

Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana em Varzelândia, Minas Gerais, Brasil

Epidemiological aspects of American tegumentary leishmaniasis in Varzelândia, Minas Gerais, Brazil

Adriana Guimarães Nunes ¹
 Edvã Vieira de Paula ²
 Roberto Teodoro ³
 Aluizio Prata ¹
 Mario León Silva-Vergara ¹

Abstract

*To characterize an area of endemic leishmaniasis, aiming to test a candidate leishmania vaccine, a prospective epidemiological survey was implemented in 1999 in a rural area of Varzelândia, Minas Gerais, Brazil. From a total of 1,253 persons in 246 households, 1,170 were included, of whom 593 (50.6%) were males and 662 (56.5%) were under 21 years of age. A Montenegro intradermal test performed in 1,120 individuals and evaluated in 1,020 was reactive in 282 (27.6%). Serological testing through indirect immunofluorescence and ELISA was performed in 970 individuals (82.9%). Antibodies to *Leishmania* sp. were detected in 117 (13.1%) and 170 (17.5%), respectively, by the two tests. Cutaneous scars similar to those seen in American tegumentary leishmaniasis were found in 297 individuals (25.4%), 282 of whom were submitted to the intradermal test, while only 168 (59.6) were reactive. Initial leishmaniasis prevalence of 5.8% was recorded, and an annual leishmaniasis incidence rate of 4.6% was observed after one year of follow-up. The epidemiological characteristics observed in this location are suggestive of an endemic area with old colonization.*

Leishmaniasis; Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; Indirect Fluorescent Antibody Technique; Skin Tests

Introdução

As leishmanioses estão em expansão devido às graves modificações nos ecossistemas, sobretudo o desflorestamento para assentamentos populacionais, abertura de estradas, projetos de irrigação, construção de usinas hidrelétricas e urbanização desmedida, entre outros. Ademais, desnutrição, susceptibilidade genética, síndrome da imunodeficiência adquirida e resistência do parasita aos antimoniais pentavalentes em vários países, agravam a situação ^{1,2}.

O Brasil figura entre os cinco países que relatam mais de 90% dos casos de leishmaniose visceral e entre os sete com 90% dos casos de leishmaniose tegumentar no mundo ^{1,3}. A urbanização das leishmanioses no país é um problema de saúde pública e, nas últimas décadas, ocorreram surtos em várias capitais ^{4,5}. A incidência da doença aumentou substancialmente e o sub-registro de casos impede conhecer a magnitude do problema ^{1,6,7}.

O controle das leishmanioses é prioridade da Organização Mundial da Saúde (OMS) e medidas como eliminação de vetores com inseticidas no domicílio, peridomicílio e colares impregnados para prevenir a infecção canina, além do sacrifício de cães infectados, não causaram o impacto esperado ^{8,9}. Uma vacina eficaz é outra alternativa, e diversos candidatos estão em fase de pesquisa clínica ^{10,11}.

¹ Curso de Pós-graduação em Medicina Tropical e Infectologia, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, Brasil.

² Fundação Nacional de Saúde, Montes Claros, Brasil.

³ Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

Correspondência

M. L. Silva-Vergara
 Curso de Pós-graduação em Medicina Tropical e Infectologia,
 Universidade Federal do Triângulo Mineiro,
 C. P. 118, Uberaba, MG
 38001-970, Brasil.
 dip_fmtn@mednet.com.br

O objetivo deste estudo foi caracterizar, epidemiologicamente, uma área de transmissão de leishmaniose tegumentar americana (LTA), na tentativa de testar candidato à vacina anti-*leishmania*.

População e métodos

O estudo foi realizado no Brejo do Mutambal, distrito rural do Município de Varzelândia, nordeste de Minas Gerais, Brasil. A população foi cadastrada, registrados dados demográficos e epidemiológicos e realizada avaliação clínica orientada para a detecção de lesões ativas e cicatrizes, sugestivas de LTA. A intradermoreação de Montenegro (IDRM) foi aplicada utilizando-se 0,1ml de solução de extrato antigênico de promastigotas mortas da *Leishmania (Leishmania) amazonensis* lote 656001 (Biobrás S.A., Belo Horizonte, Brasil), segundo técnica descrita¹². A leitura foi realizada em 48 horas, e consideradas positivas as indurações ≥ 5 mm¹³. De cada indivíduo foram retirados 10ml de sangue por punção venosa, com sistema vacutainer. A imunofluorescência indireta (RIFI) com promastigotas de *Leishmania (Leishmania) mexicana* (MHOM/Br/60/BH6) em crescimento exponencial em meio de LIT e o ELISA com o conjugado de antiimunoglobulina humana (Biomanguinhos, Rio de Janeiro, Brasil) foram realizados segundo técnicas previamente descritas¹⁴, no Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Os soros reativos, a partir da diluição 1:40 e os valores de leitura superiores à média dos controles mais dois desvios-padrão, DO > 0,130, foram considerados positivos, respectivamente, para ambos os testes.

Foram excluídas do inquérito crianças com menos de dois anos e gestantes. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro. Realizada análise estatística com o programa Epi Info 6.04 (Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Estados Unidos) e utilizado teste de proporção χ^2 para comparação entre as variáveis e calculadas as razões de chance OR (IC95%). Determinou-se um nível de significância estatística $p < 0,05$.

Resultados

Cadastrados 1.253 indivíduos, dos quais 1.170 distribuídos em 246 domicílios foram incluídos. Destes, 593 (50,6%) masculinos e a maioria nasceu e habita na região. A idade variou de 1 a 84 anos, média de 26,1 e mediana de 20 anos. Quanto às ocupações, 455 (39%) eram estudantes e 305 (26%) lavradores.

Inicialmente, foram diagnosticados 68 (5,8%) pacientes com LTA cutânea e mucosa e, após um ano de acompanhamento, registrados 45 (4,6%) novos casos da doença.

A IDRM aplicada em 1.120 indivíduos, lida em 1.020 com 282 (27,6%) dos casos positivos. Observada reatividade de 30,9% para o gênero masculino (OR = 1,67; IC95%: 1,26-2,22; $p = 0,002$) e 24% para o feminino com diferença significativa para o gênero masculino em varias faixas etárias e OR com valores crescentes em relação direta com a idade (Tabela 1).

Cicatrizes cutâneas sugestivas de LTA foram observadas em 297 (25,4%) indivíduos, dos quais 49,5% masculinos, localizadas nas extremidades em 227 (76,4%) casos e, como lesão úni-

Tabela 1

Reatividade ao teste de Montenegro por faixa etária e gênero na população do Brejo do Mutambal, Varzelândia, Minas Gerais, Brasil.

Faixa etária (anos)	Indivíduos (n)	Montenegro (+)				Total		p*	OR	IC95%
		Masculino		Feminino		n	%			
		n	%	n	%					
2-11	361	26	7,2	11	3,0	37	10,2	0,01	1,0	
12-21	301	35	11,6	23	7,6	37	19,2	0,09	2,09	1,3-3,3
22-31	125	20	16,0	22	17,6	58	33,6	0,70	4,43	2,6-7,5
32-41	95	22	23,1	12	12,6	42	35,8	0,05	4,62	3,1-6,8
42-51	89	22	24,7	19	21,3	34	46,0	0,59	7,48	4,2-13,2
52-61	70	16	22,8	22	31,4	41	54,2	0,25	8,6	5,7-13,2
62-71	44	11	25,0	5	11,3	38	36,3	0,09	5,0	2,3-10,6
≥ 72	35	8	22,7	-	-	16	45,6	0,35	7,3	3,2-16,5
Total	1.120	160	14,2	122	10,8	282	27,6			

ca, em 186 (62,6%). Daqueles com cicatriz, 282 realizaram a IDRMM, com reatividade em 168 (59,6%) dos casos; quando distribuídos por faixa etária, o coeficiente kappa mostrou correlação insatisfatória (Tabela 2).

A pesquisa de anticorpos anti-*leishmania* em 970 (82,9%) indivíduos, pelo RIFI e ELISA, mostrou positividade em 127 (13,1%) e 170 (17,5%) casos, respectivamente, e concordância de 76% entre ambos os testes. Não houve diferença entre os gêneros (Tabela 3).

Os indivíduos com RIFI e ELISA positivos e IDRMM reativa mostraram concordância em 41,3% e 39,2% dos casos, respectivamente. Igualmente, os positivos para esses testes e

com cicatrizes cutâneas sugestivas de LTA e, quando as reações sorológicas eram negativas, havia cicatriz cutânea em somente 6,4% dos casos.

Comentários

O inquérito foi realizado numa área com características de colonização antiga, onde há pouca mata a ser derrubada e em seu lugar as diversas atividades agropecuárias estão associadas à transmissão permanente dessa infecção^{2,15}. Isso justifica a presença de cicatrizes cutâneas sugestivas de LTA em 25% dos habi-

Tabela 2

Intradermorreação de Montenegro (IDRM) em 282 indivíduos com cicatriz cutânea semelhante às causadas pela leishmaniose tegumentar em área endêmica, no Brejo do Mutambal, Varzelândia, Minas Gerais, Brasil.

Faixa etária (anos)	Indivíduos (n)	Cicatriz cutânea		OR	IC95%	IDRM positivo		p*
		n	%			n	%	
2-11	361	49	17,3	1,0	–	24	49,0	0,002
12-21	301	91	32,2	3,7	2,6-5,1	42	46,1	0,0001
22-31	125	32	11,3	2,2	1,3-3,7	22	68,7	0,12
32-41	95	31	11,0	3,1	1,8-5,4	20	64,5	0,07
42-51	89	32	11,3	3,5	2,0-6,2	26	81,2	0,33
52-61	70	30	10,6	4,8	2,6-8,6	23	76,6	0,16
62-71	44	10	3,5	1,8	0,8-4,2	7	70,0	0,41
> 72	35	7	2,5	1,6	0,6-4,1	4	57,1	0,32
Total	1.120	282	27,6			168	59,5	

Tabela 3

Distribuição dos indivíduos reativos à imunofluorescência indireta e ELISA por faixa etária e gênero no Brejo do Mutambal, Varzelândia, Minas Gerais, Brasil.

Faixa etária (anos)	Indivíduos (n)	RIFI positivo				ELISA positivo			
		Masculino		Feminino		Masculino		Feminino	
		n	%	n	%	n	%	n	%
2-11	312	22	17,3	17	13,3	20	11,7	10	5,8
12-21	261	11	8,6	17	13,3	18	10,5	22	12,9
22-31	108	8	6,2	12	9,4	12	7,0	17	10,0
32-41	82	6	4,7	5	3,9	14	8,2	08	4,7
42-51	77	3	2,3	5	3,9	6	3,5	10	10,0
52-61	61	4	3,1	5	3,9	8	4,7	8	4,7
62-71	38	6	6,2	3	2,3	6	3,5	6	3,5
≥ 72	30	0	–	3	2,3	2	1,1	3	1,7
Subtotal		60	47,2	67	52,7	86	51,5	84	49,0
Total	970	127	13,0					170	17,5

tantes, a prevalência de 5,8% de casos e a incidência de 4,3% após um ano.

Entre 580 indivíduos examinados, numa área com características semelhantes à de Varzelândia, foram encontrados 23,7% com cicatrizes¹⁶. Neste estudo, foram vistos 297 (25,4%) casos com lesões cicatriciais. Destes, 168 (59,6%) com IDRMs positiva, em contraste com 27,6% observados na população geral da área. Essas lesões, quando bem caracterizadas, podem servir como marcador clínico-epidemiológico de LTA mais sensível e concordante com os testes sorológicos do que a IDRMs, embora outras condições como traumatismos, queimaduras e piodermites etc. possam deixar cicatrizes semelhantes.

A alta prevalência de reatividade ao antígeno de Montenegro (27,6%) dos casos tem sido assinalada em outras áreas onde LTA é endêmica e não está necessariamente associada a lesões ativas ou cicatriciais. Mesmo excluindo essas lesões, ainda houve 13% de indivíduos com IDRMs positiva. Como é sabido, infecções subclínicas e outras patologias endêmicas co-existent podem positivá-la¹⁷.

Os testes RIFI e ELISA foram positivos em 13,1% e 17,5% indivíduos, respectivamente. Tais resultados devem ser interpretados com cautela, haja vista que podem positivar em pacientes com lesões ativas, podem indicar infecção recente na ausência de lesões ou ser a consequência de reinfecções subclínicas¹⁸. É interessante ressaltar que, neste estudo, a coexistência de lesões cicatriciais semelhantes às de

LTA, foi constatada em 85,7% dos casos que tinham ambos os testes sorológicos reativos. O achado de parasitas em cicatrizes antigas, como estímulo antigênico, também explica a presença de anticorpos nesses indivíduos¹⁹. Por outro lado, infecção por *Trypanosoma cruzi* pode dar reação cruzada em indivíduos co-infectados com *Leishmania* sp.¹⁷.

A observação de cicatrizes cutâneas, úlceras ativas e Montenegro positiva entre crianças, adolescentes e mulheres, sugere transmissão domiciliar ou peridomiciliar, corroborada pela localização das moradias próximas de pedreiras e a convergência do vetor mais adaptado e de animais domésticos, potenciais reservatórios da infecção, principais características da área avaliada e semelhante a outros estudos^{9,16,20}.

Estes achados são comuns quando *Leishmania (Viannia) braziliensis* é a espécie endêmica²¹. No Brasil, é a espécie mais prevalente nas áreas de colonização antiga com profundas modificações no ecossistema como aquelas observadas nessa área em estudo^{15,21}. Ademais, a presença de pacientes com formas mucosas e o predomínio de lesões cutâneas ativas e cicatriciais únicas corroboram essa etiologia.

Os resultados descritos caracterizam esse local como área endêmica de leishmaniose, onde há convergência dos fatores epidemiológicos que favorecem a transmissão ativa, há várias décadas, e pode ser passível de intervenção sob diferentes aspectos, com vistas ao seu controle.

Resumo

Para caracterizar uma área endêmica de leishmaniose tegumentar americana susceptível de intervenção com candidato à vacina anti-leishmania, foi iniciado em 1999 estudo longitudinal em área rural do Município de Varzelândia, Minas Gerais, Brasil. Inicialmente, foram cadastrados 1.253 indivíduos distribuídos em 246 domicílios, dos quais, 1.170 concordaram em participar do trabalho. Desses, 593 (50,6%) eram masculinos e 662 (56,5%), menores de 21 anos. A intradermorreação de Montenegro foi realizada em 1.120 indivíduos, lida em 1.020 dos casos, e observada reatividade em 282 (27,6%) deles. Anticorpos anti-leishmania foram testados mediante imunofluorescência indireta e teste ELISA em 970 (82,9%) indivíduos, obtendo-se positi-

dade, respectivamente, em 127 (13,1%) e 170 (17,5%) para os dois testes. Na avaliação inicial, foram observados 297 (25,4%) indivíduos com cicatrizes cutâneas semelhantes às deixadas pela doença. Desses, 282 realizaram a intradermorreação que foi positiva em 168 (59,61%). A prevalência de casos de leishmaniose tegumentar no início do estudo foi de 5,8% e, depois do primeiro ano, observou-se incidência anual de 4,6% de casos. As características epidemiológicas observadas nesse local sugerem tratar-se de uma área endêmica de colonização antiga.

Leishmaniose; ELISA; Técnica Indireta de Fluorescência para Anticorpo; Testes Cutâneos

Colaboradores

Todos os co-autores participaram, integral ou parcialmente, em cada uma das fases de desenvolvimento do presente projeto. O trabalho de campo foi desenvolvido por A. G. Nunes, M. L. Silva-Vergara e E. V. Paula. Os testes sorológicos foram realizados por R. Teodoro. O manuscrito foi redigido por A. G. Nunes, A. Prata e M. L. Silva-Vergara.

Agradecimentos

Este estudo recebeu auxílio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e da Fundação Nacional de Saúde.

Referências

- Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative immunology. Microbiol Infect Dis* 2004; 27:305-18.
- Grimaldi Jr. G, Tesh RB, Mc Mahon-Pratt D. A review of the geographical distribution and epidemiology of leishmaniasis in the New World. *Am J Trop Med Hyg* 1989; 41:687-725.
- Ashford R. The leishmaniasis emerging and re-emerging zoonosis. *Int J Parasitol* 2000; 30:1269-81.
- Marzochi MCA, Marzochi KBF. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil. Emerging anthro-zoonosis and possibilities for their control. *Cad Saúde Pública* 1994; 10:359-75.
- Passos VMA, Falcão AL, Marzochi MCA, Gontijo CMF, Dias ES, Barbosa-Santos EGO. Epidemiological aspects of American cutaneous leishmaniasis in a periurban area of the metropolitan region of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1993; 88:103-10.
- Fundação Nacional de Saúde/Centro Nacional de Epidemiologia. Evolução temporal das doenças de notificação compulsória no Brasil de 1980 a 1998. *Boletim Epidemiológico* 1999; Edição especial.
- Centro Nacional de Epidemiologia, Fundação Nacional de Saúde. Manual de controle da leishmaniose tegumentar americana. Brasília: Centro Nacional de Epidemiologia, Fundação Nacional de Saúde; 1997.
- Courtenay O, Quinnell RJ, Garcez LM, Shaw JJ, Dye C. Infectiousness in a cohort of Brazilian dogs: why culling fails to control visceral leishmaniasis in areas of high transmission. *J Infect Dis* 2002; 186: 1314-20.
- Campbell-Lendrum D, Dujardin JP, Martinez E, Feliciangeli MD, Perez JE, Passerat de Silans LNM, et al. Domestic and peridomestic transmission of American cutaneous leishmaniasis: changing epidemiological patterns present new control opportunities. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96:159-62.
- Armijos RX, Weigel MM, Romero L, Garcia V, Salazar J. Field trial of a vaccine against new world cutaneous leishmaniasis in an at-risk child population: how long does protection last? *J Infect Dis* 2003; 187:1959-61.
- Handman E. Leishmaniasis: current status of vaccine development. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 229-43.
- Mayrink W, Williams P, Coelho MV, Dias M, Martins VA, Magalhães PA, et al. Epidemiology of dermal leishmaniasis in Rio Doce Valley, State of Minas Gerais, Brazil. *Ann Trop Med Parasitol* 1979; 73:123-37.
- Sokal JE. Measurement of delayed sign test responses. *N Engl J Med* 1975; 293:501-2.
- Camargo ME, Rebonato C. Cross reactivity in fluorescence tests for trypanosoma and leishmania antibodies. A simple inhibition procedure to ensure specific results. *Am J Trop Med Hyg* 1969; 18: 500-5.
- Grimaldi Jr. G, Tesh RB. Leishmaniasis of the New World: current concepts and implications for future research. *Clin Microbiol Rev* 1993; 6:230-50.
- Ampuero J, Urdaneta M, Macêdo VO. Factores de riesgo para la transmisión de leishmaniasis cutánea en niños de 0 a 5 años en un área endêmica de *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Cad Saúde Pública* 2005; 21:161-70.
- Vexenat AC, Santana JM, Teixeira ARL. Cross reactivity of antibodies in human infections by the kinetoplastid protozoa *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania chagasi* and *Leishmania braziliensis*. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1996; 38:177-85.
- Marzochi MCA, Coutinho SG, Sabroza PC, Souza WJS. Reação de imunofluorescência indireta e intradermorreação de Montenegro para leishmaniose tegumentar americana em moradores da área de Jacarepaguá (Rio de Janeiro). Estudo comparativo dos resultados observados entre 1974 e 1978. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1980; 22:149-55.
- Schubach A, Marzochi MCA, Cuzzi-Maya T, Oliveira AV, Araújo ML, Oliveira ALC, et al. Cutaneous scars in American tegumentary leishmaniasis patients. A site of *Leishmania Viannia braziliensis* persistence and viability 11 years after antimonial therapy and clinical cure. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 58:824-7.
- Falqueto A. Especificidade alimentar de flebotomíneos em duas áreas de leishmaniose tegumentar no Estado do Espírito Santo, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 1997; 30:531-2.
- Marsden PD. Mucosal leishmaniasis ("Espundia" Escomel 1911). *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1986; 80: 859-76.

Recebido em 01/Abr/2005

Versão final reapresentada em 30/Ago/2005

Aprovado em 02/Fev/2006