com a infecção canina por *L. chagasi*.

Cães acima de 36 meses apresentaram 1,06 mais chances de apresentar a doença que cães em idade inferior, associado provavelmente ao longo período de incubação da doença e ao convívio com outros animais que podem estar infectados (ARIAS et al., 1996).

Em humanos, a leishmaniose se mostra como doença oportunista comum em indivíduos imunossuprimidos de áreas endêmicas (MONTALBÁN et al., 1989). Já o presente estudo mostrou que animais portadores de outros tipos de doenças, não apresentaram um maior risco para a ocorrência de LV.

O desconhecimento dos meios de transmissão da LV aumentou a ocorrência da doença em 1,20, no presente estudo. Tal fato se deve à ausência da implantação de medidas individuais como, utilização de repelentes cutâneos, mosquiteiros, telas com malhas finas em portas e janelas e a solicitação por medidas de controle massal como busca ativa de doentes e encaminhamento para diagnóstico e tratamento; inquérito sorológico canino; apreensão e eliminação sumária dos cães soropositivos; borrifação sistemática de inseticida residual nos domicílios e peri-domicílios e programas de educação comunitária.

A manutenção do ciclo de transmissão do parasito em várias áreas de risco é provavelmente causada por uma série de fatores inter-relacionados, entretanto, pouco estudados, como presença de animais silvestres e sinantrópicos atuando como reservatórios da *L. chagasi*, humanos infectados, cães assintomáticos e animais domésticos (suínos, galinhas, cavalos etc.), atuando na alimentação e na atração dos vetores para o peri-domicílio (CABRERA et al., 2003; DEREURE et al., 2003; BARBOZA et al., 2006).

Desde a descrição dos primeiros casos da LVC no Brasil observa-se que esta coexiste com a doença humana em todos os focos conhecidos sendo, porém, mais prevalente. Souza (2005) confirmou essa situação ao estudar a ocorrência da LV em Belo Horizonte (MG), onde verificou por meio da análise espacial da epidemia, que havia correlação entre a LV canina e a humana, e que os casos caninos precediam os casos humanos. Neste estudo, a presença de casos humanos na família aumentou em 1,30 a probabilidade de ocorrência da LV em cães.

O relato sobre a presença de *L. chagasi* em espécies silvestres é comum na literatura, no entanto, o atual conhecimento sobre a relação dessas espécies como fator de risco para cães é incipiente. Cabrera et al. (2003), em estudo realizado em área com casos caninos de LV no Rio de Janeiro, observaram que os cães pertencentes às casas onde marsupiais foram capturados, estavam 2,6 vezes mais expostos a infecção por *L. chagasi*. Segundo Deane & Deane (1954), a raposa não é essencial na transmissão do parasito, apesar de ser considerada como um importante reservatório silvestre.

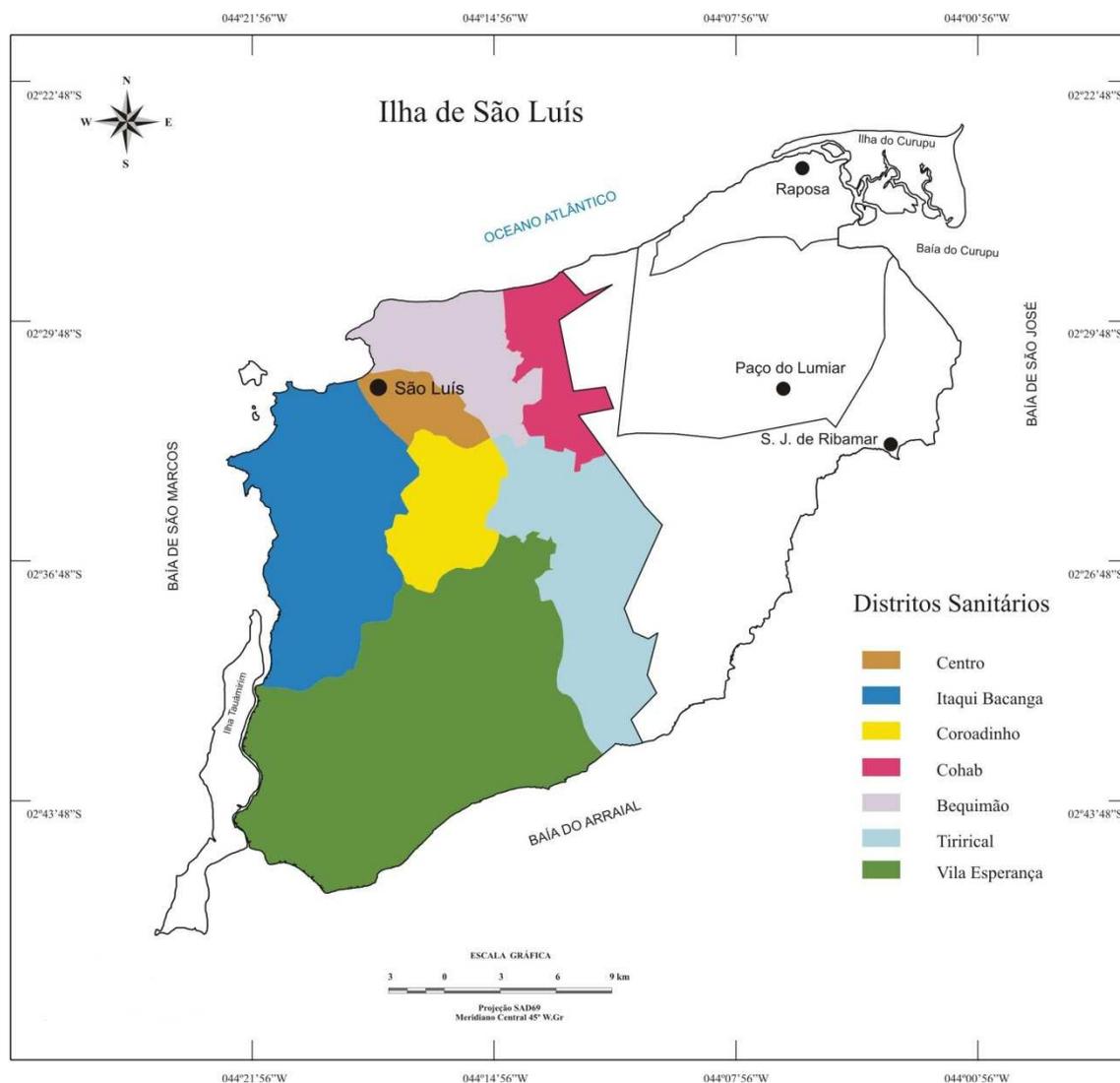
Apesar de já existirem relatos de isolamento do parasito em roedores (ZULUETA et al., 1999), pouco se sabe sobre o potencial dessas espécies atuarem como reservatórios da *L. chagasi* e suas interações ecológicas com o vetor *L. longipalpis*. No presente estudo, cães criados em casas com presença de animais silvestres estão um pouco mais expostos (1,09) à infecção.

Silva et al. (2005), observaram que a proximidade de mata com as residências mostrou uma correlação direta com a incidência de casos caninos. Uchôa et al. (2001) e Santos et al. (2005), afirmaram que a ocupação desordenada do homem, principalmente próximo a encostas e/ou matas, acarretando desequilíbrios ambientais, favorece a instalação do ciclo extraflorestal da doença, beneficiando seu caráter peri-domiciliar. Nesta pesquisa, observou-se quase duas vezes mais chances (1,75) de ocorrência da LVC em casas próximas à mata. Esses dados são possivelmente justificados pelo maior contato que estes animais têm com os ecótopos do vetor, facilitando assim, sua contaminação.

Rebêlo et al. (1999) destacam que o *L. longipalpis* é uma das espécies mais comuns e a que melhor se adapta ao convívio com o homem e animais domésticos. Segundo estes autores, a rápida adaptação desse vetor ao peri-domicílio nas áreas rurais e, até mesmo, nos bairros periféricos dos grandes centros urbanos, ocorre em virtude da modificação progressiva da vegetação primitiva do local. Além disso, o ambiente domiciliar dotado de matéria orgânica em decomposição ou lixo acumulado oferece condições para o vetor fazer seus criadouros.

Moreno et al. (2002), em estudo sobre LV em Sabará- MG, estimou em quatro vezes o aumento de risco de infecção por *Leishmania* em locais com presença de matéria orgânica em decomposição, como folhas, troncos e restos vegetais.

Com relação ao uso da tecnologia de geoprocessamento, foi possível confirmar a relação existente entre algumas características ambientais do distrito do Tirirical com a ocorrência da LV humana e canina. Para isto, foi necessária a confecção do mapa temático da localização geográfica dos sete distritos sanitários do município de São Luís (mapa 2) a partir de imagens de satélite (apêndice) e da utilização da ferramenta SIG.



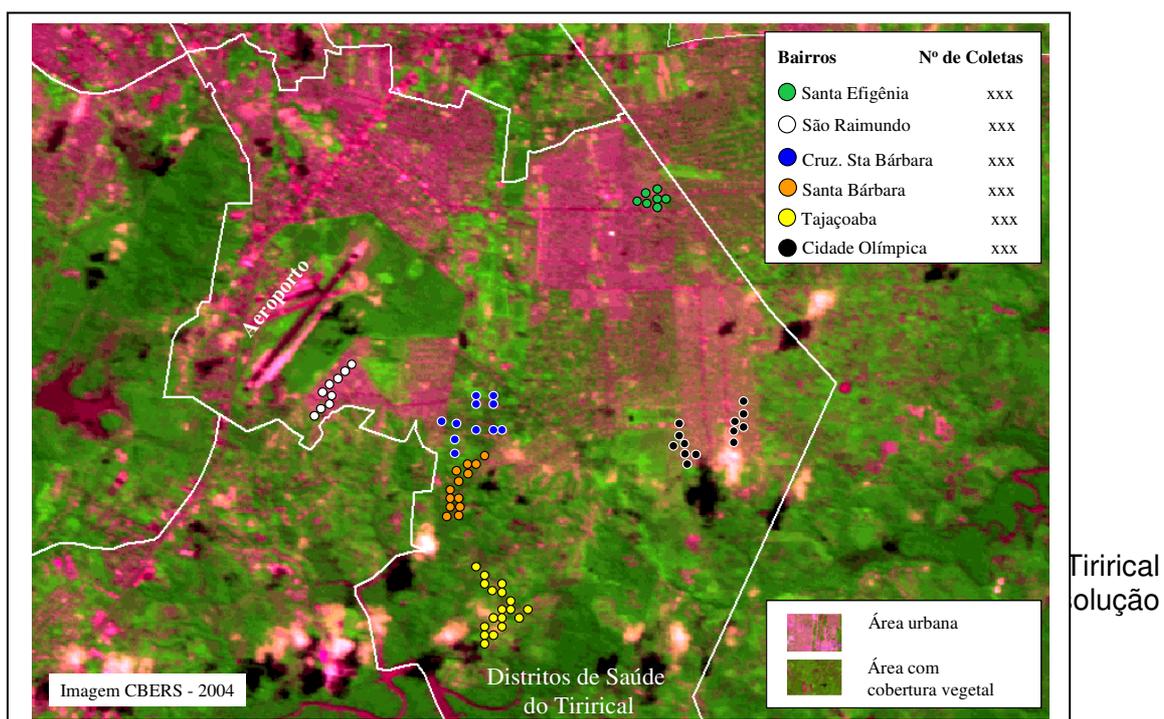
MAPA 2: Localização espacial dos sete distritos sanitários do município de São Luís. Escala 1:50.000. São Luís, 2010.

Esta criação permitiu verificar a localização, tamanho da área e os limites dos distritos sanitários. O distrito do Tirirical (cor laranja) está localizado no sudeste de São Luís, faz fronteira ao leste com o município de São José de Ribamar e ao oeste com o distrito da Vila Esperança, ao norte com os distritos do Coroadinho, Bequimão e Cohab, e ao Sul com a Baía do Arraial, possuindo, dentre os distritos sanitários, a segunda maior área territorial com 145 Km².

Constituído por 62 localidades, é o distrito mais populoso, com 238.154 habitantes (PREFEITURA DE SÃO LUÍS, 2008), devido ao grande fluxo de imigrantes no início da década de 90, que ocuparam de forma

desordenada esta região sudeste do município, gerando ocupações irregulares em áreas recém-desmatadas (MENDES et al., 2002).

Na sequência, adicionou-se ao SIG, os pontos georreferenciados e positivos para infecção por *L. chagasi* (figura 2), para posterior confecção do mapa 3.

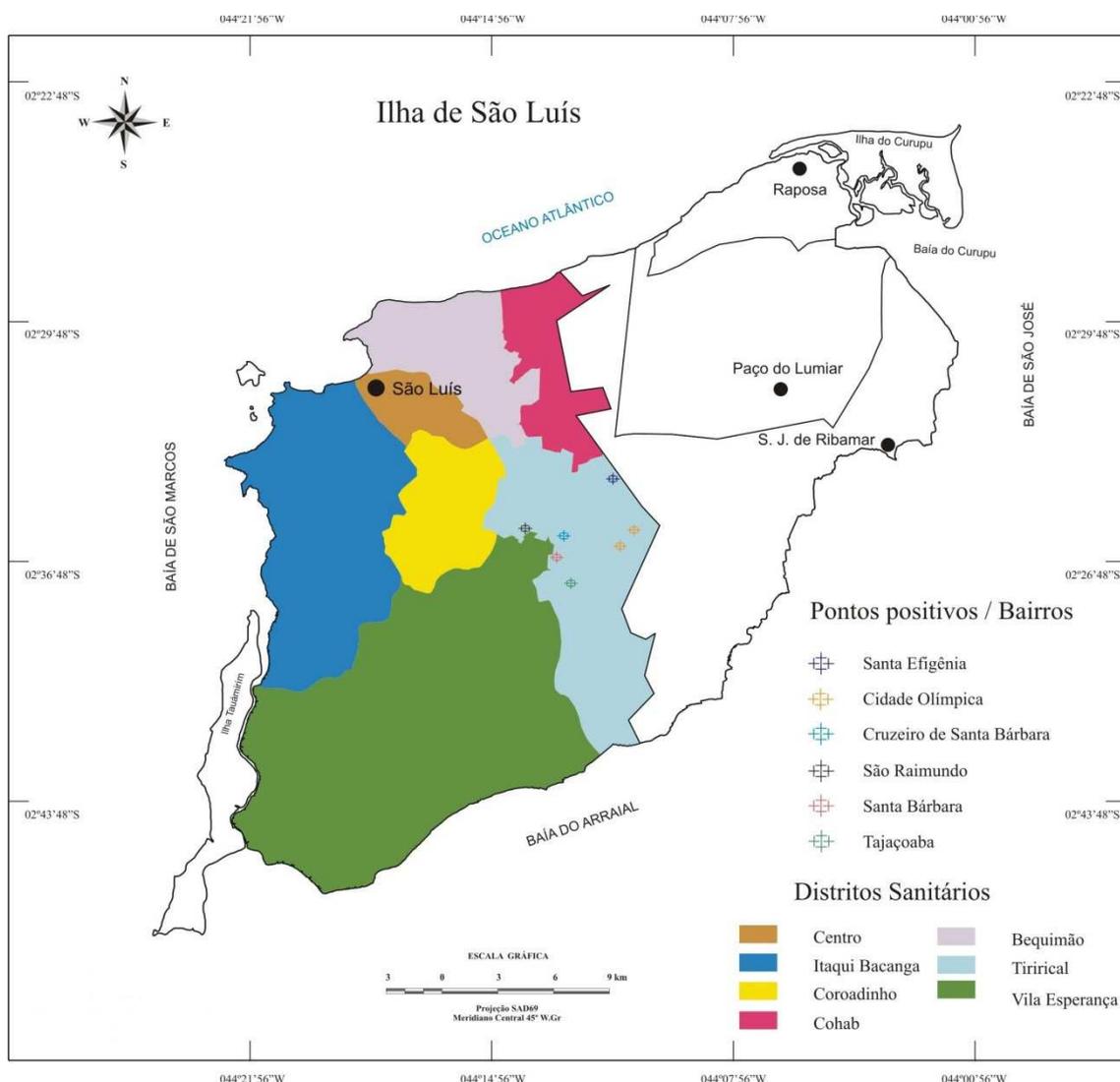


A figura 2 revela que todas as amostras colhidas foram oriundas do distrito do Tirirical, e que as localidades estudadas estão ao norte do distrito, sendo duas próximas da fronteira com o município de São José de Ribamar (Santa Efigênia e Cidade Olímpica), e quatro estão mais próximas do distrito da Vila Esperança (Conjunto São Raimundo, Santa Bárbara, Cruzeiro de Santa Bárbara e Tajaçoaba).

Identificou-se que as localidades Santa Efigênia, Cidade Olímpica e São Raimundo possuem uma área urbana bem evidente, com pouca cobertura vegetal. Já nas localidades Cruzeiro de Santa Bárbara, Santa Bárbara e

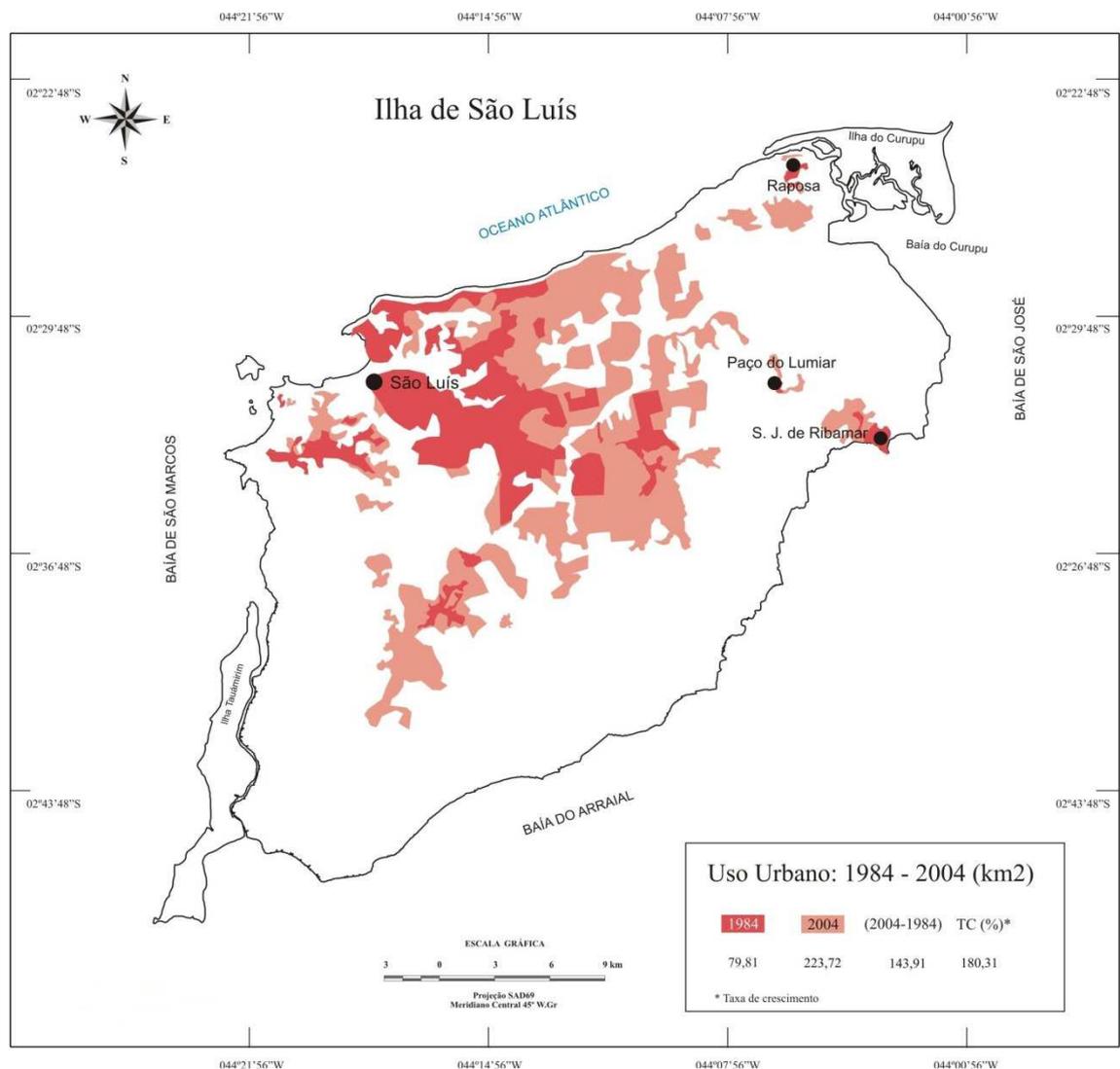
Tajaçuaba, a principal característica espacial observada foi a presença de cobertura vegetal, concordando com Prefeitura de São Luís (2006).

Neste estudo, apesar de possuírem padrões espaciais distintos de cobertura vegetal, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre as duas zonas, indicando a capacidade de adaptação do vetor em áreas urbanas, com pouca cobertura vegetal, porém com grande adensamento populacional de humanos e cães, o que facilita a transmissão do agente entre os hospedeiros.



MAPA 3: Os sete distritos sanitários do município de São Luís com os pontos georreferenciados e positivos para infecção por *L. chagasi*, no distrito do Tirirical. Escala 1:50.000. São Luís, 2010.

O crescimento urbano foi o fator seguinte analisado. Para isto, a partir de duas imagens de satélite, LandSat de 1984 e CBERS de 2004, com resolução espacial de 30m (apêndice), confeccionou-se o mapa 4.

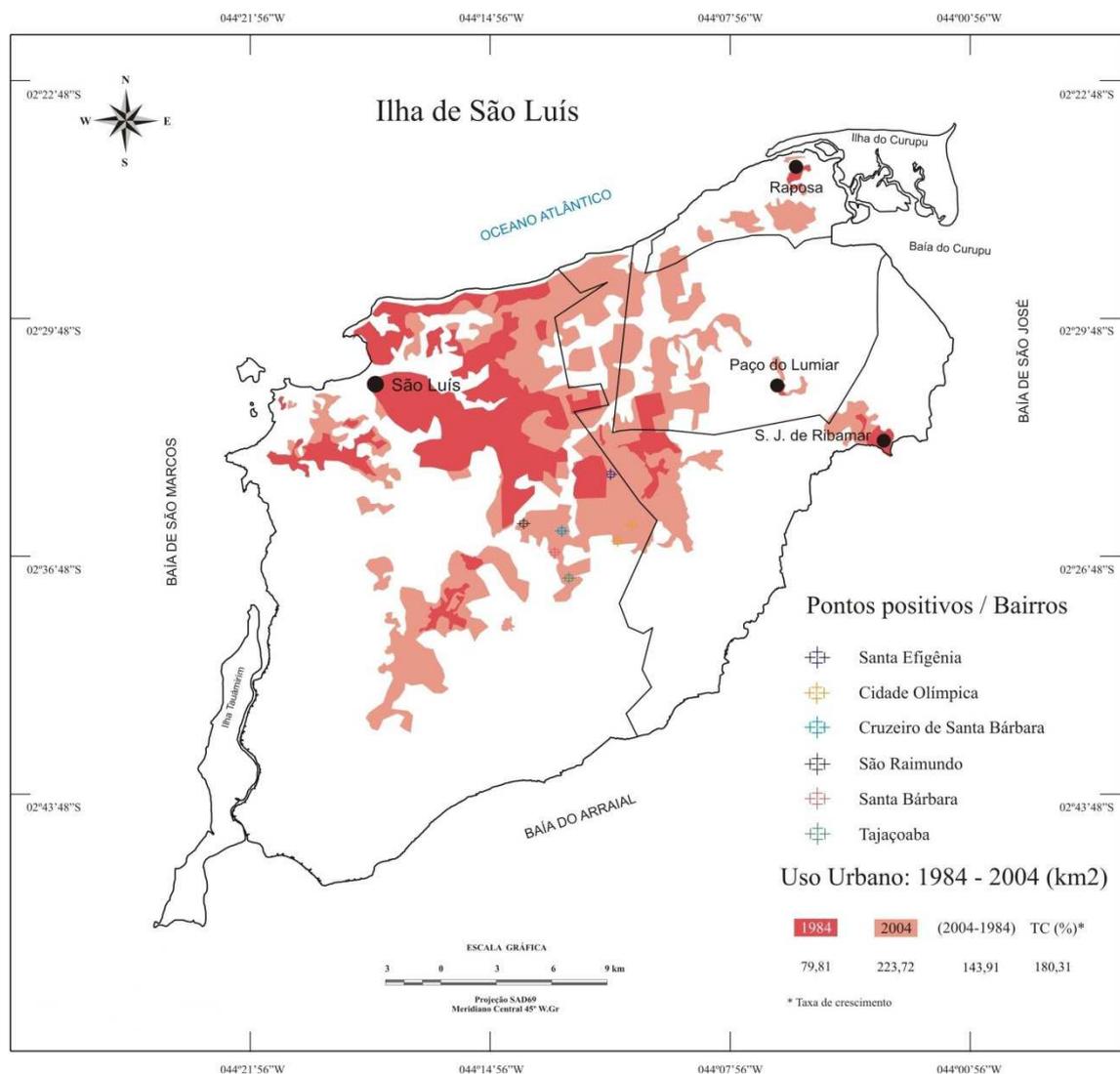


MAPA 4: Uso e crescimento urbano da Ilha de São Luís no período de 1984 a 2004. Escala 1:50.000. São Luís, 2010.

Em 1984, o município de São Luís possuía 70,87 Km² de área urbana, passando para 148,06 Km² em 2004, correspondendo a uma taxa de crescimento de 108,9%.

De acordo com Dourado et al. (2008) e Prefeitura de São Luís (2006), em 1984, 56% da população viviam na zona rural e apenas 24% na zona urbana. Esta situação sofre total inversão em 2004, quando 95% da população passa a viver na zona urbana.

Quando se realizou a sobreposição dos pontos georreferenciados e positivos para infecção por *L. chagasi*, verificou-se que os mesmos encontravam-se somente na área de crescimento urbano do ano de 2004, indicando que as todas as localidades foram criadas ao longo desse período de vinte anos (mapa 5). Percebe-se ainda, que grande parte do distrito do Tirirical também foi criada recentemente. Estes resultados concordam com Mendes et al. (2002), que descreveram a expansão espacial da LV, e os novos casos da doença se concentravam no sudeste do município, onde novas localidades surgiram entre 1991 e 1994 como áreas receptoras de migrantes, a exemplo de Vila Nova República e Santa Clara. E com a Prefeitura de São Luís (2006), que na última década, verificou um adensamento populacional expressivo no bairro Cidade Olímpica.



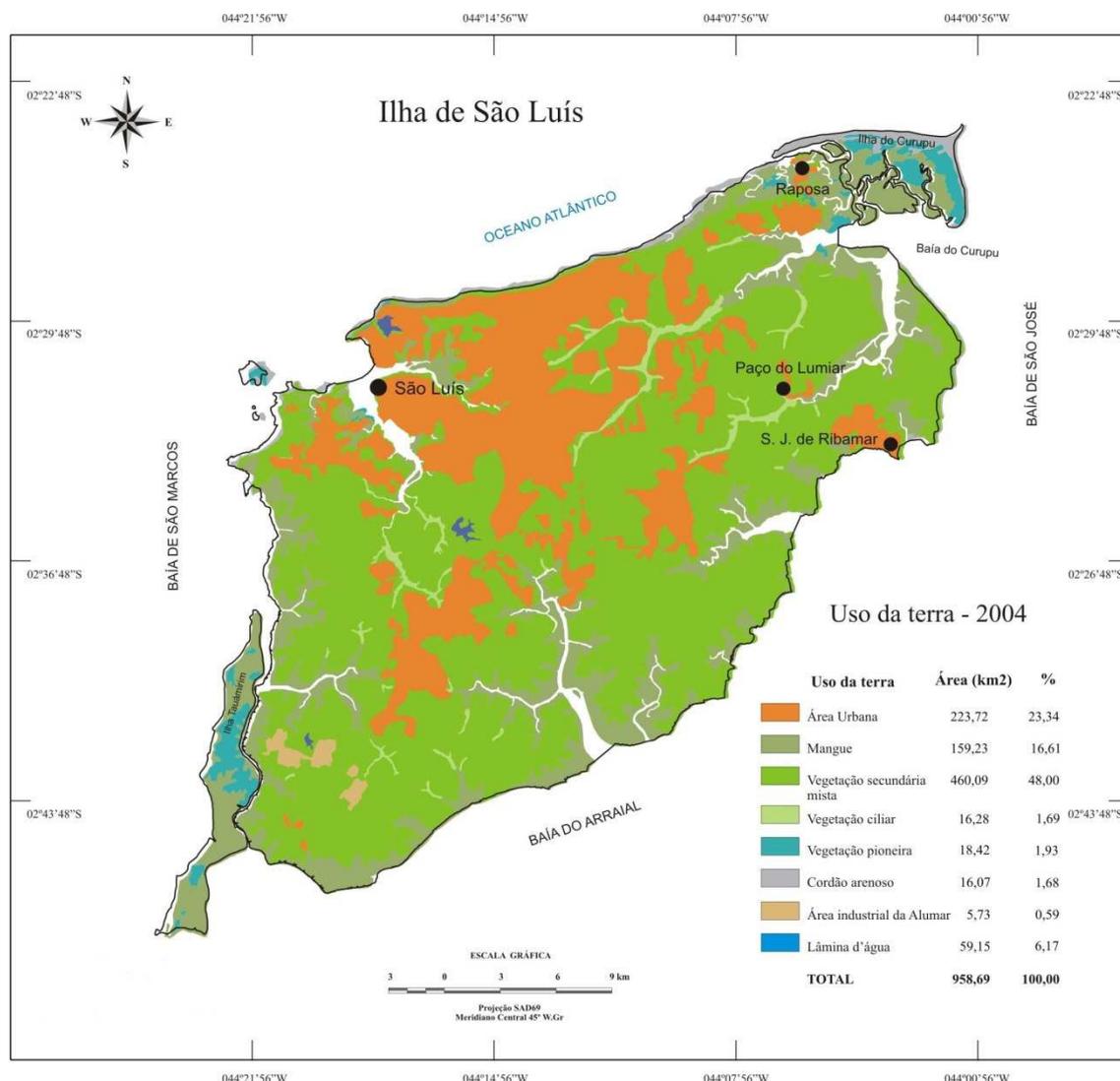
MAPA 5: Uso e crescimento urbano da Ilha de São Luís no período de 1984-2004, com a sobreposição dos pontos georreferenciados e positivos para infecção por *L. chagasi*, no distrito do Tirirical. Escala 1:50.000. São Luís, 2010.

Um dos principais fatores de risco é o fenômeno da urbanização, intimamente relacionado com o aumento da migração. Fatores sócioeconômicos, demográficos, culturais, políticos e ambientais têm forçado mais pessoas a abandonar suas aldeias e vilas e mudar-se para as periferias pobres das cidades. Mudanças ocorreram nos padrões de migração ao longo do tempo em países em desenvolvimento e urbanizados, tais como o fluxo de migração deixou de ser rural-rural para rural- urbano, e finalmente urbano-urbano. Este fato tem levado a um rápido surgimento de megacidades, onde as

condições de moradia e saneamento são inadequadas, criando assim um ambiente propício para a transmissão de doenças como as leishmanioses (DESJEUX, 2001; WHO, 2002; WERNECK et al., 2007, CERBINO NETO et al., 2009).

Em 1950, menos de um terço da população mundial vivia em cidades; atualmente 50% está urbanizada e, dentro dos próximos 50 anos, mais de cinco bilhões de pessoas serão moradoras das cidades. Na América do Sul mais de 70% da população está urbanizada. Esta tendência faz com que doenças rurais se desloquem para áreas urbanas, onde a alta concentração de populações humanas e de vetores favorece o aumento da incidência de infecção (WHO, 2002).

Dando continuidade no geoprocessamento, elaborou-se o mapa do uso da terra a partir da imagem de satélite obtida em 2004 para identificar o tipo, área, e a porcentagem da cobertura vegetal e da mancha urbana existente (mapa 6).



MAPA 6: Uso da terra (ano 2004) na Ilha de São Luís. Escala 1:50.000. São Luís, 2010.

Verificou-se que o tipo de cobertura vegetal predominante na Ilha de São Luís é a vegetação secundária mista com 460,09 Km², o que corresponde a 48% da área total; já a área urbana está em segundo lugar com 223,72 Km² (23,34%). Visualizando este mapa é possível perceber que a área urbana se estabeleceu principalmente onde outrora havia vegetação do tipo secundária mista, caracterizada segundo a Prefeitura de São Luís (2006), pela presença de capoeira aberta, formada por espécies arbustivas e várias plântulas das espécies de capoeira fechada; e da capoeira fechada, formada por espécies nativas arbóreas, tais como babaçu (*Orbignya speciosa*), pau d'arco (*Tecoma*

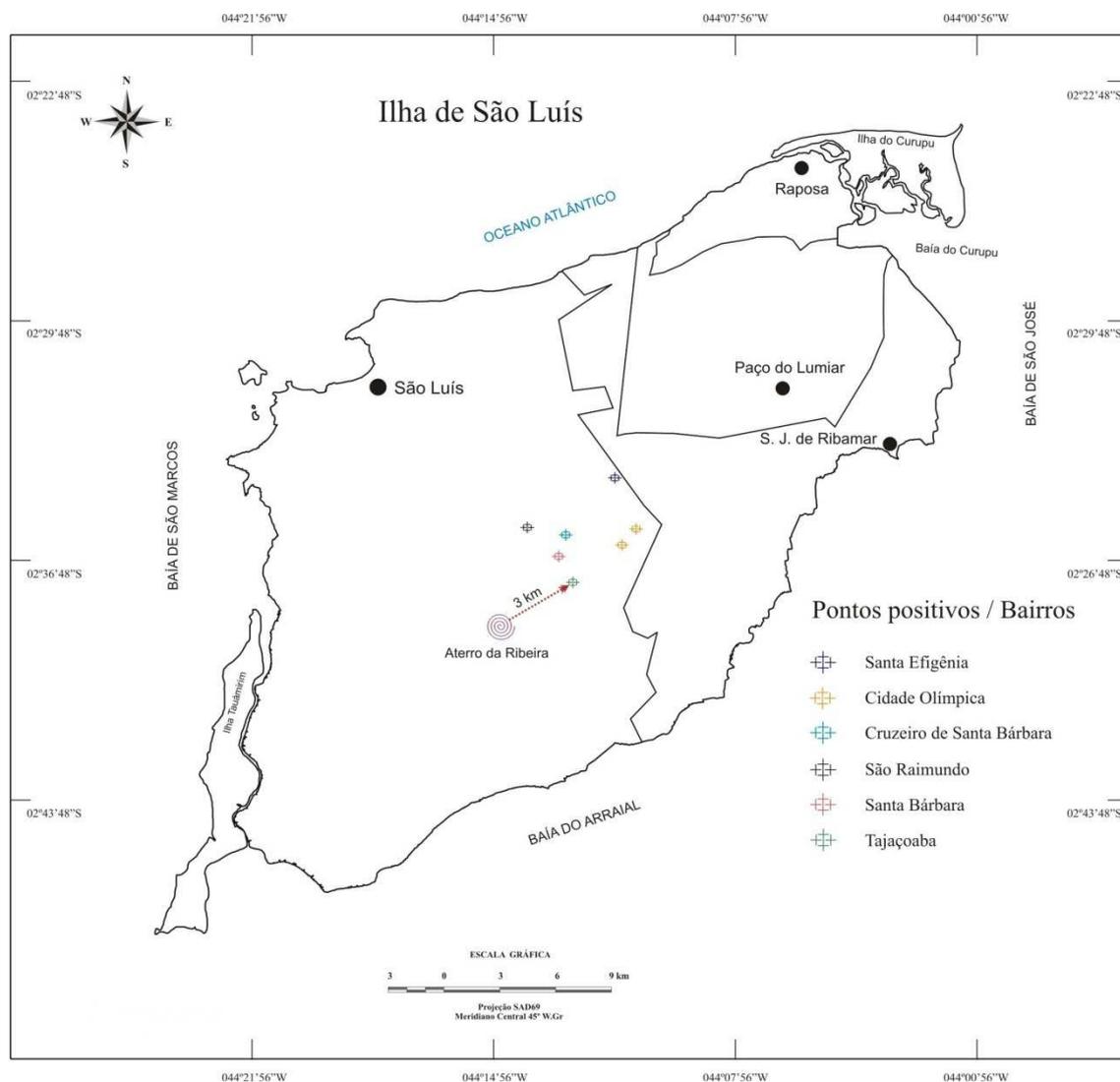
serratifolia), andiroba (*Carapa guianensis*), angelim (gêneros *Dinizia*, *Pithecolobium* e *Hymenplobium*), juçara (*Euterpe oleraceae*), buriti (*Mauritia flexuosa*), embaúba (*Cecropia scyadophylla*) entre outras).

Nas regiões periféricas, situadas na transição entre zona urbana e zona rural, a possibilidade de surtos epidêmicos é maior, uma vez que estão mais próximas dessas matas, conhecidas como o habitat natural de alguns vetores biológicos, como o *L. longipalpis*, corroborando com Werneck et al. (2007), e Cerbino Neto et al. (2009), que verificaram associação de vegetação abundante com a alta incidência de LVH e alta prevalência da infecção canina.

Por outro lado, estes resultados discordam de Bavia et al. (2005), que ao utilizarem uma abordagem SIG com dados de sensoriamento remoto, identificaram valores baixos de índice de vegetação (IVDN) como indicador de alta prevalência de *L. longipalpis*, LVH e LVC no noroeste do Estado da Bahia. A vegetação de savana seca tipo caatinga caracterizou-se como a área endêmica.

O georreferenciamento das residências avaliadas permitiu visualizar um componente, que não fora incluído no início da pesquisa, o aterro municipal da Ribeira. Entretanto, devido à sua importância por causar grande impacto ambiental, seja por desequilíbrio ou por contaminação, optou-se por medir a distância em quilômetros entre as residências e o aterro, para verificar alguma possível relação com a ocorrência da LV.

O mapa 7 ilustra a distância em linha reta do aterro municipal da ribeira para os pontos georreferenciados e positivos para infecção por *L. chagasi*, no distrito do Tirirical.



MAPA 7: Distância em linha reta do aterro municipal da ribeira para os pontos georreferenciados e positivos para infecção por *L. chagasi*, no distrito do Tirirical. Escala 1:50.000. São Luís, 2010.

Verificou-se que em linha reta, o aterro municipal da ribeira está a uma distância de três quilômetros da localidade Tajaçoaba. Esta proximidade pode facilitar a circulação do vetor *L. longipalpis* neste raio de distância, entre o seu possível local de reprodução e o local dos hospedeiros susceptíveis para o repasto sanguíneo.

De acordo com várias pesquisas, a distância máxima de vôo dos flebotomíneos pode variar entre 200 e 1.000 metros (FORATTINI,1973; GOMES & GALATI, 1989; DOURADO et al, 1989; GOMES et al, 1989; CORTE

et al, 1996; MIRANDA et al, 1996). Entretanto, pode-se considerar a hipótese de que possíveis reservatórios silvestres da LV transitem entre as matas que separam o aterro sanitário da localidade Tajaçuaba, sendo, portanto, um elo na disseminação do agente parasitário.

A Prefeitura de São Luís (2006) relata que são coletadas e transportadas para o aterro municipal da ribeira 1.400 toneladas de resíduos sólidos diariamente. Campos (1998) após visitas e estudos realizados neste aterro em São Luís, constatou que o mesmo não vinha sendo operacionalizado mediante procedimentos exigidos pelas normas técnicas, tais como, espalhar, compactar e cobrir com terra os resíduos sólidos, formando células de lixo.

Desta forma, a proximidade do aterro é uma hipótese razoável a ser considerada, que justifique o distrito do Tirirical possuir a maior prevalência da LV humana e canina dentre os distritos, e principalmente, a localidade Tajaçuaba dentre as outras estudadas. Esta hipótese corrobora com Rebêlo et al. (1999) e Moreno et al. (2002), que citaram a problemática do lixo acumulado sem armazenagem e tratamento corretos, como um dos fatores contribuintes para ocorrência da doença; e com Campos et al. (2009) que ao estudarem o aterro sanitário da Ribeira, verificaram um agravamento da contaminação, pois nenhuma medida de controle dos resíduos sólidos e efluentes vem sendo executada, o que tem causado vários impactos ao ambiente, entre os quais pode-se citar: exposição de lixo a céu aberto com o aparecimento de micro e macro vetores transmissores de doenças (artrópodes, roedores e, principalmente, insetos), presença de urubus (risco para o tráfego aéreo, devido à proximidade com o aeroporto Marechal Cunha Machado) e exposição de chorume a céu aberto, contaminando o solo, o lençol freático e, conseqüentemente, o Igarapé do Sabino ou da Ribeira, um dos afluentes do rio Tibiri.

Percebe-se que a precariedade do saneamento básico, o contato com o lixo, a proximidade de um aterro sanitário, somadas ao adensamento populacional de humanos e cães, criam todas as condições de reprodução e adaptação do vetor da LV nessas localidades, facilitando assim, a transmissão do agente entre os hospedeiros susceptíveis.

Outro fator de risco atualmente estudado são as alterações climáticas e fenômenos meteorológicos, como o El Niño, responsável por períodos de estiagem no Brasil, Venezuela e Colômbia (DESJEUX, 2001).

Por isso, dados de meteorologia referentes ao município de São Luís também foram analisados. Para isso, foram utilizados dados fornecidos pelo Laboratório de Meteorologia (LabMet/NUGEO/UEMA), para determinar os valores anuais de temperatura média, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica do município de São Luís, no período de 1999 a 2009, e a ocorrência do fenômeno El Niño no mesmo período, conforme a tabela 6 seguinte.

TABELA 6: Registros do número de casos de leishmaniose visceral humana, percentual de reatores para leishmaniose visceral canina, valores anuais de temperatura média, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica do município de São Luís, e ocorrência do El Niño, no período de 1999 a 2009, São Luís-2010

Ano	LVH (nº casos)	LVC (% reatores)	T(° C) Média	UR (%) Média	PRP (mm) Total	Ocorrência do El Niño
1999	146	5,2	28,0	82,1	2254,9	-
2000	57	3,0	28,0	83,0	2400,9	-
2001	26	2,9	28,2	82,3	1902,2	-
2002	21	3,3	28,6	83,8	1827,3	Moderado
2003	46	4,6	27,1	78	1836,75	Moderado
2004	56	7,3	27,1	77	1832,25	-
2005	58	7,1	27,5	77	1467,75	-
2006	35	7,9	27,6	77	1789,00	-
2007	37	6,8	28,2	78	1727,75	-
2008	30	6,8	27,0	81	2373,4	-
2009	21	5,5	26,7	83,8	2132,4	Moderado

T(°C)- Temperatura em graus Celsius

UR (%) - Percentual de umidade relativa do ar

PRP (mm)- Precipitação pluviométrica

(-) Ano sem ocorrência do fenômeno meteorológico El Niño

Fonte: CCZ/São Luís; LabMet/NUGEO/UEMA, adaptado por Vendruscolo, 2010

Observou-se que o El Niño não causou alterações significativas na temperatura média nos anos de ocorrência moderada (2002, 2003 e 2009), e ao contrário de outras regiões como o semiárido nordestino, não promoveu diminuições importantes na umidade relativa do ar, assim como na precipitação pluviométrica, que se mantiveram equilibradas no período analisado de 1999 a 2009. Entretanto, verificou-se que no período do fenômeno (2002-2003) e nos dois anos consecutivos (2004- 2005), houve um incremento tanto no número de casos registrados para LVH quanto no percentual de reatores para LVC.

Estes resultados concordam com Franke et al. (2002), que observaram um aumento na incidência de LV nos anos pós-El Niño no Estado da Bahia, e com Rebêlo (2008) que também verificou um incremento na ocorrência da doença nos períodos que se seguiram imediatamente após o fenômeno na Ilha de São Luís, Maranhão.

O fenômeno El Niño é causado pelo aquecimento das águas do oceano pacífico, sendo associado a condições climáticas extremas podendo causar inundações e secas em diversas regiões do planeta (NICHOLLS, 1993; KOVATS, 2000). Uma explicação para os resultados encontrados nesta pesquisa é que o El Niño provoca em algumas regiões do Nordeste brasileiro períodos de estiagem, levando a escassez de alimentos e fome a populações vulneráveis. Como consequência disto, muitas pessoas fugindo da seca, provavelmente migraram de áreas endêmicas para o município de São Luís.

Esta explicação corrobora com Sherlock (1996) e Nascimento et al. (1996), que relataram as epidemias periódicas de LV observadas principalmente no Nordeste do Brasil, sendo associadas às migrações humanas para as áreas urbanas, após longos períodos de seca.

Nicholls (1993) e Kovats (2000) relataram uma forte evidência da relação entre o El Niño e o risco de epidemia de doenças transmitidas por vetores em várias regiões do mundo. Seguindo o mesmo pensamento, Franke et al. (2002) sugeriram que esta relação poderia ser usada para prever os riscos e as medidas de controle a fim de diminuir os impactos na saúde. Entretanto, Rebêlo (2008) ressaltou que este fenômeno não é o único fator responsável pela ocorrência da leishmaniose.

As evidências apontam que a maior determinante nas mudanças das vegetações nas próximas décadas, provavelmente não será uma resposta às mudanças climáticas, mas sim aos efeitos da urbanização e do desmatamento. Mudanças no uso da terra serão ainda incluídos em futuros cenários. Em todo caso, os efeitos locais de urbanização ou de desmatamento podem ser tão drásticos quanto aqueles provocados pelas mudanças climáticas (STONE, 2008).

Machado e Silva et al. (2003) avaliaram o uso de imagens de satélites para mapeamento topográfico, e os resultados alcançados mostraram que as imagens de satélite podem ser utilizadas para a construção de cartas topográficas nas escalas 1:25.000 ou menores. Estes resultados indicam que, cartas topográficas, produzidas atualmente a partir de fotografias aéreas, poderão, no futuro, serem produzidas por imagens de satélite de modo operacional (NOVO, 2008). Tais imagens estão sendo amplamente utilizadas para várias finalidades de atualização cartográfica, conforme relato de Mangabeira et al. (2003), que demonstraram sua utilidade para a atualização de cadastro rural em regiões de grande dinamismo fundiário ou o de Alves & Vergara (2005), que relataram sua aplicação na atualização de cadastros urbanos.

De acordo com Desjeux (2001), alguns fatores de risco podem ser reduzidos aplicando cuidadosas estratégias de controle para cada entidade ecoepidemiológica, continuidade garantida, ajustando essas estratégias para quaisquer novas mudanças ambientais e propiciando assim pesquisas específicas. Entretanto isso requer um forte compromisso financeiro e político de todas as partes envolvidas. A cooperação multidisciplinar entre saúde e outros setores governamentais, tais como educação, agricultura, água, área florestal e outros recursos naturais é também crucial para a prevenção e controle dos principais fatores de risco.

A estratégia de controle da LV deve está centrada na identificação e eliminação dos reservatórios, principalmente o cão, aplicação de inseticidas para eliminação do vetor, diagnóstico e tratamento adequado dos casos registrados. Um maior conhecimento científico sobre o papel específico de

cada elemento da cadeia de transmissão (agente etiológico, inseto transmissor, homem e reservatórios silvestres e domésticos), representa um dos maiores desafios para o aprimoramento das estratégias de controle. As medidas de controle usualmente empregadas não tem apresentado efetividade suficiente para redução da prevalência, ainda que importantes avanços tenham sido alcançados na redução da letalidade.

As Secretarias Estaduais e Municipais de Saúde devem ampliar as alternativas para controle da doença. Treinamentos para técnicos destas secretarias, visando desenvolver uma maior capacidade gerencial no programa de controle, desenvolver atividades de vigilância entomológica, ampliar a capacidade diagnóstica e terapêutica da rede de assistência devem ser priorizadas.

Com a crescente urbanização da leishmaniose, houve uma mudança no padrão da doença de predominância rural para os centros urbanos, assumindo relações extremamente complexas com as características demográficas, ambientais, sociais e políticas que podem variar de acordo com o tempo e o espaço. Essa mudança está estimulando os profissionais de epidemiologia a buscarem novas ferramentas de análise dos determinantes e fatores que contribuem para permanência da leishmaniose e de outras endemias em cidades de médio e grande porte, permitindo a capacitação dos serviços de saúde para o controle e a vigilância das doenças.

Camargo-Neves et. al (2001) sugerem que o uso do geoprocessamento pode contribuir substancialmente para o desenvolvimento das ferramentas de análise espacial voltada para vigilância epidemiológica.

Esta ferramenta, nos dias atuais, está sendo utilizada por vários órgãos e instituições públicas, assim como por centros de pesquisa dos mais variados campos do conhecimento. Na área da saúde, merece destaque as tecnologias SIG e de georreferenciamento por possibilitarem a integração de dados de saúde com dados sócio-políticos e ambientais. Esta pesquisa foi realizada utilizando essa integração promovida por meio da ferramenta de geoprocessamento, que permitiu avaliar a relação de algumas características

sociais e ambientais, como determinantes para a produção e reprodução da LV.

6 CONCLUSÕES

- A utilização da PCR revelou alta prevalência da infecção por *L. chagasi* em cães, confirmando que o distrito do Tirirical continua sendo uma área hiperendêmica para leishmaniose visceral.

- A maior prevalência encontrada está relacionada com os piores índices sociodemográficos e com a proximidade geográfica com o aterro da Ribeira.

- Não houve diferença significativa entre as duas zonas.

- Nenhuma variável avaliada no questionário epidemiológico foi associada estatisticamente como fator de risco para a LVC.

- A elaboração do mapa temático dos distritos sanitários do município de São Luís permitiu uma melhor visualização das características espaciais que influenciam a disseminação e manutenção da LV na área estudada.

- A LVC está distribuída espacialmente de forma homogênea entre as seis localidades.

- O fenômeno El Niño teve um efeito indireto na ocorrência da LV.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para redução dos casos de LV humana e canina, é de extrema importância a adoção de novas ferramentas e tecnologias, como o georreferenciamento e geoprocessamento, que promovam um conhecimento de todos os fenômenos inerentes ao agente etiológico, ao vetor, aos hospedeiros e da interação destes com o ambiente uma vez que a manutenção da doença revela o equilíbrio de todos esses componentes. Logo, são

indispensáveis ações envolvendo a sociedade e todos os setores e esferas da gestão pública, bem como uma vigilância epidemiológica constituída por equipes multidisciplinares formadas por médicos, veterinários, biólogos, sociólogos, geógrafos, meteorologistas, engenheiros agrônomos e engenheiros civis a fim de interromper esse equilíbrio estabelecido em áreas endêmicas.

Somente desta forma será possível diminuir os impactos causados na saúde pública por esta parasitose tão complexa e intrigante.

REFERÊNCIAS

ALENCAR, J.E. Incidência da leishmaniose canina no Piauí, meios diagnósticos num inquérito. **Ceará Médica**, v. 36, n. 2, 3, 4, p.1-12, 1958.

ALVES, W.A., BEVILACQUA, P.D. Quality of diagnosis of canine visceral leishmaniasis in epidemiological surveys: an epidemic in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 1993 – 1997. **Cad. Saúde Pública**. Rio de Janeiro, v. 20, n. 1, p. 259-265, 2004.

ALVES, R.A.L. ; VERGARA, O.R. Identificação de alvos urbanos em imagens Ikonos, aplicando classificação orientada a segmentos. **In: XII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 2005, Goiânia. Anais...** São José dos Campos: INPE, 2005. p. 2573-2580.

ASHFORD, D. A.; BOZZA, M.; FREIRE, M.; MIRANDA, J. C.; SHERLOCK, I.; EULALIO, C.; LOPES, U.; FERNANDES, O; DEGRAVE, W.; BARKER, R. H.; BADARO, R.; DAVID J. R. Comparison of the polymerase chain reaction and serology for the detection of canine visceral leishmaniasis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 53, p. 251–255, 1995.

BARBOZA, D.C.P.M. et al. Estudo de coorte em áreas de risco para leishmaniose visceral canina, em municípios da Região Metropolitana de Salvador, Bahia, Brasil. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, Salvador, v. 7, n. 2, p. 152-163, 2006.

BARCELLOS, C; BASTOS, F. Geoprocessamento, ambiente e saúde: uma união possível? **Cadernos de Saúde Pública**, v. 12, n.3, p. 389-397. 1996.

BARCELLOS, C.; RAMALHO, W. M.; GRACIE, R.; MAGALHÃES, M. A. F. M.; FONTES, M. P.; SKABA, D. Georreferenciamento de dados de saúde na

escala submunicipal: algumas experiências no Brasil. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v. 17, n. 1, p. 59-70, 2008.

BARROS, A. J. D., HIRAKATA, V. N. Alternatives for logistic regression in cross-sectional studies: an empirical comparison of models that directly estimate the prevalence ratio. **BMC Medical Research Methodology**, v. 3, n. 21, 2003.

BATES, P.A. Transmission of Leishmania metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. **Int. J. Parasitol.**, v. 37, p.1097-1106, 2007.

BAVIA, M.E., CARNEIRO, D.D., GURGEL, H.D.A. C., MADUREIRA, FILHO C. & BARBOSA M.G. Remote sensing and geographic information systems and risk of American visceral leishmaniasis in Bahia, Brazil. **Parassitologia (Rome)**, v. 47, p.165-169, 2005.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília: Ministério da Saúde, p.99, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. - Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

CABRAL, M.; O'GRADY, J.E.; GOMES, S.; SOUSA, J.C.; THOMPSON, H.; ALEXANDER, J. The immunology of canine leishmaniasis: strong evidence for a developing disease spectrum from asymptomatic dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 76, p.173-180, 1998.

CABRERA, M.A.; PAULA, A.A.; CAMACHO, L.A.; MARZOCHI, M.C.; XAVIER, S.C.; SILVA, A.V.; JANSEN, A.M. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of risk factors. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v.25, n.2, p.79-83, 2003.

CÂMARA, G; MONTEIRO, A. M. V. Geocomputation techniques for spatial analysis: are they relevant to health data? **Cadernos de Saúde Pública**, v.17, n. 5, p. 1059-1081, 2001.

CAMARGO-NEVES, V. L. F.; KATZ, G.; RODAS, L. A. C.; POLETTO, D. W.; LAGE, L. C.; SPÍNOLA, R. M. F.; CRUZ, O. G. Utilização de ferramentas de análise espacial na vigilância epidemiológica de leishmaniose visceral americana – Araçatuba, São Paulo, Brasil, 1998-1999. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 5, p.1263-1267, 2001.

CAMARGO-NEVES, V.L.F.; RODAS, L.A.C.; POLETTO, D.W.; GOMES, A.C. Feeding habitat of *Lutzomyia longipalpis* in Araçatuba country, state of São Paulo, Brazil. **Entomologia y Vectores**, v.9 (supl1), p.63, 2002.

CAMARGO-NEVES, V.L.F. **Leishmaniose visceral americana: Doença emergente no Estado de São Paulo**. Comciência – Revista Eletrônica de Jornalismo Científico. Disponível em: < <http://www.comciencia.br/reportagens/2005/06/17.shtml>>, 2005. Acesso em: abril de 2009.

CAMARGO-NEVES, V.L.F.; SANTUCCI, S.G. **Leishmaniose Visceral Americana. Superintendência de Controle de Endemias – SUCEN**, Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado de Saúde de São Paulo, 2000-2001. Disponível em: <http://www.sucen.sp.gov.br/doencas/leish_viscc/texto_leish_viscc_pro.htm> Acesso em fevereiro de 2009.

CAMPINO, L.; SANTOS-GOMES, G.; RICA CAPELA, M. J.; CORTES, S.; ABRANCHES, P. Infectivity of promastigotes and amastigotes of *Leishmania infantum* in a canine model for leishmaniasis. **Vet. Parasitol.**, v. 92, p. 269–275, 2000.

CAMPINO, L.M. Canine reservoir and leishmaniasis: epidemiology and disease. In FARREL, J.P. **Leishmania: world class parasites**. v.4, p.45-57, 2002.

CAMPOS, A. E. L.. **Estudo ambiental sobre o aterro sanitário da Ribeira em São Luís – MA**. 87p. Trabalho de conclusão de curso (Monografia)- Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 1998.

CAMPOS, A. E. L.; NUNES, G. S.; OLIVEIRA, J. C. S.; TOSCANO, I. A. S. Avaliação da contaminação do Igarapé do Sabino (Bacia do Rio Tibiri) por metais pesados, originados dos resíduos e efluentes do Aterro da Ribeira, em São Luís, Maranhão. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 960-964, 2009.

CARDOSO, W.M.; BARACAT-DE-ARAÚJO, R.; QUESADA, A. M.; FERREIRA, P. M.; SANTOS, H.P.; GUIMARÃES, J.E. Leishmaniose visceral canina em São Luis, Maranhão. Alguns aspectos clínicos. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.38, p.27-31, 1984.

CARDOSO, L.; CABRAL, M. **Leishmania e leishmaniose canina**. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, v.93, p.119-170, 1998.

CARVALHO, M. S.; PINA, M. F.; SANTOS, S. M. **Conceitos Básicos de Sistemas de Informação Geográfica e Cartografia Aplicados à Saúde**. 1ª ed. Brasília: Organização Panamericana da Saúde/Ministério da Saúde, 2000.122p.

CARVALHO FILHO, N. W. B. **Aspectos epidemiológicos e soroprevalência da leishmaniose e babesiose em cães de raça no município de São Luis – Ma.** 51p. Dissertação (mestrado em Ciências Veterinárias)- Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2008.

CERBINO NETO, J.; WERNECK, G. L.; COSTA, C. H. N. Factors associated with the incidence of urban visceral leishmaniasis: an ecological study in Teresina, Piauí State, Brazil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 7, p. 1543-1551, 2009.

CHAGAS, E.; CUNHA, A.M.; CASTRO, G.O.; FERREIRA, L.C. Estudo sobre as grandes endemias do Brasil. **O Hospital**, v. 14, n. 16, dez, 1938.

CORRÊA, C.N.M., CORRÊA, W.M.C. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos.** Rio de Janeiro: Médica e Científica Ltda. p. 717 – 720, 1992.

CORREIA, V. R. M.; TASSINARI, W. S.; CARVALHO, M. S.; WERNECK, G. L. Técnicas de sensoriamento remoto aplicadas à endemia de Leishmaniose Visceral em Teresina. **In: XII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 2005, Goiânia. Anais...** São José dos Campos: INPE, 2005, p. 2629-2636.

CORTADA, V.M.C.L.; DOVAL, M.E.C.; SOUZA LIMA, M.A.A.; OSHIRO, E.T.; NENESES, C.R.V.; ABREU-SILVA, A.L.; CUPOLILO, E.; SOUZA, C.S.F.; CARDOSO, F.O.; ZAVERUCHA DO VALLE, T.; BRAZIL, R.P.; CALABRESE, K.S.; GONÇALVES DA COSTA, S.C. Canine visceral leishmaniasis in Anastácio, Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Veterinary Research Communications**, v.28, n.5, p.365-374, 2004.

CORTE, A. A.; NOZAWA, M. R.; FERREIRA, M. C.; PIGNATTI, M. G.; RANGEL, O.; LACERRA, S. S. Aspectos eco-epidemiológicos da leishmaniose

tegumentar americana no município de Campinas. **Cad Saúde Pública**, v. 12, p. 465-472, 1996.

COSTA, J. M. L.; VIANA, G. M. C.; SALDANHA, A. C. R.; NASCIMENTO, M. D. S.; ALVIM, A. C., BURATTINI MN, SILVA AR. Leishmaniose visceral no Estado do Maranhão, Brasil. A Evolução de uma epidemia. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 11, p. 321-324, 1995.

DEANE, L.M.; DEANE, M.P. Encontro de *Leishmanias* nas vísceras e na pele de uma raposa em zona endêmica de calazar nos arredores de Sobral. Ceará. **O Hospital**, Rio de Janeiro, v. 45, p. 419-421. 1954.

DEANE L. M.; DEANE M. P. A leishmaniose visceral no Brasil: distribuição geográfica e transmissão. **Rev Inst Med Trop**, São Paulo, v. 4, p. 198–212, 1962.

DESJEUX, P. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. **Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene**, v. 95, p. 239-243, 2001.

DIAS, F.O.P.; LOROSA, E.S.; REBELO, J.M.M. Blood feeding sources and peridomiciliation of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). **Caderno de Saúde Pública**, v.19, n.5, p.1373-1380, 2003.

DOURADO, G. F.; LOPES, J. R.; ASEVEDO, L. P.; ROZÁRIO, I. L. M. Evolução do uso urbano na Ilha do Maranhão no período de 1984 e 2004 e suas conseqüências sócioambientais utilizando técnicas de geoprocessamento. In: **XV Congresso Brasileiro de Meteorologia, 2008, São Paulo. Anais...**São Paulo: SBMET, 2008.

DOURADO, M. I. C.; NORONHA, C. V.; ALCANTARA, N.; ICHIHARA, M. Y. T.; LOUREIRO, S. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana e suas

relações com a lavoura e o garimpo, em localidade do estado da Bahia (Brasil). **Rev Saúde Pública**, v. 23, p. 2-8, 1989.

DUPREY, Z.H., STEURER, F.J., ROONEY, J.A., KIRCHHOFF, L.V., JACKSON, J.E., ROWTON, E.D. & SCHANTZ, P.M. Canine visceral leishmaniasis, United States and Canada, 2000-2003. **Emerging Infectious Disease**, v.12, p.440-446, 2006.

FEITOSA, M.M.; IKEDA, F.A.; LUVIZOTO, M.C.; PERRI, S.H.; Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba- SP, Brasil. **Clínica Veterinária**, v.5, n. 28, p.36-44, 2000.

FERRER, L.; RABANAL, R.; FONDEVILA, D.; RAMOS, J.A.; DOMINGO, M. Skin lesions in canine leishmaniasis. **Journal Small Animals Practitioners**, v. 29, p.381-388, 1988.

FERRER, L.; JUANOLA, B.; RAMOS, J.A.; RAMIS, A. Chronic colitis due to Leishmania Infection in two dogs. **Veterinary Pathology**, v. 28, p. 342-343, 1991.

FERRER, L.; AISA, M.J.; ROURA, X.; PORTÚS, M. Serological diagnosis and treatment of canine leishmaniasis. **Veterinary Record**, v. 136, p. 514-516, 1995.

FISA, R.; GALLEGU, M.; CASTILLEJO, S.; AISA, M.J.; SERRA, T.; RIERA, C.; CARRIO, J.; GALLEGU, J.; PORTUS, M. Epidemiology of canine leishmaniosis in Catalonia (Spain) the example of the Priorat focus. **Veterinary Parasitology**, v. 83, p. 87-97, 1999.

FISA, R.; RIEIRA, C.; GÁLLEGO, M.; MANUBENS, J.; PORTUS, M.; Nested PCR for diagnosis of canine leishmaniasis in peripheral blood, lymph node and bone marrow aspirates. **Veterinary Parasitology**, v. 99, n. 2, p. 105-111, 2001.

FORATTINI, O. P. **Entomologia médica**. V. 4. São Paulo: Edgard Blucher, 1973.

FRANÇA-SILVA, J.C.; COSTA, R.T.; SIQUEIRA, A. M.; MACHADO-COELHO, G.L.L.; COSTA, C.A.; MAYRINK, W.; VIEIRA, E.P.; COSTA, J.S.; GENNARO, O., NASCIMENTO, E. Epidemiology of canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Montes Claros municipality, Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.111, n.2-3, p.161-173, 2003.

FRANÇA-SILVA, J.C.; BARATA, R.A.; COSTA, R.T.; MONTEIRO, E.M.; MACHADO-COELHO, G.L.L.; VIEIRA, E.P.; PRATA, A.; MAYRINK, W.; NASCIMENTO, E.; FORTES-DIAS, C.L.; SILVA, J.C.; DIAS, E.S. Importance of *Lutzomyia longipalpis* in the dynamics of transmission of canine visceral Leishmaniasis in the endemic área of Porteirinha Municipality, Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.10, p.213-220, 2005.

FRANKE, C.R.; ZILLER, M.; STAUBACH, C. & LATIF M. Impact of the El Niño/Southern Oscillation on visceral leishmaniasis, Brazil. **Emerging Infectious Disease.**, v. 8, p.914-917, 2002.

FREHSE, M. S.; JÚNIOR, H. G., ULLMANN, L. S.; CAMOSSO, L. G.; MACHADO, J. G.; LANGONI, H.; BIONDO, A. W.; MOLENTO, M. B. Surveillance of canine visceral leishmaniasis in a disease-free area. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19(1), p. 64-66, 2010.

GOMES, A. C.; GALATI, E. A. B. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. Capacidade vetorial flebotomínea em ambiente florestal primário do sistema da Serra do Mar, Região do Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Saúde Pública**,v. 20, p. 280-287, 1989.

GOMES, A. C.; BARATA, J. M. S.; ROCHA-E-SILVA, E. O. ; GALATI, E. A. B. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. Fauna flebotomínea antropófila de matas residuais situadas na região centro-nordeste do estado de São Paulo, Brasil. **Rev Inst Med Trop.**, v. 31, p. 32-39, 1989.

GONTIJO, C.M.F.; MELO, M.N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v.7, n.3, p.338-349, 2004.

GUIMARÃES, K. S.; BATISTA, Z. S.; DIAS, E. L.; GUERRA, R. M.; COSTA, A. D.; OLIVEIRA, A. S.; CALABRESE, K. S.; CARDOSO, F. O.; SOUZA, C. S.; DO VALE, T. Z.; GONÇALVES DA COSTA, S. C.; ABREU-SILVA, A. L. Canine visceral leishmaniasis in São José de Ribamar, Maranhão State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 131, n. 3-4, p. 305-309, 2005.

HARITH, A. E; KOLK, A. H. J.; KAGER, P.A.; LEEUWENBURG, J.; MUIGAI, R; KIUGU, S.; LAARMAN, J. J. A simple and economic direct agglutination test for serodiagnosis and sero-epidemiological studies of visceral leishmaniasis. **Trans R Soc Trop Med Hyg** , v. 80, p. 583-587, 1986.

HARITH, A. E.; SLAPPENDEL, R. J.; REITOR, I.; KNAPEN, F.; KORTE, P. H.; UIGEN, E.; KOLK, A. H. J. Application of a direct agglutination test for detection of specific anti-*Leishmania* antibodies in the canine reservoir. **J Clin Microbiol**, v. 27, p. 2252-2257, 1989.

HARMS, G., SCHONIAN, G. & FELDMEIER, H. (2003). Leishmaniasis in Germany. **Emerging Infectious Disease**, v.9, p.872-875, 2003.

IKONOMOPOULOS, J.; KOKOTAS, S.; GAZOULI, M.; ZAVRAS, A.; STOITSIOU, M.; GORGOULIS, V. G. Molecular diagnosis of leishmaniasis in dogs: comparative application of traditional diagnostic methods and the

proposed assay on clinical samples. **Veterinary Parasitology**, v. 113, n. 2, p. 99-113, 2003.

Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE). **Spring: Sistema de Processamento de Informações Georreferenciadas**. Disponível em <http://www.dpi.inpe.br/spring>. Acesso em 12 de maio de 2010.

Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE). **O satélite CBERS**. Disponível em <http://www.dgi.inpe.br/html/cbers.htm>. Acesso em 12 de maio de 2010.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Estimativas de população. Estimativas da população para 1º de julho de 2007**. Disponível em <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em fevereiro de 2010.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Instruções para Revisão do Trabalho da Base Operacional Geográfica TR-23**. Rio de Janeiro: IBGE, 2000b. 33 p.

KEENAN, C.M.; HENDRICKS, L.D.; LIGHTNER, L.; WEBSTER, H.K.; JOHNSON, A.J. Visceral Leishmaniasis in the German Shepherd dog. Infection, clinical diseases and clinical pathology. **Veterinary Pathology**, v.21, p.74-79, 1984.

KILLICK-KENDRICK, R. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. **Medicine veterinary entomology**, v. 4, p.1-24, 1990.

KOVATS, R. S. El Niño and human health. **Bull World Health Organ**, v. 78, n. 9, p. 1127-1135, 2000 .

Laboratório de Meteorologia do Núcleo Geoambiental. Centro de Ciências Agrárias. Universidade Estadual do Maranhão- LABMET/NUGEO/CCA/UEMA. Disponível em <http://www.nemrh.uema.br/>. Acesso em 02 de março de 2010.

LACHAUD, L.; MARCHERGUI-HAMMAMI, S.; CHABBERT, E.; DEREURE, J.; DEDET, J. P.; BASTIEN, P. Comparison of Six PCR Methods Using Peripheral Blood for Detection of Canine Visceral Leishmaniasis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 1, p. 210–215, 2002.

LEANDRO, C.; SANTOS-GOMES, G.M.; CAMPINO, L.; ROMÃO, P.; CORTES, S.; ROLÃO, N.; GOMES-PEREIRA, S.; RICA-CAPELA, M.J.; ABRANCHES, P. Cell mediated immunity and specific IgG1 and IgG2 antibody response in natural and experimental canine leishmaniasis. **Veterinary Immunology Immunopathology**, v.79, p.273-284, 2001.

MACHADO E SILVA, A.J.F.; SILVA, M.V.D.; SANTINI, D. Mapeamento topográfico usando imagens Ikonos. In: **Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, Belo Horizonte. Anais...**São José dos Campos: INPE, 2003, p.297-302.

MADEIRA, M.F. et al. Identification of *Leishmania (Leishmania) chagasi* isolated from healthy skin of symptomatic and asymptomatic dogs seropositive for Leishmaniasis in the municipality of Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Society of Infectious Diseases**, Salvador, v.8, p.440-444, 2004.

MANGABEIRA, J.A.C.; LAMPARELLI, R.A.C.; AZEVEDO, E.C. Utilização de imagem Ikonos II para identificação de uso da terra em área com alta estrutura fundiária. In: **Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, Belo Horizonte. Anais...**São José dos Campos: INPE, 2003. p.165-167. Disponível em: <http://urlib.net/ltid.inpe.br/sbsr/2002/11.14.13.30>.

MAINGON, R.; WATTS, P.; HAMILTON, G.; NOYES, H., De SOUZA, N.; KEMP, S.; WARD, R. Microsatellite analysis confirms the presence of two sibling populations of *Lutzomyia longipalpis* in Sobral, Ceara state, Brazil. **Entomologia y Vectores**, v.9, p.44, 2002.

MANNA, L.; VITALE, F.; REALE, S.; CARACAPPA, S.; PAVONE, L. M.; MORTE, R. D.; CRINGOLI, G.; STAIANO, N.; GRAVINO, A.E. Comparison of different tissue sampling for PCR-based diagnosis and follow-up of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 125, n. 3-4, p. 251-262, 2004.

MARANHÃO, Atlas do Maranhão. Gerência de Planejamento de Desenvolvimento Econômico. **Laboratório de Geoprocessamento- UEMA**. São Luís: GEPLAN, 44p. , 2002.

MARTY, P.; LE FICHOUX, Y.; GIORDANA, D.; BRUGNETTI, A. Leishmanin reaction in the human population of a highly endemic focus of canine leishmaniasis in Alpes-Maritimes, France. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 86, p. 249–250, 1992.

MARTIN-SANCHEZ, J.; LOPEZ-LOPEZ, M. C.; ACEDO-SANCHEZ, C.; CASTRO-FAJARDO, J.J.; PINEDA, J. A.; MORILLAS-MARQUEZ, F. Diagnosis of infections with *Leishmania infantum* using PCR-ELISA. **Parasitology**, v. 122, p. 607– 615, 2001.

MARZOCHI, M. C. A.; MARZOCHI, K. B. F. Leishmanioses em áreas urbanas. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 30 (Suppl. I), p.162-165, 1997.

MARZOCHI, M. C. A.; MARZOCHI, K. B. F. Tegumentary and visceral Leishmaniasis in Brazil - Emerging anthrozoosis and possibilities for their control. **Cadernos de Saúde Pública**, v.10, p.359-375,1994.

MAURÍCIO, I. L.; STOTHARD, J. R.; MILES, M. A. The strange case of Leishmania chagasi. **Parasitology Today**, v. 16(5), p.188-189, 2000.

MEDEIROS, I.M.; NASCIMENTO, E.L.T.; HINRICHSEN, S.L. **Leishmanioses (Visceral e Tegumentar)**. In: DIP - Doenças Infecciosas e Parasitárias. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 398-409, 2005.

MENDES, W. S., SILVA, A. A. M., TROVÃO, J. R., SILVA, A. R., COSTA, J.M.L. Expansão espacial da leishmaniose visceral americana em São Luis, Maranhão, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. V. 35, p. 227-231, 2002.

MONTEIRO, E. M.; SILVA, J. C. F.; COSTA, R. T.; COSTA, D. C.; BARATA, R. A.; PAULA, E. V.; MACHADO-COELHO, G. L. L. et al. Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 2, p.147-152, 2005.

MORENO, E. C.; MELO, M. N.; ANTUNES, C. M. F.; LAMBERTUCCI, J. R.; SERUFO, J. C.; ANDRADE, A. S. R. Epidemiologia da leishmaniose visceral humana assintomática em área urbana, Sabará, Minas Gerais, 1998-1999. **Inf. Epidemiol. Sus**, Brasília, v. 11, n. 1, p. 37-39, 2002 .

MIRANDA, C.; MASSA, J. L.; MARQUES, C. C. A. Análise da ocorrência de leishmaniose tegumentar americana através de imagem obtida por sensoriamento remoto orbital em localidade urbana da região sudeste do Brasil. **Rev Saúde Pública**, v. 30, p.433-437, 1996.

NASCIMENTO M. D. S. B.; NASCIMENTO, S. B.; COSTA, J. M. L.; FIORI, B. I. P.; VIANA, G. M. C.; FILHO, M. S. G. et al. Aspectos epidemiológicos

determinantes na manutenção da leishmaniose visceral no Estado do Maranhão, Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop.** v. 29, p. 233-240, 1996.

NASCIMENTO, M. D. S. B.; SOUZA, E. C.; SILVA, L. M.; LEAL, P. C.; CANTANHEDE, K. L.; BEZERRA, G. F. B. 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**, v. 21, n. 6, p. 1801-1807, 2005.

NASCIMENTO, M.D.S.B, BEZERRA, G.F.B., BANDEIRA-NETO, A.B., SILVA, L.M., BEZERRA, G, J.M. VIANA, G.M.C. Comparative study about the specific antileishmania of immunoglobulin IgG and IgE as markers of infection and illness among dwellers of a visceral leishmaniasis endemic area in São Luis, MA. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**v. 39, n. 1, p.38-42, 2006.

NAUCKE T.J. & SCHMITT C. Is leishmaniasis becoming endemic in Germany? **Int. J. Med. Microbiol.**,v. 293 (S37), p.179-181, 2004.

NAVEDA, L. A. B.; MOREIRA, E. C.; MACHADO, J. G.; MORAES, J. R. C.; MARCELINO, A.P. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina no município de Pedro Leopoldo, Minas Gerais, 2003. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58, n.6, p.988-993, 2006.

NEOGY, A. B.; VOULDOCHES, I.; SILVA, O. A.; TSELENTS, J. C.; LASCOMBE, T.; SEGALLEN, D.; MONJOUR, L. Serodiagnosis and screening of canine visceral leishmaniasis in an endemic area of Corsica: applicability of a direct agglutination test and immunoblot analysis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 47, p. 772–777, 1992.

NICHOLLS, N. El Niño-Southern oscillation and vector-borne disease. **Lancet**, v. 342, p. 1284-1287,1993.

NOVO, E.M.L.M. **Sensoriamento Remoto: princípios e aplicações.** 3ª edição. São Paulo: Blucher, 2008. 363p.

NUNES, C. M.; DIAS, A.K.K.; GOTTARDI, F. P.; PAULA, H. B.; AZEVEDO, M.A.A.; LIMA, V.M.F.; GARCIA, J.F. Avaliação da reação em cadeia pela polimerase para diagnóstico da leishmaniose visceral em sangue de cães. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 16, n.1, p. 5-9, 2007.

OLIVEIRA, A.G.; FALCÃO, A.L.; BRAZIL, R.P. Study of sandfly (diptera: Psychododae) in the urban zone of campo Grande city, Mato Grosso do Sul state, Brazil, 1999-2000. **Entomologia y Vectores**, v.9 (supl1) ISOPS IV, p.126, 2002.

OLIVEIRA, A.C, ABREU-SILVA, A.L, LIMA, T.B, SILVA, A.P.C, REIS, L.F., BARBOSA, D.S., GUERRA, R.M.S.N.C. Soroprevalência da leishmaniose visceral canina no bairro Jardim São Raimundo em São Luís. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.1, p.140-143, 2006.

PETERS, W.; KILLICK-KENDRICK, R. **The Leishmaniasis in Biology and Medicine**, Academic Press, New York, 941 p., 1987.

PINELLI, E.; KILLICK-KENDRICK, R.; WAGENAAR, J.; BERNADINA, W.; DEL REAL, G.; RUITENBERG, J. Cellular and humoral immune responses in dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania infantum*. **Infect. Immun.** v. 62, p. 229–235, 1994.

PONDÉ, R.; MANGABEIRA-FILHO, O.; JANSEN, G. Alguns dados sobre a leishmaniose visceral americana e doença de Chagas no nordeste brasileiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 37, p.3, 1942.

POZIO, E.; GRADONI, L.; BETTINI, S.; GRAMICCIA, M.. Canine leishmaniasis

in the focus of Monte Argentino (Grosseto). **Acta Trop.** V. 38, p. 383–393, 1981.

PREFEITURA DE SÃO LUÍS. INSTITUTO DE PESQUISA E PLANIFICAÇÃO DA CIDADE. **São Luís: uma leitura da cidade.** São Luís-MA: Instituto da Cidade, 94 p., 2006.

PREFEITURA DE SÃO LUÍS. Secretaria Municipal da Saúde (SEMUS). Coordenadoria do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ). **Resumo de Km2, localidades, prédios e habitantes do Município de São Luís de zonas rural e urbana por distrito, ano 2007.** São Luís-MA: Superintendência de Vigilância Epidemiológica e Sanitária (SVES), 15 p., 2008.

QUINNELL, R. J.; COURTENAY, O.; DAVIDSON, S.; GARCEZ, L.; LAMBSON, B.; RAMOS, P.; SHAW, J. J.; SHAW, M. A.; DYE, C. Detection of *Leishmania infantum* by PCR, serology and cellular immune response in a cohort study of Brazilian dogs. **Parasitology**, v. 122, p. 253–261, 2001.

READY P.D. Sandfly evolution and its relationship to *Leishmania* transmission. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, p.589-590, 2000.

READY, P.D. Leishmaniasis emergence and climate change. **Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.**, v. 27, n.2, P.399-412, 2008.

REALE, S.; MAXIA, L.; VITALE, F.; GLORIOSO, N. S.; CARACAPPA, S.; VESCO, G. Detection of *Leishmania infantum* in dogs by PCR with lymph node aspirates and blood. **J. Clin. Microbiol.**, v. 37, p. 2931–2935, 1999.

REBÊLO, J.M.M.; ARAÚJO, J.C.; CARVALHO, M.L.; BARROS, V.L.L.; SILVA, F.S.; OLIVEIRA, S.T. Flebótomos (*Lutzomyia*, Phlebotominae) da ilha de São Luís, zona do Golfão maranhense, Brasil. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, p.247-253, 1999a.

REBÊLO, J.M.M.; LEONARDO, F.S.; COSTA, J.M.L.; PEREIRA, Y.N.O.; SILVA, F.S. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) de área endêmica de leishmaniose na região dos cerrados, Estado do Maranhão, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v.15 p.623-630, 1999b.

REBÊLO, J.M.M. Freqüência horária e sazonalidade de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) na Ilha da São Luís, Maranhão, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v.17, p.221-227, 2001.

REBÊLO, J. M. M.. Episódios do El Niño e a distribuição temporal de calazar na Ilha de São Luís, Maranhão, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 7, p.1713-1714, 2008.

REED, S. G.; SCHRAFFLER, W. G.; BURNS, J. M.; SCOTT, J. M.; ORGE, M. G.; GHALIB, H. W.; SIDDIG, M.; BADARO, R. An improved serodiagnostic procedure for visceral leishmaniasis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 43, p. 632–639, 1990.

REITHINGER, R.; LAMBSON, B. E.; BARKER, D. C.; DAVIES, C. R.. Use of PCR to detect *Leishmania (Viannia)* spp. in dog blood and bone marrow. **J. Clin. Microbiol.**, v. 38, p. 748–751, 2000.

RIBEIRO, A.L.M.; MISSAWA, N.A. Spatial distribution of phlebotominae species in the state of Mato Grosso, Brazil in the period of 1996 to 2001. **Entomologia y Vectores**, v.9 (supl1) ISOPS IV, p.33, 2002.

ROJAS, L.I; BARCELLOS, C.; PEITER, P. Utilização de mapas no campo da Epidemiologia no Brasil: reflexões sobre trabalhos apresentados no IV Congresso Brasileiro de Epidemiologia. **Inf. Epidemiol. Sus**, v.8 n.2, p.27- 35, 1999.

ROUQUAYROL, M. Z. ; ALMEIDA FILHO, N. **Epidemiologia & Saúde**. 5^a ed. 600p. Ed. MDSI, 1999.

ROURA, X.; SANCHEZ, L.; FERRER, L.. Diagnosis of canine leishmaniasis by a polymerase chain reaction technique. **Vet. Rec.**, v. 144, p. 262–264, 1999.

SANCHEZ-TEJEDA, G., RODRÍGUEZ, N., PARRA, C.I. et al.. Cutaneous leishmaniasis caused by members of *Leishmania braziliensis* complex in Nayrit, State of Mexico. **Mem. Inst. Osw. Cruz**, v. 96, n. 1, p. 15-19, 2001.

SANTA ROSA, I.C.A.; OLIVEIRA, I.C.S. Leishmaniose Visceral: breve revisão sobre uma zoonose reemergente. **Clínica Veterinária**, ano II, n.11, p.24-28, 1997.

SANTOS, U.G.D.; FILHO, J.; GARCIA-ZAPATA, M.T.; BARROS, D.A.C.; RAMOS, O.S.; MARTINS, F.; BEZERRA, W.; TRISTÃO, W.; ELIAS, C.N. Mapping of the phlebotominae fauna in two suspicious areas in Great Gioânia-GO, Brazil. **Entomologia y Vectores**, v.9 (supl1) ISOPS IV, p.119, 2002.

SEMIAO-SANTOS, S. J.; EL HARITH, A.; FEIRREIRA, E.; PIRES, C. A.; SOUSA, C.; GUSMAO, R. Evora district as a new focus for canine leishmaniasis in Portugal. **Parasitol. Res.**, v. 81, p. 235–239, 1995.

SHERLOCK, I. A. Ecological interactions of visceral leishmaniasis in the State of Bahia, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**; v.91, p.671- 683, 1996.

SIDERIS, V.; PAPADOPOULOU, G.; DOTSIKA, E.; KARAGOUNI, E. Asymptomatic canine leishmaniasis in Greater Athens area, Greece. **Eur. J. Epidemiol.**, v. 15, p. 271–276, 1999.

SILVA, E.S.; GONTIJO, C. M. F.; PIRMEZ, C.; FERNANDÉS, O. Detection of *Leishmania* DNA by polymerase chain reaction on blood samples from dogs

with visceral leishmaniasis. **American Journal of Tropical Medicine and Higiene**, v. 65, n. 6, p. 896-898, 2001.

SILVA, A.V.M. et al . Leishmaniasis in domestic dogs: epidemiological aspects. **Caderno Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 1, 2005.

SLAPPENDEL, R.J. Canine Leishmaniasis. A review on 95 cases in the Netherlands. **Veterinary Quarter**, v. 10, n.1, p. 1-17, 1988.

SOLANO-GALLEGO, L. ; MORELL, P. ; ARBOIX, M. ; ALBEROLA, J. ; FERRER, L. Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. **J. Clin. Microbiol.**, v. 39, p. 560–563, 2001.

STONE, D.A. Predicted climate changes for the years to come and implications for disease impact studies. **Rev. sci. tech. Off. int. Epiz**, v. 27 (2), p.319-330, 2008.

SOUZA, N.A.; COELHO, C.A.A.; VITELA, M.L.; PEIXOTO, A.A.; RANGEL, E.F. Ecology of sandfly vectors in na american cutaneous leishmaniasis (ACL) endemic area in state of Rio de Janeiro, Brazil. **Entomologia y Vectores**, v.9 (supl1) ISOPS IV, p.105, 2002.

SOUZA, G. D.; SANTOS, E.; FILHO, J.D.A.. The first report of the main vector of visceral leishmaniasis in America, *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.104 (8), p.1181-1182, 2009.

TORRES, W.M.P.; FREITAS, R.A.; BARRET, T.V. Phlebotominae of the lower Araguaia region of Para, North Brazil. **Entomologia y Vectores**, v.9 (supl1) ISOPS IV, p.48, 2002.

VERONESI, R., FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**, São Paulo: Editora Atheneu, 1996.

VINE, M. F.; DEGNAN, D.; HANCHETTE, C. Geographic Information Systems: their use in environmental epidemiologic research. **Environmental Health Perspectives**, v.105, n. 6, p. 598-605, 1997.

WERNECK, G. L.; COSTA, C. H. N.; WALKER, A. M.; DAVID, J.R.; WAND, M.; MAGUIRE, J. H. Multilevel modelling of the incidence of visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. **Epidemiol. Infect.**, v. 135, p. 195–201, 2007.

WERNECK, G. L. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 4, 2010.

WHO- World Health Organization. Urbanization: an increasing risk factor for leishmaniasis. **Weekly epidemiological Record**, v. 77, n. 44, p. 365-372, 2002. Disponível em <http://www.who.int/wer>, acesso em setembro de 2009.

WHO- World Health Organization- Department of Control of Neglected Tropical Diseases. **Neglected tropical diseases, hidden successes, emerging opportunities**. Suíça: WHO Library, 2009. 71p.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE). Criteria for listing diseases. Chapter 2.1.1. **In Terrestrial Animal Health Code**, 14 th ed., p 83-87. 2005.

ZERPA, O.; ULRICH, M.; NEGRON, E.; RODRIGUEZ, N.; CENTENO, M.; RODRIGUEZ, V.; BARRIOS, R. M.; BELIZARIO, D.; REED, S.; CONVIT, J. Canine visceral leishmaniasis on Margarita Island (Nueva Esparta Venezuela). **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 94, p. 484–487, 2000.

APÊNDICE

QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO

N° amostra: _____

I-IDENTIFICAÇÃO DO PROPIETÁRIO

- 1.Nome: _____ 2.Idade: _____
 3. Endereço: _____ 4. Bairro: _____
 5.Telefones p/ contato: _____
 6. Escolaridade: () Fundamental () Básico () Médio () Superior
 Outros _____
 7. Renda familiar: () 1 a 3 salários mínimos () 3 a 5 sm () 5 a 10 sm
 () acima de 10

II- IDENTIFICAÇÃO DO CÃO

- 1.Nome: _____ 2.Idade: _____
 3.Raça: _____ 4. Tipo de pêlo: _____
 5.Vacinas: () sim () não
 6. Estado geral: () bom () ruim () péssimo
 7. Observações clínicas: _____

III-QUESTÕES

- 1.Conhecimento sobre leishmaniose visceral (calazar): () sim () não
 2. Conhece os meios de transmissão: () sim , picada de inseto () não
 3. Conhece o inseto transmissor (flebotomíneo): () sim () não
 4. Presença de vetores: () dentro de casa () quintal () não
 5. Usa algum método de proteção: () repelente () telas () mosquitoireiro
 () Outros _____
 6. Cria outra espécie em casa: () aves () suínos () bovino () caprino
 () ovino () Equino () outros: _____
 7.Possui assistência veterinária: () sim () não
 8. O cão tem acesso à rua: () sim () não
 9.Seu atual cão já adoeceu: () sim () não
 10.Já teve algum cão com calazar: () sim () não
 11.Alguém da família teve calazar: () sim () não
 12. Tratamento: () sim () não
 13. Presença de animais silvestres perto ou dentro de casa: () sim () não
 14. Casa próxima de mata: () sim () não

**VARIÁVEIS ESCOLHIDAS DOS SETORES CENSITÁRIOS DO CENSO
DEMOGRÁFICO- IBGE (2000)**

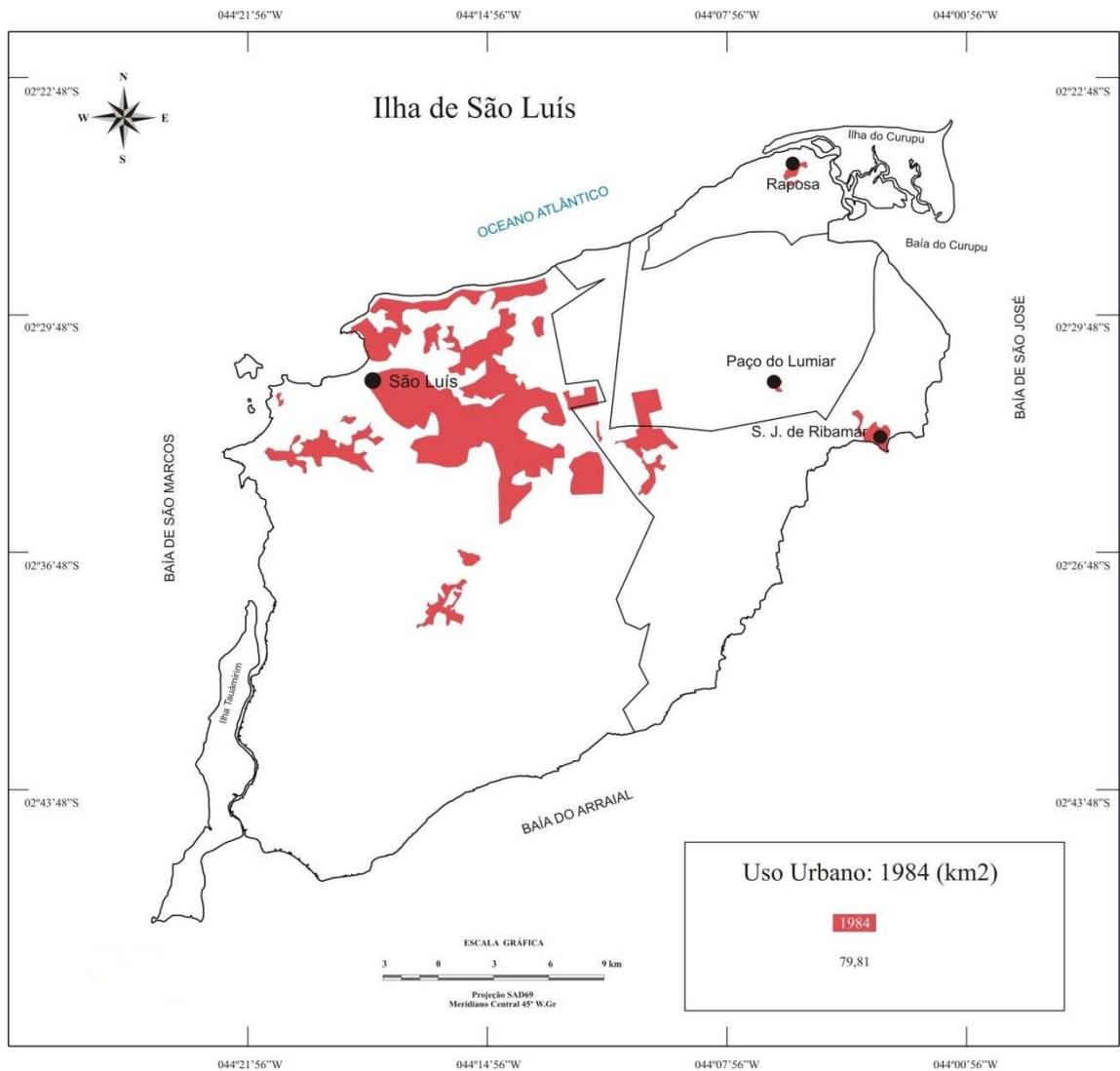
Nome da variável	Descrição da variável
HAB4	% de domicílios sem rede de abastecimento de água
HAB5	% de domicílios sem rede de esgoto ou fossa séptica
HAB6	% de domicílios sem banheiros ou sanitários
HAB7	% de domicílios sem lixo coletado na porta
CHE6	% de Responsáveis com renda de até 3 salários mínimos
V0018	Domicílios particulares permanentes com abastecimento de água da rede geral
V0030	Domicílios particulares permanentes com banheiro ou sanitário e esgotamento sanitário via rede geral de esgoto ou pluvial
V0031	Domicílios particulares permanentes com banheiro ou sanitário e esgotamento sanitário via fossa séptica
V0048	Domicílios particulares permanentes com lixo coletado
V0603	Responsáveis por domicílios particulares permanentes com rendimento nominal mensal de mais de ½ a 1 salário mínimo
V0604	Responsáveis por domicílios particulares permanentes com rendimento nominal mensal de mais de 1 a 2 salários mínimos
V0605	Responsáveis por domicílios particulares permanentes com rendimento nominal mensal de mais de 2 a 3 salários mínimos
SITUAÇÃO	Código de situação do setor - Situação urbana – códigos: 1, 2 e 3 1 - Área urbanizada de cidade ou vila 2 - Área não-urbanizada de cidade ou vila 3 - Área urbana isolada - Situação rural – códigos: 4, 5, 6, 7 e 8. 4 - Aglomerado rural de extensão urbana 5 - Aglomerado rural isolado – povoado 6 - Aglomerado rural isolado – núcleo 7 - Aglomerado rural isolado - outros aglomerados 8 - Zona rural, exclusive aglomerado rural
DENSDEMO	Densidade demográfica: habitantes por km2



Imagem de satélite CBERS (ano 2004) da Ilha de São Luís com a divisão territorial dos quatro municípios e divisão dos sete distritos sanitários do município de São Luís-MA. Resolução espacial 30m. Escala 1:50.000, São Luís, 2010.



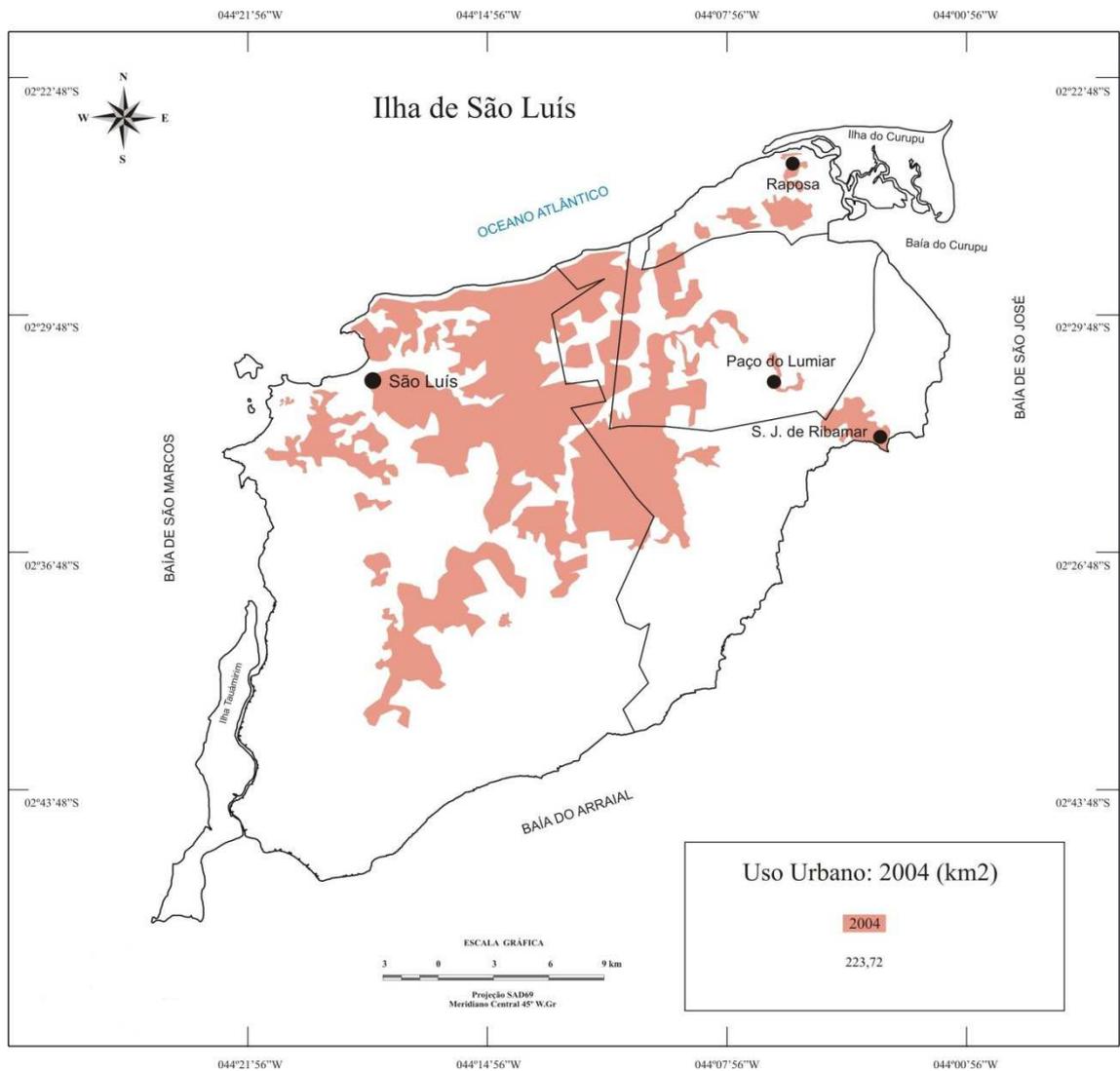
Ocupação urbana (ano 1984) da Ilha de São Luís - Imagem de satélite LandSat, resolução espacial 30m. Escala 1:50.000, São Luís, 2010.



MAPA 8: Ocupação urbana (ano 1984) da Ilha de São Luís. Escala 1:50.000, São Luís, 2010.



Ocupação urbana (ano 2004) da Ilha de São Luís - Imagem de satélite CBERS, resolução espacial 30m. Escala 1:50.000, São Luís, 2010.



MAPA 9: Ocupação urbana (ano 2004) da Ilha de São Luís. Escala 1:50.000, São Luís, 2010.

**IMAGENS DAS SEIS LOCALIDADES DO DISTRITO DO TIRIRICAL
TRABALHADAS NA PESQUISA**



1. A- F: Tajaçuaba (zona rural)



2. A-C: Cruzeiro de Santa Bárbara; D-F: Santa Bárbara (zona rural)



3. A-C: Cidade Olímpica; D-F: Santa Efigênia (zona urbana)



4. A-D: Conjunto São Raimundo (zona urbana)

IMAGENS DO TRABALHO A CAMPO



5. A, B: colheita de sangue; C-F: exame físico



5. G: aplicação do questionário; H: aparelho de GPS