

**TEMAS LIVRES**  
**LEISHMANIOSES**

## ÁREA TEMÁTICA V – IMUNOLOGIA E DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS LEISHMANIOSES.

### TL V.1

**AVALIAÇÃO DE ANTÍGENOS DE DIFERENTES ESPÉCIES DE LEISHMANIA sp APLICADOS AO DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO HUMANO DAS LEISHMANIOSES.** Lívia R. Andrade, Adriano G. Silva, Sandra R. Afonso-Cardoso, Márcio A. B. Gomes, Marcelo Simão Ferreira, Maria A. Souza. Laboratório de Imunologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia MG.

**Introdução:** A leishmaniose tegumentar americana (LTA) no Brasil apresenta-se em fase de expansão geográfica nos últimos anos. Com o aumento do número de casos humanos, testes sorológicos vêm sendo aprimorados no intuito de auxiliar o diagnóstico das leishmanioses além de serem importantes ferramentas em inquéritos epidemiológicos. **Objetivo:** Avaliar a especificidade e sensibilidade do teste ELISA utilizando antígenos de diferentes espécies de Leishmania. **Material e Métodos:** Soros de pacientes saudáveis (49), LTA (60), leishmaniose visceral (30), Malária (32), Doença de Chagas (49) e Tuberculose (13) foram analisados utilizando-se antígenos solúveis de diferentes espécies de Leishmania. As espécies utilizadas foram Leishmania (Leishmania) amazonensis - IFLA/BR/67/PH8 e Leishmania (Viannia) braziliensis - isolado da região de Uberlândia MG. Os antígenos de promastigotas foram preparados em diferentes tampões quanto a constituição e pH. **Resultados:** Os antígenos de L. amazonensis e L. braziliensis, preparados com tampão fosfato pH 8,0 apresentaram sensibilidade de 85% e 93% e especificidade de 97% e 88%, respectivamente. Em tampão Tris pH 7,4, apresentaram sensibilidade de 42% e 92% e especificidade de 90% e 93%, respectivamente. **Conclusão:** Os maiores índices de sensibilidade observados no teste ELISA com antígeno solúvel de Leishmania braziliensis, sugerem que o reconhecimento sorológico espécie-específico de epítopos presentes na cepa utilizada, visto que a grande maioria das amostras de soro de LTA eram de pacientes infectados por Leishmania (Viannia) braziliensis. Portanto, a utilização de preparados antigênicos utilizando isolados de Leishmania responsáveis pela infecção em determinadas regiões, podem aumentar os níveis de anticorpos específicos para LTA.

Apoio: CNPq e CAPES.

### TL V.2

**AVALIAÇÃO DE DESEMPENHO DA PESQUISA DE ANTICORPOS IgG ANTI-PROMASTIGOTAS VIVAS DE Leishmania (Viannia) braziliensis (AAPV-IgG), DETECTADOS POR CITOMETRIA DE FLUXO, NA IDENTIFICAÇÃO DA INFECÇÃO ATIVA NA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA.** Roberta D. R. Rocha<sup>1</sup>, Célia M. F. Gontijo<sup>1</sup>, Silvana M. E. Santos<sup>1,2</sup>, Andrea T. Carvalho<sup>3</sup>, Teresa C. Ferrari<sup>2</sup>, Rodrigo C. Oliveira<sup>1</sup>, Marcos J. Marques<sup>4</sup>, Wilson Mayrink<sup>2</sup>, Olindo A. M. Filho<sup>1</sup>; 1CpRR, BH, MG; 2UFMG, BH, MG; 1, 3UFOP, OP, MG; 4UFJE, JE, MG.

**Introdução:** De um modo geral, os testes sorológicos mais amplamente utilizados (RIFI, ELISA), são considerados de valor limitado na LTA devido a baixa sensibilidade e especificidade. Recentemente desenvolvemos um método de detecção de anticorpos IgG anti-promastigotas vivas (AAPV-IgG) de Leishmania (V.) braziliensis por citometria de fluxo. **Metodologia:** Para avaliar a aplicabilidade do novo método em ensaios clínicos, soros de 145 indivíduos de área endêmica, classificados quanto à ausência/presença de lesão (L- =67; L+ =78), foram submetidos a AAPV-IgG e à reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Os resultados da AAPV-IgG foram expressos sob a forma de percentual de parasitos fluorescentes positivos (PPFP) na diluição do soro 1:1024. Os resultados da RIFI foram expressos em títulos. O desempenho dos dois testes foi avaliado segundo diferentes índices. **Resultados:** A análise da curva ROC (receiver operating characteristic curve) permitiu identificar na AAPV-IgG o ponto de corte de 60% com valores de sensibilidade especificidade, valor preditivo positivo e negativo, probabilidade de doença pós-teste negativo, taxa de falso-positivo e índice J de Youden (92/88%; 87/57%; 89/70%; 91/81%; 9/19%; 13/43%; 80/51%, respectivamente) superiores àqueles apresentados pela RIFI maior ou igual 1:40. O estabelecimento do limiar de PPFP menor ou igual 60% mostrou-se de grande valor diagnóstico, praticamente excluindo a possibilidade de LTA com a Razão de Verossimilhança, RV=0,08. Além disto, valores de PPFP>60% demonstrou que a AAPV-IgG pode contribuir para o esclarecimento diagnóstico de LTA com RV=7,98, enquanto a RIFI maior ou igual 1:40 foi desprovida de valor diagnóstico com RV=2,04. A utilização da AAPV-IgG em combinação em série da AAPV-IgG1/IgG2, elevou a sensibilidade do teste para 100% e a especificidade para 93%. **Conclusão:** Esses dados em conjunto demonstram a aplicabilidade da AAPV-IgG como um novo instrumento para ensaios clínicos de diagnóstico sorológico da LTA.

### TL V.3

**AVALIAÇÃO DA CITOMETRIA DE FLUXO NO DIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE VISCERAL.** Izabelle Teixeira Gomes<sup>1</sup>, Sílvia F. Guimarães<sup>2</sup>, Josiane Quetz<sup>3</sup>, Olindo Assis Martins Filho<sup>3</sup>, Reynaldo Dietze<sup>1</sup>, Elenice Moreira Lemos<sup>1</sup>. Núcleo de Doenças Infeciosas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES; Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros, MG; Centro de Pesquisas René Rachou, FIOCRUZ, Belo Horizonte, MG.

**Introdução:** A leishmaniose visceral (LV) é uma doença mundialmente distribuída, caracterizada por febre, perda de peso, esplenomegalia, hipergamaglobulinemia, podendo ser fatal se não diagnosticada e tratada. Até o momento, o diagnóstico

definitivo da LV requer a demonstração do parasita em esfregaços ou cultura de aspirado de medula óssea ou baço. Além de invasivos, estes métodos apresentam sensibilidade de 70% para punção de medula óssea e 90-95% para punção de baço. Este fato, tem estimulado pesquisa na busca de métodos diagnósticos não invasivos e que apresentem alta sensibilidade e especificidade.

**Objetivo:** Avaliar a utilização da citometria de fluxo em um ensaio de imunofluorescência para pesquisa de anticorpos anti L. chagasi. **Materiais e métodos:** Foram avaliados soros de 36 pacientes com diagnóstico parasitológico de LV. Como controle foram incluídos soros de 10 voluntários sadios e 50 soros de pacientes portadores de outras infecções : malária (10), hanseníase (10), tuberculose (10), Doença de Chagas (10), leishmaniose cutânea (10). Os resultados foram expressos em porcentagem de parasitas fluorescentes positivos (PPFP) para cada amostra individual. As amostras foram consideradas positivas quando os valores de PPFP foram maiores que 20%. **Resultados:** A análise dos dados na diluição do soro 1:16.000 demonstrou sensibilidade de 97% e especificidade de 98%. Apenas um paciente portador de leishmaniose cutânea apresentou resultado positivo na citometria. Os resultados foram comparados com os resultados obtidos através do teste rápido utilizando rK39 e ELISA, os quais apresentaram sensibilidade de 94% e especificidade de 100% e 98% respectivamente. **Conclusão:** Este estudo mostrou a aplicabilidade da citometria de fluxo no diagnóstico da LV. Outros estudos serão realizados para avaliarmos maior número de soros para podermos confirmar nossos resultados.

#### TL V.4

**COMPARAÇÃO ENTRE OS TESTES DE AGLUTINAÇÃO DIRETA (DAT), ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA) E REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (RIFI) NO DIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA (LVC).** Eduardo C. Ferreira<sup>1,2</sup>, Daniela V. Paes<sup>1</sup>, Alexandre B. Reis<sup>2</sup>, Marta de Lana<sup>2</sup>, Mariângela Carneiro<sup>3</sup>, Alcina V. Carvalho<sup>1</sup>, Eduardo S. da Silva<sup>4</sup>, Henk Schallig<sup>5</sup>, Célia M. F. Gontijo<sup>1</sup>. 1CPqRR/Fiocruz, 2 UFOP, MG, 3 UFMG, 4 UEMG, Divinópolis, MG, 5 Kit, Royal Tropical Institute.

**Introdução:** A LV é um importante problema de saúde pública no Brasil. O cão é considerado o principal hospedeiro do parasita no ambiente doméstico. Dentre as medidas de controle recomendadas pela OMS está o diagnóstico da LVC. No Brasil, os testes ELISA e RIFI são os utilizados nos inquéritos epidemiológicos. Apesar de apresentarem bons índices de sensibilidade e especificidade requerem uma infraestrutura complexa. **Objetivo:** Avaliar o DAT no diagnóstico da LVC, comparando-o aos testes ELISA e RIFI. **Materiais e métodos:** Utilizou-se soros de 60 cães de ambos os sexos, adultos, SRD, divididos em grupos de acordo com a forma clínica (20 soros/grupo): Assintomáticos (CA), Oligossintomáticos (CO) e Sintomáticos (CS). Como controles foram utilizados soros de 20 cães não infectados (CNI) e 34 de cães parasitologicamente positivos. O DAT foi realizado utilizando-se antígeno liofilizado (Leish-KIT, Lyopharma, Holanda). A diluição seriada iniciou em 1:100 até diluição final de 1:102.400. O título foi definido pela maior aglutinação visível. Títulos <sup>3</sup> 1:800 foram considerados positivos. Os testes ELISA e RIFI foram realizados utilizando-se os kits EIE-LC-Biomanguinhos e IFI-LC-Biomanguinhos, conforme especificações do fabricante. Para a análise de concordância entre os testes foi utilizado o índice KAPPA. **Resultados:** A melhor concordância foi obtida entre os testes DAT e ELISA quando não se considerou a divisão em grupos clínicos. Os melhores índices também foram observados com os métodos ELISA/DAT, seguidos por DAT/RIFI e ELISA/RIFI, quando se considerou as formas clínicas. Os grupos CNI e CS foram os que apresentaram os melhores índices de concordância em todas as comparações feitas entre os testes. A sensibilidade dos testes ELISA, DAT e RIFI foi 96%, 91% e 70% respectivamente. **Conclusão:** Os resultados permitem sugerir a utilização do DAT no diagnóstico da LVC, pois além de mostrar boa sensibilidade e concordância com os outros testes, é simples e rápido de ser executado, não requerendo equipamentos sofisticados.

Apoio financeiro: PAPES/FIOCRUZ.

#### TL V.5

**DIFERENÇAS NA PRODUÇÃO DE INTERFERON-g CARACTERIZAM AS RESPOSTAS CELULARES A ANTÍGENOS DE Leishmania E M. leprae EM UM CASO DE ASSOCIAÇÃO DE LEISHMANIOSE MUCOCUTÂNEA E HANSENÍASE VIRCHOWIANA.** Denise C. S. Matos, Rilza Beatriz de Azeredo Coutinho, Fátima Conceição Silva, Armando Schubach e Sergio C. F. Mendonça. Departamento de Imunologia - Instituto Oswaldo Cruz, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fiocruz, RJ.

**Introdução:** Tanto a leishmaniose tegumentar americana (LTA) quanto a hanseníase se caracterizam por um espectro de formas clínicas que se desenvolvem na dependência da resposta imune celular aos antígenos de Leishmania e de Mycobacterium leprae, respectivamente. **Objetivo:** Avaliar as respostas celulares a antígenos de Leishmania e de M. leprae em um caso de coinfeção que resultou em formas clínicas representando pólos imunopatológicos opostos: leishmaniose cutâneo-mucosa (hiperergia) e hanseníase virchowiana (anergia). **Paciente e métodos:** Paciente do sexo masculino, negro, com 48 anos, natural da Bahia, residente no Rio de Janeiro, trabalhou como lavrador em Roraima e é portador de hanseníase virchowiana

(baciloscopia positiva) e leishmaniose cutâneo-mucosa (cultura positiva). A avaliação da resposta celular aos antígenos dos patógenos em estudo foi realizada através dos testes cutâneos de Montenegro e Mitsuda e de testes in vitro com células mononucleares de sangue periférico: linfoproliferação, ELISA para dosagem de citocinas e ELISPOT para determinação das freqüências de células produtoras de IFN-g. **Resultados:** O paciente apresentou Mitsuda negativo e Montenegro fortemente positivo (106mm, flictenular). Observou-se proliferação linfoblástica estimulada por antígenos de *Leishmania* (índice de estimulação/IE = 10,3) mas não pelos de *M. leprae* (IE = 1,7). Não houve diferença quanto a IL-10 e TNF-a, porém a produção de IFN-g induzida por antígenos de *Leishmania* foi muito superior à estimulada por *M. leprae* (2780 x 250 pg/mL). A freqüência das células produtoras de IFN-g em resposta a antígenos de *Leishmania* foi 1457/105, enquanto que a freqüência nas culturas estimuladas com antígenos de *M. leprae* foi 0 em 105 células. **Conclusão:** O desenvolvimento de formas clínicas polares caracterizadas por hiperergia ou anergia no espectro clínico da LTA e da hanseníase está associado a diferenças na produção de IFN-g, mas não de outras citocinas como TNF-a e IL-10.

#### TL V.6

**ENSAIO CLÍNICO PARA AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA (FASE III) DE UMA VACINA CONTRA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO MUNICÍPIO DE VARZELÂNDIA, MG, BRASIL: ESTUDO DA IMUNOGENICIDADE.**<sup>1</sup>George Luiz Lins Machado-Coelho, <sup>2</sup>Evaldo Nascimento, <sup>3</sup>Mário León Vergara, <sup>5</sup>Edvá Paula Vieira, <sup>2</sup>João Carlos França da Silva, <sup>2</sup>Roberto Teodoro da Costa, <sup>5</sup>Jaime Costa Silva, <sup>4</sup>Edelberto Santos Dias, <sup>3</sup>Aluizio Prata, <sup>2</sup>Wilson Mayrink. <sup>1</sup>Escola de Farmácia/UFOP. <sup>2</sup>Dep. de Parasitologia/ICB/UFMG, <sup>3</sup>Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro; <sup>4</sup>CPqRR/FIOCRUZ/MG, <sup>5</sup>FUNASA/MS.

**Introdução:** O Município de Varzelândia está localizado em uma área endêmica de leishmaniose tegumentar no norte do Estado de Minas Gerais. A área do estudo é caracterizada com cerrado e índices anuais de chuvas  $\leq 520$ mm e umidade variando de 52 a 80%. A área de estudo foi constituída por 11 localidades com taxa média de incidência de 4,6% no ano anterior à vacinação. **Objetivo:** avaliar a eficácia de uma vacina monocepa contra leishmaniose cutânea. **Metodologia:** A vacina é composta por formas promastigotas mortas de *Leishmania amazonensis* (cepa IFLA/BR/67/PH8) manufaturada pela Biobrás SA. O desenho do estudo é um ensaio clínico triplo-cego, randomizado através de blocos constituídos pelo grupo de pessoas de cada domicílio utilizando o sistema de aleatorização sistemática e sem reposição. A amostra foi acrescida de 10% para as possíveis perdas de indivíduos vacinados durante a fase de monitorização. A população do estudo foi constituída por 1240 voluntários vacinados com a vacina e 1240 voluntários que receberam placebo. Estes voluntários apresentavam faixa etária de 2 a 75 anos, tendo sido recrutados entre os habitantes da zona rural do Município de Varzelândia, Minas Gerais. Os critérios de elegibilidade foram a idade, sensibilidade ao teste de Montenegro (negativo), história e exame objetivo negativos para leishmaniose tegumentar e consentimento pós-informação em participar do estudo. O esquema de vacinação utilizado foi a aplicação intramuscular de duas doses de 360 mg de proteínas por mL em intervalos de 21 dias. O placebo era composto de salina mertiolatada. O monitoramento está sendo feito através de acompanhamento clínico bimensal por demanda passiva e anual por busca ativa durante dois anos depois de completado o esquema vacinal. Ao final do estudo serão realizados quatro testes de Montenegro (antes da 1ª dose da vacina e 40 dias, 1 ano e 2 anos após a 2ª dose da vacina). Este projeto foi aprovado pelo *Comitê de Ética* em Pesquisa da UFMG, sob parecer nº ETIC 016/00. **Resultados:** Nenhum efeito adverso grave foi identificado nos dois grupos. A taxa de conversão do teste de Montenegro variou significativamente de acordo com o estado nutricional de indivíduos vacinados (baixo peso=36,89%, eutrófico=46,39%, sobrepeso=58,82%;  $c^2 = 6,5$ ;  $p = 0,03$ ). **Conclusões:** Na medida em que o estado nutricional interfere na resposta imune do hospedeiro a determinação da eficácia da vacina deve ser baseada na ausência de lesão após vacinação em grupos estratificados de acordo com a sensibilização ao Montenegro. O estado nutricional explica em parte as divergências observadas entre esses resultados e os obtidos em Manaus e em Caratinga, onde os ensaios foram realizados em populações mais homogêneas quanto ao aspecto nutricional.

Apoio Financeiro: UFMG, FMTM, UFOP, CPqRR/FIOCRUZ, FAPEMIG, FUNASA/MS.

#### TL V.7

**ESTUDO DO IMPACTO DA VACINA ANTI-LTA SOBRE A INCIDÊNCIA DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA EM CARATINGA, MINAS GERAIS.** Simone Marrocos de Rezende<sup>1</sup>; Kênia Maria de Paula<sup>4</sup>; Edelberto Santos Dias<sup>3</sup>; George L. Lins Machado-Coelho<sup>2</sup>; Wilson Mayrink<sup>4</sup>. <sup>1</sup>SES-MG; <sup>2</sup>Escola de Farmácia/UFOP; <sup>3</sup>CPqRR/FIOCRUZ/MG; <sup>4</sup>Instituto de Ciências Biológicas/UFMG.

**Introdução:** A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é uma doença infecto-parasitária que constitui um sério problema de saúde pública no Brasil, pois é responsável por considerável morbidade e deformidade nos indivíduos afetados. A região do Vale do Rio Doce, leste de Minas Gerais, é endêmica para a LTA cujo agente etiológico principal é a *Leishmania (Viannia) braziliensis*. A transmissão ocorre principalmente no ambiente peridoméstico e silvestre o que torna inadequada as medidas

de controle vetorial. Estudos realizados por Mayrink e cols. tem mostrado que a prevenção via vacinação deveria ser a de escolha no controle da doença. **Objetivo:** Este trabalho objetivou avaliar a distribuição espaço temporal de LTA na microrregião de Caratinga com a finalidade de determinar a efetividade de uma vacina anti-LTA. **Metodologia:** O desenho do estudo foi o ensaio comunitário realizado em oito setores censitários selecionados anteriormente a partir de um estudo da distribuição espaço-temporal da doença na microrregião de Caratinga. Cada uma das diferentes localidades destes setores foram, de modo aleatório, selecionadas para receber duas diferentes vacinas ou placebo. As unidades de análise utilizadas foram o setor censitário e o ano calendário. Os dados populacionais da região dos anos de 1980 e 1996 foram obtidos no IBGE e os atuais foram obtidos a partir de levantamento censitário realizado nas áreas de estudo. Os dados clínicos dos pacientes foram obtidos no Centro de Tratamento de Leishmanioses de Caratinga. Para a análise estatística foi utilizado o programa SatScan e o geoprocessamento foi realizado no programa Map Info a partir de coordenadas UTM obtidas por GPS. **Resultados:** A partir da comparação dos índices de morbidade (ICM) foram identificados oito setores censitários com taxas relativamente constantes para ocorrência de LTA, variando de 11 a 85 casos por 10 mil habitantes. Estas áreas apresentaram, nos últimos dez anos, aproximadamente cinco vezes mais casos de LTA do que a média da região. **Discussão:** O estudo da distribuição espaço-temporal de aproximadamente 7.000 casos novos de LTA procedentes da microrregião de Caratinga entre 1966 e 2003 permitirá avaliar a presença de variação no risco de ocorrência da doença entre os setores censitários segundo o esquema vacinal utilizado. Ensaio em andamento.

Órgão Financiador: SES/MG; FUNASA/MS.

#### TL V.8

**FACS ANALYSIS IN FML-IMMUNOTHERAPY TREATED DOGS WITH VISCERAL LEISHMANIASIS.** Borja-Cabrera GP1, Okada LYH2, Trivellato FAA 2, Kawasaki JKA2, Costa AC2, Cardoso VS1, Reis AB3 and Palatnik-de-Sousa CB\*1. Instituto de Microbiologia, "Prof. Paulo de Góes", UFRJ (1), Clín. Vet. Cães e Gatos 2, Araçatuba, SP, CP Renée Rachou-Fiocruz, MG-UFOP 3. [immgcpa@micro.ufrj.br](mailto:immgcpa@micro.ufrj.br)

**Introduction:** The FML-vaccine was assayed on: (1) immunotherapy of *L. donovani* symptomatic, experimentally infected dogs, (2) immunochemotherapy of *L. chagasi* naturally infected symptomatic dogs, previously treated with glucantime and allopurinol and in (3) immunotherapy of 21 seropositive, asymptomatic naturally infected dogs. 3/5 immunotherapy treated dogs remained asymptomatic, IDR positive, parasite free. The immunochemotherapy treated dogs also remained asymptomatic, IDR positive and parasite free, up to 3 years after vaccination while the asymptomatic seropositive dogs showed stable anti-FML IgG1 levels, increasing IgG2 levels and positive DTH response, until month 26 after vaccination. In canine visceral leishmaniasis, decreased levels of CD4 and CD21 lymphocytes were related to advanced disease and infectiousness to phlebotomines. **Objectives:** to analyze the dog's lymphocyte phenotypes by FACS analysis. **Material and Methods:** PBMCs were obtained from the three groups of dogs. For comparison, data of 20 healthy dogs (BH) was used as normal controls. Specific monoclonal antibodies anti-Thy-1, anti-CD5, anti-CD4, anti-CD8 and anti-human-CD21 was used as markers for FACS analysis. **Results:** the Confidence intervals for normal dogs were: (Thy1,CD5,CD4,CD8,CD21), (%): 75.5-81.3; 71.5-77.0; 42.4-48.5; 24.3-31.5; 9.6-14.8, respectively. The average values for FML-QuilA symptomatics dogs were (%): 71.5; 81; 43.2; 56 and 8.7. The average values for FML-QuilA immunochemotherapy treated dogs were (%): 88.1; 83.3; 46.0; 30.7; 10.3. Finally, the average values for the FML-vaccine on asymptomatics were: 79.4; 78.5; 43.4; 36.7; 14.0. All groups showed levels of CD5 and Thy-1 markers slightly higher than normal. CD4 and CD21 percent values remained within the range of normality suggesting the non-infectious condition. CD8 percents were significantly increased in all vaccinated dogs as expected for the Quillaja saponaria treatment. **Conclusions:** FML-vaccine might be capable of inducing a protective status in infected dogs submitted to immunotherapy.

Support: PRONEX, CNPQ, FINEP, FUJB-CEPG-UFRJ, FAPERJ

#### TL V.9

**IgG2 PURIFIED-FAB ANTIBODY FRACTION FROM SERA OF FML-VACCINATED DOGS INHIBITS THE ADHESION OF L. (L.) DONOVANI AND L. (L.) CHAGASI PROMASTIGOTES TO LUTZOMYIA LONGIPALPIS MIDGUT.** Carolina de Oliveira Mendes, Edilma Paraguai de Souza, Patrícia Fampa, Clarisa B. Palatnik de Sousa, Elvira M. Saraiva. Instituto de Microbiologia "Prof. Paulo de Góes", UFRJ, RJ, Brazil. [immgcpa@micro.ufrj.br](mailto:immgcpa@micro.ufrj.br)

**Introduction:** Transmission blocking vaccines is one of the control strategies for protozoa endemic diseases. We recently demonstrated that vaccination with the FML glycoproteic antigen of *Leishmania donovani* in combination with saponin protects dogs from natural zoonotic visceral leishmaniasis (92-95% protection; 76-80% vaccine efficacy). **Objectives:** In order to

investigate the possible impact of the FML-vaccine in the reduction of the transmission of the disease, we assayed the inhibition of *L. (L.) donovani* Sudan and *L. (L.) chagasi* promastigote binding to *Lutzomyia longipalpis* midguts by incubation with the IgG2 purified-Fab antibody fraction of sera of FML-vaccinated dogs (Leishmune). **Material e Methods:** Opened midguts of *L. longipalpis* females (Department of Entomology FIOCRUZ-RJ colony) were incubated with 10<sup>6</sup> *L. donovani* or *L. chagasi* log phase promastigotes, in the presence or absence of increasing concentrations of Fab-IgG purified fraction from FML-vaccinated dog's sera. After 45 min incubation at room temperature, midguts were extensively washed with saline solution and mechanically disrupted. Released parasites were recorded in Neubauer chamber. Results were expressed as binding inhibition percents, compared to no addition controls. **Results:** A clear dose-response curve was found, where 13, 25 and 65% of inhibition of binding of *L. donovani* promastigote were observed after incubation with 4, 40 and 400ug Fab fraction/ml, respectively. On the other hand, 20 and 50% of inhibition of binding were observed after incubation with *L. chagasi* with 40 and 400ug Fab fraction/ml, respectively. The inhibition index with *L. donovani* was significantly higher than saline controls for *L. donovani* (400ug) and for *L. chagasi* (40 and 400ug) ( $p < 0.05$ ). Differences in inhibition of binding by Fab fraction were not different for both *Leishmania* species ( $p > 0.05$ ). Our preliminary results suggest that the FML vaccine (Leishmune) is a transmission blocking vaccine.

Support: PRONEX, CNPQ, FINEP, FUJB-CEPG-UFRJ, FAPERJ.

#### TL V.10

**IMMUNOPROPHYLAXIS AGAINST EXPERIMENTAL VISCERAL LEISHMANIASIS WITH SAPONIN FRACTIONS IN THE FML-VACCINE.** Casas C.P.1, Paraguai de Souza E.1 Bernardo, RR 2 and Palatnik de Sousa, C.B.1 Instituto de Microbiologia "Prof. Paulo de Góes" 1, Instituto de Biofísica "Professor Carlos Chagas", Universidade Federal do Rio de Janeiro, Caixa Postal 68040, Rio de Janeiro, 21941-590, RJ, Brasil. [immgcpa@micro.ufrj.br](mailto:immgcpa@micro.ufrj.br)

**Introduction:** The FML vaccine induces high and effective protection against murine and canine visceral leishmaniasis. **Objectives:** we analyzed the possible immunoprophylactic effect of the FML-vaccine using purified saponin fractions on mice infected with *L. chagasi*. **Material and Methods:** Swiss Albino females were treated with three weekly s.c. doses of FML (150ug) combined with Riedel De Haën (R) saponin or its fractions (100ug each) obtained through silica gel-column chromatography, using CHCl<sub>3</sub>:MeOH: CH<sub>3</sub>COOH:H<sub>2</sub>O (15:9:1:2): F1 (tubes 1-2), F2 (tubes 3-14) and F3 (tubes 15-21). Fifteen days after vaccination the animals were infected with 2 x 10<sup>8</sup> *L. chagasi* amastigotes (i.v.). Saline treated animals were used for controls. Thirty days after infection the animals were sacrificed and the infection assessed in liver (LDU). Sera analysis and DTH against leishmania antigen was performed after vaccination and before sacrifice. **Results:** neither lethality nor pain was detected. Swelling and loss of hair were observed at the site of injection mainly for R saponin and F2. The DTH response was significantly higher than saline control in mice vaccinated with FML + Riedel De Haën saponin, both before (0.419-0.027mm;  $p < 0.005$ ) and after infection (0.431-0.065;  $p < 0.005$ ) and in animals treated with FML-F2, before (0.456-0.027;  $p < 0.005$ ) and after infection (0.254-0.065;  $p < 0.005$ ). The anti-FML antibody response was higher for vaccinees than for controls and for R saponin and F2 than for the other fractions. A pronounced increase in IgG2b was noted in F2 treated animals. Antibody response was higher after infection than before. During the experiment, all groups showed a decrease in body weight when compared to normal untreated animals. F2 treated animals showed splenomegaly and no hepatomegaly was detected in any group. The reduction of liver parasitemia was only significant for R saponin (78,7%), F1 (66,4%), F2 (78,5%) and F3 (82,4%) ( $p < 0.005$ ). **Conclusions:** our results indicate that the vaccination against *L. chagasi* infection is effective with FML vaccine and that F2 contains the active compound of the saponin mixture.

Support: CNPQ-UNIVERSAL, FINEP, CEPG-UFRJ, FUJB-UFRJ, FAPERJ

#### TL V.11

**IMMUNOTHERAPY AGAINST EXPERIMENTAL VISCERAL LEISHMANIASIS WITH SAPONIN FRACTIONS IN THE FML-VACCINE.** Casas C.P.1, Paraguai de Souza E.1 Bernardo, RR 2 and Palatnik de Sousa, C.B.1 Instituto de Microbiologia "Prof. Paulo de Góes" 1, Instituto de Biofísica "Professor Carlos Chagas", Universidade Federal do Rio de Janeiro, Caixa Postal 68040, Rio de Janeiro, 21941-590, RJ, Brasil. [immgcpa@micro.ufrj.br](mailto:immgcpa@micro.ufrj.br)

**Introduction:** A vaccine therapy against kala-azar might be an alternative treatment, avoiding dog sacrifice and reducmH<sub>2</sub>O (15:9:1:2): F1 (tubes 1-2), F2 (tubes 3-14) and F3 (tubes 15-21). Fifteen days after the third dose, the DTH against *L. donovani* f/t promastigote lysate antigen was evaluated. Sera were analyzed by the FML-ELISA assay before infection, 15 days after infection and 19 days after complete vaccination when animals were sacrificed. Total increase of body weight, hepato and splenomegaly

and liver and spleen LDU were assayed. Results: neither lethality nor pain was detected. Swelling and loss of hair were observed at the site of injection mainly for R saponin and F2. The DTH response was significantly higher in mice vaccinated with FML + Riedel De Haën saponin over the saline control (0.42-0.13mm), both at 24h ( $p < 0.005$ ) and 48h ( $p < 0.005$ ) after injection. Mice treated with FML + F2 fraction showed an even higher response (0.57mm) at 24h post injection ( $p < 0,005$ ). The anti-FML antibody response was higher for immunotherapy group than for controls and for R saponin and F2 than for the other fractions. A pronounced increase in IgG2b was noted in F2 treated animals. During the experiment, the highest increase in body weight (70%) was observed in normal untreated controls. All groups showed splenomegaly and no hepatomegaly. The reduction of parasitemia in liver was only significant for R saponin (92%  $p < 0.05$ ) and F2 fraction (100%,  $p < 0.025$ ). Conclusions: our results demonstrate that the immunotherapy against *L. chagasi* infection is feasible and that F2 contains the active compound of the saponin mixture.

Support: CNPQ-UNIVERSAL, FINEP, CEPG-UFRJ, FUJB-UFRJ, FAPERJ.

#### TL V.12

**IMPAIRMENT OF LEISHMANIA (LEISHMANIA) AMAZONENSIS INFECTION AND NO PRODUCTION IN MURINE PERITONEAL MACROPHAGES INDUCED BY SYNADENIUM CARINATUM LECTIN.** Sandra Regina Afonso-Cardoso; Adriano Gomes Silva; Maria Aparecida de Souza; Marcelo Simão Ferreira. Laboratório de Imunologia – Universidade Federal de Uberlândia- Uberlândia – MG.

**Introduction:** Leishmaniasis is caused by parasites of genus *Leishmania*, intracellular parasites of macrophages that cause a great variety of clinical manifestations. A cell-mediated immune response has shown to be protective against intracellular parasites. It has been demonstrated that plant lectins are capable of inducing nitric oxide (NO), gamma interferon (IFN-g) and interleukin 12 (IL-12) production, which are key molecules in a cellular immune response by murine mononuclear cells.

**Objective:** To investigate the effect of lectin latex from *Synadenium carinatum* (ScLL) on murine peritoneal macrophages, in the presence or absence of  $Ca^{++}$ /EDTA and infection by *L. amazonensis*. **Materials and Methods:** Murine macrophages were stimulated in culture with 200, 100, 50 and 10 mg of ScLL and 0,6 mM  $CaCl_2$  /0,1 mM EDTA. After 48 hours the cells were infected by 106 promastigotes of *L. amazonensis*. The supernatants were collected 24, 48 and 72 hours after infection for NO determination. **Results:** ScLL was capable of inducing NO in 50 and 10mg in the presence of  $Ca^{++}$  ions when in comparison with the culture treated with EDTA. In addition, the cells treated with 50 and 10mg of ScLL plus  $Ca^{++}$ , the infection ratio was lower when in comparison with the cells treated with EDTA and others lectin concentrations. **Conclusion:** These dates suggest that ScLL presents microbicidal activity against *L. amazonensis* and this activity seems to be  $Ca^{++}$  dependent.

Financial support: Fapemig; CNPq

#### TL V.13

**INTERAÇÃO *L. (L.) amazonensis*-HOSPEDEIRO NA PRESENÇA DO EXTRATO DE GLÂNDULA SALIVAR DE *Lu. longipalpis*.** 1Márcia D. Laurenti; 1Veruska, S.M. Silveira; 1Francisco C.S Aranha; 2Nágila F.C. Secundino; 2Paulo F.P. Pimenta; 1Carlos E.P. Corbett. Lab. Pat. Mol. Infeciosas (LIM-50), Depto. de Patologia, FMUSP, São Paulo (SP); 2Lab. Entomologia Médica, CPRR, FIOCRUZ, Belo Horizonte (MG). e-mail: mdl Lauren@usp.br

Camundongos C57BL/6 foram inoculados com 106 promastigotas de *L. (L.) amazonensis* na ausência e na presença do extrato de glândula salivar de *Lu. longipalpis* oriundo de vetores capturados em campo (GScap) e de colônia (GScol). O tamanho da lesão de pele foi avaliado semanalmente até o 60o dia de infecção. Fragmentos de pele foram colhidos as 3, 24, 72 horas, 7, e 60 dias de infecção para estudo histopatológico, assim como, linfonodos poplíteos de drenagem para avaliação do tamanho e estudo histopatológico. O tamanho da lesão de pele mostrou-se significativamente maior em animais inoculados com o parasito na presença do extrato de glândula salivar do vetor a partir da terceira semana de infecção. Este aumento foi maior nos animais co-inoculados com GScol. A análise histopatológica quantitativa da lesão de pele mostrou um número menor de células polimorfonucleares e de polimorfonucleares com fagocitose, e maior número de células mononucleares e de mononucleares com parasitos fagocitados a partir de 3 horas de infecção nos animais inoculados com o parasito e SGcol em relação aos animais inoculados com o parasito e GScap. Aos 60 dias de infecção, os animais inoculados com o parasito e GScol mostraram na derme a presença maciça de macrófagos vacuolizados intensamente parasitados, enquanto que os animais inoculados com o parasito e GScap mostravam um infiltrado inflamatório na derme formado por macrófagos parasitados e arranjos nodulares de células mononucleares. O tamanho dos linfonodos poplíteo de drenagem aumentou com o tempo de

evolução da infecção, porém não mostrou diferenças significantes entre os grupos inoculados com o parasito na ausência e na presença de GScol e GScap. Reatividade folicular dos linfonodos foram observadas a partir do 7o dia de infecção, cuja intensidade variou de discreta a intensa de acordo com o tempo de evolução da infecção, nos animais inoculados com o parasito na ausência e na presença de GScol e GScap. Nossos resultados mostraram que a saliva de inseto vetor aumenta a infectividade do parasito *in vivo*, porém este aumento de infectividade foi mais evidente na presença de GScol do que GScap.

Apoio FAPESP, CNPq e HC-FMUSP.

#### TL V.14

**LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA EM ARAÇATUBA (SP): DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO, IMUNOLÓGICO E MOLECULAR.** Marcio A. B. Moreira<sup>1</sup>; Maria C. R. Luvizotto<sup>2</sup>; Carlos E. P. Corbett<sup>1</sup>; Márcia D. Laurenti<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Lab. Patologia de Moléstias Infeciosas (LIM-50), Depto. de Patologia da FMUSP, <sup>2</sup>Lab. Patologia, Curso de Med. Veterinária da UNESP, Araçatuba (SP). e-mail:mdlauren@usp.br

Com o objetivo de aprimorar o diagnóstico da leishmaniose visceral canina em área endêmica à noroeste do Estado de São Paulo - Brasil, estudamos a eficácia de métodos de diagnóstico parasitológico, imunológico e molecular. Animais com e sem sinais clínicos da doença e com pesquisa direta de parasitos positiva em esfregaço de linfonodo e/ou detecção de anticorpos por ELISA foram selecionados para o estudo. De acordo com os sinais clínicos da doença, 89 cães atendidos no Hospital Veterinário da UNESP de Araçatuba (SP) foram divididos em três grupos: sintomático (41), oligossintomático (25) e assintomático (23). Punção aspirativa por agulha fina (FNA) de linfonodo poplíteo foi colhida, corada por Diff-Quick®, imunofluorescência direta e imunocitoquímica, assim como DNA do parasito foi amplificado e detectado por PCR. Cortes histológicos de linfonodo, baço, medula óssea e fígado foram corados pelo H&E e por imunoistoquímica. A sensibilidade foi 75,61% para a pesquisa direta do parasito em FNA corado pelo Diff-Quick®, 92,68% para imunofluorescência direta, 92,68% para a imunocitoquímica e 100% para o PCR no grupo sintomático, 32%, 60%, 76% e 96% para o oligossintomático e 39,13%, 73,91%, 100% e 95,65% para o assintomático, respectivamente. A pesquisa de parasitos em biópsia de linfonodo, baço, medula óssea e fígado corado pelo H&E mostrou sensibilidade de 43,9%, 36,59%, 26,83% e 26,83% para o sintomático, 40%, 28%, 12% e 12% para o oligossintomático e 39,13%, 34,78%, 21,74% e 13,04% para o grupo assintomático, respectivamente. A imunoistoquímica mostrou sensibilidade de 65,85%, 60,98%, 58,54% e 53,66% para o sintomático, 68%, 64%, 32% e 40% para o oligossintomático e 72,73%, 69,57%, 43,83% e 56,52% para o grupo assintomático em linfonodo, baço, medula óssea e fígado, respectivamente. Os resultados mostraram que o Diff-Quick® e a imunofluorescência foram melhor para o diagnóstico dos casos sintomáticos; o ELISA e a imunocitoquímica para o diagnóstico dos casos assintomáticos. Alta sensibilidade foi observada quando técnicas de imunomarcagem foram usadas. O PCR apresentou a maior sensibilidade dentre todos os métodos empregados, porém, este método detecta DNA do parasito e não parasito íntegro e isto não reflete o estágio da infecção e/ou doença.

Apoio UNESP, FAPESP e HC-FMUSP.

#### TL V.15

**PADRONIZAÇÃO DE MÉTODOS ENZIMÁTICOS PARA AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO *IN VITRO* DE PROMASTIGOTAS DAS ESPÉCIES *LEISHMANIA (LEISHMANIA) AMAZONENSIS* E *LEISHMANIA (LEISHMANIA) CHAGASI*.** Fernanda de Oliveira Silva, Ana Rabello. Centro de Pesquisas René Rachou- FIOCRUZ.

**Introdução:** Ensaio *in vitro* empregando sais tetrazolium (MTT) e o composto Alamar Blue® (AB) constituem um sistema simples e rápido para triagens de drogas com ação leishmanicida. Objetivo: Padronizar dois métodos enzimáticos utilizando o MTT e o AB, para avaliar a correlação existente entre o número de parasitos e a redução desses compostos, pelas enzimas desidrogenases de *L. amazonensis* (LA) e *L. chagasi* (LC). **Materiais e Métodos:** Parasitos- promastigotas de LA e LC, cultivados em meio Schneider's -20% de soro bovino fetal, foram coletadas na fase exponencial de crescimento e ajustados para as concentrações de 10<sup>5</sup>, 5x10<sup>5</sup>, 10<sup>6</sup>, 5x10<sup>6</sup> e 10<sup>7</sup> parasitos/ml. Nos experimentos com o MTT foram utilizados para cada concentração 100ml da suspensão de parasitos e 180ml para os testes com AB, distribuídos em seis placas de 96 poços mantidos a 26°C por diferentes tempos. Testes- a) MTT: após 24, 48 e 72h cada uma das três placas eram incubadas com 10ml do MTT (10mg/ml) durante quatro horas. Ao final deste período a reação enzima-substrato era interrompida com a adição de 100ml de SDS, pH 5.4, sendo as placas mantidas sob agitação por 30 minutos. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 595nm; b) AB: imediatamente após a distribuição das diferentes concentrações dos parasitos nas placas, eram adicionados a cada poço 20ml da solução estoque do AB. Após 24, 48 e 72h de incubação, foi feita a leitura em espectrofotômetro a 570nm e 600nm, simultaneamente. **Resultados:** No ensaio com o MTT verificou-se aumento crescente das absorbâncias nas diferentes

concentrações de parasitos para LA e LC, nos diferentes tempos, com boa correlação sendo os valores de  $R^2$  de 0,98, 0,99 e 0,70 e de 0,87, 0,77 e 0,66, respectivamente. Com o AB o mesmo foi observado para LA, com  $R^2$  de 0,96, 0,77 e 0,56. Entretanto, para a LC não foi verificada boa correlação com valores de  $R^2$  de 0,11, 0,02 e 0,60.

#### TL V.16

**PAPEL DE NEUTRÓFILOS E EOSINÓFILOS NA REGULAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE NA LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA.** Vanessa Peruhype-Magalhães<sup>1</sup>, Olindo A Martins-Filho<sup>1</sup>, Ana LT Rabello<sup>1</sup>, Sílvio FG Carvalho<sup>2</sup>, Luciana A Silva<sup>3</sup>, Aluizio Prata<sup>3</sup>, Rodrigo Correa-Oliveira<sup>1</sup>. 1-Centro de Pesquisas René Rachou-FIOCRUZ, Belo Horizonte-MG; 2-Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros-MG; 3-Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, Uberaba-MG.

**Introdução:** As formas clínicas da leishmaniose visceral (LV), são influenciadas pela resposta imune do hospedeiro, onde a cura/progressão da doença estão relacionadas ao predomínio de uma resposta imune tipo 1 ou tipo 2, respectivamente. Os leucócitos Polimorfonucleares (neutrófilos e eosinófilos) são as primeiras células que migram para o local de infecção. Intenso infiltrado polimorfonuclear (PMN) na lesão, tem sido descrito nas primeiras 48-72 hs após inoculação de *L. major* ou *L. amazonensis*. No processo inicial da infecção, PMN exercem papel importante no controle do parasitismo por *L. infantum*. Estas células também podem funcionar como imunoreguladoras por liberarem citocinas como IFN-gama, IL-12 entre outras. O papel dos PMN como fonte de citocinas nas Leishmanioses, em especial, na LV humana, não foi ainda descrito.

**Objetivo:** Avaliar, após estimulação curta com antígeno solúvel de *L. chagasi* (LSA), o padrão de citocinas de neutrófilos e eosinófilos de pacientes com LV ativa (LVA), indivíduos assintomáticos (AS) e indivíduos curados (CR). **Materiais e Métodos:** Utilizando a citometria de fluxo, o perfil de citocinas intracelulares de neutrófilos e eosinófilos circulantes foi avaliado. A população estudada consta de 29 pacientes do grupo LVA, provenientes de Montes Claros-MG e região metropolitana de Belo Horizonte-MG, 28 indivíduos do grupo AS e 31 do grupo CR, residentes em Porteirinha-MG. Resultados: Nossos dados demonstram aumento no número médio de neutrófilos IL-4+ e diminuição de eosinófilos TNF-alfa+, IFN-gama+ e IL-12+ no grupo LVA, o que poderia explicar a progressão da doença. Indivíduos AS são caracterizados por aumento na expressão de IFN-gama por neutrófilos e eosinófilos e de IL-12 por eosinófilos. Entretanto aumento na expressão de IL-4 por neutrófilos e de IL-10 por eosinófilos foi observado, sugerindo modulação da resposta inflamatória. Indivíduos CR apresentaram aumento na expressão de IFN-gama por neutrófilos e eosinófilos, sugerindo estabelecimento de mecanismo protetor a reinfeções.

#### TL V.17

**PARASITISMO DE PELE EM CÃES NATURALMENTE INFECTADOS POR L.(L.)chagasi.** Marcio A. B. Moreira<sup>1</sup>; Maria C. R. Luvizotto<sup>2</sup>; Carlos E. P. Corbett<sup>1</sup>; Márcia D. Laurenti<sup>1</sup>. 1Lab. Patologia de Moléstias Infecciosas (LIM-50), Depto. de Patologia da FMUSP, 2Lab. Patologia, Curso de Med. Veterinária da UNESP, Araçatuba (SP). e-mail:mdlauren@usp.br

Com o objetivo de avaliar o potencial de cães naturalmente infectados por *L. (L.) chagasi* como fonte de infecção na transmissão da leishmaniose visceral em região endêmica à Noroeste do Estado de São Paulo, estudamos o parasitismo da pele destes animais por métodos de diagnóstico parasitológico, imunológico e molecular. Cães com e sem manifestações clínicas da doença, pesquisa direta de parasitos positiva em esfregaço de linfonodo e/ou detecção de anticorpos por ELISA foram selecionados para o estudo. De acordo com as manifestações clínicas, 89 cães atendidos no Hospital Veterinário da UNESP de Araçatuba (SP) foram divididos em três grupos: sintomático 46,1% (41/89), oligossintomático 28,1% (25/89) e assintomático 25,8% (23/89). Como controle negativo foram utilizados 26 cães de área não endêmica de leishmaniose visceral. Fragmentos de pele foram coletados, fixados em formol 10% tamponado e processados pelas técnicas histológicas de rotina; os cortes obtidos foram corados por H&E, e processados pela técnica imunoistoquímica. DNA do parasito foi amplificado e detectado por PCR em amostras de pele congeladas. A pesquisa de parasitos na pele em corte histológico corado pelo H&E foi positiva em 22% (9/41) dos animais sintomáticos, em 12% (3/25) dos oligossintomáticos e em 17,4% (4/23) dos assintomáticos. A técnica de imunoistoquímica mostrou-se mais sensível na detecção de parasitos, onde 51,2% (21/41) dos sintomáticos, 28% (7/25) dos oligossintomáticos e 21,7% (5/23) dos assintomáticos apresentaram parasitos imunomarcados na pele. A detecção de DNA do parasito na pele pelo método de PCR foi positiva em 100% dos animais do grupo sintomático (41/41), oligossintomático (25/25) e assintomático (23/23). Nossos resultados mostram que apesar da alta positividade no diagnóstico sorológico e molecular para leishmaniose visceral em cães naturalmente infectados por *L. (L.) chagasi* em área endêmica da doença, estes animais podem não ser fonte de infecção em potencial na transmissão da enfermidade uma vez que, parasitos íntegros podem não estar presentes em sua pele.

#### TL V.18

**PERFIL DA PRODUÇÃO DE CITOCINAS POR CÉLULAS MONONUCLEARES EM RESPOSTA A PROTEÍNAS RECOMBINANTES DE L. amazonensis: KMP-11 E LACK.** Denise C. S. Matos, Elezer M. Lemes, Geraldo G. G. Armôa, Rilza Beatriz de Azeredo Coutinho, Fátima Conceição Silva, Armando Schubach, Ricardo Nogueira, Marise S. Mattos e Sergio C. F. Mendonça. Departamento de Imunologia - Instituto Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fiocruz, RJ

**Introdução:** A abordagem contemporânea para o desenvolvimento de vacinas compreende a identificação de imunógenos com base no conhecimento das respostas imunes por eles estimuladas. "Kinetoplastid membrane protein-11" (KMP-11) e

“Leishmania analogue of the receptor for activated C kinase” são moléculas de Leishmania consideradas como candidatas a vacina. **Objetivo:** Avaliar a produção de citocinas de células mononucleares de sangue periférico humanas estimuladas com estas proteínas recombinantes de Leishmania amazonensis (cepa da LeishvacinÒ), comparativamente ao extrato total de promastigotas da mesma cepa. **Materiais e métodos:** Foram estudados dez pacientes com leishmaniose tegumentar americana e quatro controles sadios Montenegro negativos. Os genes de KMP-11 e LACK foram obtidos por RT-PCR. As proteínas expressas em Escherichia coli M-15 foram purificadas em coluna Ni-NTA (Qiagen), apresentando níveis insignificantes de contaminação com LPS pelo kit LAL (BioWhittaker). O extrato total de L. amazonensis (La) foi obtido por sonicação. As três preparações antigênicas foram utilizadas em doses iguais (50mg/mL). Os níveis de IFN-g, IL-5, IL-10 e TNF-a foram dosados por ELISA. A análise estatística foi realizada por meio da prova de Kruskal-Wallis (resultados significantes quando  $p < 0,05$ ). Resultados: Não foram observadas diferenças entre os três estímulos (KMP-11, LACK e La) quanto a produção de IFN-g, IL-10 e TNF-a. Porém, nas culturas dos pacientes os níveis de IL-5 induzidos por KMP-11 foram significativamente superiores aos obtidos com La ( $p < 0,05$ ) e LACK ( $p < 0,001$ ). A produção de IL-5 estimulada por La também foi superior à estimulada por LACK ( $p < 0,05$ ). Os níveis de citocinas dos controles foram sempre muito inferiores aos dos pacientes. **Conclusão:** Estes resultados indicam que KMP-11 apresenta uma capacidade de indução de citocina Th2 relativamente alta e superior a de outra proteína recombinante, LACK.

Apoio: CNPq, FAPERJ e Fiocruz.

#### TL V.19

##### **PERFIL DE ISOTIPOS DE IMUNOGLOBULINAS E SUBCLASSES DE IgG NA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA.**

Márcio A. B. Gomes, Adriano Gomes-Silva, Sandra R. Afonso-Cardoso, Silvio Favoreto Junior, Marcelo Simão Ferreira, Maria A. Souza. Laboratório de Imunologia, Universidade Federal de Uberlândia-MG.

**Introdução:** A infecção por Leishmania, normalmente leva à indução de resposta imune complexa, caracterizada tanto por reações mediadas por células como pela produção de anticorpos. Objetivos: Avaliar o perfil de anticorpos em pacientes com sinais clínicos de leishmaniose tegumentar americana (LTA). **Material e Métodos:** Amostras de soros de 37 pacientes com LTA diagnosticados no HC- UFU. O perfil de classes de Imunoglobulinas e subclasses de IgG foram analisados por teste ELISA indireto, com a utilização de antígeno solúvel de Leishmania (Leishmania) amazonensis. A avidéz dos anticorpos foi determinada pelo tratamento com uréia 6M. **Resultados:** Observou-se que 62,16%, 97,0%, 94,59% e 21,62% dos pacientes apresentaram anticorpos anti-Leishmania das classes IgA, IgE, IgG e IgM, respectivamente. Dentre as subclasses de IgG o perfil observado foi IgG1>IgG3>IgG2>IgG4. Os anticorpos da classe IgA, IgE e IgG, de alta avidéz (> 70%), estiveram presentes em 26,09%, 44,44% e 20,0% dos pacientes, respectivamente. Por outro lado, 62,86% dos pacientes apresentaram anticorpos da classe IgG de média avidéz. **Conclusão:** A variação do perfil de imunoglobulinas, observada no presente estudo, reflete a complexidade da resposta imune humoral contra LTA assim como a dificuldade de se estabelecer marcadores sorológicos aplicados ao seu diagnóstico.

Apoio: CAPES, CNPq e FAPEMIG.

#### TL V.20

##### **REATIVIDADE DE CÉLULAS MONONUCLEARES HUMANAS A ANTÍGENOS TOTAIS E FRACIONADOS DE LEISHMANIA.**

Elaine Telino, Paula M. De Luca, Denise C. S. Matos, Rilza Beatriz de Azeredo Coutinho, Fátima Conceição Silva, Armando Schubach, Kátia Lima Quaresma e Sergio C. F. Mendonça. Departamento de Imunologia - Instituto Oswaldo Cruz, Instituto de Pesquisa Aplicada Evandro Chagas, Fiocruz, RJ.

**Introdução:** Uma vacina de primeira geração constituída de Leishmania amazonensis (LeishvacinÒ) tem sido submetida a ensaios clínicos. Esta vacina é capaz de induzir resposta imune celular a antígenos de Leishmania. No entanto, não se sabe quais componentes antigênicos da vacina são responsáveis pela sua imunogenicidade. **Objetivo:** Comparar a antigenicidade de extratos totais de promastigotas de L. braziliensis (Lb) e L. amazonensis/cepa da Leishvacin (La) e frações solúvel (LaS) e particulada (LaP) obtidas de La. **Materiais e métodos:** Foram estudados 30 pacientes com leishmaniose tegumentar americana e oito indivíduos sadios positivos ao teste de Montenegro, todos provenientes do Rio de Janeiro, área exclusiva de L. braziliensis. Os extratos totais de promastigotas de fase estacionária foram obtidos por sonicação e as frações por ultracentrifugação (100.000g). Foram avaliadas proliferação linfoblástica e dosagem das citocinas IFN-g e interleucina-10 (IL-10) utilizando-se células mononucleares de sangue periférico em presença ou ausência dos estímulos descritos acima. Na análise estatística foi utilizada a prova de Wilcoxon, pareada, bi-caudal. Os resultados foram considerados significantes quando  $p < 0,05$ . **Resultados:** Nas células dos pacientes, Lb estimulou resposta proliferativa e produção de IFN-g (mas não de IL-10) significativamente superiores às obtidas com La. Em células de pacientes e dos indivíduos Montenegro positivos, La estimulou resposta proliferativa

e produção de IFN-g e IL-10 significativamente superiores às de LaP e LaS. Entre as frações, a resposta proliferativa e a produção de IFN-g (mas não de IL-10) induzidas por LaP foram em geral significativamente superiores às de LaS. **Conclusões:** A maior antigenicidade de Lb em relação a La deve-se provavelmente à etiologia da infecção dos pacientes. Os resultados obtidos com as frações indicam uma maior antigenicidade da fração particulada em relação à solúvel, e esta observação pode orientar a busca de antígenos candidatos a vacinas de sub-unidades.

Apoio: CNPq e FAPERJ

#### TL V.21

**REATIVIDADE DE SOROS DE PACIENTES COM LEISHMANIOSE TEGUMENTAR COM FRAÇÕES PROTÉICAS DE PROMASTIGOTAS DE LEISHMANIA (VIANNIA) BRAZILIENSIS.** Leyde D. de Peder, Cristina Y. Ywazaki, Jane Martha G. Mikcha, Maria Valdrinez C. Lonardoni, Thaís G. V. Silveira, Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

**Introdução:** A leishmaniose tegumentar é uma doença endêmica no Brasil. Caracteriza-se por lesões na pele (forma cutânea) ou em mucosas (forma mucosa), que pode levar a mutilações quando não adequadamente tratada. O diagnóstico da IT é comumente realizado pela pesquisa do parasita na lesão, por testes intradérmico e sorológico. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi purificar antígenos de Leishmania, visando melhorar o diagnóstico da doença, através da utilização de testes mais sensíveis e específicos para a pesquisa de anticorpos. **Materiais e métodos:** Formas promastigotas de Leishmania (Viannia) braziliensis foram cultivadas em meio 199 suplementado e, após lavagens, foram lisadas em ultrassom. O lisado foi fracionado em coluna de exclusão molecular (Sephadex G100). A presença de proteínas nas frações foi avaliada pela absorbância a 280 nm. As frações contendo proteínas foram liofilizadas e depois de ressuspensas em água, foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida a 12%. A reatividade das frações purificadas com soros de pacientes foi avaliada por Western blotting e ensaio imunoenzimático (EIE). **Resultados:** Por Western blotting observou-se que algumas bandas foram reconhecidas por soro de pacientes com leishmaniose tegumentar (56, 39, 25 e 17 kDa) e não reagiram com soro de pacientes chagásicos ou soros de indivíduos normais, indicando reconhecimento específico destas bandas protéicas. Por EIE, estas frações também foram reativas com soros de pacientes com leishmaniose tegumentar. Embora o número de soros testados até o momento seja pequeno, estes resultados apontam para a possibilidade da utilização destes componentes no diagnóstico sorológico da leishmaniose tegumentar.

#### TL V.22

**TESTE DE AGLUTINAÇÃO DIRETA (DAT) E RK39-ELISA NO DIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA.** Mariana Junqueira Pedras e Ana Rabello. Centro de Referência em Leishmanioses, Laboratório de Pesquisas Clínicas, Centro de Pesquisas René Rachou – FIOCRUZ, MG.

**Introdução:** O teste de aglutinação direta (DAT) é um dos testes mais simples e baratos usados para o diagnóstico da leishmaniose visceral (LV), muito utilizado nos países da África sub-Saariana, Índia e Nepal, com sensibilidade de 91 a 100% e especificidade de 72 a 100%. O antígeno, além de poder ser liofilizado, resiste à temperaturas ambientes elevadas. A técnica dispensa equipamentos, é realizada à temperatura ambiente e a interpretação do resultado é visual. A proteína recombinante K-39, uma seqüência de 39 aminoácidos clonada da região quinase, complexo donovani-específico oferece sensibilidades de 98 e 99% e especificidade de 96 a 100% em ensaios de ELISA. **Objetivo:** Avaliar a sensibilidade e especificidade DAT (gentilmente cedido por Dr. Scaling – Royal Tropical Institute, Holanda) para o diagnóstico da LV, comparando com a imunofluorescência indireta - RIFI (Biomanguinhos, Fiocruz) e o ensaio de ELISA utilizando antígeno recombinante rk39 (gentilmente cedido por Dr. Reed – Corixa, EUA) e antígeno solúvel de promastigotas de *Leishmania chagasi*. **Grupos de estudo:** Foram avaliados 87 pacientes com diagnóstico parasitológico de LV. Como controles foram incluídos soros de 20 voluntários sadios e 85 soros de pacientes portadores de outras infecções: malária (20), sífilis (20), esquistossomose aguda (15) e doença de Chagas (30). **Resultados:** A sensibilidade do DAT foi de 96,6% e especificidade de 100% para todos os grupos testados, exceto doença de Chagas (93,3%). As sensibilidades observadas com a RIFI, ELISA K39 e ELISA solúvel foram de 91,2%, 93,1% e 90,8% respectivamente. Entre esses testes a menor especificidade foi encontrada para doença de Chagas e malária, com a RIFI (66,6 e 70% respectivamente) e ELISA com antígeno solúvel (56,6 e 75%, respectivamente). O grupo de voluntários sadios apresentou 100% de especificidade para todos os testes realizados. Ambas as técnicas apresentaram elevadas sensibilidade e especificidade, sendo o DAT, uma técnica de extrema facilidade de execução. Ambas não são ainda comercializadas no Brasil.

Apoio: CNPq e FAPEMIG.

### TL V.23

**MODELO MURINO PARA INFECÇÃO SUBCUTÂNEA COM *Leishmania (Leishmania) chagasi* Cunha & Chagas, 1937.** Souza CSE, Calabrese KS e Gonçalves da Costa SC. FIOCRUZ – Deptº Protozoologia, Rio de Janeiro.

**Introdução:** O estudo das leishmanioses no modelo murino reproduz, muitas vezes, o que ocorre no homem e no cão acometido pela infecção. Por isso, esse modelo tem sido empregado no estudo das infecções causadas por espécies de *Leishmania* do Velho Mundo. No Novo Mundo, a maioria dos trabalhos experimentais utilizam hamsteres e doses elevadas de amastigotas por vias pouco usuais como intracardíaca, por exemplo. Os conceitos que se têm sobre resistência à infecção por *L. donovani* foram estabelecidos de maneira uniforme, empregando-se formas amastigotas de uma mesma amostra de *Leishmania*, com inóculos de concentrações idênticas usando-se a via intravenosa. Assim, podemos concluir que para infecções experimentais, com cepas viscerotropicas de *Leishmania*, um modelo adequado não está ainda bem definido. **Objetivo:** Estabelecer um modelo murino para infecção visceral através de inoculação subcutânea com promastigotas de *L. chagasi*. **Materiais e Métodos:** Seis cepas de camundongos isogênicos foram inoculados subcutaneamente com 10<sup>4</sup> promastigotas de *L. chagasi*. O curso da infecção foi avaliado pela medida das lesões e a visceralização pela técnica de análise de diluição limitante (ADL). Análises histopatológicas foram realizadas pela Haematoxilina–Eosina e Giemsa. As respostas imunológicas, humoral e celular, foram avaliadas pela técnica de imunofluorescência indireta e hipersensibilidade retardada a antígenos de *Leishmania*. **Resultados:** Camundongos BALB/c, C57BL/6 e C57BL/10 mostraram-se susceptíveis, DBA/2 intermediários, CBA e C3H.HeN resistentes. Parasitas foram evidenciados na pele, linfonodos, baço e fígado dos animais sensíveis, assim como lesões nodulares metastáticas na cauda, orelha, focinho, patas e região peri-anal. Um aumento dos níveis de IgG e baixa resposta de hipersensibilidade retardada também foram observados nestes animais. A histopatologia mostrou extensas reações inflamatórias da pele, com macrófagos parasitados principalmente na derme, os quais parecem migrar para a epiderme. Foram evidenciados granulomas do tipo tuberculínico, com presença de células gigantes de Langhans nos linfonodos, mesmo em camundongos sensíveis. A persistência de amastigotas foi detectada mesmo nos animais resistentes. A análise imunohistoquímica da lesão primária de BALB/c, no 130º dia de infecção, mostrou intenso parasitismo e ausência de CD4+, CD8+ e macrófagos. DBA/2 que receberam o mesmo inóculo, demonstraram muitos CD8+ e uma carga parasitária moderada.

## ÁREA TEMÁTICA VI – EPIDEMIOLOGIA E CONTROLE DAS LEISHMANIOSES

### TL VI.1

**ASPECTOS DA ECOLOGIA DE FLEBOTOMÍNEOS NO MUNICÍPIO DE PORTEIRINHA, MINAS GERAIS, BRASIL.** Ricardo Andrade Barata(1); João Carlos França-Silva(2); Roberto Teodoro da Costa(2); Wilson Mayrink(2); Evaldo Nascimento(2); Jaime Costa da Silva(3); Edvá Vieira de Paula(3); George Luiz Lins Machado-Coelho(4); Aluizio Prata(5); Caroline Macedo Gonçalves(1); Elias Seixas Lorosa(6) & Edelberto Santos Dias(1) 1.Centro de Pesquisas René Rachou/ 2.Universidade Federal de Minas Gerais/ 3.Fundação Nacional de Saúde/ 4.Universidade Federal de Ouro Preto/ 5.Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro/ 6.Instituto Oswaldo Cruz.

**Introdução.** A Leishmaniose Visceral têm aumentado significativamente sua importância no contexto da saúde pública devido ao processo de urbanização provocada pelas alterações no ambiente natural. O conhecimento da fauna flebotomínica e o estudo do comportamento de algumas espécies nos ajuda a entender como cada espécie interage com seu hábitat e como a transmissão da leishmaniose pode estar ocorrendo em determinada área. **Objetivos.** Levantar a fauna flebotomínica em Porteirinha; avaliar a variação de hospedeiros e as preferências alimentares de *Lutzomyia longipalpis* sob condições naturais; estudar o comportamento das espécies de flebotomíneos com relação à endofilia e à exofilia. **Material e Métodos.** Capturas sistemáticas foram realizadas com armadilhas luminosas do tipo CDC durante o período de Janeiro a Dezembro de 2002. As armadilhas foram expostas, em sete bairros, pareadamente no intradomicílio e peridomicílio, durante cinco dias consecutivos em cada mês. Fêmeas alimentadas de *L. longipalpis* foram utilizados para o teste de precipitina com sete diferentes anti-soros (boi, cavalo, porco, roedor, cão, homem e galinha). **Resultados.** Foram capturadas 14 espécies de flebotomíneos (1 do gênero *Brumptomyia* e 13 do gênero *Lutzomyia*) totalizando 1408 flebotomíneos sendo 525 fêmeas (37,28%) e 883 machos (62,72%). O percentual de captura em relação ao ambiente foi de 46,7% e 53,3%, para o intradomicílio e peridomicílio, respectivamente. O padrão de alimentação de 38 fêmeas de *L. longipalpis* em relação ao teste de precipitina com os diversos anti-soros foi a seguinte: boi (10,51%), cão (13,16%), cavalo (26,32%), galinha (26,32%), homem (5,27%), porco (0%), roedor (15,79%) e não reagente (2,63%). **Conclusões.** Os resultados indicam que a fauna no município de Porteirinha é bastante diversificada, com algumas espécies de interesse epidemiológico. *L. longipalpis* é a espécie predominante e sua ocorrência dentro e nos arredores de casa demonstra um risco de transmissão de *Leishmania*. Além disso, *L. longipalpis* mostrou-se uma espécie oportunista podendo sugar uma ampla variedade de vertebrados.

## TL VI.2

### **AVALIAÇÃO DO CONHECIMENTO EM LEISHMANIOSE VISCERAL DE PROFISSIONAIS DE SAÚDE E POPULAÇÃO DA REGIÃO METROPOLITANA DE BELO HORIZONTE E O POTENCIAL INFORMATIVO DE FOLHETO SOBRE A DOENÇA.**

Zélia M P Luz<sup>1,3</sup>, Virgínia T Schall<sup>2</sup>, Ana Rabello<sup>1</sup>, Laboratório de Pesquisas Clínicas/ Centro de Referência e Treinamento em Leishmanioses<sup>1</sup>, Laboratório de Educação em Saúde<sup>2</sup>- Centro de Pesquisas René Rachou-CPqRR/Fundação Oswaldo Cruz-FIOCRUZ, Departamento de Parasitologia/ICB-UFMG<sup>3</sup>.

**Introdução:** No Brasil, embora materiais informativos/educativos sejam freqüentemente produzidos como parte de programas de controle de doenças, muito pouco se sabe a respeito da eficácia desse tipo de informação. **Objetivos:** O presente trabalho apresenta a avaliação do conhecimento em leishmaniose visceral (LV) de profissionais de saúde e população de dois municípios da Região Metropolitana de Belo Horizonte (RMBH). Avaliou-se ainda, o potencial de informação correta sobre a doença de um folheto, recentemente elaborado pelo Centro de Referência e Treinamento em Leishmanioses do CPqRR em colaboração com profissionais de saúde de cinco municípios da RMBH. O financiamento do material foi feito pela Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais. **Materiais e métodos:** Participaram do estudo 930 indivíduos sendo 309 agentes comunitários de saúde, 190 agentes de zoonoses, 52 enfermeiros, 223 estudantes, 126 professores e 30 usuários dos serviços de saúde. A avaliação foi feita através de questionário individual com sete questões de múltipla escolha, antes e imediatamente após a leitura do material. O conhecimento inicial da doença foi estimado pela proporção de respostas corretas antes da leitura do folheto. **Resultados:** Verificou-se que entre os agentes de zoonoses 90% em média responderam corretamente as questões. Nas outras categorias, a variação foi de 45% a 77%. Após a leitura, entretanto, a variação foi de 71% a 96%, respectivamente. Verificou-se entre as sete questões formuladas, a que apresentou menor percentual de acertos, antes da leitura do folheto, foi à relacionada aos sintomas da doença. A análise das respostas incorretas mostrou que a LV é principalmente confundida com a leptospirose. Após a leitura do material, o número elevado de respostas corretas mostrou que o potencial de transmissão da informação sobre LV do folheto foi satisfatório.

Financiamento: Fundação Oswaldo Cruz, CNPq

## TL VI.3

### **AVALIAÇÃO DO RISCO DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NAS COMUNIDADES RURAIS DE OURO PRETO, MG, 2002.**

Naveda, L.A.B, Machado, J.G., Moreira, E.C., Silva, J.A., Viana, E.C., Light, P.L.L.

**Introdução:** A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é uma zoonose emergente e presente em 19 estados brasileiros. Em MG, foram notificados casos humanos e caninos em 19 municípios da Região Metropolitana de Belo Horizonte. Essa pesquisa foi realizada pela Escola de Veterinária da UFMG, em parceria com o Projeto Manuelzão, Instituto René Rachou e a Prefeitura de Ouro Preto com o objetivo de analisar a estrutura e dinâmica da população canina, avaliar o risco e prevalência da LVC, nas comunidades de Glaura, São Bartolomeu, Engenho D'Água, Rocha Lagoa e Soares, no município de Ouro Preto. **Material e Métodos:** Foram entrevistados os moradores e as informações armazenadas em Banco de dados, Programa EPI Info 6.02b. **Resultados:** Para estimativa da prevalência da LVC realizou-se coleta de sangue de 274 cães com impressão em papel de filtro Klabin 25. O diagnóstico utilizado foi o teste de Imunofluorescência Indireta (RIF) e os cães reagentes ao título 1:40 foram retestados pelos os testes de RIF, ELISA e Kalazar Test, no soro. Foram cadastradas 365 moradias com um total de 1205 habitantes e 495 cães. 10,6% (39) destas casas estavam sem moradores, caracterizadas como casas de final de semana. Os indicadores encontrados foram: 3,30 pessoas/casa, 1,36 cães/casa e 1 cão para cada 2,43 pessoas. Do total de cães, 30 tem origem em outros municípios, onde a LVC é endêmica. Os exames de LVC revelaram 273 cães negativos e um cão positivo que foi abandonado na rua e adotado por um morador de São Bartolomeu. A prevalência encontrada foi de 0,3%. **Conclusões:** Estes resultados demonstram risco real de introdução e disseminação da doença nessas localidades, em função da alta densidade canina, grande renovação da população a cada 5 anos, trânsito livre da maior parte dos animais e a presença permanente e esporádica de cães oriundos de regiões positivas para LVC.

## TL VI.4

### **CARACTERÍSTICAS DOS CASOS HUMANOS DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR NA REGIÃO NOROESTE DO ESTADO DO PARANÁ.**

Cristina Y. Ywazaki, Andréa C. B. S. Roberto, Paulo D. Zanzarini, Eneide A. S. Venazzi, Ueslei Teodoro, Thaís G. V. Silveira e Maria V. C. Lonardon. Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC), Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

**Introdução:** A leishmaniose tegumentar (LT) tem sido assinalada em todos os Estados do Brasil. Na região noroeste do Estado do Paraná a doença é endêmica tendo sido relatada a presença da doença em humanos e cães. O diagnóstico da LT é realizado por pesquisa do parasita, intradermoreação de Montenegro e testes sorológicos. **Objetivo:** Conhecer as características da LT na região noroeste do Estado do Paraná. **Materiais e métodos:** Foram analisados os resultados dos

pacientes atendidos no LEPAC/UEM, para diagnóstico de LT, no período de janeiro/1998 a julho/2003. Para cada paciente foi preenchida uma ficha epidemiológica e realizado o diagnóstico laboratorial, o qual incluía a intradermorreação de Montenegro, imunofluorescência indireta e pesquisa do parasita na lesão. **Resultados:** Dos pacientes atendidos, 567 pacientes tiveram pelo menos um dos testes diagnósticos positivo, sendo que 508 (89,6%) apresentavam lesão cutânea e dos 59 que apresentavam lesão mucosa, 28 (47,5%) tinham a lesão de até dois anos de evolução. Dos 567, 429 (75,7%) eram homens, 365 (64,4%) tinham entre 15 e 49 anos e 39 (6,9%) tinham até 14 anos. A microscopia foi positiva em 374/483 (77,4%), a intradermorreação de Montenegro foi reativa em 489/502 (97,4%) e a imunofluorescência indireta em 474/552 (85,9%). Cento e oitenta e nove (33,3%) destes pacientes residiam em área rural e 364 (64,2%) em área urbana, dos quais 165 infectaram-se em atividade de lazer. Estes dados confirmam que a LT é endêmica na região noroeste do Estado do Paraná, onde acomete principalmente indivíduos do sexo masculino em idade produtiva, mas também ocorre em crianças, confirmando a ocorrência de transmissão peridomiciliar. Os casos de pacientes com lesões mucosas apontam para a necessidade de acompanhamento dos pacientes após o tratamento das lesões cutâneas e de métodos que possam avaliar a cura destes pacientes.

#### TL VI.5

##### **DIDELPHIS ALBIVENTRIS (MARSUPIALIA: DIDELPHIDAE) HOSPEDEIRO DE LEISHMANIA NO MUNICÍPIO DE BELO HORIZONTE, MINAS GERAIS.**

Eduardo S Silva; Célia MF Gontijo<sup>1</sup>; Carina Margonari<sup>1</sup>; Reginaldo P Brazil<sup>2</sup>; Eliane G Paiva Lopes<sup>3</sup>; Cláudia Capistrano<sup>3</sup>; Marta M Santos<sup>3</sup>. Universidade do Estado de Minas Gerais, Centro de Pós-graduação e Pesquisa – FUNEDI/ UEMG; <sup>1</sup>Laboratório de Leishmanioses, Centro de Pesquisas René Rachou CPqRR/Fiocruz; <sup>2</sup>Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, IOC/FIOCRZ; <sup>3</sup>Prefeitura Municipal de Belo Horizonte.

**Introdução:** Algumas espécies de marsupiais foram encontradas naturalmente infectadas por protozoários flagelados, sendo os gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania* os mais relevantes em saúde pública. A espécie *Didelphis albiventris* (Marsupialia, Didelphidae) é a de maior ocorrência no município de Belo Horizonte e já foi apontada como passível de infecção pela *L. chagasi* e *L. braziliensis*. A pesquisa de possíveis reservatórios silvestres com hábitos sinantrópicos são importantes para o conhecimento da dinâmica de transmissão no ambiente urbano. **Metodologia:** Um total de 116 *Didelphis albiventris* foram examinados para a pesquisa de infecção por *Leishmania* e *Tripanosoma cruzi*. Os animais foram capturados em quatro diferentes regionais do município de Belo Horizonte: Regional Nordeste (9), Norte (9), Barreiro (2), Horto Florestal (46) e 50 enviados pela Polícia Florestal. Os animais capturados foram anestesiados, coletado sangue em tubos vacutainer com EDTA para realização de teste de imunofluorescência indireta, exame parasitológico e PCR com iniciadores que amplificam a região conservada de *Leishmania*. **Resultados e conclusões:** 24 animais foram soropositivos para *Leishmania* e 17 para *T. cruzi* sendo que 12 foram reatores para os dois antígenos, com titulações variando de 1:160 a 1:1280. Dos 24 animais que apresentaram sorologia positiva para *Leishmania*, 18 apresentaram PCR positiva com produto esperado de 120 pares de bases analisado em gel de agarose corado pelo brometo de etídio. Todos os 06 animais com PCR negativa apresentaram títulos de anticorpos inferiores a 1:160. A hibridização com sondas específicas para *L. chagasi* e *L. braziliensis* e PCR com iniciadores para detectar infecção por *T. cruzi* estão sendo realizadas para comprovação das espécies encontradas nos gambás. Estudos posteriores serão necessários para se determinar o papel destes animais no ciclo de transmissão das leishmanioses e doença de Chagas no município de Belo Horizonte.

#### TL VI.6

##### **EFEITO DA IMPREGNAÇÃO DE MOSQUITEIROS COM DELTAMETRINA SOBRE A TRANSMISSÃO DE LEISHMANIOSE CUTÂNEA HUMANA CAUSADA POR LEISHMANIA VIANNIA BRAZILIENSIS NA BAHIA, BRASIL.** Elza F. Noronha, Roque P. de Almeida, Pedro L. Tauil, Gustavo A. S. Romero, Carlos Henrique N. Costa, Vanize O. Macêdo. Núcleo de Medicina Tropical, Universidade de Brasília; Laboratório de Imunologia, Universidade Federal da Bahia; Departamento de Doenças Infecciosas, Universidade Federal do Piauí.

**Introdução:** Ensaios utilizando mosquiteiros ou cortinados impregnados com inseticidas para o controle das leishmanioses têm sido realizados em áreas de transmissão antroponótica, mostrando impacto sobre os vetores e sobre a incidência de doença. Relata-se um estudo realizado no Brasil, em área de colonização antiga, endêmica de leishmaniose cutânea causada por *Leishmania Viannia braziliensis*, com o objetivo de caracterizar o efeito da impregnação de mosquiteiros com deltametrina sobre a transmissão da doença humana. **Material e métodos:** Foi realizado um estudo experimental, mascarado e aleatorizado, com acompanhamento de 20 meses, em Corte de Pedra, município de Presidente Tancredo Neves, na região cacauieira da Bahia. A unidade de amostragem foi o domicílio; sendo incluídos os indivíduos não infectados. Os mosquiteiros impregnados e não impregnados foram produzidos industrialmente, sendo realizadas lavagens e reimpregnações aos 9 e aos 15 meses de uso. O desfecho final foi a taxa de incidência de casos novos de doença definidos pela presença de lesão cutânea e/ou linfadenomegalia suspeitas, associadas a um exame laboratorial positivo (intradermorreação, cultura, inoculação em hamster

ou PCR). Realizou-se análise de sobrevivência pelo método Kaplan-Meier. **Resultados e discussão:** Foram incluídos 1169 indivíduos, 550 alocados no grupo de estudo (MI) e 619 no controle (MNI). Os grupos MI e MNI eram comparáveis entre si. Foram diagnosticados 12 casos de leishmaniose clínica no período do estudo e a taxa de incidência de doença foi semelhante entre os indivíduos em uso de mosquiteiros impregnados e não impregnados (MI = 8,1/1000 p.a, MNI = 7,5 p.a ; RR de 1,1 intervalo de 0,3 a 3,3 e  $p = 0,90$ ). A análise de sobrevivência não mostrou diferenças de risco de adoecer entre os grupos do estudo (Log Rank 0,01, df 1,  $p = 0,92$ ). Conclusão: Não houve efeito protetor da intervenção sobre a leishmaniose humana. Discute-se as limitações do modelo e perspectivas para o controle da doença na região.

#### TL VI.7

**EPIDEMIOLOGIA DAS LEISHMANIOSES NO SUL DE MINAS GERAIS, BRASIL: ASPECTOS REFERENTES À TRANSMISSÃO VETORIAL.** Carlos F. Loiola, Delano A. Silva, Eduardo dos Reis, Eunice A. B. Galati, Marcony R. F. Carvalho, Melissa V. Leite. EFOA/CEUFE; FSP/USP, Laboratório de Doenças Parasitárias e Saúde Pública - UNIFENAS<sup>(1)</sup>;

**Introdução:** As Leishmanioses são parasitoses que em suas etiologias participam várias espécies do gênero *Leishmania*, sendo transmitidas por flebotomíneos, dípteros da família Psychodidae. As notificações de caso humanos de LTA, no Estado de Minas Gerais em 1999, ocorreram em 400 municípios e em 47 ocorreram casos de IVA. Estes dados equivalem ao dobro do ano anterior, o que demonstra a expansão dessas parasitoses no Estado. Motivo este de preocupação sob o ponto de saúde pública. **Objetivo:** Estudar a fauna flebotomínica em quatro municípios do sul do Estado de Minas Gerais. **Material e Métodos:** A fauna foi pesquisada, por meio de armadilhas luminosas tipo CDC e armadilha de Shannon, durante 18 meses, em 4 municípios do sul de Minas Gerais. Os municípios foram escolhidos segundo a localização em relação à Serra da Mantiqueira e por seus índices de Incidência Acumulada, calculados segundo Szklo (1993) (Caldas, Conceição da Aparecida, Jacutinga e Machado). **Resultados:** Foram capturados 1439 flebotomíneos em Conceição da Aparecida, 351 em Machado, 171 em Jacutinga e nenhum exemplar em Caldas. Ressalta-se que, os índices para LTA destes municípios foram, respectivamente: 20,08; 17,99; 6,80; 0,00, em um período de 8 anos analisados. Desconsiderando-se as particularidades do estudo em cada local, percebe-se que, principalmente a densidade de insetos, pode ser um fator determinante nos índices de transmissão.

#### TL VI.8

**EPIDEMIOLOGIA E TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA (LTA) NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA (HUB): 406 CASOS.** Roberto Q. Name, Karinne T. Borges, Lucas S.C. Nogueira, João Herman D. Sampaio, Raimunda N.R. Sampaio, Gabriela A. Schneider; Serviço de Dermatologia-Hospital Universitário de Brasília.

**Introdução:** A LTA é zoonose de difícil controle, cujas estatísticas oficiais mostram no Brasil, nas últimas décadas, crescimento progressivo e registros ocasionais de surtos epidêmicos. **Objetivos:** Traçar perfil epidemiológico e estudar métodos diagnósticos, tratamento e efeitos colaterais. **Metodologia:** Foi realizado estudo tipo série de casos, retrospectivo, dos pacientes portadores de LTA atendidos no HUB com acompanhamento de um ano após o tratamento, no período de 01/01/1994 a 30/4/2003. Foram analisados, sexo, cor da pele, ocupação, procedência, formas clínicas, métodos diagnósticos e tratamento com antimonial pentavalente (SbV) 20mg/kg/dia por 20 dias para a forma cutânea e 30 dias para forma mucosa, além dos efeitos colaterais. Foram incluídos 406 pacientes com diagnóstico clínico de LTA, que apresentaram pelo menos um resultado positivo em exame específico. **Resultados:** Comparou-se a eficácia da IDRM de Montenegro (96,30%) e imunofluorescência indireta (IFI) (67,62%). A primeira foi mais sensível (RR=1,42; IC 1,30 < RR < 1,56;  $p < 0,05$ ). Comparou-se os índices de cura de pacientes de forma cutânea (FC) que iniciaram o tratamento até 6 meses (82,45%) após o início da doença com aqueles que o fizeram apenas entre 6 meses e um ano (67,79%). Houve maior sucesso nos que realizaram tratamento precoce (RR=1,22; IC 1,01 < RR < 1,47;  $p < 0,05$ ). Observou-se o mesmo comparando percentuais de cura de pacientes com forma mucosa (FM) que iniciaram tratamento entre 6 meses e um ano (93,75%) em relação aos que iniciaram após 1 ano (66,42%) (RR=1,41; IC 1,19 < RR < 1,68;  $p < 0,05$ ). Comparou-se alterações eletrocardiográficas entre o esquema de SbV 20mg/kg/dia por 20 dias (20,11%) com o de SbV 20mg/kg/dia por 30 dias (46,80%). Observou-se alterações mais frequentes no esquema mais prolongado (RR=0,43; IC 0,30 < RR < 0,62;  $p < 0,05$ ). Houve diferença estatisticamente significativa nos índices de cura da FC (SbV 20mg/kg/dia por 20 dias) (81,73%) em relação a FM (SbV 20 mg/kg/dia por 30 dias) (69,33%) (RR=1,18; IC 1,04 < RR < 1,33;  $p < 0,05$ ). **Conclusões:** O tratamento precoce da doença tem maior êxito de cura. A frequência das alterações eletrocardiográficas está diretamente relacionada ao tempo de uso do SbV. A FM da doença é de maior dificuldade terapêutica.

#### TL VI.9

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE DUAS ARMADILHAS LUMINOSAS UTILIZADAS NA CAPTURA DE FLEBOTOMÍNEOS NO MUNICÍPIO DE VARZELÂNDIA, MG, 2003.** Edelberto Santos Dias(1); João Carlos França-Silva(2); Jaime Costa da Silva(3); Edvá Vieira de Paula(3); Jeová Vitor dos Santos(3) & Ricardo Andrade Barata(1) I. Centro de Pesquisas René Rachou/ 2. UFMG / 3. FUNASA/

**Introdução:** No Novo Mundo, espécies de dípteros da família Psychodidae do gênero *Lutzomyia* são responsáveis pela transmissão de leishmanioses, tanto da forma visceral quanto tegumentar. No território brasileiro, estes vetores adquirem uma

grande variedade de nomes populares sendo conhecidos como birigui, cangalhinha, mosquito-palha, entre outros. Objetivando conhecer a biologia dos insetos e a epidemiologia das leishmanioses, diversas armadilhas luminosas como a CDC, Falcão e Shannon, utilizadas na captura de flebotomíneos, estão disponíveis no mercado. **Objetivos:** Avaliar e comparar a eficiência de uma nova armadilha luminosa (HP). **Material e Métodos:** Capturas sistemáticas foram realizadas durante três dias consecutivos em cada mês (Mai, Jun e Jul), em 9 pontos diferentes no município de Varzelândia, Minas Gerais. Neste estudo utilizamos armadilhas tipo CDC e armadilhas HP pareadas no peridomicílio e distanciadas três metros uma da outra. Resultados: No período deste estudo, as armadilhas CDC capturaram 354 exemplares, enquanto a HP foi capaz de capturar 1251 espécimens. Dentre as espécies coletadas pelos dois tipos de armadilhas foram identificadas: *Lutzomyia cavernicola*, *L. evandroi*, *L. intermedia*, *L. ischnacantha*, *L. lenti*, *L. longipalpis*, *L. renei*, *L. sallesi*, *L. serrana* e *L. trinidadensis*. **Conclusões:** Estes resultados demonstraram que no município de Varzelândia, a armadilha HP foi mais eficiente com relação ao número de espécimens coletados que a tipo CDC, podendo ser recomendada em trabalhos de entomologia devido à sua comprovada eficiência na captura de flebotomíneos.

#### TL VI.10

**ESTUDO DA FAUNA FLEBOTOMÍNICA NO VALE DO RIO DOCE, MUNICÍPIO DE AIMORÉS/MG.** Carlos F. Loiola. Delano A. Silva, Melissa V. Leite. EFOA/CEUFE; UNIFENAS.

**Introdução:** Os parasitos do gênero *Leishmania* são protozoários transmitidos por Dípteros Psychodídeos, da sub-família Phlebotominae. Além de outros fatores, o comportamento dos flebotomíneos determina a ocorrência da endemia, bem como a manutenção do agente etiológico entre os seus reservatórios e a sua transmissão para o homem. Adicionalmente fatores climáticos determinam a diversidade da fauna em diferentes regiões. Aimorés com 25.105 habitantes está situada no vale do rio Doce/MG, na divisa com o Espírito Santo. **Objetivo:** Analisar os resultados de capturas de flebotomíneos realizadas nos períodos de 1997 e 2001. **Material e Métodos:** Em 1997 foram realizadas três campanhas bimestral, em quatro locais. Para as capturas foram utilizadas armadilhas do tipo CDC, com esforço total de captura de 720 horas e armadilha de Shannon com esforço de 24 horas. Em 2001 foram realizadas seis campanhas de capturas, nos mesmos locais, também bimestrais, utilizando-se a mesma metodologia. Entretanto, o esforço de captura em 2001 foi de 1440 horas para as armadilhas tipo CDC e para a armadilha de Shannon esforço foi de 48 horas. **Resultados:** Em 1997 a riqueza foi de cinco espécies e abundância total de 2869 indivíduos. Em 2001 a riqueza foi de três espécies e a abundância de apenas 299 espécimes capturados. Pôde-se perceber uma grande diferença na distribuição dos flebotomíneos, tanto no que diz respeito à riqueza, quanto à abundância. Apesar das diferenças 94,3% dos espécimes capturados, nos dois períodos, foi de *Nyssomyia intermedia*. Os fatores climáticos parecem ser os fatores que influenciaram os resultados.

#### TL VI.11

**ESTUDO DO FEROMÔNIO (ÁCIDO DODECANÓLICO) NA OVIPOSIÇÃO DE *Lutzomyia longipalpis* (DIPTERA, PSYCHODIDAE, PHLEBOTOMINAE) EM LABORATÓRIO. RESULTADOS PRELIMINARES.** Cynthia de Souza Leal(1); Ricardo Andrade Barata(1); Reginaldo Peçanha Brazil(2) & Edelberto Santos Dias(1). 1. Centro de Pesquisas René Rachou/ 2. Instituto Oswaldo Cruz.

**Introdução:** Dípteros da família Psychodidae pertencentes ao gênero *Lutzomyia* possuem grande importância epidemiológica por serem vetores de leishmanioses no Novo Mundo. No Brasil, a transmissão de *Leishmania chagasi*, agente etiológico da Leishmaniose Visceral (LV), se dá através da picada de fêmeas de flebotomíneos da espécie *Lutzomyia longipalpis*. Esta espécie têm sido encontrada desde áreas florestais até dentro e nos arredores de habitações humanas, demonstrando que se encontra em processo de adaptação às modificações provocadas pelo homem. O flebotomíneo ao se aproximar do ambiente humano para buscar abrigo e também fonte de alimentação sanguínea pode veicular o parasita e transmitir a doença. Nos últimos anos, a ocorrência de um grande número de casos notificados de Leishmaniose Visceral em áreas urbanas e a crescente capacidade adaptativa dos flebotomíneos em frequentar ecótopos artificiais, estimularam o estudo da biologia de várias espécies em laboratório. Aspectos básicos sobre a biologia e ecologia de flebotomíneos, nos ajuda a entender como cada espécie interage com seu hábitat e como a transmissão de leishmaniose pode estar ocorrendo em determinada área. No presente estudo, utilizamos um feromônio de oviposição (ácido dodecanólico) para verificar a possível influência na ovipostura de fêmeas de *L. longipalpis*. **Objetivos:** 1- Ampliar as informações sobre a biologia de *L. longipalpis* em laboratório, abordando dados sobre sua criação e seu ciclo evolutivo, 2- Verificar a influência do feromônio de oviposição (ácido dodecanólico) no comportamento reprodutivo da espécie *L. longipalpis*. 3- Verificar o efeito sinérgico do ácido dodecanólico associado ao extrato de fezes bovina. **Material e Métodos:** Foram utilizados *L. longipalpis* da colônia mantida no Laboratório de Leishmanioses do Centro de Pesquisa René Rachou. Para a observação da influência do feromônio, 30 fêmeas de *L. longipalpis* anteriormente alimentadas em hamster, foram divididas em três grupos de 10 e confinadas em potes. Os potes foram

respectivamente identificados como: (0) controle, (1) feromônio e (2) feromônio associado a fezes bovina. Para cada experimento foram realizadas 5 réplicas. **Resultados e discussão:** Como resultados preliminares, a presença do ácido dodecanóico isoladamente não estimulou a postura de fêmeas de *L. longipalpis*. Entretanto, o efeito sinérgico foi observado quando extrato de fezes bovina é adicionado.

Apoio financeiro: FIOCRUZ, CNPq.

#### TL VI.12

**EXPERIÊNCIA DA 13ª REGIONAL DE SAÚDE DE CIANORTE-PARANÁ, NA ATENÇÃO AOS PACIENTES COM LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA, EM 2001.** Meiri Vanderlei Nogueira de Lima, Rosangela Ziggotti de Oliveira, Airton Pereira Lima, Maria Lucia F. Lima, Ueslei Teodoro, Departamento de Medicina e de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá.

**Introdução:** A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), amplamente distribuída no território brasileiro, vem apresentando-se em fase de expansão geográfica. A análise da distribuição espacial da doença no Brasil identificou vinte e seis circuitos de LTA no período de 1998 a 2000. No Paraná, o coeficiente de detecção da doença, é o maior da Região Sul. Na identificação dos circuitos de produção da doença, foram definidas duas áreas no Estado de importância epidemiológica. A 13ª Regional de Saúde faz parte de um desses circuitos, identificando um pólo circunscrito de importância epidemiológica. Dada a magnitude da doença, firmou-se um convênio com a Universidade Estadual de Maringá, para ampliar meios diagnósticos e controle da doença. **Objetivo:** Apresentar a experiência da 13ª RS na atenção ao paciente com LTA em 2001. **Metodologia:** A amostra foi composta de 82 pacientes. Os dados foram coletados das fichas epidemiológicas do Sistema de Informação de Agravos de Notificação, fichas e livro de registros do programa. **Resultados:** Os coeficientes de incidência por 100.000, nos municípios de Jussara, São Tomé, Indianópolis, Cianorte e Japurá foram respectivamente: 551,53, 159,02, 89,93, 61,02, 46,73. Dos pacientes diagnosticados, 94% eram forma cutânea, e 6% mucosa. Predominaram os pacientes do gênero masculino (74%). O local provável de aquisição da infecção foi rural em 85,4% dos casos, urbana em 6,1% e em 8,5% não foi identificado. Em 97,6% o antimonial pentavalente foi a droga de eleição. A taxa de cura na primeira série foi 67,1%, e na segunda foi 26,8%. Drogas de segunda escolha foram utilizadas em 3,7% dos pacientes e 2,4% utilizaram outras drogas. Os pacientes receberam alta segundo critério de cura. 97,6% dos pacientes realizaram pelo menos 1 exame diagnóstico auxiliar. Intradermorreação, 97,4% apresentaram positividade; IFI, 83,7% de positividade e na Pesquisa direta, a positividade foi 64%, o acesso aos meios diagnósticos, contribuiu para o controle da doença.

#### TL VI.13

**FAUNA DE FLEBOTOMÍNEOS EM MUNICÍPIOS DO NORTE DO ESTADO DO PARANÁ, SUL DO BRASIL.** Wuelton Marcelo Monteiro, Herintha Coeto Neitzke, Demilson R. dos Santos#, Otílio de Oliveira#, Luis P. Poiani#, João B. Kühl, Maria V. C. Lonardoní, Ueslei Teodoro. Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR. #Fundação Nacional de Saúde, Maringá, PR.

**Introdução:** No Brasil, a leishmaniose tegumentar (LT) tem vasta distribuição, abrangendo todos os Estados, acometendo pessoas de todas as idades e de ambos os sexos. No Estado do Paraná a LT é endêmica e vem ocorrendo em diversos municípios. **Objetivo:** O objetivo dessa investigação foi coletar e identificar flebotomíneos em diversos municípios do norte do Estado do Paraná, tendo em vista a diversidade da fauna e o comportamento destes insetos em ambientes domiciliar e peridomiciliar, visando medidas para o seu controle. **Materiais e Métodos:** O trabalho foi realizado em propriedades rurais de municípios das 15ª e 16ª Regionais de Saúde (Maringá e Apucarana, respectivamente) nas quais a paisagem ambiental continua favorável à transmissão de Leishmania. Nas localidades da 15ª Regional as coletas de flebotomíneos foram feitas com armadilhas de Falcão, enquanto nas da 16ª Regional as coletas foram realizadas com armadilhas de Shannon. **Resultados:** O total de flebotomíneos coletados em municípios da 15ª Regional foi 11.966 exemplares, obtendo-se média horária (MH) de 2.994,5. Nos municípios de Marialva e Mandaguari foram coletados 40,8% e 29,1%, respectivamente, dos flebotomíneos. Na 16ª Regional foram coletados 2.684 flebotomíneos, (MH de 354,0). Nos municípios de Londrina e de Bom Sucesso foram coletados 50,3% e 30,4%, respectivamente do total de insetos. Verificou-se a tendência de maior concentração de flebotomíneos nas matas, residências próximas a abrigos de animais, pocilgas e galinheiros. Estes dados mostram que os animais domésticos exercem uma forte atração sobre os flebotomíneos, sugerindo que esses animais podem servir como barreiras zooprofiláticas, impedindo o contato do homem com os vetores e que *Lutzomyia whitmani* e *Lutzomyia neivai* têm grande importância na epidemiologia da LT, predominando nas áreas estudadas.

#### TL VI.14

**FLEBOTOMÍNEOS CAPTURADOS NO BREJO DO MUTAMBAL (MUNICÍPIO DE VARZELÂNDIA, MG), ÁREA ENDÊMICA DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA.** Edelberto Santos Dias(1); João Carlos França-Silva(2); Roberto Teodoro da Costa(2); Wilson Mayrink(2); Evaldo Nascimento(2); Jaime Costa da Silva(3); Edvã Vieira de Paula(3); George Luiz Lins Machado-Coelho(4); Aluizio Prata(5); Caroline Macedo Gonçalves(1); Daniela Camargos Costa(1); Érika Michalsky Monteiro(1) & Ricardo Andrade Barata(1) 1.Centro de Pesquisas René Rachou/ 2.Universidade Federal de Minas Gerais/ 3.Fundação Nacional de Saúde/ 4.Universidade Federal de Ouro Preto/ 5.Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro.

**Introdução.** No estado de Minas Gerais, o número de casos humanos de Leishmaniose Tegumentar tem aumentado significativamente nos últimos anos. O município de Varzelândia, localizado ao norte do estado, apresentou 303 novos casos da doença no ano de 2000, sendo que 25 deles foram registrados na localidade de Brejo do Mutambal. **Objetivos.** Conhecer as condições epidemiológicas que envolvem a transmissão de leishmaniose neste município, principalmente com relação aos insetos vetores. **Material e Métodos.** Capturas sistemáticas foram realizadas durante quatro dias consecutivos em cada mês, com armadilhas do tipo CDC, pareadas no intra e peridomicílio (18 armadilhas) durante o período de Janeiro a Dezembro de 2000. Resultados. Foram capturadas 19 espécies de flebotomíneos, totalizando 6756 exemplares (3894 machos e 2862 fêmeas) distribuídos da seguinte forma: *Brumptomyia avellari* (0,03%), *Lutzomyia capixaba* (0,06%), *L. cavernicola* (5,14%), *L. evandroi* (0,40%), *L. intermedia* (5,08%), *L. ischnacantha* (4,10%), *L. lenti* (2,10%), *L. longipalpis* (34,80%), *L. migonei* (0,42%), *L. minasensis* (0,42%), *L. peresi* (1,00%), *L. quinquefer* (2,63%), *L. renei* (34,37%), *L. sallesi* (1,67%), *L. serrana* (0,04%), *L. shannoni* (0,08%), *L. sordellii* (0,03%), *L. trinidadensis* (0,10%), *L. whitmani* (0,06%) e *Lutzomyia sp.* (7,37%). **Conclusões.** Os dados obtidos demonstraram uma fauna bastante diversificada, com 19 espécies identificadas (1 do gênero *Brumptomyia* e 18 do gênero *Lutzomyia*). *L. longipalpis* foi a espécie predominante durante todo o período de estudo, demonstrando um risco de transmissão do calazar. *L. intermedia* (5,08%), *L. migonei* (0,42%) e *L. whitmani* (0,06%), vetores relacionados com a transmissão de leishmaniose tegumentar foram capturados em baixo número.

#### TL VI.15

**INCORPORAÇÃO DO PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA (PSF) NO SISTEMA DE VIGILÂNCIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL (LV) NO ESTADO DE TOCANTINS: PROPOSTA METODOLÓGICA.** Zilma Dourado Sousa, Myrlena Mescouto Borges, Maria Gerusa dos Santos, Regina Onofre, Luis Pereira, Adilair Peixoto, Karine Grauser, Fátima Abrão, Marco Tulio García-Zapata; Joanna Herzog-Soares & Ana Castro. SES – TO; SVS - TO; PSFs -TO; LACEN-TO, Palmas - TO & IPTSP / UFG, Goiânia – GO.

**Introdução:** No Brasil os focos endêmicos do Calazar se encontram em 19 UFs, principalmente na região nordeste. Nas duas últimas décadas têm havido um crescente aumento da incidência em diversas UFs. No Tocantins, atualmente a doença assume caráter endêmico com registros de surtos frequentes. Seu comportamento é cíclico e se concentra na região central do estado, com pontos isolados nas demais regiões. O PSF foi criado em 1994, como estratégia de reorganização da atenção básica, visando promover uma democratização do processo saúde/doença – sistema/população, e estimulando a comunidade a perceber a saúde como um direito de cidadania. Nesta proposta o PSF será incorporado no sistema como uma forma de viabilizar e otimizar a execução de programas de vigilância de doenças endêmicas, sendo a LV um modelo. **Objetivos:** Avaliar o custo-efetividade do PSF incorporado no sistema de vigilância da LV no estado de Tocantins, utilizando um teste para diagnóstico rápido da LV (“Opti-Leish IT”®). **Materiais e métodos:** Serão estudados no total 450 indivíduos: 300 residentes e procedentes de municípios endêmicos do Estado de Tocantins: Palmas, Paraíso de Tocantins e Porto Nacional, subdivididos em duas populações: “infectados-doentes”, e “infectados-assintomáticos”; e 150 residentes e procedentes de um município considerado não endêmico no Estado de Goiás – Goiânia, considerados como “não-infectados-não expostos”. O “padrão-ouro” será a detecção do parasito, através de técnicas recomendadas pelo programa nacional, casos duvidosos ou aqueles que a equipe pesquisadora considere pertinentes serão analisados por técnicas mais aprimoradas. Em todos esses grupos as equipes PSF terão participação importante. **Comentários:** Testes de diagnóstico rápido, eficientes e viáveis para áreas endêmicas de LV, otimizarão os programas nacionais de diagnóstico e controle desta doença, se aliados a estratégias inovadoras de atenção básica em saúde (PSF), e a programas de educação sanitária e participação comunitária.

#### TL VI.16

**ISOLAMENTO, IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DE PARASITOS DO GÊNERO *Leishmania* EM UBERLÂNDIA – MG.** Adriano Gomes-Silva; Sandra Regina Afonso-Cardoso; Alejandro Belli; Sílvio Favoreto Junior; Maria Aparecida de Souza; Marcelo Simão Ferreira. Laboratório de Imunologia – Universidade Federal de Uberlândia - Uberlândia-MG.

**Introdução:** O crescente número de casos humanos de leishmanioses nos últimos anos tem alarmado os setores responsáveis pela vigilância epidemiológica desta endemia. O isolamento e identificação dos parasitos responsáveis pela infecção são de

grande importância para melhor compreender a epidemiologia do parasito e dessa forma contribuir para o delineamento de estratégias de controle, prevenção e tratamento da doença. **Objetivo:** Identificar por PCR, isolados de lesões cutâneas de pacientes com manifestações clínicas compatíveis com leishmaniose tegumentar. **Material e Métodos:** Três pacientes atendidos no HC-UFU apresentando lesões cutâneas foram biopsiados e os fragmentos macerados inoculados em meio de cultura BHI e coxim plantar de hamsters. As amostras foram analisadas por PCR-Wirth para definição do gênero e PCR-Multiplex para definição de subgênero. **Resultados:** Formas promastigotas foram isoladas das três amostras após sete dias de cultivo. Apenas um dos isolados desenvolveu lesão cutânea em hamster. A análise dos produtos de PCR das três amostras demonstrou que os parasitos isolados dos três casos pertencem ao gênero *Leishmania* e subgênero *Viannia*. **Conclusão:** Os resultados obtidos indicam fortemente que parasitos pertencentes ao subgênero *Viannia* são os principais causadores de leishmaniose tegumentar na região de Uberlândia-MG. No entanto, maiores investigações serão necessárias para se confirmar a identificação da espécie em questão. Apoio: UFU, SSI.

#### TL VI.17

**LEISHMANIOSE CUTÂNEA CANINA EM UMA ÁREA RURAL DO MUNICÍPIO DE CONCHAL, ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL.** Vera Lúcia C.C. Rodrigues<sup>1</sup>, Júlio Cesar A. Galdino<sup>2</sup>, Fabiana Zacharias<sup>1</sup>, Vera L.B. Tonietti<sup>1</sup>, Elisa S.M.M. Savani<sup>3</sup> e Sandra R.N. D'Auria<sup>3</sup>. <sup>1</sup>Superintendência de Controle de Endemias – SUCEN – Secretaria do Estado da Saúde; <sup>2</sup>Prefeitura do Município de Conchal; <sup>3</sup>Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura do Município de São Paulo.

**Introdução:** O município de Conchal, pertencente a Regional (05) – Campinas – SUCEN notificou a ocorrência de um surto (21 casos) de Leishmaniose Tegumentar Americana de junho a novembro de 2002. **Material e Métodos:** A partir de um dos casos notificados em que o paciente do sexo masculino (A.M.) de 56 anos com lesão ativa e que por motivo de saúde permanecia constantemente na cama, supomos que a transmissão poderia ter ocorrido no intradomicílio. Coleta de material de raspado da lesão do paciente foi realizada e confeccionada lâminas coradas pelo método Giemsa e inoculação em animais de laboratório (hamster) a fim de isolamento do protozoário. Com o objetivo de avaliar se estaria ocorrendo transmissão no domicílio e no peridomicílio realizou-se exame clínico e coleta de sangue em papel de filtro dos cães para pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania* pela reação de imunofluorescência indireta. **Resultado:** Na área em estudo, Sítio São José, foram visitadas as casas (5) vizinhas ao caso. As amostras de sangue de todos os cães (10) pertencentes a estas residências resultaram não reagentes. Na avaliação clínica também não foi encontrado nenhum sinal de infecção ativa ou cicatriz de lesão. As lâminas coradas do raspado da lesão do caso humano exibiram formas amastigotas de *Leishmania* sp e a inoculação em hamster mostrou-se positiva após 2 meses do inóculo. **Conclusões:** Acredita-se que o caso humano esteja relacionado ao efeito marginal, com formação do ecótono, favorecendo a adaptação do flebotomíneo ao domicílio e peridomicílio. A presença de animais silvestres (gambás, ratos etc.) foi relatada pelos moradores. Estudos serão realizados visando elucidar o papel dos diversos animais na transmissão nesta região.

#### TL VI.18

**LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO DISTRITO FEDERAL – BRASIL.** Tomaz de Aquino Vasco da Silva, Felipe Palácio John, Tércio Rodrigues, Raimunda Nonata Ribeiro Sampaio.

**Introdução:** A LTA é causada por protozoários do gênero *Leishmania*. Acomete a pele e pode lesar as mucosas. É transmitida por flebotomos dos gêneros *Lutzomyia* e *Psychopygus*. Há 2 tipos de transmissão: florestal e periurbana. **Objetivos:** Estudar flebotomos, pacientes e população do DF, quanto à infecção. **Pacientes e métodos:** Foram incluídos pacientes atendidos no Hospital Universitário de Brasília, entre 1996 e /07/2003, que não saíram do DF, pelo menos, nos 6 meses antes do início da doença. O diagnóstico foi confirmado pela positividade de 2 exames específicos, história clínica e epidemiológica e exame dermatológico e otorrinolaringológico. Foram incluídas pessoas que moravam com o paciente ou até 1000m de sua residência. Nestes, realizou-se, com consentimento, intradermoreação de Montenegro (IDRM) e coleta de sangue para imunofluorescência indireta (IFI). Foram realizadas capturas de flebotomos com armadilhas CDC e Shannon nas proximidades dos locais de contágio dos pacientes. **Resultados:** Confirmaram-se, 20 casos de LTA com procedência do DF (7 neste último ano), sendo 3 em áreas urbanas e 17 em áreas rurais. Estudamos 66 pessoas moradoras da própria residência ou vizinhas dos pacientes. Destas, 57,81% tiveram IDRM+ (e"5x5mm). Das 36 pessoas que realizaram IFI, 25% foram positivas (e"1:40). Todos os que foram positivos para IFI o foram também para IDRM. Foram capturados 229 flebotomos, sendo todos identificados como *Lutzomyia whitmani*. São Sebastião foi a Região do DF onde foi capturado o maior número de mosquitos (222 espécimes). Na dissecação não foi encontrado nenhum mosquito infectado. **Conclusões:** Até há alguns anos não havia notificações de casos de LTA provenientes do DF. O índice elevado de positividade de IDRM e de IFI na população vizinha dos casos de LTA sugere um tipo de transmissão local. É possível que a área próxima ao rio São Bartolomeu, na região administrativa de São Sebastião, pelo grande número de flebotomos capturados e identificados, seja uma área de transmissão. Acreditamos que possa estar havendo um surto de LTA no DF neste ano de 2003.

#### TL VI.19

**LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NOS MUNICÍPIOS DE ALTO CAPARAÓ E CAPARAÓ / MG- ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO**. Juliana dos Santos Lopes; Lara Saraiva; José Dilermando Andrade Filho; Alda Lima Falcão; Francisco de Assis Batista; Gisele Brandão Machado de Oliveira. Graduandas do Instituto de Ciências Biológicas/UFMG; Centro de Pesquisas René Rachou / FIOCRUZ.; Colégio Técnico da Universidade Federal de Minas Gerais.

**Introdução:** Durante a 2ª conferência Municipal de Saúde de Alto Caparaó, em Setembro de 1999, surgiu a demanda do estudo da Leishmaniose Tegumentar nos municípios de Alto Caparaó e Caparaó / MG, onde dados oficiais sobre a doença foram reforçados por relatos informais feitos pela população local. **Objetivos:** Desenvolver junto às comunidades de Alto Caparaó e Caparaó-MG um estudo epidemiológico da LTA, afim de esclarecer a dinâmica da transmissão da doença e visando contribuir para a implementação de programas efetivos de atenção, prevenção e controle da leishmaniose na região. **Materiais e Métodos:** O estudo epidemiológico constou de: estudo sazonal da fauna flebotômica, inquérito sorológico humano e canino. Baseados em pesquisas piloto demarcamos os espaços e o tamanho amostral. As áreas geográficas das zonas rural e urbana foram divididas em 09 micro regiões e estas foram o nosso objeto de estudo por três anos consecutivos. A investigação dos vetores, se fez através da exposição quinzenal, por um ano consecutivo, de Armadilhas Luminosas de Falcão (Falcão 1981), em quatro pontos distintos: abrigo de animais, mata, cafezal e parede externa das casas, e um ponto no Parque Nacional de Caparaó. Os flebotomos foram identificados segundo a classificação de Young & Duncan, 1994. Para o inquérito humano utilizamos entrevistas semi-estruturadas com 131 famílias e realizamos 299 testes de Montenegro, seguindo os critérios do Comitê de Ética da UFMG. Nas casas que aleatoriamente caíram na nossa amostra coletamos sangue de todos os cães assim, realizamos 118 reações de imunofluorescência indireta em cães, **Resultados:** Foram coletados 1731 flebotomos de 19 espécies distintas, sendo que 83% do total coletado correspondem a *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *intermedia*. Os meses de maior captura de insetos foram dezembro, março e abril, com um pico no mês de setembro. O abrigo de animais foi o ambiente de maior captura de flebotomos. No inquérito humano dos 299 testes realizados 134 (44,8%) foram positivos, no inquérito canino das 118 reações realizadas duas (1,7%) foram positivas e os cruzamentos estatísticos não demonstraram correlações significativas entre a presença de cães e pessoas com resultado de Montenegro positivo. Apoio: Fundação W.K. Kellogg; Prefeituras Municipais de Alto Caparaó e Caparaó.

#### TL VI.20

**LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA: SURTO DOMICILIAR ACOMETENDO GATOS, CÃES E UM SER HUMANO NO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO.** Tânia Maria Pacheco Schubach<sup>1</sup>, Isabele Barbieri dos Santos<sup>1,2</sup>, Fabiano Borges Figueiredo<sup>1</sup>, Sandro Antônio Pereira<sup>1</sup>, Thais Okamoto<sup>1,3</sup>, Luiz Rodrigo Paes Leme<sup>1,2</sup>, Maria de Fátima Madeira<sup>1</sup>, Tullia Cuzzi<sup>1</sup>, Moacir Vieira de Andrade<sup>4</sup>, Armando Schubach<sup>1</sup> <sup>1</sup>Centro de Referência Nacional em LTA, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil; <sup>2</sup>Bolsista do Programa Integrado de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) - CNPq/Fiocruz; <sup>3</sup>Bolsista de Apoio Técnico - CNPq; <sup>4</sup>Programa de Controle de Leishmanioses, Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Introdução:** No Estado do Rio de Janeiro, a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é causada pela *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* e acomete seres humanos, cães e eqüinos. As leishmanioses em felinos são raramente relatadas. **Objetivo:** Descrever um surto domiciliar incomum de LTA. **Material e Métodos:** Foram examinados gatos, cães e seres humanos residentes no mesmo domicílio, localizado em área endêmica na periferia do Município do Rio de Janeiro. Aqueles que apresentavam lesões cutâneas sugestivas de LTA foram submetidos a biópsia da lesão para exame histopatológico e cultura de *Leishmania*. As formas promastigotas isoladas foram caracterizadas por eletroforese de isoenzimas. O perfil de cada isolado foi comparado com as cepas de referência: *L. (V.) braziliensis* MHOM/BR/1975/M2903, *L. (L.) chagasi* MHOM/BR/1974/PP75 and *L. (L.) amazonensis* IFLA/BR/1967/PH8. **Resultados:** Foram diagnosticados 7 casos autóctones de LTA: 2 gatos, 4 cães e um ser humano. Todos apresentavam bom estado geral, com lesões cutâneas ulceradas únicas ou múltiplas. Raras formas amastigotas foram visualizadas no cortes histológicos corados pelo H&E de um gato, um cão e do paciente humano. Formas promastigotas isoladas dos 2 gatos e 4 cães foram identificadas como *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis*. **Conclusão:** O encontro dois gatos infectados pela *L. (V.) braziliensis* em um surto domiciliar aponta a necessidade de estudos adicionais para o conhecimento da LTA em felinos e suas possíveis implicações epidemiológicas.

#### TL VI.21

**LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA (LVA) EM NATAL, RN, BRASIL. DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DOS CASOS HUMANOS POR DISTRITOS SANITÁRIOS E LOCALIDADES (SISLOC). 1998- 2001.** Leopoldina Maria de Melo Batista, Francisco Canindé Carlota, Alexandre de Medeiros Tavares - Programa de Controle da Leishmaniose Visceral - Centro de Controle de Zoonoses - Natal/RN.

**Introdução/Objetivos:** A elaboração de estratégias de controle focalizadas, diferenciadas e racionais da LVA, tem na descrição precisa da ocorrência da doença na população, um dos primeiros passos. Para tanto foi realizada a distribuição dos casos

autóctones e sintomáticos ocorridos no município de Natal, no período de 1998-2001, por Distritos Sanitários e Localidades (SISLOC), avaliando alguns indicadores sobre essa distribuição. **Material/Método:** A partir de visitas quinzenais aos serviços de epidemiologia dos hospitais de referência para tratamento da LVA foram recolhidos dados sobre os casos humanos notificados, os quais foram investigados (Ficha SINAN) em seus locais de residência. Todos os casos autóctones e sintomáticos foram distribuídos ano a ano por Distritos e Localidades, utilizando-se seis categorias para o número de casos: sem ocorrência, 1-2, 3-4, 5-6, 7-8 e 9-10. Os indicadores avaliados ano a ano foram: nº de casos em Natal e Distritos, nº de Localidades com presença de casos e nº de Localidades por categoria. **Resultados:** O número de casos em Natal foi de 19 (1998), 47 (1999), 33 (2000) e 23 (2001) sendo a contribuição dos Distritos: Norte: 12 (63,15%), 36 (76,59%), 26 (78,78%) e 18 (78,26%); Oeste: 05 (26,31%), 07 (14,89%), 06 (18,18%) e 05 (21,73%); Sul: 02 (10,52%), 04 (8,51%), 01 (3,03%) e 0 (0%) e Leste sem ocorrência de casos, respectivamente para os anos de 1998 a 2001. O número de Localidades encontradas com presença de caso humano por Distrito no período foi Norte (7 - 15 - 13 - 8), Oeste (4 - 5 - 3 - 3) e Sul (2 - 4 - 1 - 0). A categoria 1-2 casos evidenciou o maior número de localidades em todos os distritos e anos, sendo que apenas o Distrito Norte teve presença de localidades com mais de 05 casos/ano. **Conclusão:** Embora seja importante a distribuição dos casos e delimitação de áreas focais de transmissão humana, as flutuações observadas ao longo dos anos nas diferentes localidades, necessitam ser estudadas associando-se: as ações desenvolvidas relacionadas ao controle do vetor e do reservatório canino, condições sócio-econômico-ambientais, dinâmica populacional e ao critério de unidade espacial escolhido.

#### TL VI.22

##### **LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NA ILHA GRANDE, ANGRA DOS REIS (RJ) - RELATO DE CASO AUTÓCTONE.**

Sandro Antonio Pereira<sup>1</sup>; Tânia Maria Pacheco Schubach<sup>1</sup>; Natasha Ulmer de Magalhães Barros<sup>1</sup>; Fabiano Borges Figueiredo<sup>1</sup>; Isabele Barbieri dos Santos<sup>1,2</sup>; Luiz Rodrigo Paes Leme<sup>1,2</sup>; Thais Okamoto<sup>1,3</sup>; Maria de Fátima Madeira<sup>1</sup>; Daniela Jordão Lopes<sup>4</sup>; Armando Schubach<sup>1</sup> <sup>1</sup>Centro de Referência Nacional em LTA, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) - Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil; <sup>2</sup>Bolsista do Programa Integrado de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) - CNPq/Fiocruz; <sup>3</sup>Bolsista de Apoio Técnico - CNPq; <sup>4</sup>Secretaria Municipal de Saúde de Angra dos Reis, RJ, Brasil

**Introdução:** A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é endêmica no Rio de Janeiro. As principais áreas de LVC na capital estão situadas na face do maciço da Pedra Branca. A ocorrência de casos de LVC no litoral sul do estado e no litoral paulista indica a necessidade da monitorização nas áreas consideradas indenes. **Objetivo:** Relatar um caso de LVC autóctone da Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ. **Metodologia:** Um canino proveniente de Vila do Abraão, Ilha Grande, foi encaminhado ao Serviço de Zoonoses do IPEC, pela Secretaria Municipal de Saúde de Angra dos Reis. O cão foi submetido a exame clínico, aspirado de medula óssea e de linfonodo, sendo posteriormente eutanasiado e necropsiado, obtendo-se fragmentos de baço, fígado, linfonodo e pele, que foram submetidos ao exame histopatológico e semeados em meio NNN enriquecido. A técnica de isoenzimas foi utilizada para identificação dos isolados. **Resultados:** O cão apresentava péssimo estado geral, caquexia, 38,5°C de temperatura, mucosas hipocoradas, desidratação, atrofia muscular e presença de pulgas. Observou-se linfadenomegalia generalizada; epistaxe; úlceras no focinho e interior das fossas nasais; ceratoconjuntivite bilateral; onicogribose; descamação furfurácea generalizada; alopecia e eritema generalizado. Os cortes histológicos de baço e pele corados pelo H&E evidenciaram formas amastigotas. Houve o isolamento em cultura de formas promastigotas nas amostras de pele, baço, fígado, linfonodo e medula óssea, cujo padrão eletroforético foi compatível com *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **Conclusões:** A ocorrência de um caso autóctone de LVC na Ilha Grande indica a necessidade de estudos epidemiológicos na região.

#### TL VI.23

**LEVANTAMENTO SOROLÓGICO DE LEISHMANIOSE VISCERAL EM CÃES DE RUA DO MUNICÍPIO DE DIVINÓPOLIS – MINAS GERAIS.** Rafael Gonçalves Teixeira Neto; Tatiana Carolina de Oliveira; Célia M. F. Gontijo<sup>1</sup> & Eduardo Sérgio da Silva. Universidade do Estado de Minas Gerais - Fundação Educacional de Divinópolis. <sup>1</sup>Laboratório de Leishmanioses Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ.

**Introdução e objetivos:** A leishmaniose visceral, uma zoonose primariamente rural, tem se tornado uma doença urbana em vários estados brasileiros. No processo de urbanização a presença de cães infectados provenientes de áreas endêmicas contribui para o aparecimento dos novos focos. Tendo em vista o aumento no número de casos notificados no estado de Minas Gerais e particularmente em vários municípios da Região Metropolitana de Belo Horizonte consideramos o estudo da prevalência da infecção canina de grande importância para a implementação das medidas de controle. Em função da proximidade geográfica entre Belo Horizonte e Divinópolis (aproximadamente 100 Km) está sendo realizado um levantamento sorológico nos cães deste município. **Metodologia:** Aplicação de inquérito clínico/epidemiológico em cães vadios e da Sociedade Protetora dos Animais de Divinópolis (SPAD). Coleta de sangue em tubos vacutainer com anticoagulante (EDTA) e em papel de filtro para realização do diagnóstico sorológico, utilizando o teste de imunofluorescência indireta através do kit para diagnóstico da leishmaniose visceral canina da Fundação Oswaldo Cruz (Biomanguinhos). Em todos os cães com sorologia positiva será realizada punção de medula óssea e/ou biópsia de lesão, para tentativa de isolamento do parasita. **Resultados e conclusões:**

Até o momento foram estudados 82 cães, destes 5 apresentaram sorologia positiva com titulação variando de 1:40 a 1:80. Dos animais soropositivos apenas 1 apresentou sintomas clínicos do calazar canino como emagrecimento, onicogrifose (crescimento anormal das unhas) e apatia. O encontro de 5 cães com sorologia positiva, um deles apresentando sintomatologia, merece atenção. A continuidade da pesquisa com o aumento do número de cães amostrados e a comprovação parasitológica do diagnóstico são imperativas para que se possa alertar os serviços de saúde quanto a introdução da LV no município.

Financiamento: PIBIC/UEMG, FUNEDI.

#### TL VI.24

**OCORRÊNCIA DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR EM CÃES DURANTE UM SURTO EM MARILUZ, PARANÁ.** Leonardo G. Velasquez<sup>1</sup>, Paulo D. Zanzarini<sup>2</sup>, Thaís G. V. Silveira<sup>2</sup>; Maria Valdrinez. C. Lonardon<sup>2</sup> Waneska Alves<sup>2</sup>; Ana Nilce Maia<sup>2</sup>; Umberto Membrive<sup>3</sup>; Norberto Membrive<sup>3</sup>, Gesse Rodrigues<sup>3</sup>; Nélio Reis<sup>4</sup>; Cleófas Zelli<sup>4</sup>; Alceu Bisetto Jr.<sup>4</sup>; Walter Baiz<sup>4</sup>. <sup>1</sup>Universidade Paranaense, Umuaram-Pr (UNIPAR) <sup>2</sup>Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Pr. <sup>3</sup>Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), <sup>4</sup>Secretaria de Saúde do Estado do Paraná (SESA).

**Introdução:** No Brasil a leishmaniose tegumentar (LT) é uma doença amplamente distribuída, cujo ciclo de transmissão parece estar adaptado a ambientes domésticos. A participação de cães domésticos na manutenção do ciclo da LT é questionada em muitas situações, uma vez que nas regiões norte/noroeste do Estado do Paraná a presença de animais infectados tem sido verificada, muitas vezes em localidades onde também ocorrem casos humanos. **Objetivo:** Estudar a ocorrência da leishmaniose canina durante um surto da doença, ocorrido em 2002, num assentamento rural no município de Mariluz, Estado do Paraná (Abrasco, 2003). **Materiais e métodos:** Nesta localidade, no mês de maio de 2003, foram investigados sorologicamente 150 cães, através da reação de imunofluorescência indireta (IFI) e pesquisa do parasita na lesão por microscopia direta. Dentre estes animais foi possível identificar 20, nos quais anteriormente (junho e julho de 2002) havia sido realizada a reação de IFI. **Resultados:** Dentre os 150 cães incluídos neste estudo 111 apresentaram a IFI com título menor ou igual 20, no entanto sete apresentaram microscopia positiva; os demais 39 apresentaram títulos de 40 ou mais pela IFI, sendo 14 com microscopia positiva. Entre todos os animais foi possível investigar a evolução sorológica de 20 cães, comparando os resultados com dados obtidos em cerca de um ano antes. Observou-se que para quatro destes 20 cães houve um aumento significativo dos títulos da IFI (dois ou mais títulos), enquanto para três animais houve queda dos títulos. Observou-se também que entre eles dois animais apresentaram microscopia positiva, sendo um deles entre os que apresentaram queda dos títulos da IFI e outro entre os que revelaram aumento dos títulos. Estes resultados mostram a necessidade de estudos para esclarecer o papel dos cães na manutenção do ciclo da LT.

#### TL VI.25

**OCORRÊNCIA FAMILIAR DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NOS MUNICÍPIOS DE SILVEIRAS E SÃO JOSÉ DO BARREIRO, VALE DO PARAÍBA, ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL.** Vera Lúcia C. C. Rodrigues e Maria Lúcia F. Condino – Superintendência de Controle de Endemias – Secretaria do Estado da Saúde.

**Introdução** – A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) tem se mostrado em franca expansão, tanto pelo aumento do número de casos como pela distribuição geográfica. Casos autóctones tem sido registrado na Região do Vale do Paraíba. **Material e Métodos** – Os municípios de Silveiras e São José do Barreiro pertencem ao Serviço Regional – 03 – Taubaté de SUCEN. Um surto de LTA ocorreu no período de novembro de 2002 a março de 2003 e 9 indivíduos apresentaram lesões cutâneas semelhantes ao da LTA. Observamos que 3 famílias (6 pessoas), foram acometidas pela doença, fato que nos chamou a atenção. O diagnóstico foi feito através: parasitológico direto, Intradermoreação de Montenegro, histopatologia e em 4 casos foi realizado inoculação em animais de laboratório com o intuito de confirmar o diagnóstico e isolamento da leishmânia para estudos de caracterização. **Resultado** - O exame dos raspados em lâminas coradas resultou positivo em 40% dos casos, a histologia em 50% e a inoculação dos 4 casos resultou em 100% de positividade. As *Leishmânias* sp isoladas estão sendo mantidas para caracterização através de técnicas moleculares. A doença acometeu 70% de indivíduos adultos. No que diz respeito à localização das lesões houve predomínio da parte superior do corpo (braços e cabeça). A terapêutica utilizada em todos os pacientes foi o antimonial pentavalente. Em um dos casos foi observado cura espontânea. **Conclusões** – A exposição familiar pode ter ocorrido devido ao fato das residências localizarem-se próximas à mata, visto que 33,0% dos pacientes foram crianças e vários membros da mesma família estavam infectados. Isto sugere que a transmissão tenha ocorrido no domicílio ou no peridomicílio. A observação do fato relatado conduz à necessidade de investigação epidemiológica ampla, assim como a investigação de insetos vetores e os possíveis reservatórios domésticos e silvestres bem como implementar ações precoces e eficazes para impedir o avanço da doença na região.

## TL VI.26

**OUTBREAK OF CUTANEOUS LEISHMANIASIS IN PARANÁ STATE, BRAZIL.** Waneska Alves<sup>1</sup> Ana N. Maia<sup>1</sup>; Walter Ramalho<sup>1</sup>; Margarita Urdaneta<sup>1</sup>; D. Hatch<sup>1</sup>; Gustavo Romero<sup>2</sup>; Maria Valdrinez C. Lonardon<sup>3</sup>; Umberto Membrive<sup>4</sup>; Gesse Rodrigues<sup>4</sup>; Nélio Reis<sup>4</sup>; Cleófaz Zelli<sup>4</sup>; Walter Baiz<sup>4</sup>; Domingos Quadra<sup>5</sup>. 1.Centro Nacional Epidemiologia-CENEPI/FUNASA; 2.Universidade Brasília; 3. Universidade Estadual de Maringá-UEM; 4.Secretaria Saúde-PR; 5.MST-Pr.

**Introduction:** Cutaneous leishmaniasis (CL) is one of the most important zoonoses worldwide. In Brazil, approximately 35 thousand persons are reported annually with CL. After 70 persons with CL were reported from a non-endemic area in rural Paraná State, Brazil, an investigation was conducted to determine possible risk factors for infection, and to strengthen prevention and control measures. **Methods:** Medical records were reviewed to identify persons diagnosed with suspected CL, and to identify cutaneous lesions compatible with CL. Interviews with families were conducted, and the proximity of households to forested areas was estimated using a geographic positioning system (GPS). Suspected human cases were considered confirmed if any of the following laboratory results were positive: Montenegro test, identification of amastigotes Wright-Giemsa stain and/or histological examination, or serum reactive by indirect immunofluorescent (IF) test; sera from dogs was tested using IF. Relative risk (RRs), 95% confidence intervals and p values were calculated. **Results:** Twenty (3%) of 706 persons residing in 201 households had confirmed CL: Montenegro test was positive in 90%, direct slide examination in 75%, and clinic-epidemiological criteria in 10%. Twenty-four (7%) of 336 dogs had confirmed CL; 83% were confirmed using IF. Risk factors in humans included: residence <500 meters from forest perimeters (RR=4.0; 95%CI=1.6-10.1), a pigsty <500 meters from the household (RR=6.5; 95%CI=1.5-9.6), walls/roofs of residences constructed with coconut palm leaves (RR=10.8; 95%CI=2.5-46.2); or the presence of the following animals in areas adjacent to residences: horses (RR=4.1; 95%CI=1.2-13.7), cattle (RR=2.9; 95%CI=1.1-7.3), or dogs with CL lesions (RR=7.7; 95%CI=3.3-17.9). *L. (V). braziliensis* was identified as the causative agent, and vector species identified included: *Lutzomyia intermedia*, *Lu. whitmani* and *Lu. migonei*. An exploratory spatial analysis also demonstrated clustering of human and dog CL near forested areas. These results suggest that CL was more common in humans and dogs living in close proximity to native forests. Clinicians and residents were informed about the risk(s) of insect vectors, and measures to minimize vector and dogs.

## TL VI.27

**PERFIL DA LEISHMANIOSE VISCERAL (LV) NO ESTADO DE TOCANTINS COMO UMA DOENÇA EMERGENTE.** Myrlena Mescouto Borges, Karine Grauser, Joaquim de Almeida Netto & Marco Tulio García-Zapata. SVS – TO; SES-TO, Palmas - TO & IPTSP / UFG, Goiânia – GO.

**Introdução:** O foco endêmico da LV encontra-se em 19 UFs no Brasil. Nas duas últimas décadas têm havido um crescente aumento da incidência. No Tocantins, o clima é tropical quente, pouco úmido, com um período de aproximadamente 5 meses sem chuva e 3 meses com chuvas abundantes. Fundado em 1988, com uma superfície geográfica de 278.420 Km<sup>2</sup>, 139 municípios e população estimada em 1.207.014 habitantes. **Objetivos:** Avaliar o comportamento da LV no estado de Tocantins no último quinquênio, com ênfase nos aspectos relacionados com a dinâmica vetorial, e nas considerações clínicas diagnósticas e terapêuticas. **Materiais e métodos:** Os dados foram obtidos através de pesquisa documental do SINAN -Ficha de investigação/Leishmaniose Visceral –CENEPI02.13; SIH/SUS e SIA/SUS. O mapeamento das áreas de risco foi realizado pela gerência de LV no estado; e a investigação da densidade vetorial, pela CORTO-FUNASA. **Resultados:** Os dados revelam que a LV encontra-se localizada na região central, principalmente nos municípios de Paraíso do Tocantins, Palmas e Porto Nacional, responsáveis por 77% dos casos notificados (2003), com pontos isolados nas demais regiões, como Gurupi e Tocantinópolis. A incidência da doença mostrou-se maior na zona urbana. A faixa etária mais acometida foi a de < 9 anos (0-4 anos=73%). Houve ligeiro predomínio do sexo masculino (55%). Neste ano já foram notificados 474 casos com 181 confirmados, até julho. Observa-se também o aparecimento da doença em municípios onde não havia nenhum registro. Houve aumento da densidade vetorial peridomiciliar. Em alguns municípios houve discordância entre o calazar humano e o canino. **Discussão:** A LV foi notificada pela primeira vez em Tocantins em 1989, desde então a doença vem se comportando com caráter emergencial (> 1998). Vários fatores podem estar colaborando com esse comportamento, atuando de forma isolada ou associada: a) A grande corrente migratória humana ocorrida após a fundação da capital (2000); b) a construção inapropriada de áreas de assentamento, desprovidos de saneamento básico; c) a construção de uma usina hidrelétrica no município de Lajeado (65 Km de Palmas); d) a implantação do programa de controle de Leishmaniose (1995); e) a descentralização do sistema de saúde, acelerado em 2000; f) inadequado manejo das alterações sócio-ambientais acontecidas, colocando a LV como uma doença emergente, sugerindo a tomada de medidas urgentes e efetivas para evitar a disseminação da mesma na região.

## TL VI.28

**PESQUISA DE INFECÇÃO NATURAL POR Leishmania EM FLEBOTOMÍNEOS DE ÁREA ENDÊMICA, MUNICÍPIO DE ARAÇUAÍ, MG.** Edelberto Santos Dias(1), João Carlos França-Silva(2), Roberto Teodoro da Costa(2), Jaime Costa da Silva(3), Edvá Vieira de Paula(3), Carina Margonari de Souza(1), Marize Quinhones Pires(4), Fernanda Santos de Oliveira Costa(4), Raquel da Silva Pacheco(4).

**Introdução:** As parasitoses têm aumentado sua importância no contexto da saúde pública devido ao processo de urbanização das doenças. As leishmanioses são um bom exemplo, pois nos últimos anos têm se tornado um grande problema não só por

sua expansão geográfica, invadindo áreas antes livres das doenças, mas também por sua reemergência em focos endêmicos antigos. A partir de 1995, o município de Araçuaí, localizado no Vale do Jequitinhonha, registrou um aumento crescente no número de casos e um surto foi detectado em 2000 com 303 casos humanos de LTA e 34 de LV, com uma prevalência de infecção canina de 9,3% (109/1173) na área urbana e 5,0% (21/420) na área rural. **Objetivos:** Conhecer a fauna flebotômica e verificar a taxa de infecção de espécies envolvidas na transmissão de leishmanioses no município de Araçuaí. **Métodos:** Em setembro de 2000 foram realizadas 45 horas de capturas com armadilhas luminosas de CDC (30 armadilhas) distribuídas em diferentes locais no intra e peridomicílio (galinheiros, chiqueiros e currais) e em diferentes tipos de plantações (mangueiras, canaviais e bananais). Para pesquisa de infecção, o DNA de exemplares de flebotômicos foi submetido a amplificação pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Iniciadores direcionados às regiões conservada e variável dos minicírculos do kDNA foram utilizados em associação com a hibridização molecular através de sondas específicas para os complexos *L. braziliensis*, *L. mexicana*. Resultados: Foram coletados aproximadamente 10000 flebotômicos, dos quais 458 foram identificados e distribuídos da seguinte forma: *L. intermedia* (77,5%), *L. lenti* (0,9%), *L. migonei* (2,0%), *L. sallesi* (19,7%). Em dois exemplares de *L. intermedia* a amplificação com o par de iniciador genérico mostrou banda diagnóstica para o gênero *Leishmania* e com os pares de iniciadores específicos foi observada banda específica somente para o complexo *L. braziliensis*. A hibridização molecular mostrou homologia de seqüência com a sonda de kDNA de *L. (V.) braziliensis*. **Conclusões:** *Lutzomyia intermedia* foi a espécie predominante, ocorrendo em todos ambientes trabalhados. Baseado nos dados eco-epidemiológicos da região estudada e complementado com os dados moleculares podemos concluir a presença de *L. (V.) braziliensis* circulando entre os flebotômicos.

Apoio financeiro: FIOCRUZ, FUNASA e UFMG.

#### TL VI.29

**POSSIBILIDADE DE CONTROLE DE FLEBOTÔMICOS EM ÁREA DE TRANSMISSÃO DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR NO MUNICÍPIO DE DOUTOR CAMARGO, ESTADO DO PARANÁ, SUL DO BRASIL.** Herintha Coeto Neitzke, Wuelton M. Monteiro, Demilson R. dos Santos#, Otílio de Oliveira#, João B. Kühn, Thaís G. V. Silveira, Ueslei Teodoro. Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR. #Fundação Nacional de Saúde, Maringá, PR.

**Introdução:** No Brasil a leishmaniose tegumentar (LT) tem sido notificada em todos os Estados, incluindo o Paraná, onde é endêmica. O ciclo evolutivo do parasito (*Leishmania*) envolve primariamente hospedeiros vertebrados (mamíferos silvestres) e invertebrados (flebotômicos), mas tem envolvido o homem e os animais domésticos, especialmente o cão. **Objetivo:** Esta investigação teve como objetivo o conhecimento da fauna e do comportamento de flebotômicos em ambientes antrópicos, o que pode dar subsídios para o controle desses insetos e, conseqüentemente, da LT, no Paraná. **Materiais e Métodos:** As coletas de flebotômicos foram feitas com armadilhas luminosas de Falcão em 11 ecótopos, no Recanto Marista, município de Doutor Camargo, onde já foram notificados casos LT. Os ecótopos estudados foram abrigos de animais domésticos (galinheiros, curral e pocilga) e domicílios. Os galinheiros foram construídos para servir como barreiras zooprofiláticas. As coletas foram feitas das 22 às 2 horas, duas vezes ao mês, de março de 2001 a setembro de 2002, num total de 152 horas. **Resultados:** Foram coletadas onze espécies de flebotômicos, perfazendo 188.189 exemplares, dos quais 65,8% eram fêmeas e 34,2% eram machos. As espécies *Lutzomyia neivai*, *Lu. whitmani*, *Lu. migonei* e *Lu. fischeri* predominaram sobre as demais, somando 98,9% do total coletado. *Lu. neivai* prevaleceu em todos os ecótopos com 91,2% dos flebotômicos coletados. No ecótopo 10 houve maior concentração de flebotômicos (50,7%); seguido pelo ecótopo 9 (14,2%), ambos representados por galinheiros. Nos meses de março de 2001 e março de 2002 foram coletados 48,8% das espécies *Lutzomyia neivai* e *Lu. whitmani*, que têm papel relevante na epidemiologia da LT. *Lu. neivai* predominou em todos os meses de coletas. Nos ecótopos construídos com a finalidade de atrair flebotômicos foram coletados 76,9% do total desses dípteros. Os resultados mostram que os animais domésticos exercem uma forte atração sobre os flebotômicos, sugerindo que esses animais podem servir como barreiras zooprofiláticas para o controle da LT.

#### TL VI.30

**SERODEMAS DE LEISHMANIA (VIANNIA) BRAZILIENSIS ISOLADOS DE PACIENTES COM LEISHMANIOSE TEGUMENTAR NO ESTADO DO PARANÁ.** Andréa C. B. S. Roberto, Cristina Y. Ywazaki, Paulo D. Zanzarini, Eneide A. S. Venazzi, Edna A. Ishikawa#, Raimundo N. B. Pires#, Ueslei Teodoro, Maria V. C. Lonardon e Thaís G. V. Silveira. Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC), Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR. #Instituto Evandro Chagas (IEC), Fundação Nacional de Saúde, Belém, PA.

**Introdução:** A leishmaniose tegumentar (LT) é uma doença de distribuição mundial estimando-se em 350 milhões de pessoas sob risco de infecção. O diagnóstico da LT é realizado por pesquisa do parasita, intradermoreação de Montenegro e testes sorológicos. **Objetivo:** Isolar *Leishmania* sp. de pacientes da região noroeste do Estado do Paraná e identificar as espécies e

os serodemas. **Materiais e métodos:** No período de fevereiro/2001 a setembro/2003, no LEPAC/UEM, foram atendidos 727 pacientes para diagnóstico de LT, nos quais realizou-se intradermoreação de Montenegro, imunofluorescência indireta e pesquisa do parasita na lesão. Foi utilizado material obtido por escarificação de lesão tanto para microscopia e como para cultura em Blood Base Agar. Os parasitas isolados foram identificados quanto à espécie e aos serodemas no IEC. **Resultados:** A pesquisa do parasita por microscopia foi positiva em 157 pacientes. A cultura, realizada em 286 pacientes, foi positiva em 108. No entanto, 25 isolados foram perdidos e 52 já foram identificados. Todos os isolados foram identificados como *Leishmania (Viannia) braziliensis*, das quais 26 pertencem ao serodema 1, 15 ao serodema 2, 6 ao serodema 3 e 5 ao serodema 7. Apesar da cultura do parasita ser um método pouco sensível para o diagnóstico da doença, o isolamento do parasita permite identificar as espécies de *Leishmania* envolvidas na etiologia da doença e estudar o comportamento biológico dos parasitas. Esforços devem ser dependidos para conhecer o papel dos diferentes serodemas de *L. (V.) braziliensis* na epidemiologia da LT.

#### TL VI.31

**EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA EM BARRA DE GUARATIBA, RIO DE JANEIRO.** Alba Valéria Machado da Silva, Celeste da Silva Freitas de Souza, João Carlos Araujo Carreira, Laboratório de Imunomodulação – FIOCRUZ, RJ.

**Introdução:** A epidemiologia da Leishmaniose Visceral Americana (LVA) no Brasil é extremamente complexa. Ações humanas no ambiente, fluxos migratórios, ocupações desordenadas na periferia de grandes cidades, resultam em novas características epidemiológicas e como consequência a reemergência das leishmanioses em algumas áreas. Essas características são específicas para cada região, explicando assim a ineficácia das campanhas de controle em certas áreas endêmicas. Uma das medidas de controle da LVA é a eliminação de cães soropositivos, pois esses animais são considerados importantes reservatórios domésticos da leishmaniose visceral. Em Barra de Guaratiba, área endêmica de LVA no Rio de Janeiro, as campanhas de controle não foram capazes de reduzir a infecção canina. **Objetivo:** Aprofundar o estudo do cão como reservatório da *Leishmania chagasi* em ambiente periurbano. **Materiais e métodos:** Acompanhamento clínico e sorológico de 65 cães, usando as técnicas de imunofluorescência indireta (IFA) e western blot. O acompanhamento foi por um período de 1 ano, com coleta bimensal dos soros. **Resultados:** Observamos o reconhecimento dos frações antigênicas de 29 e 32 kDa por soro de cães comprovadamente infectados por *Leishmania chagasi*. Somente soro de animais sintomáticos reconheceram a fração antigênica de 68.5 kDa e eles apresentaram intenso parasitismo cutâneo em pele sã. A técnica de Western blot provou ser mais sensível que a técnica de IFA, desde que as frações peptídicas de 29 e 32 kDa foram reconhecidas por animais soronegativos, até 8 meses antes da soroconversão pelo IFA. **Conclusões:** Nossos estudos demonstraram a sensibilidade da técnica de Western blot, quando comparada com o IFA e recomendamos o seu uso para o diagnóstico da LVA em cães nas áreas endêmicas. A detecção do peptídeo de 68.5 kDa em soro de cães sintomáticos, deverá ser considerado para a seleção de cães que provavelmente estão servindo de fonte de infecção em área endêmica.

#### TL VI.32

**ESTUDO DA POPULAÇÃO DE FLEBÓTOMOS EM UMA ÁREA ENDÊMICA DE LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA – BARRA DE GUARATIBA, RIO DE JANEIRO, BRASIL.** Alba Valéria Machado da Silva, Marcos Santos Lima, Celeste da Silva Freitas de Souza, João Carlos Araujo Carreira, Laboratório de Imunomodulação – FIOCRUZ, RJ.

**Introdução:** No Brasil a Leishmaniose Visceral Americana (LVA) afeta tanto áreas rurais quanto periurbanas, e em determinadas regiões apresenta um caráter endêmico. Os insetos responsáveis pela transmissão da doença no Novo Mundo pertencem ao gênero *Lutzomyia* e a principal espécie vetora é *L. longipalpis*. As características comportamentais de cada uma das diferentes espécies de flebotomos influenciam diretamente a sua capacidade vetorial, por este motivo para se entender a dinâmica de transmissão da LVA em áreas endêmicas torna-se fundamental avaliar hábitos alimentares de seus vetores, bem como seus habitats preferenciais. **Objetivo:** Avaliar as espécies de flebotomíneos presentes em Barra de Guaratiba e comparar a ocorrência de *L. longipalpis* em ambientes domiciliar, peridomiciliar e canil. **Materiais e Métodos:** Duas residências em áreas distintas foram selecionadas para a coleta dos flebotomos e a presença de cães soropositivos para LVA foi o fator principal para a escolha destas áreas. As capturas foram feitas mensalmente e tiveram a duração de um ano. Foram utilizadas 4 armadilhas luminosas do tipo CDC para cada área, sendo colocadas no domicílio, peridomicílio e no canil. **Resultados:** Foram coletados durante o período estudado um total de 448 espécimes distribuídos respectivamente pelas seguintes espécies: *L. migonei*: 69%, *L. longipalpis*: 19%, *Brumptomyia cunhai*: 9%, *L. intermedia*: 1.4%, *L. edwardsi*: 1.1% e *L. sallesi*: 0.5%. Houve uma predominância de *L. longipalpis* no canil (74/85) em comparação ao domicílio (4/85) e peridomicílio (7/85) o que sugere um comportamento zoofílico desta espécie. Ao compararmos as duas áreas estudadas, a área caracterizada por menor degradação humana e onde não havia borrifação de inseticidas, apresentou um grande número de flebotomos e com maior diversidade de espécies quando comparada com a outra área, onde a borrifação era irregular, isso mostra que alterações no ambiente natural por ações antrópicas podem resultar em mudanças comportamentais dos flebotomos e também na composição de sua população. **Conclusão:** Nossos estudos reforçam a idéia de que a invasão do homem em áreas onde a *L. longipalpis* ocorre, resulta em um importante fator de risco na epidemiologia da Leishmaniose Visceral Americana e a importância do cão como fonte de infecção para os flebotomos em áreas endêmicas.

## ÁREA TEMÁTICA VII – CLÍNICA E TRATAMENTO DAS LEISHMANIOSES

### TL VII.1

#### **ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS EM CÃES COM SOROLOGIA POSITIVA PARA LEISHMANIOSE VISCERAL. AVALIAÇÃO DE 100 CASOS, AUTOPSIADOS EM ÁREA ENDÊMICA DO NORTE DE MINAS GERAIS, BRASIL.**

Aparecida Helena Baldo Guimarães, Arnaldo Moreira da Silva, Ignez Candelori, Maria Aparecida de Souza, Sandra Afonso-Cardoso, Adriano Gomes-Silva, Ademir Rocha, Aluizio Prata. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG; Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG.

**Introdução:** Os cães desempenham importante papel na manutenção da leishmaniose visceral no ambiente humano, atuando como reservatórios de *Leishmania (Leishmania) chagasi* o protozoário responsável pela doença (tanto canina como humana). **Objetivo:** Relatar os achados microscópicos principais observados à necrópsia de 100 cães com sorologia positiva para leishmaniose visceral, procedentes de área endêmica da doença no norte do Estado de Minas Gerais, Brasil, e avaliados por grupo de estudo de leishmanioses da Universidade Federal de Minas Gerais. O sacrifício dos animais ocorreu entre 1994 e 1996. **Materiais e métodos:** Analisaram-se cortes histológicos de fragmentos de baço, linfonodo, pulmão, fígado e pele (de focinho e de orelha). As colorações utilizadas foram: hematoxilina-eosina e Giemsa, em todos os casos; PAS, tricrômico de Masson, reticulina, Ziehl e Perls, na avaliação do fígado e, esporadicamente, de outros órgãos. Em 10 animais, fez-se a pesquisa imuno-histoquímica de amastigotas de *Leishmania sp* pelo método avidina-biotina-peroxidase (Hsu et al., 1981); os dados da imuno-histoquímica são, portanto preliminares. **Resultados:** Detectaram-se parasitas em 45 casos (45%) com a seguinte distribuição: baço - 32 casos; pele da orelha - 27; pele do focinho - 18; linfonodo - 13; pulmão - 1. Por vezes, o parasitismo tissular foi acentuado. Outros achados marcantes consistiram em inflamação de graus variados em pele, pulmão e fígado e, ocasionalmente, fibrose hepática. Não dispusemos de amostras de medula óssea para análise. **Comentários:** A constatação morfológica de parasitismo em apenas 45% dos cães pode dever-se, ao menos em parte, à inadequação das amostras (como defeitos de fixação e falta de exemplares de medula óssea) e a falhas inerentes ao exame (dificuldades de achado de amastigotas pelos métodos usuais de análise anátomo-patológica). Cremos que a aplicação mais ampla da imuno-histoquímica deverá aumentar o percentual de casos positivos.

### TL VII.2

#### **AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA AZITROMICINA EM ESTUDO CONTROLADO NO TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA EM MANAUS – AMAZONAS, BRASIL.** Alan César Teixeira<sup>1</sup>, Mario León Silva-Vergara<sup>1</sup>, Marcilene Gomes Paes<sup>2</sup>, Jorge Augusto de Oliveira Guerra<sup>2</sup>, Wilson Alecrim<sup>2</sup>, Aluizio Prata<sup>1</sup>. 1. Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro. 2. Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (FMT-AM).

**Introdução.** Há interesse no estudo de novas terapias por via oral para leishmaniose tegumentar, pois os tratamentos atuais são feitos com medicações parenterais de elevada toxicidade e de administração prolongada. A azitromicina apresentou atividade contra *Leishmania major* em estudo experimental *in vivo* e *in vitro*, e foi eficaz no tratamento de leishmaniose cutânea (LC) em área de *L. (V.) braziliensis*. Em Manaus, estudo preliminar com esse medicamento mostrou pobre resposta. Nessa área, entretanto, o antimoniatado de meglumina também tem baixa eficácia. **Objetivo.** Avaliar a eficácia da azitromicina no tratamento da LC em área de predomínio de infecção por *L. (V.) guyanensis*, em estudo controlado com antimoniatado de meglumina. **Metodologia.** Foi realizado um estudo prospectivo, aberto e randomizado. Foram incluídos os pacientes atendidos no Ambulatório de Leishmanioses da FMT-AM que tivessem (1) lesão de pele compatível com LC e esfregaço positivo (após escarificação) para *Leishmania sp*; (2) idade de 14 a 70 anos, de ambos os sexos; e (3) tempo de evolução da lesão inferior a 12 semanas. Foram excluídos os pacientes (a) que declarassem impossibilidade de comparecer às avaliações clínicas planejadas; (b) gestantes; (c) lesões de mucosa; (d) história de uso medicação com atividade anti-leishmânica nos últimos seis meses. Os pacientes receberam azitromicina 500 mg ao dia ou Glucantime® 15 a 20 mgSbV/dia por 20 dias, e retornaram para avaliação 10 dias após término do tratamento, e depois mensalmente, por 4 a 6 meses. O critério de cura foi a reepitelização completa da lesão. **Resultados.** 49 pacientes elegíveis concordaram em participar da pesquisa. 26 pacientes receberam azitromicina; 1 não retornou para reavaliação, e 4 desistiram de completar o esquema; dos 21 que completaram o tratamento, 3 apresentaram cura das lesões, e 18 apresentaram falha terapêutica. 23 pacientes receberam Glucantime®; 1 desistiu do estudo e 3 não retornaram para reavaliação; dos 19 pacientes acompanhados, 8 apresentaram cura clínica e 11 apresentaram falha terapêutica. **Conclusões.** A azitromicina curou 3 de 21 pacientes tratados (14%), apresentando atividade inferior ao Glucantime®, que curou 8 de 19 pacientes (42%). Esses resultados são muito inferiores aos relatados no estudo em área de *L. (V.) braziliensis* em Minas Gerais, onde a eficácia foi da azitromicina foi de 85%, e ressaltam as dificuldades no tratamento da LC.

### TL VII.3

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA TERAPÊUTICA DO USO DE ISOTIONATO DE PENTAMIDINA EM TRÊS DOSES EM DIAS ALTERNADOS NO TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA.** Melissa Mascheretti, Valdir Sabbaga Amato, Isabel Cristina Alves, Lucile M. Floeter-Winter, Juliane Oliveira, Mariana Quiroga, Alexandre Padilha, Bernardo Cardoso, Roosecelis Araújo Brasil, Maria Irma Seixas Duarte, Marcos Boulos. Núcleo de Extensão em Medicina Tropical do Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias-FMUSP e Secretaria Saúde de Santarém-NUMETROP. Ambulatório de Leishmaniose do HCFMUSP. Departamento de Parasitologia-ICB-USP. Núcleo de Medicina Tropical-UFPA. Laboratório da Disciplina de Patologia de Moléstias Transmissíveis-FMUSP.

**Introdução:** Segundo recomendação do Ministério da Saúde a droga de primeira escolha para o tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é o antimonial pentavalente. Havendo falha terapêutica ou contra-indicação recomenda-se o uso da pentamidina ou anfortericina B. **Objetivo:** Avaliar a resposta terapêutica do isotionato de pentamidina em curto período de terapêutica nos casos de LTA na região de Santarém, Pará. **Métodos:** Foram incluídos 27 pacientes atendidos no Centro de Controle de Zoonoses-Santarém com diagnóstico de LTA confirmado através de pesquisa direta de *Leishmania* sp com até três lesões. Os pacientes receberam isotionato de pentamidina, 4mg/kg, três doses em dias alternados, e foram avaliados clinicamente durante 90 dias. Aqueles que apresentaram cicatrização das lesões nesse período foram considerados sucesso terapêutico e os que não apresentaram resolução, falha terapêutica. Todos assinaram termo de consentimento livre-esclarecido. **Resultados:** Até o momento, 19 pacientes completaram o seguimento. Destes, 15 apresentaram cicatrização das lesões em até 90 dias representando sucesso terapêutico de 78,94% (15/19). O tempo médio até a cicatrização da última lesão foi de 30,08 dias após término do tratamento. Através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foram realizadas identificação de espécie em 9 amostras de biópsia da lesão. Dentre elas, 5 amostras identificaram *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* e 4 amostras *Leishmania* (*Viannia*) *guyanensis* ou *Leishmania* (*Viannia*) *shawi*. **Conclusões:** Os resultados parciais obtidos até a presente data evidenciaram resposta terapêutica de sucesso em 78,94% dos casos que utilizaram o isotionato de pentamidina. A inclusão de um número maior de pacientes nesse estudo permitirá a consolidação dos resultados e estabelecer uma comparação entre as espécies de *Leishmania* encontradas na região e a resposta terapêutica ao esquema proposto.

### TL VII.4

**EPIDEMIOLOGIA E TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA(LTA) NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA(HUB):406 CASOS.** Roberto Q.Name, Karinne T.Borges, Lucas S.C.Nogueira, João Herman D.Sampaio, Raimunda N.R.Sampaio, Gabriela A.Schneider; Serviço de Dermatologia–Hospital Universitário de Brasília.

**Introdução:**A LTA é zoonose de difícil controle, cujas estatísticas oficiais mostram no Brasil, nas últimas décadas, crescimento progressivo e registros ocasionais de surtos epidêmicos. **Objetivos:**Traçar perfil epidemiológico e estudar métodos diagnósticos, tratamento e efeitos colaterais. **Metodologia:**Foi realizado estudo tipo série de casos, retrospectivo, dos pacientes portadores de LTA atendidos no HUB com acompanhamento de um ano após o tratamento, no período de 01/01/1994 a 30/4/2003.Foram analisados, sexo, cor da pele, ocupação, procedência, formas clínicas, métodos diagnósticos e tratamento com antimonial pentavalente(SbV) 20mg/kg/dia por 20 dias para a forma cutânea e 30 dias para forma mucosa, além dos efeitos colaterais. Foram incluídos 406 pacientes com diagnóstico clínico de LTA, que apresentaram pelo menos um resultado positivo em exame específico. **Resultados:**Comparou-se a eficácia da IDR de Montenegro(96,30%) e imunofluorescência indireta (IFI) (67,62%). A primeira foi mais sensível(RR=1,42;IC 1,30<RR<1,56;p<0,05).Comparou-se os índices de cura de pacientes de forma cutânea(FC) que iniciaram o tratamento até 6 meses(82,45%) após o início da doença com aqueles que o fizeram apenas entre 6 meses e um ano (67,79%).Houve maior sucesso nos que realizaram tratamento precoce (RR=1,22;IC 1,01<RR<1,47;p<0,05). Observou-se o mesmo comparando percentuais de cura de pacientes com forma mucosa(FM) que iniciaram tratamento entre 6 meses e um ano(93,75%) em relação aos que iniciaram após 1 ano(66,42%) (RR=1,41;IC 1,19<RR<1,68;p<0,05).Comparou-se alterações eletrocardiográficas entre o esquema de SbV 20mg/kg/dia por 20 dias(20,11%) com o de SbV 20mg/kg/dia por 30 dias(46,80%).Observou-se alterações mais frequentes no esquema mais prolongado(RR=0,43;IC 0,30<RR<0,62;p<0,05).Houve diferença estatisticamente significativa nos índices de cura da FC(SbV 20mg/kg/dia por 20 dias) (81,73%) em relação a FM(SbV 20 mg/kg/dia por 30 dias) (69,33%) (RR=1,18;IC 1,04<RR<1,33;p<0,05). **Conclusões:**O tratamento precoce da doença tem maior êxito de cura.A frequência das alterações eletrocardiográficas está diretamente relacionada ao tempo de uso do SbV. A FM da doença é de maior dificuldade terapêutica.

## TL VII.5

**PANCREATITE AGUDA EM DOIS PACIENTES COM CALAZAR TRATADOS INICIALMENTE COM GLUCANTIME E, A SEGUIR, COM CLARITROMICINA.** Bruno Mourão França, Elisa de Melo Queiroz, Maria Laura Mariano de Matos, José Roberto Lambertucci. Hospital das Clínicas da UFMG. Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias.

**Introdução:** Há relatos de elevação das enzimas pancreáticas e/ou hepáticas em pacientes com leishmaniose tratados com antimoniais pentavalentes. Recentemente a azitromicina ou a claritromicina foram usadas no tratamento das leishmanioses. A melhor conduta terapêutica a ser tomada nestes casos, entretanto, permanece indefinida. **Objetivo:** Relatar a evolução clínica de dois pacientes com calazar que apresentaram pancreatite aguda durante o tratamento com Glucantime e foram tratados com claritromicina. Descrição dos casos: A paciente 1, de 43 anos de idade, procurou o hospital com história de perda de peso e pancitopenia de cinco meses de evolução, sem febre. Após a confirmação do diagnóstico de calazar pela identificação de leishmanias ao mielograma, ela foi tratada com Glucantime (20mg de SbV/kg/dia por via endovenosa). No sétimo dia de tratamento houve aumento das enzimas pancreáticas: lipase de 2408 U/L (vr: 30 a 110 U/L); e amilase de 258 U/L (vr: 23 a 300 U/L). O tratamento foi interrompido por sete dias, com melhora das enzimas. O paciente 2, de 45 anos, internou-se com febre, pancitopenia e emagrecimento de 20 kg nos últimos 70 dias. Após o diagnóstico de calazar recebeu Glucantime na mesma dosagem do caso 1. No quinto dia de tratamento a amilase era de 356 U/L e a lipase de 5947 U/L. A creatinina sérica era de 1,6 mg/dl e a uréia sérica de 43 mg/dl (clearance de creatinina medido = 40 ml/min). **Comentários:** Com a interrupção do tratamento houve diminuição das enzimas pancreáticas e os pacientes foram tratados durante sete dias com claritromicina com melhora dos sinais e sintomas da leishmaniose. Qual a melhor conduta nestes casos? Retornar o tratamento com Glucantime? Manter a claritromicina? Iniciar anfotericina B? No segundo caso (Paciente 2), o clareamento de creatinina diminuído (40ml/min) dificulta a escolha do medicamento a ser usado.

## TL VII.6

**RELATO DE CASO: PANCREATITE AGUDA POR ANTIMONIATO DE N-METIL-GLUCAMINA EM CRIANÇA COM CALAZAR.** Felipe Filardi da Rocha, Luciana Correia Afonso, Mateus Alves Borges Cristino, Regina Lunardi Rocha. CTR-DIP Orestes Diniz, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

**Introdução:** A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose de distribuição mundial e que, nos últimos anos, vem apresentando crescente processo de urbanização. Os antimoniais pentavalentes tem sido utilizado como droga de escolha para o tratamento da LV desde 1940. Eles podem causar vários efeitos adversos, sendo os mais sérios o hepatotóxico e o cardiotoxico. Pancreatite aguda é raramente apontada como complicação da medicação em adultos e mais ocasional ainda em crianças. É relatado o caso de uma criança que desenvolveu pancreatite aguda durante o tratamento com Glucantime e em seguida foi tratada com sucesso com anfotericina B lipossomal. **Descrição do caso:** MMA, sexo feminino, 12 anos, natural e procedente de Belo Horizonte, admitida no Pronto Atendimento (PA) do Hospital das Clínicas (HC) UFMG em 17 de março de 2000, com quadro de hepatoesplenomegalia febril e emagrecimento de aproximadamente duas semanas de evolução. Exames complementares revelaram pancitopenia e sorologia positiva para LV. A associação de febre elevada e calafrios sugestivos de bacteremia, com alterações ao ecocardiograma (presença de PCA), mesmo sem vegetações, indicou o uso de antibioticoterapia empírica para tratamento de possível endocardite bacteriana. Desta forma optou-se pela anfotericina como primeira escolha no tratamento da LV. Criança evoluiu apresentando reações intensas à este fármaco, mesmo com uso de prometazina e hidrocortisona. Optou-se, então, pela administração de antimoniatto de n-metil-glucamina. No quinto dia de tratamento a paciente apresentou dor abdominal moderada, constatando-se aumento moderado da lipase e da amilase séricas, sendo normal o ultra-som abdominal. No nono dia, intensificando-se o quadro clínico (dor abdominal intensa, vômitos e sudorese) e apresentando amilase sérica de 500 UI e lipase de 1581 UI, houve substituição do Glucantime por anfotericina B lipossomal, mantendo-se esse esquema terapêutico até sua alta hospitalar em 15 de abril de 2000. **Comentários:** a pancreatite química sem manifestações clínicas, secundária ao uso de Glucantime, ocorre em mais de 90% dos casos. Entretanto, pancreatite com manifestações clínicas é evento raro, especialmente tratando-se de crianças. Descreveu-se um caso de criança com LV tratada com antimoniatto de n-metil-glucamina que apresentou essa complicação incomum.

## TL VII.7

**TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA COM DOSES FIXAS DIÁRIAS DE ANTIMONIATO DE MEGLUMINA: ESTUDO DE 138 CASOS NO RIO DE JANEIRO (1967-1982).** Armando de Oliveira Schubach<sup>1</sup>, Keyla B. Feldman Marzochi<sup>1</sup>, João Soares Moreira<sup>1</sup>, Tânia Maria Pacheco Schubach<sup>1</sup>, Marcelo Lodi Araújo<sup>2</sup>, Antônio Carlos Francesconi do Vale<sup>1</sup> e Mauro Célio de Almeida Marzochi<sup>1</sup>. 1. Centro de Referência Nacional em Leishmaniose Tegumentar Americana - Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) - Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, RJ, Brasil. 2. Serviço de Endoscopia Peroral, Hospital Geral de Bonsucesso, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

**Introdução:** Os antimoniais pentavalentes são utilizados no tratamento das leishmanioses há mais de 60 anos. Entretanto, o melhor regime terapêutico ainda não foi definido. **Objetivo:** Comparar o tempo de cicatrização de lesões cutâneas tratadas

com antimoniato de meglumina em diferentes esquemas terapêuticos. **Materiais e Métodos:** É descrita uma série de 138 casos de leishmaniose cutânea, provenientes do Rio de Janeiro, atendidos entre 1967-1982. **Resultados:** Todos os pacientes apresentavam lesões ativas tratadas com antimoniato de meglumina intramuscular diariamente: 104 adultos com 5 ml e, em 34 crianças, o volume variou de 1-4 ml. Quarenta e cinco (32.6%) pacientes receberam tratamento continuado e 93 (67.4%) intermitente. A dose de antimônio, calculada em 65 (47.1%) casos, variou entre 3.9-28.7 mg Sb<sup>5+</sup>/ kg / dia (mediana=10.7). Trinta e quatro (52.3%) desses 65 pacientes receberam  $\geq 10$ mg e 31 (47.7%) receberam  $< 10$ mg. Em todos as lesões cicatrizaram com o tratamento. Não houve diferença significativa no tempo de cicatrização das lesões entre os esquemas terapêuticos utilizados. Entretanto, o tempo de cicatrização de lesões nas pernas e pés foi superior ao encontrado em outras localizações ( $p < 0,03$ ). Cinquenta e um pacientes foram reavaliados entre cinco e 14 anos após o tratamento e mantinham-se clinicamente curados. **Conclusão:** Não houve diferença significativa entre doses altas e baixas. Essa série originou ensaios clínicos prospectivos utilizando doses baixas de antimônio no Rio de Janeiro.