

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA

Avaliação da efetividade do atual Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral sobre as taxas de prevalência e incidência da infecção assintomática por *Leishmania (Leishmania) infantum*, Belo Horizonte MG.

Iara Caixeta Marques da Rocha

Belo Horizonte

2015

Iara Caixeta Marques da Rocha

Efetividade do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral sobre as taxas de incidência e prevalência da infecção assintomática por *Leishmania (Leishmania) infantum*, Belo Horizonte MG.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Epidemiologia das Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientadora: Prof. Dra Mariângela Carneiro

Belo Horizonte

Instituto de Ciências Biológicas da UFMG

2015

Tese desenvolvida no Laboratório de Epidemiologia das Doenças Infecciosas e Parasitárias, do Departamento de Parasitologia ICB/UFMG

Instituições parceiras:

Centro de Pesquisas René Rachou - Laboratório de Pesquisas Clínicas
Prefeitura Municipal de Belo Horizonte

Colaboradores:

Dra. Ilka Afonso Reis – Departamento de Estatística ITEX / UFMG

Dr. Edward José de Oliveira – Laboratório de Pesquisas Clínicas / Centro de Pesquisas René Rachou (FIOCRUZ)

Dra. Vanessa Peruhype Magalhães Pascoal – Laboratório de Biomarcadores de Diagnóstico e Monitoração / Centro de Pesquisas René Rachou (FIOCRUZ)

Financiamento:

FAPEMIG/MS/SES-MG – PPSUS, Número: CDS-APQ-00343-10
CNPQ/Universal Número: 478528/2012-4 /2012

Aprovado pelos comitês de ética em pesquisa:

Universidade Federal de Minas Gerais (n° 253/09)
Prefeitura de Belo Horizonte (n° 080.2008)
Centro de Pesquisas Rene Rachou (n° 01/2010)

Agradecimentos

A Deus por me dar foco e perseverança ao longo dessa trajetória.

Aos meus maravilhosos pais, que me surpreendem a cada dia com um amor incondicional, capaz de me sustentar e me estruturar para enfrentar qualquer desafio.

Ao meu eterno namorado e amigo Varlei, que esteve presente em todos os momentos da minha caminhada. Agradeço pelo companheirismo, carinho, apoio, paciência e compreensão.

A professora Mariângela Carneiro, minha querida orientadora, que tanto admiro como pessoa e profissional. Responsável por uma parte muito importante da minha formação. Obrigada pela confiança, amizade, incentivo e pelos ensinamentos que levarei por toda a vida.

A professora Ilka Afonso Reis do ICEX-UFMG, pela relevante colaboração nas análises estatísticas. Uma convivência de muito ganho e aprendizado. Obrigada pela disponibilidade, entusiasmo e interesse pelo trabalho.

A professora Norma, minha querida orientadora de mestrado, responsável pelo início de todo o meu percurso acadêmico. Carinhosa, acolheu-me com uma convivência alegre e cheia de ensinamentos, que fizeram com que eu a admirasse muito.

Ao Dr. Edward José de Oliveira, Dra. Vanessa Peruhype Magalhães e à Gisele Macedo, do Laboratório de Análises Clínicas da FIOCRUZ, onde foram processadas e analisadas as amostras biológicas das crianças. Agradeço pela orientação e todo o suporte prestado para realização dos testes laboratoriais.

A equipe acadêmica brilhante do Laboratório de Epidemiologia de Doenças Infecciosas e Parasitárias. Agradeço pela convivência sempre leve, divertida, construtiva e agradável. Foi um crescimento trabalhar com todos vocês! Letícia e Thaís, que além da parceria acadêmica, me presentearam com duas grandes amigas para a vida. Obrigada Wendel e Valdelaine por toda a colaboração, disponibilidade e participação indispensável para a conclusão deste trabalho. Obrigada Maria Helena pela atenção, apoio e incentivo constantes. Agradeço à Fernanda, Débora, Thaisinha, Gabriela e Carla, pela ajuda na logística e organização do trabalho de campo. Fizemos um excelente trabalho em equipe, que foi fundamental para o sucesso desta etapa.

Aos amigos da Gerência Regional de Controle de Zoonoses Norte – PBH. Especialmente Diogo, Ivan, Guilherme, Simone, Terezinha, Margareth e Ronaldo, que me proporcionam sorrisos fáceis e fazem todos os dias valerem a pena. Meus sinceros agradecimentos pela amizade, compreensão e apoio de todos vocês, que acompanharam de perto a maior parte desta trajetória.

Agradeço ao Programa de Pós graduação em Parasitologia – ICB/UFMG, especialmente Sumara e Sibebe pela atenção e receptividade em todos os momentos que necessitei.

Aos meus pais e ao Varlei, dedico.

Lista de figuras

Figura 1: Distribuição geográfica da Leishmaniose visceral no mundo

Figura 2: Casos de LVH e óbitos ocorridos em Belo Horizonte no período de 2005 a 2014.

Figura 3c. setores censitários que compõem as Áreas de Abrangência de cada Distrito Sanitário de Belo Horizonte - (IbGE)

Figura 3b. Divisão dos Distritos Sanitários em Áreas de Abrangência: área territorial que as equipes de cada CS atendem - (SMSA)

Figura 3a. Distritos sanitários: organização administrativa dos serviços de saúde do Município de Belo Horizonte - (SMSA)

Figura 4: Evolução da cobertura de população canina com ICC e prevalência de sororreatividade canina, Belo Horizonte, 2006-2012 (SMSA, 2013)

Figura 5: Resultados dos exames de ELISA e de ELISA +RIFI em amostras de sangue canino coletadas em Belo Horizonte, 2006-2012 (Boletim de Vigilância em saúde, 2013).

Figura 6: Evolução da estratégia de controle químico vetorial e cobertura da população canina por ISCC, Belo Horizonte, 2006-2012 (SMSA, 2013).

Figura 7: Série temporal de prevalência de sororreatividade canina e de casos de LVH em LV, Belo Horizonte, 2006-2012 (SMSA, 2013).

Figura 8: Localização geográfica das áreas de estudo no município de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil e estratificação das AA por incidência acumulada de LVH no DS Noroeste, onde as áreas estão situadas – 2006 a 2009.

Figura 9: Delineamento geral do estudo: abordagem epidemiológica quase experimental para estimativa das taxas de prevalência inicial, final e coorte e posteriormente, avaliação do curso da infecção assintomática por *L. infantum*

Figura 10: Delineamento detalhado do estudo: abordagem epidemiológica quase experimental com delineamento transversal e coorte e posterior avaliação clínica e laboratorial do curso da infecção assintomática por *L. infantum*.

Figura 11: Distribuição geográfica da amostra total de 891 crianças participantes do estudo quase experimental II.

Figura 12: Número de amostras que apresentaram testes de ELISA-rK39 e ELISA-AgS reagentes para *L. infantum* no delineamento transversal do estudo quase experimental II e amostras que apresentaram sorologia reagente nos dois testes.

Figura 13: Número de amostras que apresentaram testes de ELISA-rK39 e ELISA-AgS reagentes para *L. infantum* no delineamento coorte do estudo quase experimental II e amostras que apresentaram sorologia reagente nos dois testes.

Figura 14: Fluxograma dos estudos quase experimental I, quase experimental II e avaliação do curso da infecção assintomática por *L. infantum* por meio de ELISA-rK39.

Figura 15: Etapa de Avaliação do Curso da Infecção Assintomática por *L. infantum*: Amostra avaliada por meio de exames clínico e laboratoriais.

Figura 16: Número de amostras que apresentaram testes sorológicos de ELISA-rK39 e ELISA-AgS reagentes e qPCR positivo na etapa de avaliação do curso da infecção assintomática por *L. infantum*

Figura 17: Representação gráfica da distribuição da amostra de crianças por idade nas três áreas de intervenção.

Figura 18: Representação gráfica da curva de infecção da amostra de crianças por faixa etária, nas três áreas de intervenção.

Figura 19: Representação gráfica da distribuição da amostra de crianças da coorte por idade nas três áreas de intervenção.

Figura 20: Representação gráfica da curva de infecção da coorte de crianças por faixa etária, nas três áreas de intervenção.

Figura 21: Representação gráfica do percentual de crianças com amostras reagentes e não reagentes no teste sorológico ELISA-rK39 por faixa etária.

Figura 22: Representação gráfica do percentual de crianças com amostras reagentes e não reagentes no teste sorológico ELISA-rK39 por classe econômica das famílias.

Figura 23: Representação gráfica do percentual de infecção assintomática por *L. infantum* associada à variável “árvore na vizinhança”, considerando 659 imóveis visitados.

Lista de tabelas

Tabela 1: Casos de LVH ocorridos em Belo Horizonte, por região de residência (Barreiro, Centro Sul, Leste, Nordeste, Noroeste, Norte, Oeste, Pampulha e Venda Nova).

Tabela 2: Dados do PVC-LV: Série temporal da prevalência canina e de casos de LVH nas áreas de estudo (2006-2013). Fontes: SCZOO e Sinan

Tabela 3: Comparação entre estimativas gerais de prevalência inicial, prevalência final e incidência de acordo com os testes sorológicos ELISA-rK39 e ELISA-AgS.

Tabela 4: Taxas de prevalência e incidência da infecção assintomática por *L. infantum* estimadas por ELISA-rK39 nas áreas com diferentes tempos de intervenção pelo PVC-LV: Estudos quase experimental I e II

Tabela 5: Análise transversal para comparação das taxas de prevalência da infecção assintomática estimadas nos estudos quase experimental I e II. Comparação por faixa etária (diferença relativa transversal) e por coorte etária (diferença relativa coorte etária).

Tabela 6: Avaliação laboratorial do curso da infecção assintomática por *L. infantum* por meio dos testes ELISA-rK39, ELISA-AgS e qPCR - 2013.

Tabela 7: Análise descritiva da amostra de crianças participantes do estudo quase experimental II (delineamento transversal).

Tabela 8: Análise descritiva das características das residências e das famílias participantes do estudo quase experimental II.

Tabela 9: Avaliação da efetividade das estratégias de controle do PVC-LV sobre a infecção por *L. infantum* nas áreas com diferentes tempos de intervenção: Estudo quase experimental II, delineamento transversal, Belo Horizonte, 2012.

Tabela 10: Análise descritiva da amostra de crianças participantes do estudo de coorte.

Tabela 11: Análise descritiva das características das residências e das famílias participantes do estudo quase experimental II (delineamento coorte).

Tabela 12: Avaliação da efetividade das estratégias de controle do PVC-LV sobre a infecção por *L. infantum* nas áreas com diferentes tempos de intervenção: Estudo quase experimental II, delineamento coorte.

Tabela 13: Modelo logístico multinível para avaliação dos fatores associados à infecção assintomática por *L. infantum* em crianças.

Tabela 14: Modelo logístico multivariado final para avaliação dos fatores associados à infecção assintomática por *L. infantum* em criança residente no domicílio (“casa positiva”).

Lista de abreviaturas

AI2006 – Área de intervenção 2006

AI2008 - Área de intervenção 2008

AI2010 - Área de intervenção 2010

AA- Área de abrangência

BH- Belo Horizonte

CCEB- Critério de classificação socioeconômica do Brasil

CS- Centro de saúde

DNA- ácido desoxirribonucleico

DPP- Dual Parth Platform ou Plataforma de Duplo Compartilhamento

DS- Distrito sanitário

EDTA- Ethylenediamine tetraacetic acid) ou ácido etilenodiamino tetra-acético

ELISA- Enzyme Linked Immunosorbant Assay ou ensaio imunoenzimático

ELISA-AgS- Enzyme Linked Immunosorbant Assay (com antígeno solúvel)

ELISA-CRUDE- Enzyme Linked Immunosorbant Assay (com antígeno bruto ou solúvel)

ELISA-rK39 - Enzyme Linked Immunosorbant Assay (com antígeno recombinante rK39)

FUNASA- Fundação Nacional de Saúde

HIV- Vírus da imunodeficiência humana

IbGE- Instituto brasileiro de geografia e estatística

IDMR- Intradermoreação de Montenegro

IR- Índice de reatividade

IRR- Razão de incidência

ISCC- Inquérito sorológico censitário canino

IVS- Índice de vulnerabilidade à saúde

LV- Leishmaniose visceral

LVA- Leishmaniose visceral americana

LVC- Leishmaniose visceral canina

LVH- Leishmaniose visceral humana

MS- Ministério da Saúde

OR- Odds Ratio

PBH- Prefeitura de Belo Horizonte

PSF/SUS- Programa de saúde da família / Sistema Único de Saúde

PVC- LV- Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral

qPCR- Quantitative polymerase chain reaction

RIFI- Ensaio de imunofluorescência indireta

RISPA- REDE INTERAGENCIAL DE INFORMAÇÃO PARA A SAÚDE

RNA- Ácido ribonucleico

SBMT- Sociedade Brasileira de Medicina Tropical

SES- Secretaria Estadual de Saúde

SINAN- Sistema de informação de agravos de notificação compulsória

SM- Salários mínimos

SMSA- Secretaria Municipal de Saúde

SSTF- Solução salina tamponada com fosfato

SUS/BH- Sistema Único de Saúde/ Belo Horizonte

TRALD- Teste Rápido Anti-*Leishmania donovani*

WHO- World Health organization

Resumo

Este estudo avaliou por meio dos delineamentos epidemiológicos transversal e coorte, a efetividade das estratégias do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVC-LV), sobre a infecção por *Leishmania infantum* em crianças. O estudo foi conduzido no ano de 2012 em três áreas de Belo Horizonte, com diferentes tempos de intervenção pelo PVC-LV (Área de intervenção 2006: AI2006, Área de intervenção: AI2008 e Área de intervenção: AI2010).

No delineamento transversal foram avaliadas 891 crianças. As taxas de prevalência por ELISA-rK39, nas AI2006, AI2008 e AI2010 foram respectivamente 23,7% (IC95% 19,1-28,9), 25,6% (IC95% 21,1-30,7) e 17,0 (IC95% 13,1-21,8). Observou-se, que as taxas de prevalência da infecção assintomática, quando comparadas às taxas de prevalência estimadas em 2010 por Morais. (2011), mostraram 83,7% de aumento na área com maior tempo de intervenção (AI2006), 74,1% de aumento na área com tempo intermediário de intervenção (AI2008) e diminuição de 5% na área controle, com menor tempo de intervenção (AI2010).

No delineamento de coorte foram seguidas 478 crianças, que apresentaram testes sorológicos não reagentes para *L. infantum* em 2010, no estudo de Morais (2011). As taxas de incidência bruta foram 14,4% na AI2006, 21,1% na AI2008 e 11,6% na área controle, AI2010. As taxas de incidência pessoa-tempo nas áreas AI2006, AI2008 e AI2010 foram respectivamente 6,2; 10 e 5,6/100 pessoas em 24 meses de acompanhamento. As análises foram desenvolvidas utilizando os modelos de regressão logística multinível (Odds Ratio) para o delineamento transversal e regressão de Poisson (IRR - razão de incidência) para o delineamento de coorte. Crianças que residem na AI2008 mostraram maior odds de infecção (OR=1,84; IC95%=1,06-3,23) e maior razão de incidência da infecção (IRR=1,76; IC95%=1,05-2,95), quando comparada à área controle, AI2010. Na AI2006 não houve diferença estatística na odds de infecção (OR=1,68; IC95%=0,94- 2,98) e na razão de incidência da infecção (IRR=1,18; IC95%=0,65-2,14), quando comparada a AI2010. Os resultados mostraram que os tempos de intervenção e as estratégias do PVC-LV não foram efetivos para reduzir as taxas de infecção assintomática nas áreas estudadas. Mesmo observando redução discreta nas taxas de infecção na área controle, AI2010, a circulação e transmissão do parasito foram mantidas em níveis elevados em todas as áreas

de estudo. Foi observado, que nenhuma criança desenvolveu sinais ou sintomas clínicos da doença, o que sugere que a infecção assintomática, embora seja um bom marcador da circulação do parasito, não está associada ao adoecimento humano. Os fatores associados à infecção assintomática por *L. infantum* foram a idade da criança, a renda da família, a escolaridade do chefe da família e a presença de árvores na vizinhança. No domicílio, os fatores associados para que ocorra a infecção em pelo menos uma criança da residência, foram a classe socioeconômica da família e a presença de árvores na vizinhança.

Abstract

This study evaluated by cross-sectional and cohort epidemiological designs the effectiveness of the strategies of the Surveillance and Control Program of Visceral Leishmaniasis (SCP-VL) in the infection with *Leishmania infantum* in children. The study was conducted in 2012 in three areas of Belo Horizonte, with different intervention times by SCP-VL (Intervention area 2006: IA2006, intervention area: IA2008 and intervention area: IA2010).

In the cross-sectional design 891 children were evaluated. Prevalence rates by ELISA-rK39 in the IA2006, IA2008 and IA2010 were respectively 23.7% (95% CI 19.1 to 28.9), 25.6% (95% CI 21.1 to 30.7) and 17.0 (95% CI 13.1 to 21.8). When compared with prevalence rates estimated at 2010 by Morais. (2011), the prevalence rates of asymptomatic infection increased 83.7% in the area with greater intervention time (IA2006), 74.1% in the area with intermediate intervention time (IA2008) and decreased 5% in the control area, with shorter intervention time (IA2010).

In the cohort, 478 children with *L. infantum* negative serological tests in 2010 (Morais, 2011) were followed. The crude incidence rates were 14.4% in the IA2006, 21.1% and 11.6% IA2008 in the control area, IA2010. The person-time incidence rates were respectively 6.2; 10 and 5.6 / 100 people in 24 months of follow-up in IA2006, IA2008 and IA2010. The analyzes were developed using multilevel logistic regression (odds ratio) for the cross-sectional design and Poisson regression (IRR - incidence ratio) for the cohort design. The infection odds increased in IA2008 (OR = 1.84, 95% CI 1.06 to 3.23) and a higher infection incidence ratio (IRR = 1.76, 95% ; CI 1.05 to 2.95) was found compared to the control area, IA2010. In IA2006 there were no statistical differences between the infection odds (OR = 1.68; 95% ; CI = 0.94- 2.98) and incidence ratio of infection (IRR = 1.18, 95% ; CI 0.65 to 2.14) when compared to IA2010. The results showed that the intervention times and PVC-LV strategies were non effective in reducing asymptomatic infection rates in the studied areas. Even observing slight reduction at infection rates in the control area, IA2010, the circulation and transmission of the parasite were maintained at high levels in all the study areas. It was observed that nobody developed clinical signs or symptoms, which suggests that asymptomatic infection is a good marker for the parasite

circulation but is not associated with human disease. The asymptomatic infection by *L. infantum* was associated with child's age, family socioeconomic status, education of household and presence of trees in the neighborhood. The infection occurrence in at least one child at home was associated with the family socioeconomic status and the presence of trees in the neighborhood .

RESUMO	XII
ABSTRACT	XIV
1-INTRODUÇÃO	1
2-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1. LEISHMANIOSE VISCERAL	2
2.2. EPIDEMIOLOGIA E URBANIZAÇÃO DA LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA (LVH)	4
2.3. INFECÇÃO ASSINTOMÁTICA POR <i>L. INFANTUM</i>	8
2.4. DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO POR <i>L. INFANTUM</i> NO HOMEM	10
2.5. FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR <i>L. INFANTUM</i>	12
2.6. PROGRAMA DE VIGILÂNCIA E CONTROLE DA LEISHMANIOSE VISCERAL (PVC-LV) NO BRASIL E EM BELO HORIZONTE	15
2.7. AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE DAS ESTRATÉGIAS DO PVC-LV NO BRASIL	23
2.8. INDICADORES E DESENHOS EPIDEMIOLÓGICOS PARA AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE DAS ESTRATÉGIAS DO PVC-LV	28
3. JUSTIFICATIVA	30
4. OBJETIVO GERAL	31
5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
6. MATERIAL E MÉTODOS	32
6.1. ÁREAS DE ESTUDO	32
6.2. DELINEAMENTO DO ESTUDO	35
6.3. AMOSTRA	37
6.4. COLETA DE DADOS E DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS	37
6.5. EXAMES SOROLÓGICOS ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY (ELISA)	38
6.6. ENSAIOS DE QPCR – ETAPA DE AVALIAÇÃO DO CURSO DA INFECÇÃO POR <i>L. INFANTUM</i>	41
6.7. AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE DAS ESTRATÉGIAS DE CONTROLE SOBRE A TRANSMISSÃO DE <i>L. INFANTUM</i> NAS ÁREAS DE INTERVENÇÃO	42
6.8. ANÁLISE DOS FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO ASSINTOMÁTICA POR <i>L. INFANTUM</i>	44
7. RESULTADOS	45
7.1. POPULAÇÃO ESTUDADA	45
7.2. INFECÇÃO ASSINTOMÁTICA: ESTIMATIVAS DE PREVALÊNCIA E INCIDÊNCIA	48
7.3. AVALIAÇÃO DO CURSO DA INFECÇÃO ASSINTOMÁTICA POR <i>L. INFANTUM</i> DIAGNOSTICADA POR ELISA-RK39	53
7.4. ANÁLISE DE PREVALÊNCIA	55
7.5. ANÁLISE DE INCIDÊNCIA	59
7.6. AVALIAÇÃO DOS FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR <i>L. INFANTUM</i>	64
8. DISCUSSÃO	67
8.1. CONSIDERAÇÕES METODOLÓGICAS	69
8.1.1. VÍCIOS DE SELEÇÃO DAS ÁREAS	69
8.1.2. VÍCIOS DE INFORMAÇÃO	69
8.1.3. CONSIDERAÇÕES SOBRE O DELINEAMENTO DO ESTUDO	70
8.1.4. AMOSTRA DE CRIANÇAS	71
8.1.5. SELEÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO	71
8.1.6. COLETA DE DADOS	72

8.1.7. ANÁLISE DE PERDAS	73
8.1.8. DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO ASSINTOMÁTICA POR <i>L. INFANTUM</i>	73
8.2. AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE DO PVC-LV	75
8.3. AVALIAÇÃO DO CURSO DA INFECÇÃO ASSINTOMÁTICA POR <i>L. INFANTUM</i>	82
8.4. FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO ASSINTOMÁTICA RECENTE POR <i>L. INFANTUM</i>	83
9. CONCLUSÕES.....	86
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87
11. ANEXOS	100
ANEXO 1- PARECER COEP UFMG 2013.....	100
ANEXO 2-TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO(TCLE)-ESTUDO QUASE EXPERIMENTALII – CRIANÇAS E MENORES DE 18 ANOS.....	101
ANEXO 3- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO (TCLE) – AVALIAÇÃO DO CURSO DA INFECÇÃO. CRIANÇAS E MENORES DE 18 ANOS	105
ANEXO 4 - TERMO DE ASSENTIMENTO DO MENOR	108
ANEXO 5 - MANUAL DE APLICAÇÃO DO QUESTIONÁRIO	110
ANEXO 6 - QUESTIONÁRIO	123
ANEXO 7 - CRITÉRIO DE CLASSIFICAÇÃO ECONÔMICA BRASIL (CCEB): SISTEMA DE PONTOS:	131
ANEXO 8 - TABELA COMPLEMENTAR: ANÁLISE DESCRITIVA COMPLETA DAS CARACTERÍSTICAS DAS FAMÍLIAS, DAS CRIANÇAS PARTICIPANTES, DAS RESIDÊNCIAS, DA VIZIHANÇA, DO RESERVATÓRIO E DO VETOR. DELINEAMENTO TRANSVERSAL DO ESTUDO QUASE EXPERIMENTAL II.....	133
ANEXO 9 - TABELA COMPLEMENTAR: ANÁLISE DESCRITIVA COMPLETA DAS CARACTERÍSTICAS DAS FAMÍLIAS, DAS CRIANÇAS PARTICIPANTES, DAS RESIDÊNCIAS, DA VIZIHANÇA, DO RESERVATÓRIO E DO VETOR. DELINEAMENTO DE COORTE DO ESTUDO QUASE EXPERIMENTAL II.....	137
ANEXO 10 - MODELOS FINAIS PARA ANÁLISE DE EFETIVIDADE DO PVC-LV NAS ÁREAS: ANÁLISES UNIVARIADAS E MODELOS MULTIVARIADOS DOS DELINEAMENTOS TRANSVERSAL E COORTE, COM AS VARIÁVEIS DE AJUSTAMENTO	141
ANEXO 11- FICHA DE INVESTIGAÇÃO – INVESTIGAÇÃO DE LEISHMANIOSE VISCERAL EM PACIENTES ASSINTOMÁTICOS	142
ANEXO 12 - FICHA DE INVESTIGAÇÃO – INVESTIGAÇÃO DE LEISHMANIOSE VISCERAL EM PACIENTES ASSINTOMÁTICOS.....	145

1-Introdução

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença negligenciada, que atinge em torno de 200 mil a 400 mil pessoas anualmente em todo o mundo (WHO, 2015). No Brasil o agente etiológico é a *Leishmania (leishmania) infantum*, transmitida principalmente por flebotomíneos da espécie *Lutzomyia longipalpis* [Lutz & Neiva, 1912] e os reservatórios urbanos são os cães domésticos (LAINSON & SHAW, 1978; SILVA *et al.*, 2001).

No Brasil, a partir da década de 1980, houve uma mudança no perfil epidemiológico da doença. A LV deixou de ser caracterizada como uma doença predominantemente rural e estabeleceu-se no meio urbano (ARIAS *et al.*, 1996; MS, 2006). A introdução e dispersão de *L. infantum* em áreas urbanas está associada a múltiplas condições com complexas interações, entre elas: as alterações ambientais, os movimentos migratórios, a ocupação desordenada da periferia da cidade, a alta densidade das populações humana e canina e as condições inadequadas de vida da população (COSTA *et al.*, 2007; WERNECK *et al.*, 2008).

Belo Horizonte é um dos municípios brasileiros com alta densidade populacional, que apresenta maior letalidade por LV (PBH, 2015). O primeiro caso autóctone de LV em Belo Horizonte foi confirmado em 1994 e desde então, houve investimento na estruturação do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVC-LV), com início das atividades como inquérito sorológico censitário canino (ISCC) e controle químico vetorial (FIUZA *et al.*, 2008). Atualmente, para tentar controlar a expansão da doença, o PVC-LV inclui medidas como: diagnóstico precoce e tratamento dos casos humanos, identificação e eutanásia de cães infectados, controle vetorial e educação em saúde (MS, 2006).

Tem sido demonstrado em diversos estudos epidemiológicos em áreas endêmicas de LV, grande contingente de indivíduos com infecção assintomática por *L. infantum* (CALDAS *et al.*, 2001; CALDAS *et al.*, 2002; NASCIMENTO *et al.*, 2005; MORENO *et al.*, 2006; MOURA *et al.*, 2012; MARQUES *et al.*, 2012). A estimativa das taxas de prevalência e de incidência e a distribuição espacial de crianças com infecção assintomática parecem ser boas estratégias para conhecimento da circulação recente do parasito, avaliar a transmissão recente e auxiliar na avaliação da efetividade das estratégias

de controle adotadas (COSTA *et al.*, 2002; SOUZA *et al.*, 2008; ROMERO *et al.*, 2009; MARQUES *et al.*, 2012).

No Brasil, são escassos os estudos conduzidos com a finalidade de avaliar a efetividade das estratégias do PVC-LV em áreas endêmicas para LV (ASHFORD *et al.*, 1998; OLIVEIRA & ARAÚJO, 2003; SOUZA *et al.*, 2008; COSTA *et al.*, 2007; WERNECK *et al.*, 2008; RIBAS *et al.*, 2013; WERNECK *et al.*, 2014). Os poucos estudos realizados com esse objetivo, são ensaios comunitários, que utilizam intervenções experimentais para comparar, por exemplo, áreas que receberam diferentes tipos de intervenção, como controle químico dirigido ao vetor, controle do reservatório canino, controle do reservatório canino associado ao controle químico do vetor e áreas controle que não receberam intervenções (COSTA *et al.*, 2007; WERNECK *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2008; WERNECK *et al.*, 2014).

Avaliação da efetividade do PVC-LV da forma que é conduzida na rotina do serviço teve início em Belo Horizonte em 2009 (MORAIS, 2011). Áreas com diferentes históricos e tempos de intervenção do PVC-LV foram comparadas por meio de um estudo quase-experimental. Foi demonstrada menor prevalência de infecção em crianças residentes na área com maior tempo de intervenção pelo PVC-LV quando comparada a área controle (MORAIS, 2011).

O presente estudo é a continuidade do trabalho iniciado em 2009 por Morais (2011). Tem como objetivo avaliar em estudo quase experimental, a efetividade das estratégias de controle do PVC-LV sobre a infecção assintomática, por meio de nova estimativa da taxa de prevalência da infecção em um delineamento transversal e da taxa de incidência em uma coorte de crianças. Além disso, avaliar fatores individuais e contextuais potencialmente associados à infecção assintomática por *L.infantum*.

2-Revisão Bibliográfica

2.1. Leishmaniose Visceral

A leishmaniose visceral (LV) faz parte de um grupo de doenças parasitárias, causadas por parasitos da Ordem Kinetoplastida, Família Trypanosomatidae, gênero *Leishmania*, ROSS, 1903. São descritos dois padrões epidemiológicos da doença no mundo. No sul da Ásia e na África subsaariana, a LV é uma antroponose, cujo agente etiológico é a

Leishmania (Leishmania) donovani, transmitida por vetores do gênero *Phlebotomus* (PEARSON *et al.*, 1996; WHO, 2015). Na Europa e nas Américas a LV é uma zoonose, cujo agente etiológico é a *Leishmania (Leishmania) infantum*, transmitida por vetores do gênero *Phlebotomus e Lutzomyia* (DEANE, 1958). No Brasil, a leishmaniose visceral americana (LVA) tem como vetores, flebotomíneos da espécie *Lutzomyia longipalpis* [LUTZ & NEIVA, 1912], que é considerado o flebotomíneo com maior grau de adaptação aos ambientes urbanos modificados pelo homem (RANGEL *et al.*, 2008). O *Lutzomyia longipalpis* adapta-se facilmente às condições peridomiciliares e intradomiciliares (YOUNG *et al.*, 1992, RANGEL *et al.*, 2008). Este flebotomíneo tem hábito alimentar oportunista e faz seu repasto sanguíneo também em humanos, principalmente durante o período crepuscular noturno (ARIAS *et al.*, 1996). O *Lutzomyia cruzi* também foi identificado em focos de transmissão no país (MS, 2006).

Os reservatórios da LVA pertencem a um grupo específico de mamíferos da família *Canidae*, sobretudo cães, raposas e lobos, podendo ainda envolver outros animais como reservatórios secundários, por exemplo, marsupiais e roedores. No meio urbano, os cães são considerados os principais reservatórios do parasito, exercendo um papel central no ciclo de transmissão da doença para humanos e na manutenção do parasito nos focos endêmicos (LAINSON & SHAW, 1978; SILVA *et al.*, 2001) Os cães e raposas podem apresentar intenso parasitismo cutâneo, que permite infecção dos flebotomíneos (DEANE & DEANE, 1954). No entanto, até o momento não há concordância entre os pesquisadores de que a LVC esteja associado à ocorrência de LVH. Esta questão necessita maiores estudos para ser inteiramente esclarecida (GONTIJO & MELO, 2004; DIETZE *et al.*, 1997, COSTA & VIEIRA, 2001). Enquanto alguns autores demonstram que a retirada sistemática de cães soropositivos leva a diminuição da incidência da doença em humanos (ASHFORD *et al.*, 1996) e que as áreas com maiores taxas de incidência de leishmaniose visceral humana (LVH), geralmente coincidem com aquelas que apresentam maior prevalência de leishmaniose visceral canina (LVC) (OLIVEIRA *et al.*, 2001; WERNECK, 2002), outros autores não encontraram nenhuma associação significativa entre retirada de cães e redução nas taxas de incidência de LVH (DIETZE *et al.*, 1997; RIBAS *et al.*, 2013). Provavelmente existem outras fontes de infecção. Embora seja questionável, alguns autores mencionam a possibilidade de que o homem esteja envolvido no ciclo de transmissão

(BADARÓ *et al.*, 1994; NASCIMENTO *et al.*, 1996), no entanto, o impacto desses achados sobre a transmissão da doença no contexto urbano é desconhecido.

A LV é considerada doença negligenciada (WHO, 2015) e nos países endêmicos, não há investimento do setor privado no desenvolvimento de métodos mais eficientes de diagnóstico, nem tampouco da indústria farmacêutica no desenvolvimento de novos fármacos para tratamento. O setor público, apesar dos recursos escassos e infraestrutura inadequada e precária, é o órgão que concentra maior investimento no tratamento, diagnóstico e controle da LV. Devido à expansão da doença e o aumento do número de casos, dentre as doenças tropicais, a LV passou a ser considerada prioridade pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2015).

2.2. Epidemiologia e urbanização da Leishmaniose Visceral Humana (LVH)

A LV é um grave problema de saúde pública. Estima-se que 200 a 400 mil novos casos ocorram no mundo a cada ano (WHO, 2015). Aproximadamente 90% dos casos ocorrem em 6 países: Índia, Bangladesh, Nepal, Etiópia, Sudão e Brasil (WHO, 2015). Nas Américas, aproximadamente 90% dos casos de leishmaniose visceral ocorrem no Brasil (MS, 2006) (Figura 1). O registro do primeiro caso da doença no Brasil ocorreu em 1913, em material de necropsia de paciente proveniente de Boa Esperança, Mato Grosso (ALENCAR *et al.*, 1991).

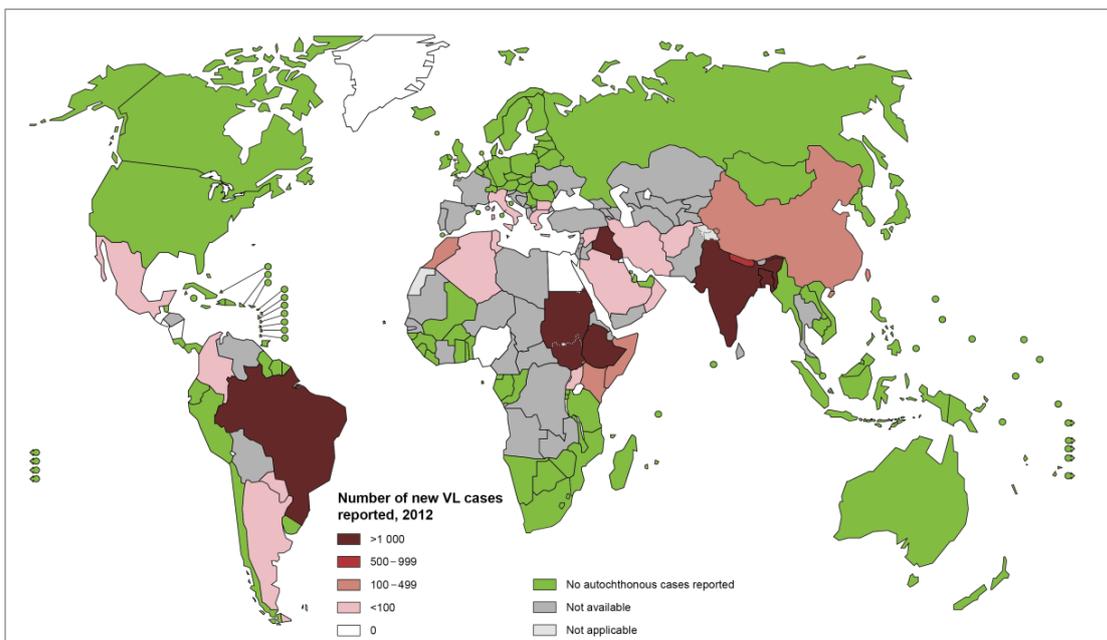


Figura 1: Distribuição geográfica da Leishmaniose visceral no mundo (Fonte: WHO, 2013).

A LVA é zoonose de grande relevância para a saúde pública devido à sua urbanização, expansão geográfica e alta letalidade. A partir da década de 1980, houve mudança no padrão epidemiológico de transmissão da LV no Brasil. A doença tradicionalmente relatada nas áreas rurais, com ocorrência focal em paisagens de pé de serra e boqueirões, estabeleceu-se no meio urbano (ALVIM *et al.*, 1986; COSTA *et al.*, 1990; MS, 2006). Anteriormente predominava em áreas pobres do Nordeste e nas últimas décadas expandiu para as cidades de médio e grande porte (ARIAS *et al.*, 1996; STEINDEL *et al.*, 2013). A transmissão tem sido descrita em centros urbanos como Belo Horizonte (MG), Rio de Janeiro (RJ), Corumbá (MS), Araçatuba (SP), Palmas (TO), Três Lagoas (MS), Campo Grande (MS), entre outros. Está registrada em 19 das 27 Unidades da Federação e apresenta transmissão autóctone em aproximadamente 1.600 municípios (MS, 2006; SBMT, 2011).

Na Região Metropolitana de Belo Horizonte, o primeiro caso autóctone de LV confirmado foi em 1989, no município de Sabará. Em Belo Horizonte, o primeiro caso de LV foi confirmado em 1994, na região Leste do município. Desde então, houve rápida disseminação da doença, com registros de casos nas regiões limítrofes. Atualmente a LV ocorre em todas as regiões da cidade (OLIVEIRA *et al.*, 2001; SMSA, 2006; PBH, 2015). A urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte é preocupante, principalmente por tratar-se de município com alta densidade populacional, o que expõe grande número de pessoas ao risco de infecção (NASCIMENTO *et al.*, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2008; ARAUJO *et al.*, 2013). Belo Horizonte é um dos municípios brasileiros com alta densidade populacional que apresenta uma das maiores taxas de letalidade do país (média de 15% entre os anos de 2005 e 2014) (PBH, 2015) (Figura 2). Entretanto, é um dos que mais investe em ações de controle e prevenção da doença (PBH, 2015). No período de 1994 a 2015, foram confirmados 1.662 casos da doença. É importante ressaltar, que nos últimos anos, a ocorrência de casos de LVH diminuiu gradativamente em todas as regiões do município (Tabela 1) (PBH, 2015).

Tabela 1: Casos de LVH ocorridos em Belo Horizonte, por região de residência (Barreiro, Centro Sul, Leste, Nordeste, Noroeste, Norte, Oeste, Pampulha e Venda Nova).

REGIÃO	1994 – 2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013*	2014	2015*	TOTAL
BARREIRO	7	1	3	2	6	6	9	5	11	13	18	10	6	5	3	1	106
CENTRO SUL	19	1	3	6	5	6	3	5	8	7	2	6	2	2	2	0	77
LESTE	78	3	8	10	16	12	9	13	15	9	14	12	8	8	2	2	219
NORDESTE	86	15	17	12	24	14	23	21	42	15	27	11	7	5	6	0	325
NOROESTE	21	6	9	17	24	17	30	22	28	25	15	11	10	2	5	0	242
NORTE	33	11	12	25	22	20	14	12	13	20	11	10	7	2	6	0	218
OESTE	9	3	3	3	10	11	10	7	9	15	15	7	5	6	4	0	117
PAMPULHA	5	8	5	11	6	10	3	6	5	8	10	5	2	5	2	0	91
VENDA NOVA	10	9	17	16	21	13	24	17	26	24	13	16	5	2	6	1	220
INDETERMINADO	4	0	0	1	0	1	3	2	4	10	6	5	4	5	2	0	47
TOTAL	272	57	77	103	134	110	128	110	161	146	131	93	56	42	38	4	1662

Fonte: Gerência de Epidemiologia / GVSI/ SMSA. *Dados parciais: 03/2015

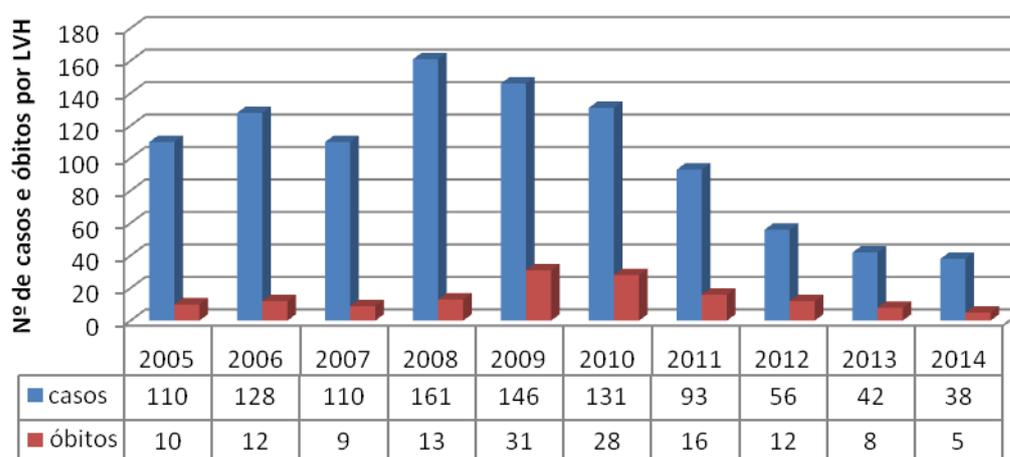


Figura 2: Casos de LVH e óbitos ocorridos em Belo Horizonte no período de 2005 a 2014.

Os fatores que explicam a urbanização da LVA são aqueles que favorecem o contato entre os vetores e os seres humanos. No entanto, estes fatores não são suficientes para afirmar que o padrão epidemiológico mudou ao ponto de ter como inferência, que há especificidade para a transmissão urbana, em oposição ao que ocorre nos nichos de transmissão rural. A urbanização da LVA pode ter ocorrido devido às alterações tais como, mudanças no grau de antropofilia do vetor, aumento de virulência do parasito, desenvolvimento de resistência do vetor a inseticidas, ou até mesmo pela hipótese de uma transmissão homem a homem para a manutenção dos níveis endêmicos. No entanto, esta questão parece não ter sido explorada sistematicamente, por isso, é ainda concebível que a urbanização da LVA não tenha produzido modificações epidemiológicas relevantes na

história natural da infecção. As condições ecológicas tipicamente rurais parecem apenas ter sido transferidas para as cidades (WERNECK, 2008b).

A introdução e a dispersão de *L. infantum* em áreas urbanas estão associadas a diversos fatores ambientais, sociais, econômicos e sanitários que interagem entre si. Os movimentos migratórios do campo para as cidades causaram alterações ambientais e levaram à ocupação desordenada das periferias das cidades. Fatores como alta densidade das populações humana e canina, saneamento precário e condições inadequadas de habitação, também estão relacionados ao processo de dispersão da doença (COSTA *et al.*, 1990; COSTA *et al.*, 2007; WERNECK, 2008b). O processo migratório por sua vez, trouxe para a periferia das cidades, cães originários de áreas endêmicas, que contribuíram para a disseminação da doença no meio urbano (BARATA *et al.*, 2005). Possivelmente, o desmatamento ocasionado pela expansão das cidades, reduziu a disponibilidade dos animais que são fonte de alimentação para o vetor, tornando o cão e o homem, fontes mais acessíveis (BARATA *et al.*, 2005). Existe a hipótese de que a transmissão no ambiente urbano seja heterogênea, uma vez que os variados cenários de transmissão oriundos das diferenças intra-urbanas apresentam maior ou menor semelhança com o padrão rural, formando um mosaico de realidades sociais, culturais e ambientais (WERNECK, 2008b; ARAUJO *et al.*, 2013).

A presença do *Lutzomyia longipalpis* tem sido registrada em diferentes nichos ecológicos, desde os peridomicílios rurais até urbanos. A característica do ciclo biológico do *L. longipalpis*, com criadouro em matéria orgânica, dificulta o controle vetorial e favorece sua adaptação no ambiente domiciliar e peridomiciliar (SANTOS *et al.*, 1998). No Município de Raposa no Maranhão, o estudo que avaliou a taxa de infecção natural por *Leishmania sp* em flebotomíneos, por meio de reação em cadeia polimerase (PCR), mostrou que todos os flebotomíneos infectados foram encontrados no peridomicílio (FELIPE *et al.*, 2001). A mudança de hábito e a capacidade de adaptação do vetor são fatores que contribuem para aumentar a transmissão da LV no meio urbano (BARATA *et al.*, 2005).

A combinação de modelos multiníveis, métodos estatísticos para a análise de dados espaço-temporal, sistemas de informação geográfica e imagens de sensoriamento remoto pode ajudar a lidar com o desafio de compreender um problema complexo, relativamente recente, que é a introdução, propagação e manutenção da leishmaniose visceral no

ambiente urbano, exige abordagens analíticas, que considerem a estrutura intrínseca das variáveis (WERNECK, 2008b).

2.3. Infecção assintomática por *L. infantum*

Diversos estudos epidemiológicos em áreas endêmicas de LVA têm demonstrado grande número de indivíduos infectados com *L. infantum* sem manifestações clínicas da doença (BADARÓ *et al.*, 1986; CALDAS *et al.*, 2001; CALDAS *et al.*, 2002; NASCIMENTO *et al.*, 2005; MORENO *et al.*, 2006; BARÃO *et al.*, 2007; De GOUVEA *et al.*, 2008; FELIPE *et al.*, 2011; MORAIS, 2011; CARNEIRO *et al.*, 2011; MOURA *et al.*, 2012; MARQUES *et al.*, 2012). Sabe-se que a ocorrência da infecção assintomática por *L. infantum* excede consideravelmente a ocorrência de adoecimento por LV. Segundo Badaró *et al.* (1986), para cada caso clínico de LV há pelo menos 18,5 indivíduos com infecção assintomática e em áreas de alta prevalência, para cada 6,5 assintomáticos tem-se um doente. No Município de Raposo, Maranhão, a relação infecção doença foi de 119:1 segundo o teste de IDRМ e 28:1 de acordo com ELISA em estudo realizado com crianças na faixa etária de 0 a 5 anos (CALDAS *et al.*, 2001).

Não se sabe ao certo o significado destes indivíduos na epidemiologia da doença, no entanto a infecção assintomática é indicador usado em estudos epidemiológicos para conhecimento das taxas de transmissão de *L. infantum* e avaliação da efetividade das estratégias de controle sobre a transmissão do parasito (COSTA *et al.*, 2007; WERNECK *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2008; WERNECK *et al.*, 2014).

Estudos que demonstraram estimativas de altas taxas de prevalência e incidência da infecção assintomática por *L. infantum* em diferentes regiões do país, são brevemente descritos nesse tópico.

No Município de São José de Ribamar, Maranhão, Brasil, de junho de 1994 a janeiro de 1995, a prevalência de infecção por *L. infantum* em 1.520 indivíduos menores de 15 anos foi de 61,7% pela Intradermorreação de Montenegro (IDRM), 19,4% pelo Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA-rK39) e 19,7% pelo ELISA-CRUDE (NASCIMENTO *et al.*, 2005). No município de Raposa, na ilha de São Luís, Estado do Maranhão, Brasil, a prevalência inicial em 1997, a prevalência final em 1998 e a incidência da infecção por *L. infantum* em crianças de 0-5 anos, foram respectivamente 18,6%, 20,6% e 10,8% pelo IDRM, e 13,5%, 34,4% e 28% pelo ELISA com antígeno de *L. amazonensis* (CALDAS *et al.*, 2001). Ainda em Raposa, estimou-se 18,9% de prevalência da infecção

assintomática por *L. infantum*, diagnosticada por meio de ELISA no soro de indivíduos adultos (FELIPE *et al.*, 2011). No estudo de Moura *et al.* (2012), conduzido na Ilha de São Luiz, Maranhão, Brasil, a prevalência da infecção assintomática por *L. infantum* em humanos foi de 9,7% quando estimada por ELISA e 71,3% quando estimada por IDR. Em Araçatuba a prevalência estimada para a infecção assintomática por *L. infantum*, detectada por meio de teste imunocromatográfico foi de 18,4% na área que apresenta maior número de casos de LVH e baixo nível socioeconômico e de 4,8% na área com melhor condição socioeconômica e menor número de casos da doença (BARÃO *et al.*, 2007). Em Sabará, Minas Gerais, região Sudeste do Brasil, as taxas de prevalência de infecção por *L. infantum*, estimadas em uma amostra de 1.604 habitantes, variaram entre 2,4 e 5,6%, dependendo do teste utilizado (reação de imunofluorescência indireta (RIFI), ELISA e teste de fita imunocromatográfico) (MORENO *et al.*, 2006).

Estudo conduzido entre 2009 e 2010, em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, estimou a prevalência da infecção assintomática por *L. infantum* em 1.875 crianças de zero a sete anos de idade. Os resultados dos ensaios sorológicos realizados no estudo de base mostraram que, das crianças avaliadas, 52 (2,8%; 95% CI 2,1-3,6) apresentaram amostras reativas para ELISA antígeno solúvel (ELISA-AgS), e 280 (14,9%; 95% IC 13,4-16,6) apresentaram amostras reativas para ELISA-rk39, totalizando 317 crianças com resultados positivos em pelo menos uma das técnicas sorológicas. A taxa de prevalência geral foi 18,9% (IC 95% 15,3-18,7), considerando crianças com amostras reagentes nos dois testes (MORAIS, 2011). Esse trabalho, serviu como linha de base para o presente estudo e para o estudo de Marques *et al.* (2012), que quantificou a carga parasitária por qPCR nas amostras de indivíduos com infecção assintomática e estimou prevalência de 13,9%, levando em consideração a amostra total de 1875 crianças.

É importante ressaltar que as altas taxas de infecção detectadas nos diversos trabalhos, revelam um grande contingente de indivíduos com resistência imunológica celular para a infecção por *L. infantum*, ou seja, os resultados indicam que muitos indivíduos infectados em uma área endêmica são resistentes à doença (BARBOSA, 2010). Isso pode sugerir, que repetidas infecções são comuns nas áreas endêmicas, levando ao desenvolvimento da imunidade celular e resistência à doença (CRESCENTE *et al.*, 2009).

De modo geral, observa-se nos estudos, ausência de sinais ou sintomas clínicos de LV após longos períodos de acompanhamento de indivíduos infectados por *L. infantum*

(COSTA *et al.*, 2002; FAKHAR *et al.*, 2008; CARNEIRO *et al.*, 2011; MARQUES *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2013). No estudo de Marques *et al.* (2012), em Belo Horizonte, 22,1% das crianças apresentaram resultados de qPCR positivos no início do estudo, mas apenas 5,0% mantiveram-se positivas após um ano de seguimento. Segundo os autores, este resultado leva a inferir que a infecção assintomática pode ser autorregulada, com o aclaramento parcial ou total de parasitas. Entretanto, deve-se considerar que nas áreas urbanas, a ocorrência de infecções subclínicas ocasionadas pela exposição permanente do homem às picadas infectantes é preocupante, pois há em paralelo, a circulação do vírus HIV, o que pode ocasionar co-infecção com *L. infantum* (DEDET *et al.*, 2000).

2.4. Diagnóstico da infecção por *L. infantum* no homem

Os testes de diagnóstico da infecção por *L. infantum* são ferramentas para identificar as áreas de transmissão. Embora os cães sejam os principais reservatórios de *L. infantum* em áreas urbanas, a prevalência de humanos portadores assintomáticos do parasito pode servir como um indicador de expansão e manutenção de transmissão (COSTA *et al.*, 2002; RIERA *et al.*, 2004; ROMERO *et al.*, 2009). O diagnóstico de infecção assintomática por *L. infantum* tem assumido crescente importância nos últimos anos. Ademais, a identificação da infecção poderia auxiliar na avaliação da efetividade das medidas de controle (SILVA *et al.*, 2013).

Uma importante limitação na condução de estudos epidemiológicos em humanos é a dificuldade em diagnosticar a infecção assintomática por *L. infantum*, devido aos baixos níveis de anticorpos circulantes e a reduzida carga parasitária (PIARROUX *et al.*, 1993; MORENO *et al.*, 2009; RIERA *et al.*, 2004). O método de ELISA é o mais utilizado atualmente em estudos epidemiológicos para triagem da infecção por *L. infantum*, principalmente quando um número grande de indivíduos é amostrado. No entanto, vários estudos têm demonstrado que o teste de ELISA é mais adequado para diagnosticar a infecção em pessoas que apresentam sinais e sintomas clínicos de LVH. É uma técnica sensível, no entanto é pouco precisa na detecção de casos subclínicos ou assintomáticos. Quando utilizada em inquéritos epidemiológicos, grande número de assintomáticos é passível de ser desconsiderado, e a real ocorrência da infecção pode ser subestimada (MORENO *et al.*, 2009).

Geralmente os antígenos utilizados nos testes sorológicos, são antígenos brutos ou também chamados de antígeno solúvel (AgS), derivados de promastigotas de cultura,

parasitas intactos ou moléculas solúveis. Estes antígenos apresentam reações cruzadas principalmente com outras espécies de parasitos da família Trypanosomatidae, pacientes com malária, tuberculose e toxoplasmose (BRAY, 1976). Uma alternativa aos AgS são os antígenos recombinantes. Entre eles, o antígeno recombinante rK39, muito utilizado em estudos no Brasil (ROMERO *et al.*, 2009; NASCIMENTO *et al.*, 2005; MORENO *et al.*, 2005; MORENO *et al.*, 2009; MARQUES *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2013), que é específico para as espécies do complexo *L. donovani* (BADARÓ *et al.*, 1996). No estudo de Badaró *et al.* (1996), foram observadas sensibilidade de 99% e especificidade de 100%. Meta-análise realizada por Chappuis *et al.* (2006) estimou sensibilidade e especificidade do antígeno rk39 respectivamente de 93% (IC95% 87-97,1) e 90,6% (IC95% 66,8-97,9).

As técnicas moleculares não são os métodos de escolha para triagem, mas têm sido considerados complementares na detecção de assintomáticos (MARQUES *et al.*, 2012). Geralmente os resultados entre as técnicas sorológicas e moleculares têm baixa concordância (MORENO *et al.*, 2009, MARQUES *et al.*, 2012., ORSINI *et al.*, 2012). A discordância entre resultados pode ocorrer, pois além da dificuldade de diagnosticar a infecção assintomática, estas técnicas são baseadas em diferentes parâmetros para detecção de infecção: anticorpos e DNA genômico (MARQUES *et al.*, 2012).

Várias publicações comparam e/ou discutem o desempenho de diferentes métodos de diagnóstico para a infecção assintomática por *L. infantum*.

Em Sabará, MG, observou-se discordância entre resultados dos testes ELISA-AgS e ELISA-rK39, RIFI e teste imunocromatográfico com antígeno rK39 (TRALd), encontrando estimativas de prevalência da infecção assintomática, que variaram entre 1,1 a 11,9%, dependendo do critério adotado (MORENO *et al.*, 2006).

Avaliação da prevalência de infecção assintomática, por meio das técnicas de ELISA-AgS e ELISA-rK39, além da intradermoreação de Montenegro foi realizada em 1520 crianças menores de 15 anos, no Maranhão. Os resultados mostraram prevalências similares para os dois antígenos utilizados na técnica de ELISA sendo de 19,4% para rk39 e 19,7% para AgS (NASCIMENTO *et al.*, 2005).

Romero *et al.* (2009) avaliaram técnicas utilizadas para diagnóstico da infecção assintomática por *L. Infantum*: ELISA com antígeno de promastigotas (ELISAp); ELISA com antígenos recombinantes k39 (ELISA-rK39) e rk26 (ELISArk26); teste de imunofluorescência indireta com antígeno de formas promastigotas de *Leishmania (L.)*

amazonensis (RIFI) e teste imunocromatográfico com antígeno rK39 (TRALd). Os autores concluíram que, devido às diferenças na positividade dos testes utilizados, juntamente com a baixa concordância entre os resultados, não é possível selecionar o melhor teste para o diagnóstico de infecção assintomática por *L. infantum*. O melhor desempenho para diagnósticos de casos clínicos de LVH foi obtido pelas técnicas de RIFI e TRALd. Maiores sensibilidade (69%) e especificidade (100%) foram obtidas com ELISA utilizando antígenos recombinantes.

Marques *et al.* (2012) empregaram o diagnóstico molecular para estimar a infecção assintomática por *L. infantum* por meio de qPCR em estudo conduzido em Belo Horizonte em 2009. O primeiro conjunto de ensaios de qPCR foi realizado em amostras de sangue de 559 crianças coletadas em papel filtro. Destas amostras, 317 testaram reagentes em pelo menos um teste sorológico no estudo transversal realizado em 2009 e 242 foram amostras com resultados negativos, selecionadas aleatoriamente. A qPCR identificou 82 amostras infectadas. Destas, 49 (59,8%) apresentaram sorologia reagente e 33 (40,2%) apresentaram sorologia negativa. Após 12 meses do início da coorte, que avaliou 199 crianças, os teste qPCR em amostras de sangue total coletadas produziram os seguintes resultados: de 44 (22,1%) crianças com resultados de qPCR positivos no início do estudo, apenas 10 (5,0%) mantiveram-se positivas, e 34 (17,1%) tornaram-se negativas. De 155 (77,9%) crianças, com resultados negativos na qPCR, 131 (65,8%) mantiveram-se negativas, e 24 (12,1%), tornaram-se positivas. Observou-se que o sangue periférico de crianças assintomáticas tinha uma quantidade baixa e flutuante de DNA de *Leishmania*. Além disso, observou-se uma diminuição significativa na parasitemia após um ano de seguimento. Silva *et al.* (2013), em estudo para o diagnóstico de infecção assintomática por *Leishmania* em área endêmica de LV, observaram que não houve concordância entre o resultado da PCR, dos exames sorológicos e do teste cutâneo.

2.5. Fatores associados à infecção por *L. infantum*

Muitos fatores de risco para a infecção por *L. infantum* são apontados pela literatura, porém existem lacunas a serem preenchidas, que estão associadas à própria complexidade epidemiológica do desfecho e na ausência de estudos que procurem identificar de forma mais específica situações e atitudes de risco nas áreas urbanas, acrescida da quantificação do peso de cada condição, isolada ou em conjunto.

Segundo Werneck *et al.* (2008), os variados cenários de transmissão oriundos das diferenças intra-urbanas apresentam maior ou menor semelhança com o padrão rural, formando um verdadeiro mosaico de realidades sócio cultural ambiental, que incidem na dinâmica da doença. Estes fatores favorecem o contato entre seres humanos, vetores e outros animais.

Alguns estudos conduzidos em regiões distintas do Brasil apontam fatores semelhantes associados à infecção por *L. infantum*. Alguns são apontados como fatores de risco em determinados estudos e como fatores de proteção em outros. A seguir são apresentados estudos que discutem fatores associados à infecção assintomática.

Em estudo prospectivo realizado em crianças de zero a cinco anos no município de Raposa, na ilha de São Luís, Maranhão, utilizando regressão de Cox, a infecção por *L. infantum* foi associada com a idade da criança (≥ 2 anos), a localização das habitações (Vila Nova) e relato de parentes com LVH. Banhar-se fora da casa e brincar ao ar livre 18:00-20:00 horas foram identificados como fatores de risco em algumas análises, mas não em outras. Presença de flebotomíneos no intra e peridomicílio e animais como cães ou galinhas em casa ou na vizinhança apareceram como fatores de risco em algumas análises, mas em outras, eles inesperadamente parecia proteger contra a infecção (CALDAS *et al.*, 2002).

Nascimento *et al.* (2005) avaliaram fatores sócio-econômicos, ambientais e hábitos de vida associados à infecção por *L. infantum* no Município de São José de Ribamar, Maranhão. No teste de quiquadrado foi observada associação entre leishmaniose na família, tipo de abastecimento de água e aplicação de inseticida com a infecção por *L. infantum* diagnosticada por IDRM. Nenhuma associação com infecção por *L. infantum* foi observada utilizando-se o diagnóstico por sorologia ELISA-rK39 ou ELISA-AgS. Entretanto, não foram aplicados modelos multivariados para ajustamento.

Com o objetivo de identificar os determinantes da infecção humana por *L. infantum* em uma área urbana, foi realizado um estudo transversal de base populacional em Sabará, MG, utilizando-se métodos moleculares e sorológicos para identificar a infecção. Dois critérios foram testados para identificar os fatores de risco: No modelo 1- incluindo todos os participantes positivos na hibridização com sonda para o complexo *L. donovani*, as variáveis associadas à infecção foram: criar pássaros, encontrar-se fora de casa entre 18:00-22:00h e não ter o lixo coletado; No modelo 2- incluindo todos os participantes positivos na PCR-hibridização e em pelo menos um teste sorológico, as variáveis

associadas à infecção foram: família conhecer o vetor, não ter o lixo coletado, lixo não removido ou queimado, criar pássaros, proximidade de áreas erodidas. Os fatores de risco identificados foram associados às condições das moradias, presença de animais e probabilidade de contato com flebotomíneos (MORENO et al., 2005).

Estudo conduzido em Araçatuba, SP, mostrou associação entre nível socioeconômico e a distribuição de casos assintomáticos humanos. A presença de cães na casa não mostrou associação com a infecção humana. De acordo com os autores, possivelmente a presença e número de cães em casa são confundidos com fatores socioeconômicos, que geram um ambiente favorável para reprodução do vetor (BARÃO et al., 2007).

Modelo multinível de incidência da LV em Teresina, Piauí, Brasil, também identificou baixas condições socioeconômicas, além do aumento da vegetação, como fatores associados à alta incidência de LVH. O aumento da prevalência da infecção canina precedeu o aumento da incidência de LVH. Baixas condições socioeconômicas tiveram um efeito amplificador sobre a associação entre infecção canina e a incidência de LV humana (WERNECK et al., 2007). O que se observa é que o ambiente característico e propício à ocorrência da LV é geralmente aquele de baixo nível socioeconômico, prevalente em grande medida no meio rural e na periferia das grandes cidades. Entretanto, estas características vêm se modificando, principalmente, nos estados das regiões Sudeste e Centro-Oeste, onde a LV se encontra urbanizada (MS, 2006).

Em estudo transversal realizado no Município de Raposa, Maranhão, Brasil, para avaliar os fatores de risco para a infecção com *L. infantum*, detectada por IDRM, a análise de regressão logística mostrou que a presença de flebotomíneos dentro e fora da habitação foi um fator de risco, e idade inferior a 10 anos foi um fator de proteção contra a infecção assintomática. Os autores também destacam que a precariedade das condições de vida da população fortalece a cadeia epidemiológica da LV (PONTE et al., 2011).

Estudo realizado com 361 indivíduos nos municípios que compõem a Ilha de São Luís no Estado do Maranhão, Brasil, analisou os fatores associados à infecção assintomática por *L. infantum* em membros da família e vizinhos de pacientes com LVH. A infecção foi detectada com IDRM e ELISA. Os autores observaram que familiares de indivíduos com LV estão em maior risco de infecção e enfatizam que se deve priorizar e orientar medidas de controle para essas famílias (MOURA et al., 2012). Em estudo realizado no Iran, entre

pessoas que apresentaram infecção assintomática por *L. infantum*, 18% residiam junto com pessoas que apresentaram LV clínica em momento anterior ao inquérito (FAKHAR *et al.*, 2008).

Os fatores associados à infecção por *L. infantum* são controversos entre diferentes estudos. São necessários mais estudos com longos períodos de seguimento, utilizando-se preferencialmente análises multiníveis robustas e mais abrangentes para compreensão desses fatores.

2.6. Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVC-LV) no Brasil e em Belo Horizonte

A Vigilância Epidemiológica é um dos componentes do Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PVC-LV), que tem como objetivo principal a redução da taxa de letalidade e do grau de morbidade, bem como diminuir o risco de transmissão. Para alcançar esses objetivos, o PVC-LV no Brasil é baseado em três pilares (i) detecção precoce e tratamento de casos humanos, (ii) controle do reservatório canino, (iii) controle vetorial (MS, 2006).

Dentre outros objetivos específicos da vigilância epidemiológica da LV, propostos pelo Ministério da Saúde destacam-se: identificação das áreas vulneráveis e/ou receptivas para transmissão da LV; avaliação da autoctonia referente ao município de residência; investigação do local provável de infecção; conhecimento da distribuição e monitoramento da dispersão do vetor; condições necessárias para que os profissionais da rede de saúde possam diagnosticar e tratar precocemente os casos; condições necessárias para adoção de medidas preventivas, de controle e destino adequado do reservatório canino; investigação de todos os supostos óbitos de LV; monitoramento da tendência da endemia considerando a distribuição no tempo e no espaço; indicação das ações de prevenção de acordo com a situação epidemiológica; desencadeamento e avaliação do impacto das ações de controle; monitoramento dos eventos adversos aos medicamentos (MS, 2006).

A vigilância entomológica proposta pelo Ministério da Saúde nos municípios de transmissão moderada a intensa consiste no monitoramento do vetor para conhecer a distribuição sazonal e abundância relativa das espécies *L. longipalpis* e/ou *L. cruzi*, visando estabelecer o período mais favorável para a transmissão da LV e direcionar as medidas de prevenção e controle químico do vetor. Esta atividade é de responsabilidade do nível

Estadual (MS, 2006). No âmbito da proteção coletiva, é proposto controle químico com uso de inseticida piretróide de ação residual, em áreas prioritárias. Recomenda-se que nas áreas selecionadas para controle químico, de acordo com a classificação epidemiológica, sejam realizados dois ciclos de borrifação com o inseticida durante o ano, com intervalo de três a quatro meses. Esta medida é dirigida apenas para o inseto adulto, com objetivo de evitar e/ou reduzir o contato entre o inseto transmissor e a população humana. Outras medidas mais pertinentes são propostas, como o manejo ambiental, por meio da limpeza de quintais, terrenos e praças públicas, a fim de alterar as condições do meio, que propiciem o estabelecimento de criadouros de formas imaturas do vetor (MS, 2006).

Quanto ao reservatório canino, as ações de monitoramento em municípios de transmissão moderada a intensa, incluem a realização de inquérito sorológico censitário canino (ISCC). Este tipo de inquérito tem objetivo de identificar cães infectados para a realização da eutanásia, bem como, de avaliar a prevalência da LVC nas áreas (MS, 2006). Como medidas preventivas recomenda-se controle da população canina errante por meio de programas de esterilização dos animais e medidas de proteção individual, como uso de coleiras impregnadas com deltametrina 4% nos cães (MS, 2006). Alguns estudos demonstram que coleiras impregnadas com inseticida são eficazes na proteção dos cães contra o vetor (KILLICK-KENDRICK *et al.*, 1997), mas a estratégia é dispendiosa, uma vez que apenas uma pequena parcela da população pode custear esse método de controle, que não é disponibilizado pelo serviço público (NASCIMENTO *et al.*, 2008). O controle de cães infectados com *Leishmania* é difícil (OLIVEIRA *et al.*, 2008), pois a eutanásia é controversa, nem sempre bem aceita pela população e os cães eutanasiados com LVC são prontamente substituídas por outros susceptíveis (NUNES *et al.*, 2008). A busca por uma vacina eficaz contra a LVC, também tem sido uma das principais preocupações de diversos grupos de pesquisas (GENARO *et al.*, 1996, PALATINIK *et al.*, 1993), mas não faz parte das medidas de controle adotadas pelo Ministério da Saúde (MS, 2006).

A vigilância epidemiológica em humanos consiste em diagnóstico precoce dos casos, investigação epidemiológica para definição de autoctonia e caracterização do local provável de infecção e notificação compulsória dos casos no SINAN (Sistema de informação de agravos de notificação). Como profilaxia para evitar os riscos de transmissão, algumas medidas de proteção individual são propostas, tais como: uso de mosquiteiro com malha fina, telagem de portas e janelas, uso de repelentes, não se expor

no período crepuscular e noturno, em ambientes onde habitualmente o vetor pode ser encontrado (MS, 2006).

Entre as medidas de controle, o Ministério da Saúde inclui também, as atividades de educação em saúde, que devem estar inseridas em todos os serviços que desenvolvem as ações de controle da LV, requerendo o envolvimento efetivo das equipes multiprofissionais. Estas atividades consistem em levar conhecimento à população, por meio da divulgação da ocorrência da LV na região, alerta sobre os sinais clínicos, os serviços para o diagnóstico e tratamento, as medidas de controle que competem ao poder público e medidas de proteção relacionadas às atitudes e práticas da população, como por exemplo, o cuidado permanente com o manejo ambiental do domicílio e do peridomicílio (MS, 2006).

Em Belo Horizonte, o PVC-LV é desenvolvido de acordo com a organização estrutural dos serviços de saúde no município. Para efeito administrativo dos serviços de saúde, a Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte (SMSA) divide o município em nove Distritos Sanitários (DS), cada um com sua administração regional (Barreiro, Centro Sul, Leste, Nordeste, Noroeste, Norte, Oeste, Pampulha e Venda Nova) (Figura 3a). Os DS são divididos em Áreas de Abrangência (AA) de cada Centro de Saúde (CS), que correspondem à área territorial que as equipes de cada CS atendem (Figura 3b). As AA são compostos por um conjunto de setores censitários contíguos, que são a menor divisão territorial adotada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (Figura 3c). As equipes de saúde local de cada CS têm informações sobre a população residente em cada setor censitário.



Figura 3a. Distritos sanitários: organização administrativa dos serviços de saúde do Município de Belo Horizonte - (SMSA)

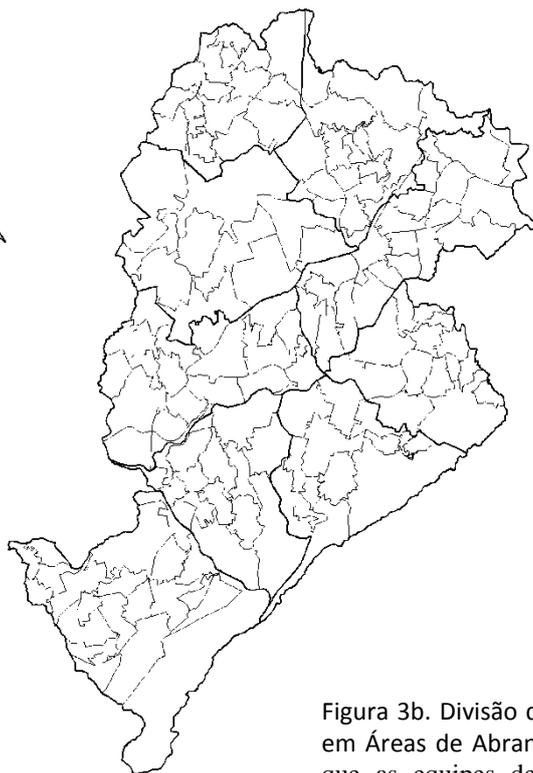


Figura 3b. Divisão dos Distritos Sanitários em Áreas de Abrangência: área territorial que as equipes de cada CS atendem - (SMSA)

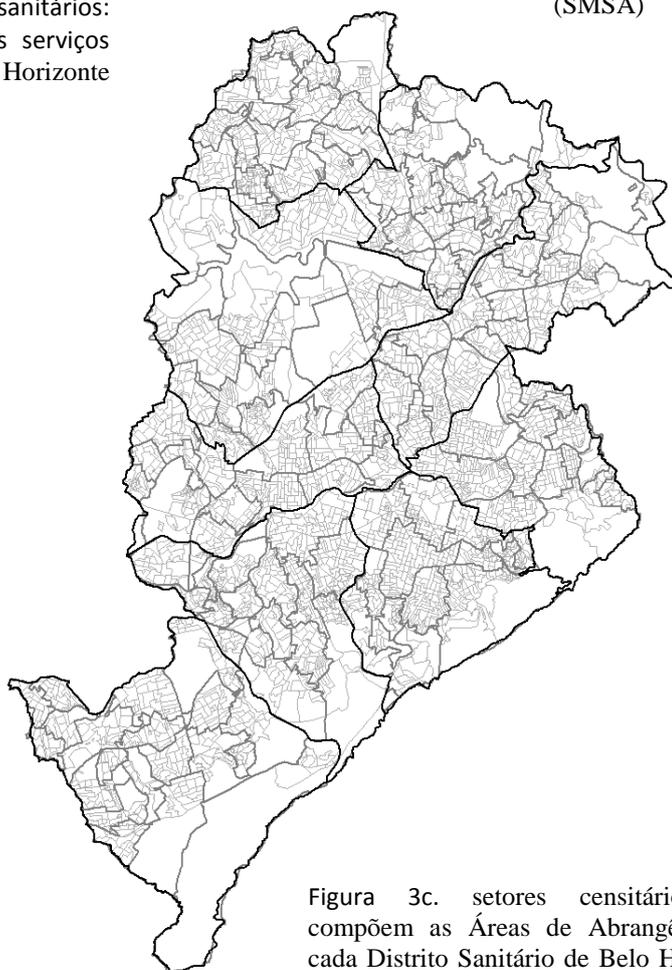


Figura 3c. setores censitários que compõem as Áreas de Abrangência de cada Distrito Sanitário de Belo Horizonte - (IbGE)

Desde 1994, ano em que foi confirmado o primeiro caso de LV no Distrito Sanitário Leste, o município investiu na estruturação do PVC-LV e foram iniciadas atividades de controle, como ISCC e controle químico do vetor (FIUZA *et al.*, 2008). A partir de 2004, quando foi publicado pelo Ministério da Saúde, o primeiro Manual do PVC-LV, Belo Horizonte adequou-se às orientações propostas e estratificou as áreas AA dos CS considerando a incidência acumulada de casos nos últimos cinco anos. Posteriormente, seguindo a padronização do Ministério da Saúde, o período de análise passou a ser de três anos.

Os estratos foram constituídos a partir dos pontos de corte nos percentis de incidência acumulada de LVH nas AA: $\leq 0,1$ = baixa transmissão; 0,1 a 0,6 = média transmissão; 0,7 a 0,9 = alta transmissão; $> 0,9$ = muito alta transmissão.

As áreas sem casos no período foram classificadas como sem transmissão. As ações de controle são recomendadas para áreas com média a muito alta transmissão (SMSA, 2006).

As atividades do PVC-LV são executadas em todos os DS e direcionadas de acordo com a realidade epidemiológica existente. São realizadas ações programadas para controle vetorial e educação em saúde, visando atingir principalmente conjuntos de setores censitários com maior risco de ocorrência de LVH, além de informações sobre a infecção canina e a situação ambiental de cada área (FIUZA *et al.*, 2008, SMSA, 2013). A partir de 2007, alguns distritos sanitários passaram a utilizar além da estratificação por incidência acumulada de LVH, o Índice de Vulnerabilidade à Saúde (IVS) (SMSA, 2003), como mais um indicador na definição de áreas a serem priorizadas para ISCC e controle vetorial químico (MORAIS *et al.*, 2007).

O ISCC ocorre casa a casa, nas áreas em que esta atividade é programada. A partir de 2008 as áreas para controle químico vetorial passaram a ser priorizadas considerando-se os resultados obtidos nos ISCC, na situação ambiental das áreas e na localização dos casos humanos (SMSA, 2013).

Com relação às atividades de rotina do PVC-LV em Belo Horizonte, no período de 2006 a 2012, observou-se aumento da cobertura da população canina com inquéritos sorológicos censitários caninos (ISCC) anuais e redução em paralelo da prevalência de sororreatividade, que variou de 6,9% em 2007 a 2,2% em 2012 (Figura 4). A retirada dos cães sororreagentes se manteve acima de 80,0%, com média de 85,0% no período de 2006 a 2012 (SMSA, 2013).

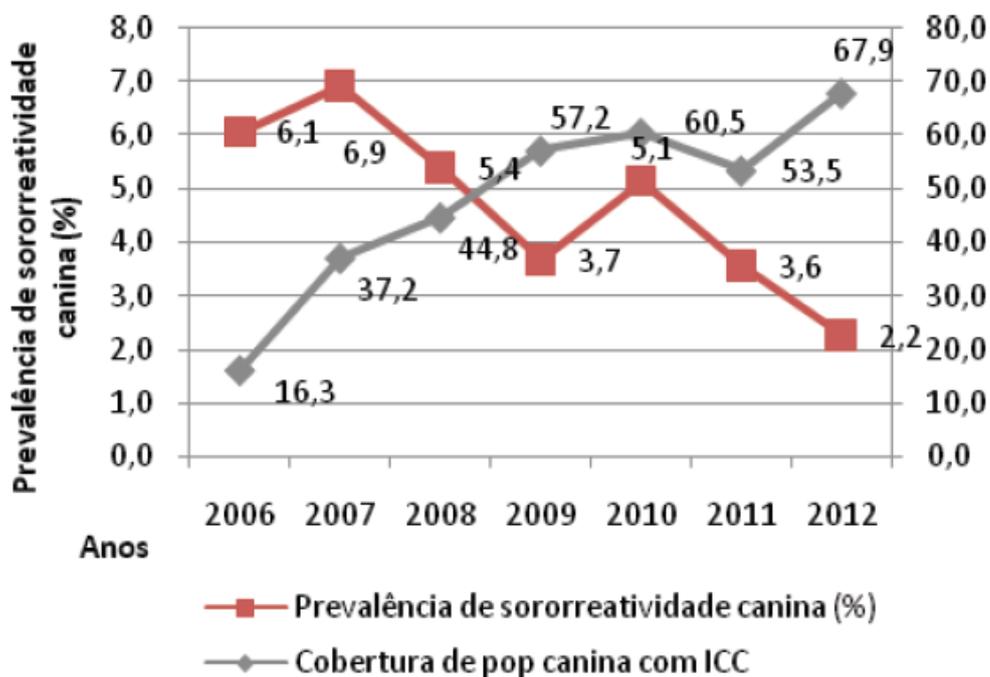


Figura 4: Evolução da cobertura de população canina com ICC e prevalência de sororreatividade canina, Belo Horizonte, 2006-2012 (SMSA, 2013). Fonte: GECOZ/GVSI/SMSA

No período de 2006 a 2012, o diagnóstico da LVC no Brasil era realizado por meio dos testes sorológicos Ensaio Imunoenzimático (ELISA) e Imunofluorescência Indireta (RIFI), sendo o primeiro método de triagem e o segundo confirmatório. Exames reativos, porém inconclusivos ou negativos na RIFI, representaram em média, 5,5% dos resultados obtidos no período 2006 a 2012. Observou-se que, em média 80,7% a 83,3% destes exames, tornaram-se reagentes em uma nova coleta com intervalo médio de dois meses após a primeira (MORAIS, 2011). As limitações dos métodos de diagnóstico da LVC fazem com que cães falsos negativos permaneçam nas áreas, o que pode repercutir negativamente na efetividade desta estratégia de controle (DYE *et al.* 1993, COURAVITAL *et al.*, 2011). Na figura 5, pode-se observar que um número considerável de cães com ELISA reagente foi mantido como falsos negativos no ambiente, principalmente entre os anos de 2008 e 2011 (SMSA, 2013).

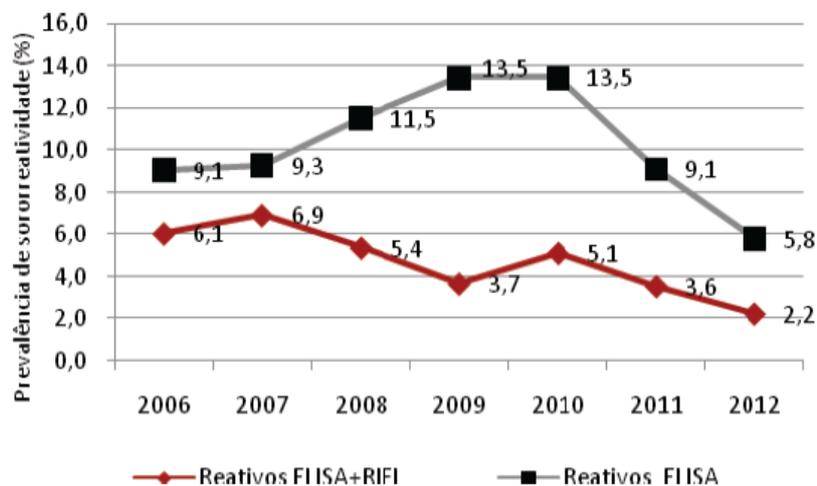


Figura 5: Resultados dos exames de ELISA e de ELISA +RIFI em amostras de sangue canino coletadas em Belo Horizonte, 2006-2012 (SMSA, 2013). Fonte: GEZOZ/GVSI/SMSA

Devido à instabilidade do antígeno utilizado na RIFI, houve aumento da discordância entre os testes, interferindo no diagnóstico da LVC. Diante desta evidência o Ministério da Saúde determinou a alteração do protocolo de diagnóstico da LVC no país e a RIFI foi eliminada do novo protocolo. Atualmente o diagnóstico da LVC no país é realizado por meio de triagem pelo teste imunocromatográfico rápido Dual Path Platform (TR DPP), que emprega uma combinação de proteína A conjugada com antígeno recombinante K28 (fragmentos K26, K39 e K9). Caso a amostra seja reagente no teste DPP é realizado o teste de ELISA. O cão com LVC é aquele que apresentar amostra reagente em ambos os testes (DPP e ELISA) (ASSIS *et al.*, 2008; RANGEL *et al.*, 2013).

Quanto à atividade de controle químico vetorial, são enfrentadas dificuldades administrativas e operacionais em Belo Horizonte. Observa-se baixa produtividade na execução do controle químico, o que impossibilita a dispersão desta estratégia do PVC-LV no município conforme tecnicamente programado. Devido à ocorrência de imóveis fechados ou recusa por parte dos moradores, há ainda um percentual de pendências médio de 28,6% em 2011 e 2012 (SMSA, 2013). Outra limitação desta atividade é que um percentual inferior a 50% dos imóveis é borrifado no peri e intradomicílio (SMSA, 2013), conforme é preconizado pelo Ministério da Saúde com objetivo de evitar ou reduzir o contato entre o vetor e a população humana, e conseqüentemente, diminuir o risco de transmissão (MS, 2006). A figura 6 apresenta um gráfico que mostra menor número de imóveis trabalhados por controle químico, em comparação à cobertura da população canina com ISCC em Belo Horizonte entre 2006 e 2012.

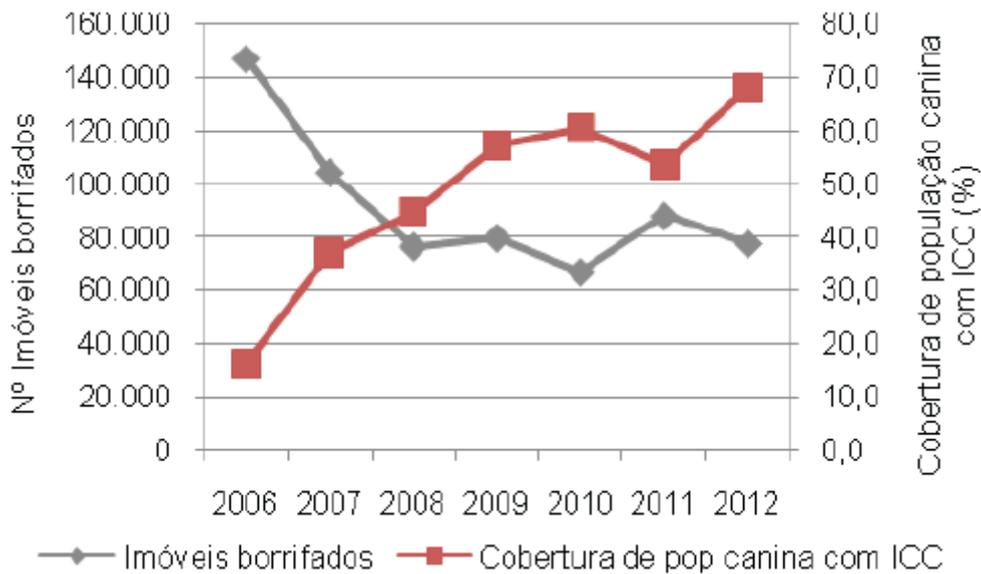


Figura 6: Evolução da estratégia de controle químico vetorial e cobertura da população canina por ISCC, Belo Horizonte, 2006-2012 (SMSA, 2013). Fonte: GEZOZ/GVSI/SMSA

A série temporal de casos de por LVH em Belo Horizonte nos últimos anos, mostrou redução concomitante à da sororreatividade canina, o que sugere impacto positivo das ações de controle no município (Figura 7) (SMSA, 2013).

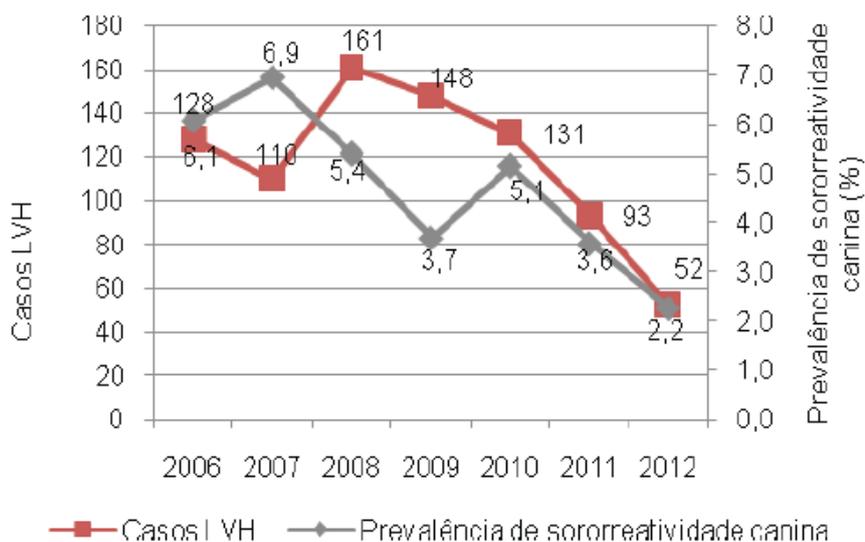


Figura 7: Série temporal de prevalência de sororreatividade canina e de casos de LVH em LV, Belo Horizonte, 2006-2012 (SMSA, 2013). Fonte: GEZOZ/GVSI/SMSA

2.7. Avaliação da efetividade das estratégias do PVC-LV no Brasil

Para direcionar adequadamente medidas de controle é fundamental considerar heterogeneidades espaciais da distribuição de vetores e outros fatores de risco, como variações na susceptibilidade das populações e diferenças intra-urbanas no contato do vetor com o hospedeiro. Deve-se considerar que a efetividade das medidas de controle pode ser influenciada por fatores como o nível de transmissão, o número de indivíduos susceptíveis, o tamanho das populações de cães e vetores, o nível socioeconômico, e às características do domicílio, peridomicílio e espaço físico (microclima, vegetação, altitude, relevo, etc) (WERNECK, 2008b).

Os métodos convencionais utilizados para controlar a doença mostraram-se ineficazes para deter sua expansão. A disseminação cada vez maior da Leishmaniose visceral humana (LVH) e a ocorrência de novos casos em áreas anteriormente não afetadas apontam para a necessidade de conhecer melhor as particularidades de cada área de transmissão para direcionar medidas de controle mais efetivas (WERNECK *et al.*, 2008; MOURA *et al.*, 2012).

Efetividade segundo Pereira. (1995) é definida como o grau em que determinada intervenção, procedimento, regime ou serviço produz um resultado benéfico, quando empregado no “mundo real”, em uma população definida; é o resultado verdadeiramente observado nas condições habituais de uso. Até o momento poucos estudos foram conduzidos com o objetivo de avaliar a efetividade das estratégias do PVC-LV em áreas endêmicas para LV no Brasil (ASHFORD *et al.*, 1998; OLIVEIRA & ARAÚJO, 2003; SOUZA *et al.*, 2008; COSTA *et al.*, 2007; WERNECK *et al.*, 2008; WERNECK *et al.*, 2014). Os estudos realizados com esse objetivo, geralmente, utilizavam intervenções experimentais comunitárias para comparar, por exemplo, áreas que receberam apenas controle químico do vetor, áreas onde foi realizado apenas controle do reservatório canino, áreas em que o controle do reservatório canino foi associado ao controle químico do vetor e áreas sem intervenções (WERNECK *et al.*, 2008; COSTA *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2008; WERNECK *et al.*, 2014).

A falta de evidências a respeito da efetividade das medidas de controle na redução da incidência da LVH no país, fez com que o Ministério da Saúde/FUNASA convocasse

no ano de 2000, um comitê de consultores especialistas para discussão conjunta das estratégias do PVC-LV, com o objetivo de reavaliar e redirecionar as ações de controle (COSTA *et al.*, 2001). Naquela ocasião, com base na literatura foi enfatizado que a prioridade do PVC-LV deveria ser dada para o controle de vetores e não de reservatórios. No entanto, por falta de alternativas viáveis, o PVC-LV é baseado até o momento principalmente no reservatório canino.

Alguns autores avaliaram a efetividade das estratégias de controle sobre a prevalência (RIBAS *et al.*, 2013) e incidência de casos de LVH (ASHFORD *et al.*, 1998; OLIVEIRA & ARAÚJO, 2003). Outros autores avaliaram a efetividade destas estratégias sobre a transmissão do parasito, por meio de inquéritos epidemiológicos para estimar taxas de infecção por *L. infantum* (COSTA *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2008; WERNECK *et al.*, 2008; WERNECK *et al.*, 2014). Por tratar-se de doença rara, a presença de casos humanos de LV não é um indicador preciso para a distribuição da transmissão do parasito. Portanto, a estimativa das taxas de prevalência e incidência e a distribuição espacial da infecção assintomática por *L. infantum*, parecem ser as melhores estratégias para a compreensão da transmissão do parasito e monitoramento dos esforços para o controle. Quando a estimativa das taxas de infecção por *L. infantum* é realizada em populações de crianças, o dado pode fornecer conhecimento mais preciso acerca da circulação recente do parasito e auxiliar na avaliação da efetividade das estratégias de controle sobre a transmissão (SOUZA *et al.*, 2008; ROMERO *et al.*, 2009; MARQUES *et al.*, 2012).

Oliveira & Araújo. (2003) avaliaram as ações do Programa de Controle da Leishmaniose Visceral no Município de Feira de Santana, Bahia, Brasil, no período de 1995 a junho de 2000. O grupo avaliou a correlação entre a incidência de casos humanos e as ações de controle realizadas no período. Não foi observada associação entre a prevalência de cães com sorologia positiva e a incidência de casos humanos, tomando como base a prevalência canina em um ano e a incidência de casos humanos no ano seguinte por localidade. As variáveis que permaneceram no modelo final foram: percentual de prédios trabalhados para inquérito canino e borrifação e número de ciclos de inquérito canino, capazes de explicar 40% da incidência de casos humanos.

Com objetivo de avaliar a efetividade do controle vetorial e da eutanásia de cães infectados na incidência de infecção por *L. infantum*, foi realizado estudo de intervenção comunitária em Teresina, Piauí entre 2004 e 2006. O município foi dividido em áreas, e

cada uma delas submetida a 4 tipos de intervenção: 1) borrifação intradomiciliar e de anexos residenciais; 2) borrifação intradomiciliar e eutanásia de cães infectados; 3) combinação de borrifação intradomiciliar e de anexos e eutanásia canina; 4) apenas borrifação intradomiciliar. Os resultados deste estudo apontam para um efeito protetor da eutanásia de cães infectados na incidência de infecção pela *L. infantum* adicionalmente ao potencial efeito protetor propiciado pela borrifação intradomiciliar. A proteção oferecida pela remoção de cães infectados sugere que esta estratégia pode reduzir as fontes de infecção para flebotomíneos. Entretanto, a borrifação de anexos, associada ou não à eutanásia canina, não adicionou efeito protetor significativo ao induzido pela borrifação intradomiciliar. Na linha de base desse estudo, estimou-se 42% de prevalência da infecção por *L. infantum* em 367 indivíduos por meio de exame sorológico ELISA e incidência acumulada de 35%, no período de seis meses a um ano de seguimento (COSTA *et al.*, 2007).

Outro ensaio comunitário foi realizado para avaliação das estratégias de controle da LV em coorte de 2.362 crianças entre zero e doze anos de idade, residentes em área endêmica do Município de Feira de Santana, Estado da Bahia, Brasil. A incidência de infecção foi avaliada mediante inquéritos soropidemiológicos em três áreas identificadas como: a) área controle; b) área submetida à borrifação com inseticida; e c) área submetida à combinação de borrifação com inseticida e triagem com eutanásia de cães soropositivos. A incidência da infecção foi de 2,74; 2,51 e 1,94 casos/100 crianças-ano, nas áreas controle, áreas submetidas à borrifação e áreas submetidas à borrifação e triagem com eliminação de cães, respectivamente. Considerando-se como referência as áreas-controle, o risco relativo para infecção nas áreas com uma intervenção foi de 0,99 (IC95% 0,46-2,10); e com a combinação de duas intervenções, de 0,74 (IC95%: 0,34-1,62). Embora os dados sugiram uma redução da incidência de infecção nas áreas de intervenção, a diferença não foi estatisticamente significativa (SOUZA *et al.*, 2008).

Ashford *et al.* (1998) avaliaram o efeito da remoção de cães infectados por *Leishmania sp.* sobre a soroconversão canina e a incidência de leishmaniose visceral em crianças. Observou-se redução na incidência de sororreatividade canina, assim como da incidência de doença entre crianças menores de 15 anos na área de intervenção. A força de transmissão da infecção entre os cães pode ser reduzida pelos programas de controle, no entanto, os resultados sugeriram que a eliminação de cães soropositivos é insuficiente como medida para erradicar a leishmaniose visceral canina (LVC).

Werneck *et al.* (2014) realizaram estudo randomizado de intervenção comunitária em Teresina, Piauí, para avaliar o efeito do controle vetorial com inseticidas e da eliminação de cães infectados, sobre a incidência de infecção humana por *L. infantum* diagnosticada por IDRM. Apenas a eutanásia de cães sem associação à borrifação, mostrou-se efetiva, em algumas análises, na redução da incidência da infecção. Estes autores concluíram que há necessidade urgente de revisão do PVC-LV no Brasil, tendo em vista a baixa efetividade da eutanásia de cães e efeito não significativo do controle vetorial com inseticida sobre a incidência de infecção. Sugerem que as intervenções sejam direcionadas de acordo com o risco e com os cenários diferentes de transmissão.

Estudo recente de simulação com base em modelos matemáticos para a transmissão de LV para humanos demonstrou que a eutanásia de cães foi a estratégia menos eficaz dentre as estudadas. O controle vetorial e o uso de coleiras impregnadas com inseticidas nos cães foram as estratégias mais eficazes no controle da LVH. O tratamento e a vacinação de cães também foram ineficazes para a redução da ocorrência da doença no homem (RIBAS *et al.*, 2013).

A limitada efetividade da eliminação de cães como medida de controle da LV, apontada em alguns estudos, pode estar relacionada ao intervalo de tempo entre a realização da coleta e a eutanásia do cão com exame sorológico reagente, falta de continuidade da ação, reposição rápida da população canina, outros reservatórios de LV e persistência de cães falso-negativos devido à baixa sensibilidade dos testes de diagnóstico (DANTAS *et al.*, 2006). A permanência de cães infectados impede a redução da transmissão para níveis nos quais seria possível o controle (BRAGA *et al.*, 1998). Além disso, há uma reposição do reservatório canino, que pode ocorrer por migração de cães para áreas sob intervenção do PVC-LV. No estudo de Moreira *et al.* (2004), a reposição de animais recolhidos chegou a 50% da população canina em estudo, sendo que destes, 15% já se encontravam infectados ao serem introduzidos na população. Em Araçatuba, observou-se reposição canina de 39% dos cães recolhidos, no período de agosto de 2002 a julho de 2004 (NUNES *et al.*, 2008).

A efetividade das estratégias do PVC-LV da forma como ele é conduzido na rotina diária, foi verificada pela primeira vez em um estudo epidemiológico realizado em Belo Horizonte, MG. Este estudo foi realizado em 2009 por Morais (2011) por meio de estudo

quase experimental que estimou a prevalência da infecção assintomática em crianças, em áreas com diferentes históricos e tempos de intervenção pelo programa de controle. Os resultados demonstraram menor prevalência de infecção assintomática nas crianças residentes na área com maior tempo de intervenção pelo PVC-LV. Observou-se tendência decrescente na série temporal de ocorrência de casos de LVH e prevalência canina. Inferiu-se pelos resultados deste estudo transversal, que as estratégias de controle realizadas nas áreas de estudo, demonstraram efetividade sobre a transmissão recente de *L. infantum* e sobre a prevalência da doença em cães e humanos (MORAIS, 2011).

O PVC-LV atualmente é baseado em medidas cuja eficácia é questionada e a relação custo-eficácia tem sido pouco analisada. Enquanto isso, as pesquisas científicas existentes, não apontam para alternativas seguras e economicamente viáveis, além disso, é improvável a realização de pesquisas capazes de produzir dentro de um prazo razoável, alternativas práticas e viáveis de controle, que extrapolem as medidas que são atualmente estabelecidas e que tenham custo acessível (OLIVEIRA *et al.*, 2008). Existe não só a necessidade de uma melhor definição das áreas prioritárias para direcionamento das ações de controle, mas também da implementação de um sistema de monitoramento das atividades e vigilância epidemiológica, o que poderia permitir melhor avaliação das estratégias do PVC-LV nas diversas regiões do Brasil (DANTAS *et al.*, 2006).

Técnicas e conhecimentos de mecanismos eficazes para evitar expansão urbana e da leishmaniose visceral existem, mas exigem compromisso político-social, bem como a alocação de recursos para fornecer condições salubres de habitação para as populações em risco (ARIAS *et al.*, 1996). Parte das limitações e da baixa efetividade das ações pode decorrer da descontinuidade das ações, observada em algumas áreas, além de outras variáveis que por desconhecimento podem ser desconsideradas no processo de transmissão e conseqüentemente, no planejamento das ações de controle da LV (GONTIJO & MELO, 2004).

Segundo Nascimento *et al.* (2008), a descentralização das ações de vigilância epidemiológica e controle da leishmaniose visceral para os municípios, pode ser um fator complicador para atingir efetividade das estratégias de controle, quando considera as deficiências de infra-estrutura local para lidar com a complexidade do problema, o que ocorre em boa parte dos municípios brasileiros. Trabalhos conjuntos entre o Ministério da Saúde e a Comunidade Científica Brasileira, podem ajudar na compreensão e

desenvolvimento de novas estratégias para lidar com a LV, incluindo medidas educativas, especialmente tendo em conta que nenhuma vacina anti-*Leishmania* estará disponível em curto prazo.

2.8. Indicadores e desenhos epidemiológicos para avaliação da efetividade das estratégias do PVC-LV

O uso da epidemiologia é muito importante na avaliação de serviços de saúde pública. A partir dos resultados obtidos após levantamento de dados iniciais, análise descritiva e utilização de métodos analíticos, pode-se propor, ou não, modificações nas medidas de prevenção e/ou controle em prática (GORDIS, 2009).

No processo de avaliação é fundamental manter o controle sobre fatores externos ou de confusão, para avaliar se os resultados alcançados são advindos das intervenções realizadas. A avaliação de processos, da eficácia e da efetividade das ações desenvolvidas pelos serviços de saúde, pode ser realizada com a aplicação de modelos epidemiológicos. A validade da associação observada irá depender fundamentalmente do delineamento dos estudos utilizados (CARNEIRO, 2002).

Indicadores são definidos pela Rede Interagencial de Informação para a Saúde (RIPSA, 2010) como: “... medidas-síntese que contêm informação relevante sobre determinados atributos e dimensões do estado de saúde, bem como do desempenho do sistema de saúde”. Os indicadores tornam mais acessível a informação, possibilitam compreensão de fenômenos complexos e a visualização de tendências ao longo do tempo. O grau de excelência de um indicador é definido por sua:

- *Validade*: capacidade de medir o que se pretende, que por sua vez, é determinada por sua sensibilidade,
- *Sensibilidade e especificidade*: capacidade de detectar o fenômeno analisado,
- *Confiabilidade*: reproduzir os mesmos resultados quando aplicado em condições similares (RIPSA 2010).

É ideal que os indicadores possam ser analisados e interpretados com facilidade, e que sejam compreensíveis pelos usuários da informação, principalmente aqueles que atuam no sistema de saúde (RIPSA 2010). Indicadores que envolvem eventos raros podem causar distorções na compreensão dos resultados (GAIS, 2009). Quando gerados de forma regular, os indicadores de saúde são instrumentos valiosos para a gestão e avaliação da situação de saúde.

Um conjunto de indicadores de saúde é capaz de evidenciar a situação sanitária e suas tendências, estratificar o risco epidemiológico, identificar áreas críticas, subsidiando identificação de grupos com maiores necessidades de saúde e facilitar o monitoramento de objetivos e metas em saúde. Os indicadores são ferramentas para o estabelecimento de políticas e prioridades melhor ajustadas às necessidades de saúde da população (RIPSA 2010).

Além dos indicadores, estudos são necessários para avaliações dos serviços de saúde. Os estudos randomizados são importantes para avaliação da eficácia de novas intervenções. Entretanto, na área da saúde pública, os seus resultados precisam ser complementados por estudos observacionais que testem a efetividade das intervenções sob condições de rotina (SANTOS & VICTORA, 2004).

Na impossibilidade de se conduzir estudos experimentais na avaliação de programas, a melhor escolha é o delineamento quase experimental ou não aleatório. Neste tipo de estudo, os grupos ou áreas que receberão ou não a intervenção são formados considerando-se os aspectos administrativos, operacionais ou os indicadores da doença. Neste delineamento, a escolha do grupo ou área sobre o qual vai ser conduzido o estudo não é aleatória. Os estudos quase experimentais caracterizam-se por não necessitarem de longos períodos de observação e recolha de dados e têm sido utilizados para avaliação de programas quando existem áreas ou grupos para comparação externa. Os estudos quase-experimentais são intermediários entre os estudo experimentais e observacionais (CAMPBELL & STANLEY, 1966; CARNEIRO, 2002; SANTOS & VICTORA, 2004). Apresenta como vantagens o possível desenvolvimento concomitante à execução das ações, a avaliação de programas que atingem grandes populações e razões éticas, uma vez que o programa não necessita ser interrompido para ser avaliado. Permitem trabalhar em simultâneo um número múltiplo de variáveis e possibilitam desenhos de investigação envolvendo diferentes métodos. As principais limitações que podem comprometer a validade interna do estudo quase experimental são: a não aleatoriedade na definição das áreas onde o programa será implementado, a não aleatoriedade dos sujeitos selecionados para o grupo de tratamento ou grupo controle; o tamanho da amostra a ser estudada quando o resultado de interesse é relativamente raro; o tempo e os recursos necessários para o desenvolvimento do estudo (CAMPBELL & STANLEY 1966; CARNEIRO, 2002). Devido à falta de seleção aleatória a principal limitação é que as diferenças observadas sejam

devidas às características dos grupos ou áreas e não ao tratamento ou intervenção (SELLTIZ *et al.*, 1976).

Quando não existem áreas controles para comparação externa, uma alternativa é a comparação interna. Um delineamento utilizado é o estudo de painel, que consiste na realização de vários estudos transversais na mesma área, em uma mesma população ou amostras desta população, em diferentes intervalos de tempo. O estudo de painel não apresenta a mesma limitação encontrada nos estudos trasversais no que se refere à inclusão de temporalidade na análise; a observação longitudinal em uma mesma população permite a inferência causa-efeito (KELSEY *et al.*, 1986; CARNEIRO 2002).

O estudo de coorte, que compara indivíduos expostos e não expostos a um determinado programa ou intervenção de interesse, é também utilizado em avaliação de programas ou intervenções. O grande desafio é a seleção da área ou grupo de comparação. A principal vantagem do estudo é a medida direta da incidência do evento avaliado. As limitações envolvem principalmente o tempo de acompanhamento e as perdas de seguimento (HABICHT *et al.* 1999).

3. Justificativa

O principal objetivo do PVC-LV é controlar a ocorrência da doença, entretanto, a LVH é um evento raro, por isso há grandes limitações para avaliar por meio de estudos epidemiológicos a efetividade das estratégias de controle sobre o adoecimento. A estimativa das taxas de infecção assintomática como indicador de transmissão nas áreas, torna-se uma importante ferramenta para a avaliação da efetividade das estratégias do PVC-LV, pois demonstram a circulação do parasito nas áreas.

Além disso, o inquérito sorológico quando realizado em crianças possibilita conhecer as taxas de infecção recente, assegurando que a transmissão ocorreu durante o período no qual a efetividade das estratégias de controle está sendo avaliada.

A metodologia escolhida avalia a efetividade das estratégias do PVC-LV sem interromper ou interferir na rotina do programa. Portanto, a avaliação do impacto das ações de controle torna-se mais próxima do real, quando comparada a outras metodologias que utilizam intervenções experimentais.

Estudos epidemiológicos para avaliação da efetividade do PVC-LV no Brasil são escassos. Em Belo Horizonte, o PVC-LV foi implementado em 1994, no entanto, nenhum estudo epidemiológico com o objetivo de avaliar o impacto das estratégias de controle sobre a transmissão de *L. infantum*, havia sido desenvolvido até 2010 (MORAIS, 2011). Faz-se necessário conhecer a dinâmica da infecção, os possíveis fatores associados e o papel dos indivíduos assintomáticos na epidemiologia da doença. Nesse sentido, há ainda carência de pesquisas preliminares que possam auxiliar estudos epidemiológicos mais robustos, capazes de propor medidas de controle mais efetivas.

Com o objetivo de dar continuidade à avaliação de efetividade das estratégias do PVC-LV nas áreas, este trabalho teve sequência por meio do presente estudo quase experimental, para estimativa de incidência e nova estimativa de prevalência.

4. Objetivo geral

Avaliar a efetividade do PVC-LV nas taxas de prevalência e incidência da infecção assintomática por *L. infantum* em crianças residentes em áreas com diferentes tempos de intervenção do programa. Avaliar fatores individuais, ambientais e contextuais potencialmente associados à infecção assintomática por *L. infantum*.

5. Objetivos específicos

- Avaliar a efetividade das estratégias do PVC-LV por meio da estimativa da taxa de prevalência da infecção assintomática por *L. infantum* em crianças residentes em três áreas com diferentes tempos de intervenção pelo programa;
- Avaliar a efetividade das estratégias do PVC-LV por meio da estimativa da taxa de incidência da infecção assintomática por *L. infantum* em uma coorte de crianças residentes em três áreas com diferentes tempos de intervenção pelo programa;
- Comparar a prevalência da infecção assintomática por *L. infantum* estimada no ano de 2012, com a prevalência da infecção estimada em 2010 na avaliação basal;
- Avaliar o curso da infecção assintomática por meio de testes sorológicos, moleculares e avaliação clínica.
- Avaliar os fatores associados à infecção por *L. infantum*.

6. Material e Métodos

6.1. Áreas de estudo

A área de estudo foi a cidade de Belo Horizonte, localizada no Estado de Minas Gerais, sudeste brasileiro, 859.19 metros acima do nível do mar. A população estimada é de 2,375,244 habitantes [IbGE, 2010]. O clima é predominantemente tropical, com verão chuvoso e inverno seco.

O presente estudo foi conduzido a partir do estudo quase experimental de Moraes. (2011), em três áreas geograficamente contíguas localizadas no DS Noroeste de Belo Horizonte. Essas áreas receberam intervenções do PVC-LV iniciadas em diferentes momentos a partir do ano de 2006. A definição do início das intervenções do PVC-LV seguiu o planejamento estratégico do serviço público de saúde, com base na avaliação epidemiológica de cada área, para direcionamento e priorização das ações de controle. Entre outros fatores, o PVC-LV leva em consideração a incidência de casos de LVH para programação e direcionamento das atividades de controle nas áreas. Ao longo do período de estudo (2009 a 2012), houve tendência decrescente da soroprevalência canina, assim como da ocorrência de casos humanos em todas as áreas.

- **Área de intervenção 2006 (AI2006)**

A área com maior tempo de intervenção (Área de intervenção 2006 - **AI2006**) apresentou em 2010, incidência acumulada de 58 casos/100.000 habitantes (Figura 8). Possui 20.672 habitantes e densidade demográfica de 12.920 hab/km² (IBGE, 2010 – estimativa populacional para 2009). De acordo com o censo canino de 2010, a população canina desta área era de 2.500 animais. Em 2006, foi realizada a primeira intervenção do PVC-LV na área, por meio ISCC. A soroprevalência canina no primeiro ano de intervenção foi de 9,9% e de 3,4% em 2012, último ano de avaliação do estudo. O controle químico do vetor foi realizado em áreas prioritárias em todos os anos, de 2006 a 2012. No período de 2006 a 2013, houve registro total 13 casos de LVH (SINAN, 2013). Esta área tem sido mantida sob intervenção do PVC-LV até o momento.

- **Área de intervenção 2008 (AI2008)**

A área com tempo médio de intervenção (Área de intervenção 2008 - **AI2008**), em 2010, apresentou incidência acumulada de 35,4 casos/100.000 habitantes (Figura 8).

Possui 22.591 habitantes e densidade demográfica de 10.269 hab/km² (IBGE, 2010 estimativa populacional para 2009). De acordo com dados do censo canino de 2010, a população canina era de 2.300 animais. Em 2009, realizou-se a primeira intervenção do PVC-LV, por meio de ISCC. A soroprevalência canina foi de 12,7% em 2008 e de 4,1% em 2012. O controle químico do vetor foi realizado conforme planejamento estratégico e avaliação epidemiológica em áreas prioritárias nos anos de 2009, 2010 e 2012. No período de 2006 a 2013, houve registro 10 casos de LVH (SINAN, 2013).

- **Área de intervenção 2010 (AI2010)**

A área com menor tempo de intervenção (Área de intervenção 2010 – **AI2010**) em 2010 apresentou incidência acumulada de 5,9 casos/100.000 habitantes (Figura 8). Possui 16.818 habitantes e densidade demográfica de 9.343 hab/km² (IBGE, 2010). De acordo com o censo realizado em 2010, a população canina era de 2.400 animais. No período de 2006 a 2013, houve registro de apenas um caso humano em 2008 (SINAN, 2013). Essa área foi selecionada como área controle por ser classificada como de baixo risco de adoecimento por LV e devido à ausência das atividades do PVC-LV até 2009, momento de início do estudo quase experimental de Morais *et al.* (2011). Em razão do planejamento das ações a partir da estratificação epidemiológica do risco de ocorrência de LV, a AI2010 teve sua primeira ação de ISCC no ano de 2010. Em 2010, a soroprevalência canina foi de 8,6% e em novo ISCC realizado em 2012, a soroprevalência canina foi de 3,3%. Não foi realizado controle químico do vetor. O único caso de LVH registrado nessa área foi no ano de 2008 (Tabela 2).

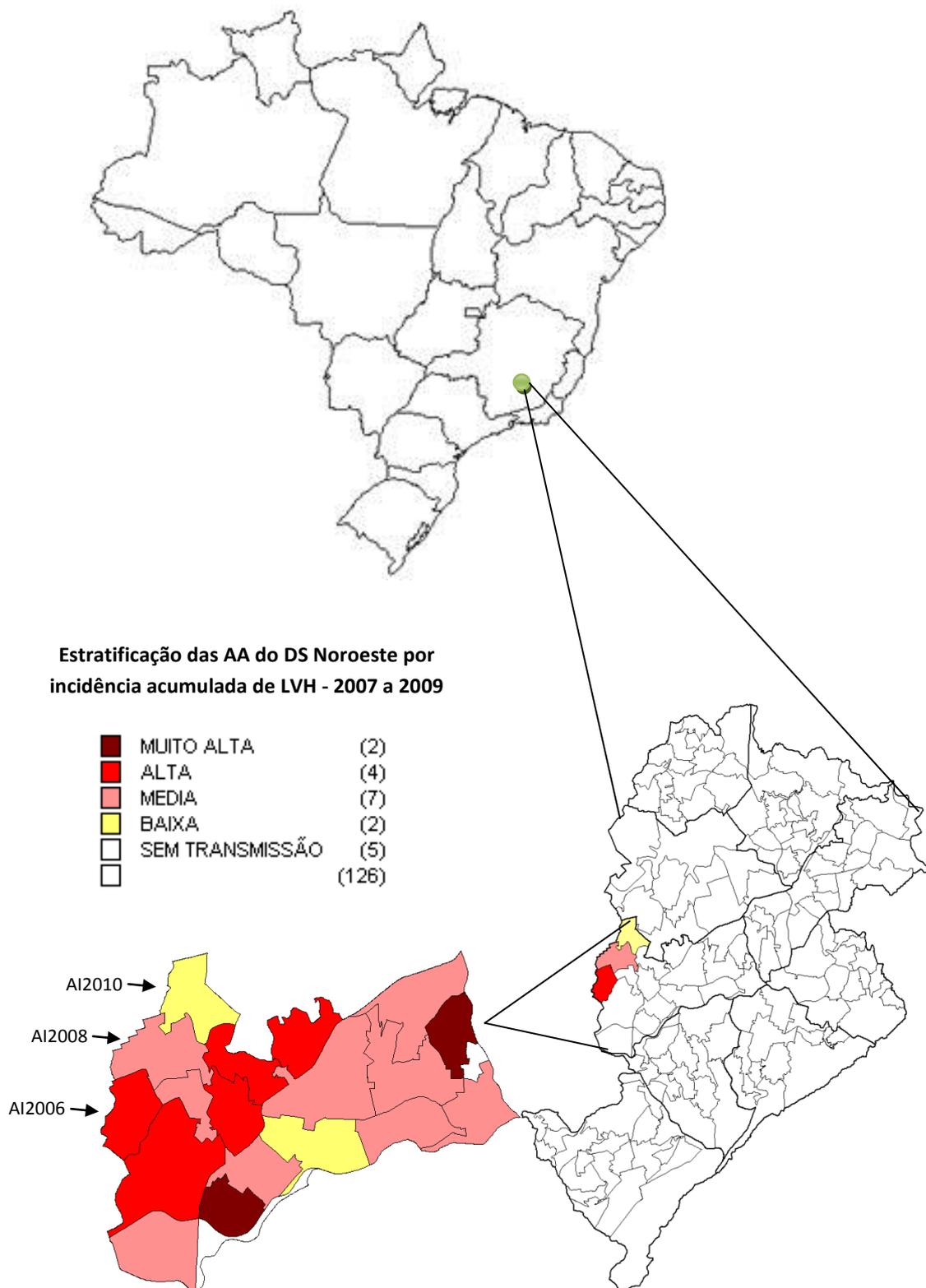


Figura 8: Localização geográfica das áreas de estudo no município de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil e estratificação das AA por incidência acumulada de LVH no DS Noroeste, onde as áreas estão situadas – 2006 a 2009.

Tabela 2: Dados do PVC-LV: Série temporal da prevalência canina e de casos de LVH nas áreas de estudo (2006-2013). Fontes: SCZOO e Sinan

Ano	AI2006			AI2008			AI2010		
	Amostras coletadas	Prevalência canina	Casos LVH	Amostras coletadas	Prevalência canina	Casos LVH	Amostras coletadas	Prevalência canina	Casos LVH
	N	n (%)	n	n	n (%)	n	N	n (%)	(n)
2006	2088	233 (11,2)	6	-	-	2	-	-	0
2007	3178	297 (9,3)	4	-	-	2	-	-	0
2008	2819	267 (9,5)	1	3480	442 (12,7)	2	-	-	1
2009	2620	179 (6,8)	1	2948	223 (7,5)	1	-	-	0
2010	2424	229 (9,4)	0	2886	205 (7,0)	1	1638	145 (8,6)	0
2011	2410	147 (6,1)	0	3044	149 (4,9)	1	-	-	0
2012	2407	73 (3,0)	1	3122	107 (3,4)	1	1092	36 (3,3)	0

6.2. Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo quase experimental que compreende duas abordagens epidemiológicas: transversal e coorte.

Estudo Quase Experimental I – (i): Delineamento transversal, conduzido por Moraes. (2011) no ano de 2010, foi a linha de base, que estimou a taxa de prevalência inicial da infecção assintomática por *L. infantum* em 1875 crianças de zero a sete anos, residentes nas três áreas (AI2006, AI2008 e AI2010) (figuras 9 e 10).

Estudo Quase Experimental II – (i): Delineamento transversal realizado em 2012 que consiste em uma segunda estimativa da taxa de prevalência (prevalência final) da infecção assintomática por *L. infantum* em 891 crianças de 0 a 10 anos, residentes nas mesmas áreas avaliadas no estudo quase experimental I. **Estudo de Coorte** - (ii): Realizada no ano de 2012, consiste na estimativa da taxa de incidência da infecção assintomática por *L. infantum* em 478 crianças, que no estudo quase experimental I (2010), apresentaram amostras não reagentes em dois testes sorológicos (ELISA-rK39 e ELISA-AgS). Portanto, para seguimento na coorte, foram utilizados os resultados dos dois testes sorológicos, com objetivo de assegurar uma seleção criteriosa de indivíduos não infectados, com amostras não reagentes em ambos os testes (figuras 9 e 10).

Avaliação do curso da infecção - Realizada em 2013 consistiu na avaliação clínica e laboratorial das crianças, que no estudo quase experimental II, foram diagnosticadas com infecção assintomática por *L. infantum* (figuras 9 e 10).

Definição de caso de infecção por *L. infantum*: Nos estudos quase experimental I e II, foram realizados em todas as amostras, os testes sorológicos ELISA-rK39 e ELISA-AgS. No entanto, o ELISA-rK39 foi eleito o teste de escolha para diagnóstico da infecção assintomática por *L. infantum* nos modelos estatísticos. Portanto, crianças com infecção assintomática são aquelas que apresentaram amostras reagentes no teste ELISA-rK39.

Na etapa de avaliação do curso da infecção em 2013, as crianças com infecção assintomática diagnosticada por meio de ELISA-rK39 foram avaliadas por qPCR e reavaliadas com os testes sorológicos ELISA-rK39 e ELISA-AgS.

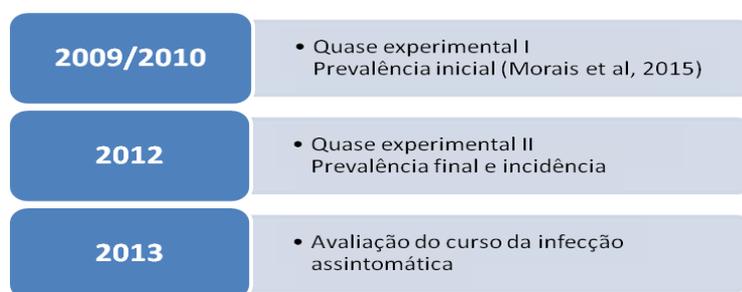


Figura 9: Delineamento geral do estudo: abordagem epidemiológica quase experimental para estimativa das taxas de prevalência inicial, final e coorte e posteriormente, avaliação do curso da infecção assintomática por *L. infantum*

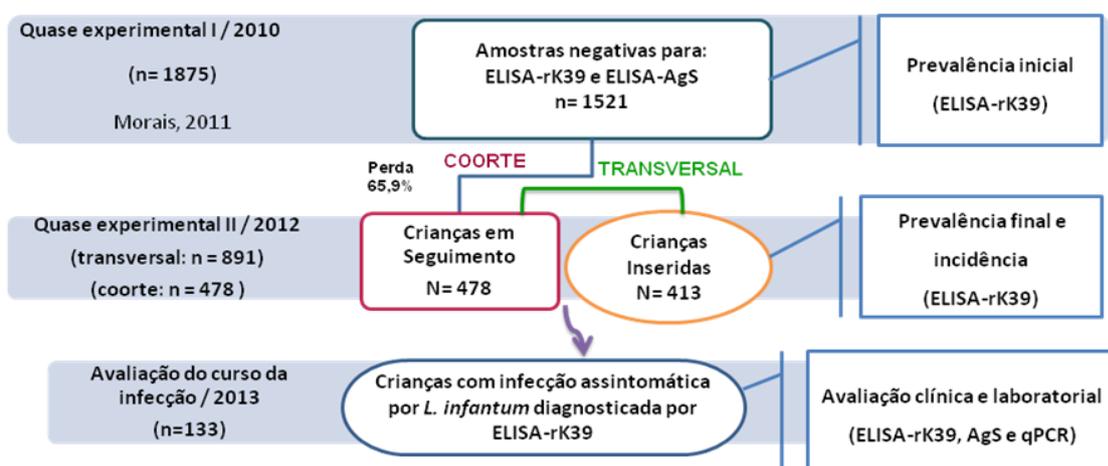


Figura 10: Delineamento detalhado do estudo: abordagem epidemiológica quase experimental com delineamento transversal e coorte e posterior avaliação clínica e laboratorial do curso da infecção assintomática por *L. infantum*.

6.3. Amostra

- **Estudo quase experimental I (2009-2010)**

O estudo quase experimental I foi realizado por Morais. (2011), no qual está descrito o cálculo amostral para estimativa da taxa de prevalência inicial. Foram avaliadas 1875 crianças residentes nas três áreas de estudo. As crianças foram selecionadas aleatoriamente, utilizando o banco de dados do Programa de Saúde da Família do Sistema Único de Saúde de Belo Horizonte (PSF/SUS-BH).

- **Estudo quase experimental II (2012)**

O cálculo da amostra para estimativa da taxa de prevalência foi realizado com base nos seguintes parâmetros: (i) prevalência média da infecção humana de 15/100 crianças menores de sete anos (MARQUES *et al.*, 2012); (ii) nível de significância $\alpha=0,05$; (3) efeito desenho=1,5. A amostra estimada foi de 294 crianças por área, totalizando aproximadamente 900 crianças.

- **Etapa “Avaliação do curso da infecção por *L. infantum*” - (2013)**

Não houve cálculo de amostra. A amostra desta etapa foi composta por crianças que no estudo quase experimental II, apresentaram infecção assintomática por *L. infantum*, diagnosticada por meio do teste sorológico ELISA-rK39.

6.4. Coleta de dados e de amostras biológicas

- **Estudo quase experimental II**

A coleta de dados do estudo quase experimental II seguiu a mesma metodologia utilizada no estudo quase experimental I de Morais. (2011). Inicialmente foi realizado contato telefônico para explicar os objetivos da pesquisa ao responsável pela criança. A equipe de técnicos de enfermagem realizou visita domiciliar para coleta de sangue das crianças por punção digital em papel filtro, de acordo com protocolo descrito por Marques *et al.*, (2012), para realização dos testes sorológicos ELISA-rK39 e ELISA-AgS.

No momento da visita, os responsáveis pela criança foram entrevistados com auxílio de questionário pré-codificado para coleta de dados. As seguintes informações foram coletadas: características individuais da criança (idade, sexo, onde permanece a maior parte do tempo); características da residência (número de cômodos, quantidade de moradores, características do intradomicílio) e do peridomicílio (armazenamento,

disposição e destino do lixo doméstico; destino de águas residuais; presença de animais domésticos); conhecimento sobre leishmaniose visceral e seu vetor e levantamento das características da vizinhança (presença de árvores, de animais, de quintais ou terrenos baldios) (Anexos 5 e 6). Antes da punção digital e da aplicação do questionário, foi lido e assinado pelo responsável o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 5). As crianças maiores de 7 anos também assinaram o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) (Anexo4)

A renda familiar e a classe econômica foram estimadas a partir do Critério de Classificação Socioeconômica do Brasil CCEB (2012) (Anexos 5 e 7), que leva em consideração o grau de instrução do chefe da família e a posse de itens domésticos. Os entrevistadores foram previamente treinados e utilizaram manual de instrução para garantir uniformidade e confiabilidade na coleta de dados.

- **Etapa “Avaliação do curso da infecção por *L. infantum*” - 2013**

Na etapa de avaliação do curso da infecção, os responsáveis pelas crianças com infecção assintomática por *L. infantum* diagnosticada por ELISA-rK39 foram contatados por telefone e convidados a comparecer com a criança ao Centro de Saúde de referência de cada área de estudo. Nesta oportunidade as crianças passaram por exames clínicos realizados por médicos pediatras contratados pelo projeto. Foi realizada também, coleta de sangue por punção venosa em tubos com ethylene diamine tetra-acetic (EDTA) para realização de qPCR e em tubos sem anticoagulante, para realização dos testes sorológicos ELISA-rK39 e ELISA-AgS. A coleta de sangue venoso foi realizada por técnicos de enfermagem também contratados pelo projeto. Para o exame clínico os médicos seguiram um fluxograma para investigação de sinais clínicos de LV (Anexo 11). As informações coletadas no exame clínico foram registradas em um formulário próprio (Anexo 12). Neste momento não houve aplicação de questionário aos responsáveis. Antes do início de qualquer procedimento ou consulta foi lido e assinado pelo responsável, outro TCLE (Anexo 3). As crianças maiores de 7 anos também assinaram um TALE (Anexo 4).

6.5. Exames sorológicos Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

- **Preparação do eluato de amostras de sangue coletadas em papel de filtro no estudo quase experimental II**

Papéis de filtro Whatman® nº3 e nº4 foram impregnados com sangue e secos a temperatura ambiente. Em seguida, pedaços de tamanhos diferentes desses papéis foram eluídos com quantidades diferentes de soluções de salina tamponada com fosfato (SSTF), acrescida ou não de Tween 20. Após vários ensaios em paralelo, de 11 amostras de eluatos e soro, ficou estabelecido que um círculo de 5mm de diâmetro de papel filtro Whatman® nº4, embebido com sangue e eluído em 330µL de SSTF, corresponde a diluição 1:100 do soro da criança. Esta padronização foi seguida para as amostras deste estudo, coletadas a campo em papel filtro. Foram feitos os recortes de 5mm de papel de filtro e estes foram mergulhados em 330µL de SSTF e submetidos à agitação em aparelho, (KLINENT150, Novatécnica, São Paulo, Brasil), durante cerca de 18 horas, em geladeira. O eluato obtido foi utilizado para realização dos ensaios de ELISA-rK39. Para a realização do ELISA-*L. infantum* o eluato foi diluído 1:1,5, para produzir um diluição 1:250. As amostras em papel filtro foram secadas à temperatura ambiente, acondicionadas em sacos plásticos contendo sílica gel e armazenadas a 4° C.

- **Obtenção do soro em amostras de sangue venoso coletadas na etapa de avaliação do curso da infecção**

As amostras de sangue venoso coletadas em tubos sem anticoagulante, foram centrifugadas a 3000 x g durante 15 minutos a 25°C, para se obter o soro, que foi alíquotado e mantido a -70°C até a realização dos experimentos. As amostras de sangue venoso coletadas em tubos contendo EDTA foram alíquotadas e mantidas a -70°C, até a realização dos experimentos.

- **Realização dos ensaios ELISA – estudo quase experimental II e etapa de avaliação do curso da infecção por *L. infantum***

Os ensaios imunoenzimáticos com antígeno recombinante rK39 (ELISA-rK39) e antígeno solúvel de promastigotas de *L. infantum* (ELISA-AgS), foram realizados seguindo a mesma metodologia, descrita por Pedras *et al.* (2008) e Ho *et al.* (1983), nas amostras de soro obtidas do sangue total coletado em papel filtro e nas amostras de soro obtidas após centrifugação do sangue total coletado em tubos sem anticoagulante.

- **Antígenos**

O antígeno solúvel de *L. infantum* utilizado para o ensaio de ELISA-AgS (MHOM/BR/2002/LPC-RPV) foi produzido e cedido pelo laboratório de Pesquisas Clínicas do Centro de Pesquisas René Rachou (FIOCRUZ/MG), a partir de promastigotas de *L. infantum*, segundo Ho *et al.* (1983) e Pedras *et al.* (2008), foi preparado como descrito por Ho *et al.* (1983).

O antígeno rK39 usado no ensaio de ELISA-rK39 foi gentilmente cedido por S.G. Reed, Infectious Disease Research Institute, Seattle, WA, USA.

- **Técnica de realização dos ensaios de ELISA-AgS e ELISA-rK39**

O protocolo para realização dos testes sorológicos ELISA, seguiu as seguintes etapas: sensibilização das placas com o respectivo antígeno, eluição da amostra em papel filtro para o caso das amostras coletadas no estudo quase experimental II ou diluição do soro para avaliação do curso da infecção das crianças, incubação das amostras, revelação com tetrametilbenzidina e leitura no espectrofotômetro em comprimento de onda 450nm.

Para realização dos testes de ELISA, Microplacas de poliestireno NUNC Maxisorp (Nunc-Immuno Produtos PlacaBrand, Roskilde, Dinamarca) foram sensibilizadas com 50µL/orifício dos antígenos. Para o ensaio com antígeno solúvel de *L. infantum* foi utilizada a concentração de 3µg/mL e para o ensaio com o antígeno rK39 foi utilizada a concentração de 1µg/mL. Eles foram diluídos em tampão carbonato-bicarbonato (pH 9,6) por, aproximadamente 18 horas, a 4°C.

Após esta etapa de sensibilização das placas com os antígenos, elas foram lavadas com SSTF acrescida de Tween 0,05% (SSTF-T) e foram adicionados a cada orifício, 200µl de leite desnatado a 5% diluído em SSTF-T (SSTF-T-Leite 5%), incubando-se por mais 2 horas, a 37°C, para saturar os sítios livres da microplaca.

As placas foram lavadas novamente com SSTF-T e foram depositados, em duplicata, nos orifícios das microplacas 50µL de soro ou eluato diluído 1:250 (para o teste de ELISA-AgS) ou 1:100 (para o teste de ELISA-rK39), que foram incubadas por uma hora a 37°C.

Após lavagens, foram adicionados 50µL do conjugado (anticorpo anti-IgG humano ligado à peroxidase, Sigma-Aldrich, Saint Louis, Missouri, USA) diluído a 1:1.000 (para o teste de ELISA-AgS) ou 1:10.000 (para o teste de ELISA-rK39) em SSTF-T-Leite 1% e as placas foram incubadas por 1 hora a 37°C.

Em seguida, as microplacas foram lavadas novamente e foram adicionados 50µL de mistura cromogênica (Tetrametilbenzidina+Peróxido de Hidrogênio, Sigma-Aldrich, Saint Louis, Missouri, USA). As microplacas foram incubadas por 5 minutos ao abrigo da luz e foram aplicados 50µL de solução de ácido sulfúrico 1N em cada poço.

A leitura da absorbância foi realizada a 450nm em um leitor de microplacas (Modelo 550; Bio-Rad Laboratórios, Tóquio, Japão). Amostras que apresentaram diferença entre os valores das absorbâncias das duplicatas maior que 20%, foram ensaiadas novamente. Para cada amostra foi calculado o índice de reatividade (IR), dividindo-se a média de absorbância pelo ponto de corte, determinado através da média das absorbâncias obtidas pelo ensaio de 15 amostras negativas, somadas a três desvios padrão. Foram consideradas amostras positivas aquelas que apresentaram IR maior ou igual a 1,0 e negativas as que demonstraram IR menor que 1,0.

6.6. Ensaio de qPCR – etapa de avaliação do curso da infecção por *L. infantum*

- **Extração de DNA**

As amostras de sangue periférico, coletadas em tubos contendo o anticoagulante EDTA, foram descongeladas e homogeneizadas por inversão por 20 minutos. O DNA total foi extraído por meio do equipamento Maxwell[®] 16 Instrument (Promega, *Madison*, Wisconsin, USA), utilizando o Kit para extração de DNA: Maxwell[®] 16 Lev Blood DNA Kit (Promega, *Madison*, Wisconsin, USA), seguindo o protocolo do fabricante.

- **PCR quantitativo em tempo real**

O ensaio molecular de qPCR foi utilizado na etapa de avaliação do curso da infecção, para diagnóstico qualitativo, com a finalidade de detectar a presença do DNA do parasito no sangue de crianças com infecção assintomática, diagnosticada anteriormente por meio dos testes sorológicos. Os iniciadores utilizados foram: senso (5`AAGTGCTTCCCATCGCAACT – 3`) e o antisenso (5`GACGCACTAAACCCCTCCAA – 3`), que amplificam um fragmento de 67 pares de bases do gene da pequena subunidade do RNA ribossomal (SSU rRNA) de *Leishmania* spp. (VAN EYS *et al.*, 1992).

A reação foi preparada, em duplicata, para um volume final de 20µL, contendo 3µL do DNA, diluído 1:10 em água, 0,3µM dos iniciadores senso e antisenso, 0,25µM

da sonda TaqMan®, (FAM 5'- CGGTTCGGTGTGTGGCGCC -3' TAMRA) (WORTMANN *et al.*, 2001) e 10µL de TaqMan® MasterMix (Roche, Branchburg, New Jersey, USA). O programa de amplificação utilizado apresenta as seguintes etapas: 50°C por 2 minutos para a ativação da enzima UDG, 95°C por 10 minutos, seguido de 40 ciclos de 95°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto.

Como controle interno dos procedimentos de extração de DNA e de amplificação foi realizada outra reação, onde 3µL do DNA extraído diluído 1:10 em água estéril, juntamente com os iniciadores Aco1 e Aco2 (MUSSO *et al.*, 1996) a uma concentração de 0,15µM e ao SYBR Green MasterMix (Life Technologies, Warrington, UK) a uma concentração de 1x, foram utilizados com o objetivo de amplificar o gene humano da β -actina (*ACTB*), gerando fragmentos de 120pb. O volume final presente na reação foi de 20µL e todas as amostras foram também avaliadas em duplicata. Foram utilizados parâmetros universais para amplificação e em cada reação, para confirmar a especificidade do ensaio, uma análise final da curva de fusão foi realizada. A temperatura de fusão dos produtos de amplificação foi determinada automaticamente por análise de software.

Em cada ensaio foi incluído um controle negativo, que consiste na mistura da reação e água em lugar do DNA. Além disso, foram realizados ensaios específicos para a amplificação do gene da pequena subunidade do RNA ribossomal (SSU rRNA) de *Leishmania* spp. e do gene *ACTB* para a avaliação dos controles negativos das extrações.

Ao longo dos ensaios para a amplificação do gene da pequena subunidade do RNA ribossomal (SSU rRNA) de *Leishmania* spp. uma amostra de DNA extraída de sangue periférico de um paciente com LV clássica foi ensaiada sendo considerada controle positivo da reação. O equipamento utilizado na realização dos ensaios foi o modelo StepOne plus (Life Technologies, Warrington, UK).

6.7. Avaliação da efetividade das estratégias de controle sobre a transmissão de *L. infantum* nas áreas de intervenção

Os dados coletados e os resultados dos testes sorológicos foram codificados e duplamente digitados. Posteriormente, os arquivos foram comparados e as divergências corrigidas. Foram utilizados os softwares: EpiData, versão 3.2 (Odense Denmark, Epidata Association; www.epidata.dk) para a entrada dos dados e STATA versão 12 (Stata Corp., College Station, TX, USA) para a análise de dados.

As taxas de prevalência da infecção foram estimadas por área considerando no denominador o número de crianças avaliadas em cada área. As taxas de prevalência por área estimadas em 2012 foram comparadas as taxas de prevalência estimadas em 2010.

Foram também definidas faixas etárias (≤ 24 ; ≥ 25 a ≤ 48 ; ≥ 49 a ≤ 72 ; ≤ 73 a ≥ 96 ; ≥ 97 meses) para comparação da prevalência da infecção assintomática em análise transversal e análise de coorte etária. Na análise transversal foram comparadas as taxas de prevalência entre as mesmas faixas etárias nos dois momentos de avaliação (2010 e 2012). A análise de coorte etária consistiu no acompanhamento ao longo do tempo, das taxas de prevalência da infecção das crianças de uma mesma faixa etária (nascidas no mesmo ano). Este acompanhamento possibilitou uma avaliação dinâmica da infecção.

As taxas de incidência foram estimadas considerando no denominador o número de crianças avaliadas na coorte, por área. Taxas de incidência pessoa-tempo foram estimadas utilizando-se no denominador o tempo de acompanhamento das crianças (24 meses), por área avaliada. No denominador considerou-se o número de crianças avaliadas em 2012, adicionado de $\frac{1}{2}$ das crianças que foram perdidas durante o seguimento.

Foi realizada análise exploratória dos dados por meio de análise gráfica e teste de qui-quadrado com nível de significância 5%, para comparação entre as três áreas e todas as variáveis contínuas e categóricas relacionadas às 891 crianças avaliadas e aos 659 imóveis pesquisados.

Para avaliar a efetividade das estratégias de controle do PVC-LV sobre a prevalência e a incidência da infecção por *L. infantum*, estimadas por ELISA-rK39, foram utilizados dois modelos estatísticos: (i) regressão logística multinível, (ii) regressão de Poisson com estimativa de variância robusta. O modelo de regressão logística multinível foi utilizado no delineamento transversal, para avaliar os efeitos das intervenções do PVC-LV sobre a prevalência final da infecção assintomática nas áreas, por meio de OR (odds ratio) com intervalo de confiança de 95% (IC95%). Este modelo considerou em um nível a casa e, em outro nível, as características da criança. A residência das crianças foi considerada o primeiro nível, uma vez que, durante o processo de coleta de dados, mais de uma criança de um mesmo domicílio foi incluída no estudo. Sendo assim, é provável que compartilhem atributos similares em decorrência do contexto que lhes é comum. O modelo de regressão de Poisson com estimativa de variância robusta foi utilizado para avaliar os efeitos das intervenções do PVC-LV sobre a incidência de infecção assintomática recente por *L. infantum* nas crianças da coorte, por meio da razão de taxas de incidência (IRR) com

IC95%. Foram utilizadas variáveis da casa para explicar a incidência da infecção de crianças que ali residem.

Inicialmente, foi realizada a análise univariada para ambos os modelos, em que a infecção da criança (sim/não) foi a variável resposta. Em ambos os modelos As variáveis que apresentaram associação estatística na análise univariada ($p < 0,25$) foram primeiramente analisadas em modelos multivariados segundo grupos: variáveis individuais, socioeconômicas, características do intra e do peridomicílio, informações sobre o vetor e o reservatório, características da vizinhança. As variáveis significativas em todos os grupos ($p < 0,15$) foram selecionadas para os modelos logísticos multinível e Poisson. As variáveis com mais de duas categorias foram transformadas em variáveis de desenho (dummies). Para construção dos modelos finais, partiu-se dos modelos completos contendo todas as variáveis com descarte sucessivo (*stepwise forward*) das variáveis não significativas.

O modelo logístico multinível final foi ajustado por variáveis que permaneceram com significância estatística ($p < 0,05$), considerando assim, os efeitos da interferência destas variáveis sobre a prevalência de infecção. A regressão logística multinível foi realizada utilizando-se a função “xtmelogit” do STATA versão 12. O modelo de Poisson final com estimativa de variância robusta também foi ajustado por variáveis que permaneceram significativas ($p < 0,05$). Este modelo considerou os efeitos da interferência destas variáveis sobre a incidência de infecção. O modelo de Poisson foi realizado utilizando-se a função “poisson vce (robust) irr” do STATA versão 12.

6.8. Análise dos fatores associados à infecção assintomática por *L. infantum*

Para esta abordagem foram ajustados dois modelos estatísticos sem levar em consideração a área de residência como covariável. (i): modelo de regressão logística multinível, para avaliar os fatores associados à infecção da criança por *L. infantum*, por meio de OR (odds ratio) com intervalo de confiança de 95% (IC95%). A variável resposta é a infecção da criança por *L. infantum* diagnosticada no delineamento transversal do estudo quase experimental II, por meio do teste ELISA-rK39. (ii): modelo logístico multivariado, considerando como variável resposta “resultado final da casa” que foi categorizada como “casa positiva” e “casa negativa” para avaliar, por meio de OR (odds ratio), fatores associados à infecção recente em crianças que residem no imóvel. A “casa positiva” é a casa onde reside pelo menos uma criança diagnosticada com infecção por *L.*

infantum, por meio do teste ELISA-rK39, no delineamento transversal do estudo quase experimental II. A “casa negativa” é aquela onde não há nenhuma criança com infecção diagnosticada por ELISA-rK39. Este modelo considera o número de imóveis visitados, já que, durante o processo de coleta de dados, mais de uma criança foi amostrada em alguns domicílios. São utilizadas variáveis de cada casa amostrada para explicar a infecção que ocorre nas crianças que ali residem.

Por tratar-se de uma análise abrangente de fatores associados à infecção, utilizou-se para os modelos estatísticos a amostra de 891 crianças participantes do delineamento transversal do estudo quase experimental II, sem levar em consideração a área de residência das crianças como covariável. Em ambos os modelos, as variáveis explicativas analisadas foram coletadas por meio do questionário. As seguintes variáveis foram analisadas: relacionadas às características socioeconômicas, do domicílio, do peridomicílio, presença de animais na residência, informações sobre criação de cães e a leishmaniose visceral canina, informações sobre o vetor e características da vizinhança. Para construção dos modelos finais, partiu-se dos modelos completos contendo todas as variáveis com descarte sucessivo das variáveis não significativas. Foram mantidas no modelo final, as variáveis que apresentaram $p < 0,05$. A regressão logística multinível foi realizada utilizando-se a função “xtmelogit” do STATA versão 12 e a regressão logística multivariada foi realizada utilizando-se a função “logit” do STATA.

7. Resultados

7.1. População estudada

No estudo quase-experimental I de Morais. (2011), amostras de 1875 crianças com idades entre 2 e 84 meses (média $42,1 \pm 24,7$) foram avaliadas por meio dos testes sorológicos ELISA-rK39 e ELISA-AgS (antígeno solúvel). Destas, 1521 apresentaram ambos os testes sorológicos negativos para a infecção por *L. infantum*. Desse grupo de crianças não infectadas por *L. infantum*, 478 (31,4%), com idades entre 22 e 120 meses (média $75,0 \pm 20,5$), foram acompanhadas na coorte em 2012, por meio do teste sorológico ELISA-rK39. As demais crianças ($n= 1043$) não foram localizadas ou houve recusa para continuar no estudo.

A perda não foi diferencial entre as áreas, sendo 70,9% na AI2006, 67,6% na AI2008 e 67,2% na AI2010. Entre algumas variáveis analisadas (idade, sexo, profissão e

escolaridade do chefe da família, renda familiar, presença de cão, cão com LV, algumas características do imóvel) observou-se maior perda de seguimento nas famílias com menor renda ($p=0,000$) e com menor grau de instrução do chefe de família ($p=0,038$).

Para compor a amostra calculada para o delineamento transversal do estudo quase-experimental II, a amostra de 478 crianças em seguimento foi complementada com mais 413 crianças que nunca haviam participado do estudo, totalizando 891 crianças, com idades de 2 a 129 meses (média 62 meses \pm 27,92).

A figura 11 apresenta a distribuição total da amostra de crianças nas áreas de estudo.

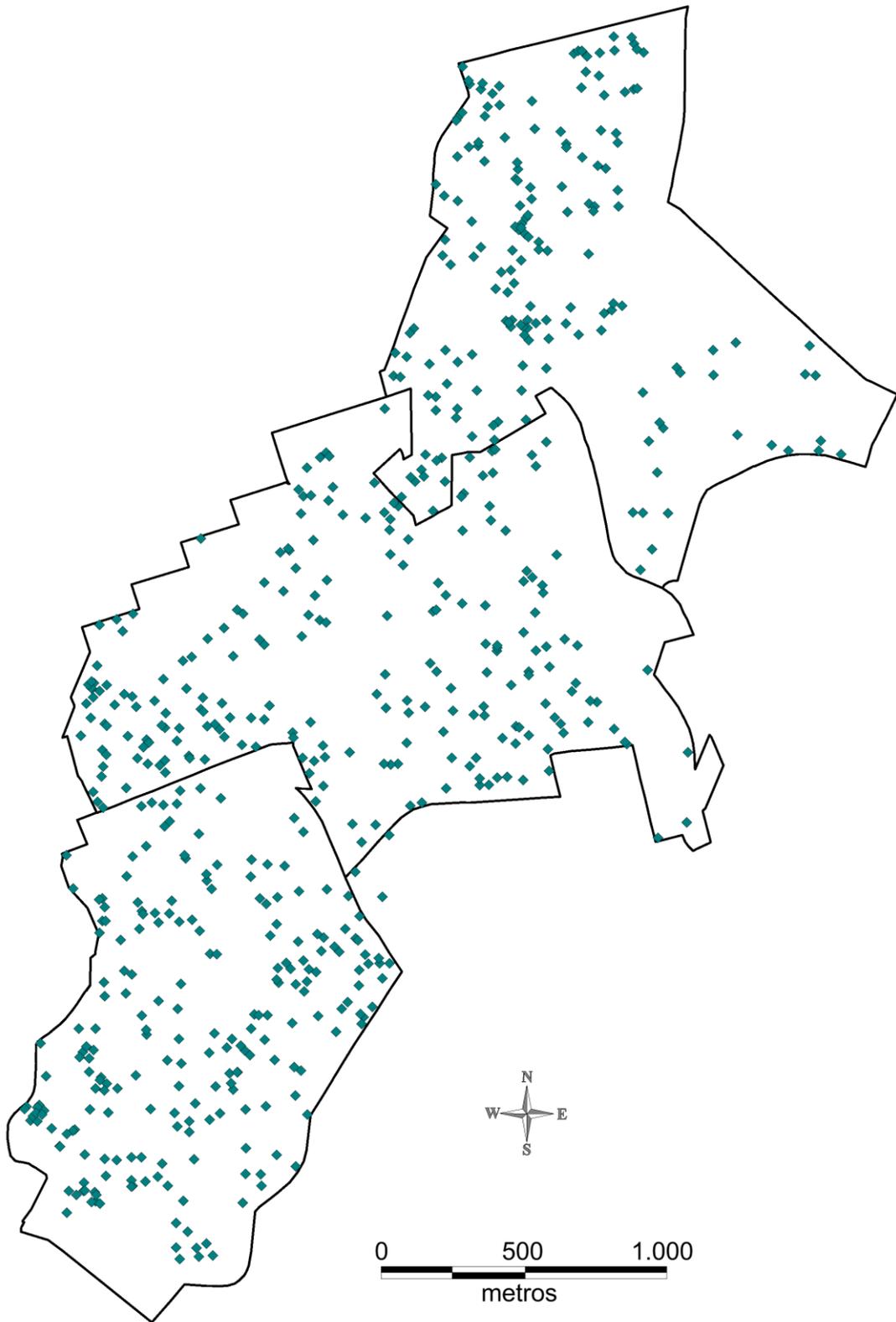


Figura 11: Distribuição geográfica da amostra total de 891 crianças participantes do estudo quase experimental II.

7.2. Infecção assintomática: estimativas de prevalência e incidência

O critério de seleção para seguimento das crianças na coorte foi apresentar, no estudo quase experimental I, testes de ELISA-rK39 e ELISA-AgS não reagentes. Foram seguidas na coorte 478 crianças e inseridas 413 crianças para complementar a amostra calculada para estimativa de prevalência.

No estudo quase experimental I, a taxa de prevalência inicial geral estimada por ELISA-rk39 foi 14,9% (IC95% 13,4-16,6), por ELISA-AgS foi 2,8% (IC95% 2,1-3,6) e considerando os dois testes foi 18,9% (IC95% 17,1-20,7). No estudo quase experimental II a taxa de prevalência final estimada por ELISA-rk39 foi 22,2% (IC95% 19,6-25,1) por ELISA-AgS foi 6,5% (IC95% 5,1-8,3) e considerando os dois testes foi 25,8% (IC95% 23,1-28,8) (Tabela 3).

A taxa de incidência geral estimada por ELISA-rk39 foi 16,1% (IC95% 13,1-19,8), por ELISA-AgS foi 4,4% (IC95% 2,9-6,6) e considerando os dois testes foi 19% (IC95% 15,8-22,8).

A taxa de incidência pessoa-tempo por ELISA-rk39 foi 7,7/100 pessoas por 24 meses de acompanhamento e por ELISA-AgS foi 2,1/100 pessoas por 24 meses de acompanhamento. Considerando os dois testes a taxa de incidência foi 9,1/100 pessoas-em 24 meses de acompanhamento.

Tabela 3: Comparação entre estimativas gerais de prevalência inicial, prevalência final e incidência de acordo com os testes sorológicos ELISA-rK39 e ELISA-AgS.

	Prevalência inicial 1875 crianças			Prevalência final 891 crianças			Incidência 478 crianças			Incidência pessoa tempo 996,5 crianças*		
	(n)	%	(IC95%)	(n)	%	(IC95%)	(n)	%	(IC95%)	(n)	%	(IC95%)
ELISA-rK39	280	14,9	(13,4-16,7)	198	22,2	(19,6-25,1)	77	16,1	(13,1-19,8)	77	7,7	(6,1-9,6)
ELISA-AgS	52	2,8	(2,1-3,6)	58	6,5	(5,1-8,3)	21	4,4	(2,9-6,6)	21	2,1	(1,3-3,2)
ELISA-rK39/AgS	354	18,9	(17,2-20,7)	230	25,8	(23,1-28,8)	91	19,0	(15,8-22,8)	91	9,1	(7,4-11,2)

* Denominador: Perda/2 (1043/2) + Numero de crianças em seguimento (478) = 996,5 crianças por 24 meses. Estatística Kappa = 0,114

No estudo quase experimental II, observou-se baixa concordância entre os resultados dos testes sorológicos ELISA-rK39 e ELISA-AgS (Kappa = 0,114), o que já havia sido observado no estudo quase experimental I de Moraes. (2011). No delineamento transversal do estudo quase experimental II, de um total de 256 amostras com resultado sorológico reagente, 26 foram reagentes para ambos os testes sorológicos (Figura 12), enquanto no delineamento coorte, de um total de 98 amostras reagentes nos testes

sorológicos, apenas 7 apresentaram concordância no diagnóstico da infecção pelos dois testes (Figura 13).

Devido à baixa concordância entre os testes sorológicos e a maior sensibilidade demonstrada pelo ELISA-rK39, este teste foi selecionado para o diagnóstico da infecção assintomática e os resultados obtidos por meio dele, foram considerados para comparação das prevalências inicial e final, para estimativa de incidência e para as demais análises do estudo quase experimental II. Portanto, assim como no estudo quase experimental I, de Moraes. (2011), crianças com amostras reagentes no ELISA-rK39 foram consideradas infectadas por *L. infantum* nas análises.

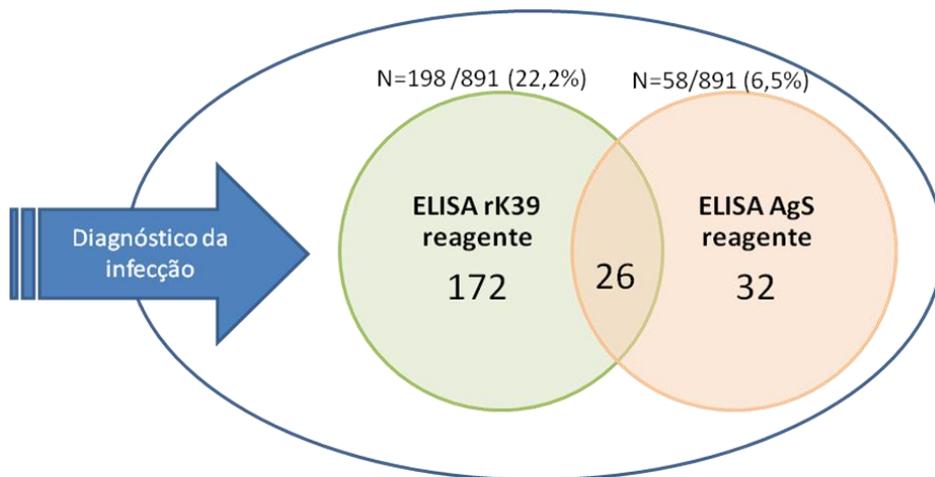


Figura 12: Número de amostras que apresentaram testes de ELISA-rK39 e ELISA-AgS reagentes para *L. infantum* no delineamento transversal do estudo quase experimental II e amostras que apresentaram sorologia reagentes nos dois testes.

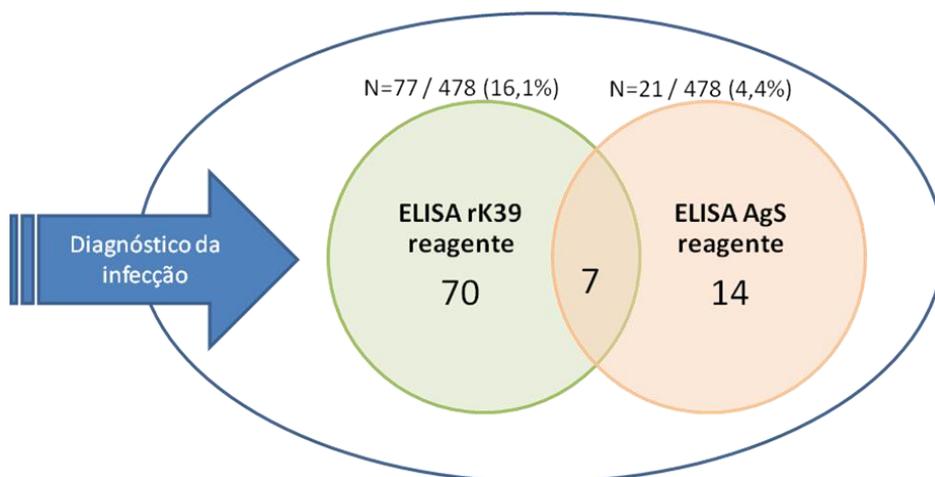
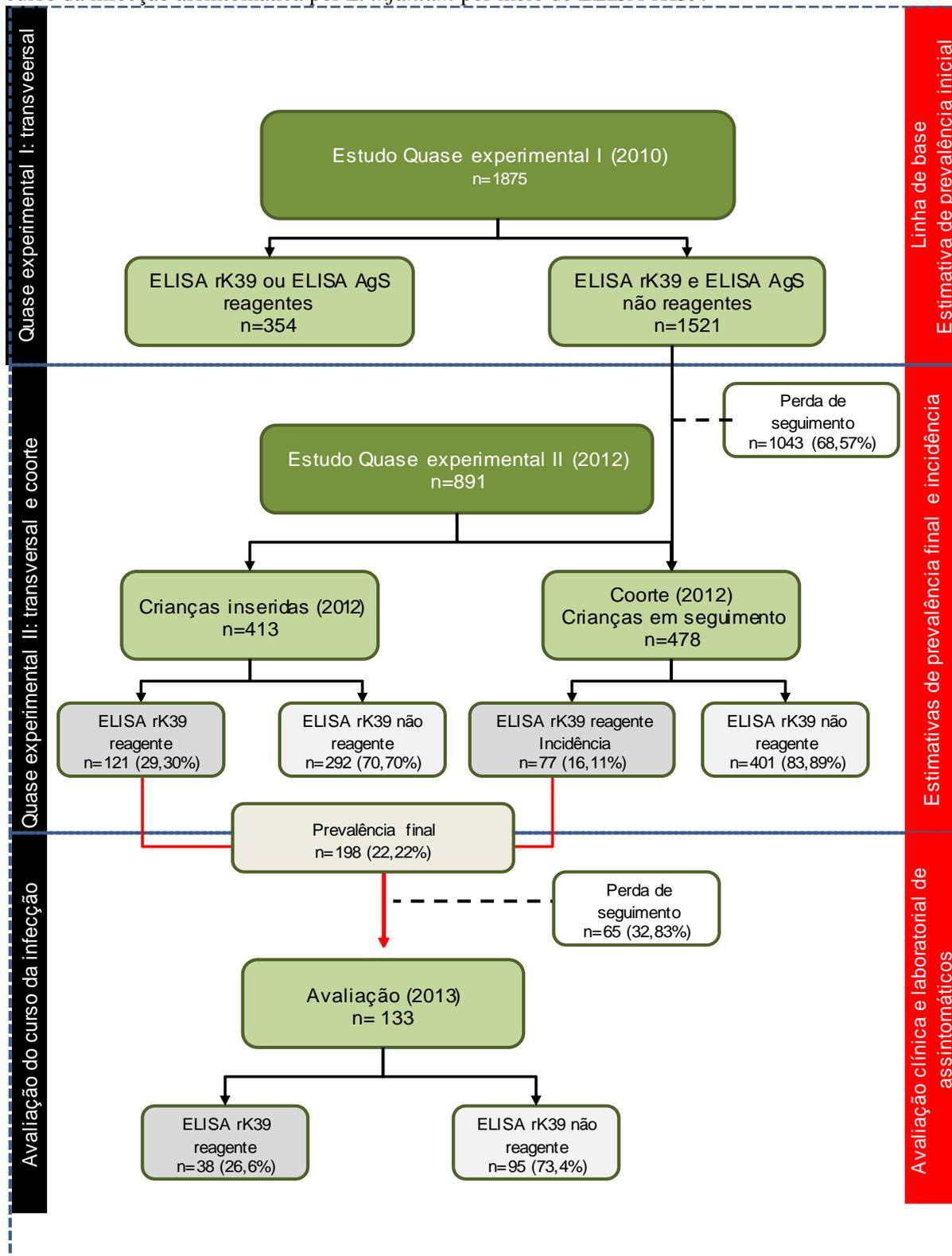


Figura 13: Número de amostras que apresentaram testes de ELISA-rK39 e ELISA-AgS reagentes para *L. infantum* no delineamento coorte do estudo quase experimental II e amostras que apresentaram sorologia reagentes nos dois testes.

A figura 14 apresenta o fluxograma com os resultados detalhados dos estudos quase experimental I e II e da etapa de avaliação do curso da infecção assintomática. Demonstra o critério de seleção para seguimento na coorte, das 1521 crianças que no estudo experimental I, apresentaram testes de ELISA-rK39 e ELISA-AgS não reagentes, bem como a perda se seguimento dessas crianças (69,6%). Na figura são apresentados os resultados obtidos no estudo quase experimental II, para a infecção assintomática estimada por ELISA-rK39 na amostra de crianças da coorte (16,1% - incidência), naquelas inseridas na amostra (29,3%), na amostra total do delineamento transversal (22,2% - prevalência) e a persistência da infecção na etapa de avaliação do curso da infecção (26,6%).

Figura 14: Fluxograma dos estudos quase experimental I, quase experimental II e avaliação do curso da infecção assintomática por *L. infantum* por meio de ELISA-rK39.



No estudo quase experimental II, a prevalência final geral de infecção assintomática em crianças (22,2%) estimada por ELISA-rK39, representa 49% de aumento em relação à prevalência inicial (14,9%) (MORAIS, 2011) (Tabela 4). Com relação à prevalência inicial da infecção, na AI2006, a prevalência final aumentou 83,7%, na AI2008, aumentou 74,1% e, na AI2010, diminuiu 5%.

$$\text{Percentual de aumento da} = \frac{\text{prevalência final} - \text{prevalência inicial}}{\text{prevalência inicial}} \times 100$$

A área AI2008 apresentou a maior taxa de prevalência (25,6%) e de incidência (21,1%). A taxa de incidência pessoa-tempo foi de 10/100 pessoas por 24 meses de acompanhamento. A AI2006 apresentou prevalência de 23,7% e incidência de 14,4%. A taxa de incidência pessoa-tempo foi de 6,2/100 pessoas por 24 meses de acompanhamento. A área controle AI2010 foi a única que manteve a mesma prevalência encontrada no estudo experimental I (17%) e apresentou menor taxa de incidência (11,6%) e de incidência pessoa-tempo (5,6/100 pessoas por 24 meses de acompanhamento) (Tabela 4).

Tabela 4: Taxas de prevalência e incidência da infecção assintomática por *L.infantum* estimadas por ELISA-rK39 nas áreas com diferentes tempos de intervenção pelo PVC-LV: Estudos quase experimental I e II

Taxas estimadas por estudo	Positividade ELISA-rK39			
	AI2006 % (IC95%)	AI 2008 % (IC95%)	AI 2010 % (IC95%)	Total % (IC95%)
Prevalência inicial (2009/2010)	12,9 (10,6-15,6)	14,7 (12,3-17,6)	17,9 (14,8-21,4)	14,9 (13,4-16,6)
Prevalência final (2012)	23,7 (19,1-28,9)	25,6 (21,1-30,7)	17,0 (13,1-21,8)	22,2 (19,6-25,1)
Incidência (2012)	14,4 (9,8-20,7)	21,1 (15,8-27,6)	11,6 (7,3-18,0)	16,1 (13,1-19,7)
Incidência pessoa-tempo*	6,2 (4,0-9,1)	10,0 (7,2-13,6)	5,6 (3,3-9,0)	9,1 (7,4-11,2)

*Denominador: Perda/2 + Número de crianças por 24 meses em seguimento, por área avaliada.

A tabela 5 apresenta análise transversal por faixa etária e análise de coorte etária, para comparação entre as taxas de prevalência da infecção assintomática, estimadas nos estudos quase experimental I e II. Observou-se nas faixas etárias mais jovens, aumento das taxas de prevalência da infecção, em ambas as análises, representado pela diferença relativa. A diferença relativa nas faixas etárias mais jovens foi mais acentuada nas AI2006 e AI2008 e houve redução da prevalência de infecção em crianças com idades superiores a

73 meses. Na AI2010 a redução da prevalência da infecção é observada mais precocemente, na análise de coorte etária, a partir dos 48 meses de idade.

Tabela 5: Análise para comparação das taxas de prevalência da infecção assintomática estimadas nos estudos quase experimental I e II. Comparação por faixa etária (diferença relativa transversal) e por coorte etária (diferença relativa coorte etária).

Área	Faixa Etária	Positividade 2010	Positividade 2012	Diferença Relativa Transversal	Diferença Relativa Coorte Etária
AI2006	<24	10,6	34,3	223,6	
	25-48	15,7	34,7	121,0	227,4
	49-72	10,9	24,7	126,6	57,3
	73-96	17,1	18,3	7,0	67,9
	>97		13,8		-19,3
AI2008	<24	17,6	25,6	45,5	
	25-48	16,7	27,9	67,1	58,2
	49-72	11,2	26,4	135,7	58,1
	73-96	13,8	27,1	96,4	142,0
	>97		9,1		-29,7
AI2010	<24	20,7	21,9	5,8	
	25-48	17,9	24,6	37,4	18,8
	49-72	15,2	16,0	5,3	-10,6
	73-96	18,4	12,4	32,6	-18,4
	>97		10,0		-45,6

7.3. Avaliação do curso da infecção assintomática por *L. infantum* diagnosticada por ELISA-rK39

No estudo quase experimental II, 198 crianças apresentaram diagnóstico sorológico positivo no ELISA-rK39. Destas, foram seguidas 133 crianças na etapa “avaliação do curso da infecção” em 2013, com perda de seguimento de 32,8% da amostra. Estas crianças foram examinadas por médicos pediatras e foi coletada amostra de sangue venoso para novos exames sorológicos ELISA-rk39 e ELISA-AgS e para qPCR (Figura 15).

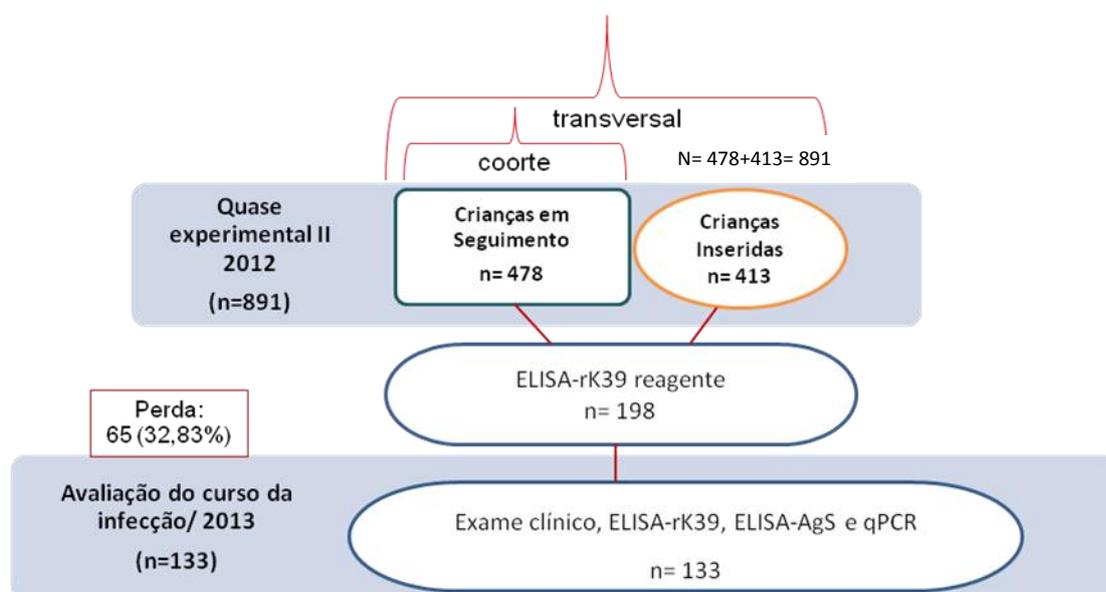


Figura 15: Etapa de Avaliação do Curso da Infecção Assintomática por *L. infantum*: Amostra avaliada por meio de exames clínico e laboratoriais.

Nessa etapa, 26,6% das crianças permaneceram com amostras reagentes no teste sorológico ELISA-rK39. Das 133 crianças reavaliadas, 17,3% foram reagentes no teste de ELISA-AgS e 15,8% na qPCR (Tabela 6). A persistência da detecção da infecção considerando amostras positivas em pelo menos um dos três testes foi 48,1%.

Nenhuma criança em seguimento apresentou manifestações clínicas de leishmaniose visceral. Os responsáveis por crianças diagnosticadas com outras enfermidades receberam orientação por parte dos médicos e as crianças foram encaminhadas para acompanhamento médico nos centros de saúde de sua referência.

Tabela 6: Avaliação laboratorial do curso da infecção assintomática por *L. infantum* por meio dos testes ELISA-rK39, ELISA-AgS e qPCR - 2013.

Resultado	ELISA-rK39	ELISA-AgS	qPCR
Positivo	38 (26,6%)	23 (17,3%)	21 (15,8%)
Negativo	95 (71,4%)	110 (82,7%)	112 (84,2%)
Total	133 (100%)	133 (100%)	133 (100%)

Novamente observou-se maior sensibilidade do teste sorológico ELISA-rK39 e baixa concordância entre resultados do ELISA-rK39 e do ELISA-AgS. De 43 amostras reagentes nos testes sorológicos, apenas 8 foram reagentes em ambos os testes. De 64

amostras com resultado positivo em pelo menos um teste, apenas 2 amostras foram positivas para a infecção por *L. infantum* de acordo com os resultados dos três testes (ELISA-rK39, ELISA-AgS e qPCR) (Figura 16).

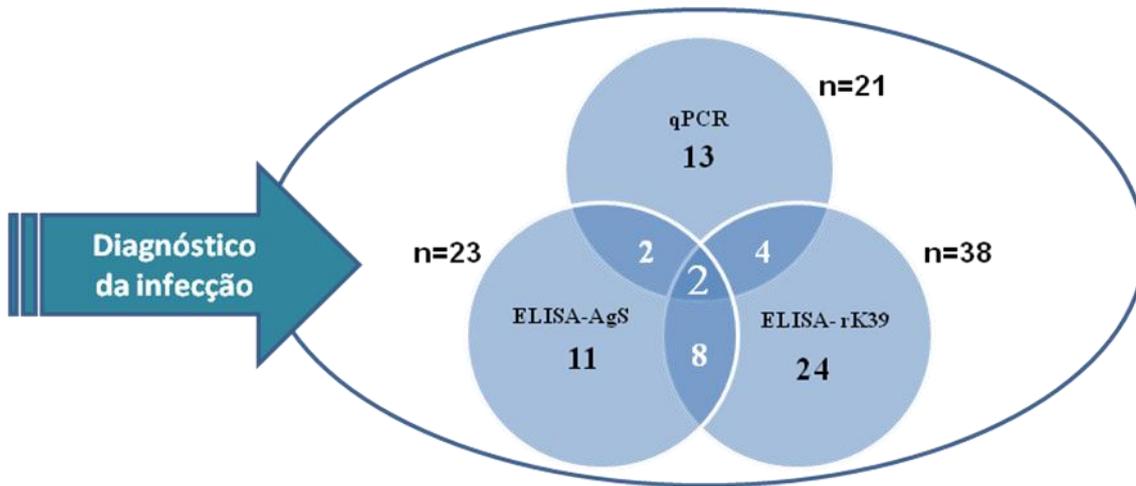


Figura 16: Número de amostras que apresentaram testes sorológicos de ELISA-rK39 e ELISA-AgS reagentes e qPCR positivo na etapa de avaliação do curso da infecção assintomática por *L. infantum*

7.4. Análise de Prevalência

Participaram do delineamento transversal do estudo quase experimental II, 287 crianças na AI2006, 316 crianças na AI2008 e 288 crianças na AI2010, totalizando 891 crianças. Observou-se que na AI2006 há menor percentual de crianças com idades inferiores a 48 meses e maior percentual de crianças com idade maior ou igual a 97 meses, quando comparada às AI2006 e AI2008. As proporções de crianças do sexo feminino e masculino são semelhantes entre as três áreas. No entanto, foi observado maior percentual de crianças do sexo masculino na AI2008 em comparação às AI2006 e AI2010 e menor percentual de crianças do sexo feminino na AI2010, em comparação às AI2006 e AI2008 (Tabela 7).

Tabela 7: Análise descritiva da amostra de crianças participantes do estudo quase experimental II (delineamento transversal).

Variável	AI 2006	AI 2008	AI 2010	p
	n (%)	n (%)	n (%)	
Nº de crianças	287 (32,2)	316 (35,5)	288 (32,3)	
Idade da criança				
até 48 meses	84 (29,3)	100 (31,6)	102(35,4)	
≥49 a 72 meses	77 (26,8)	91 (28,8)	75 (26,0)	
≥73 a 96 meses	93 (32,4)	96 (30,4)	81 (28,1)	
≥97 meses	33 (11,5)	29 (9,2)	30 (10,4)	0,79
Sexo da criança				
Masculino	137 (47,7)	159 (50,3)	152 (52,8)	
Feminino	150 (52,3)	157 (49,7)	136 (47,2)	0,48

A Figura 17, mostra gráfico com a distribuição da amostra total de crianças participantes do estudo quase experimental II por área de estudo. Observa-se que a distribuição das faixas etárias por área é semelhante, com maior percentual de crianças com idades entre 4 e 8 anos.

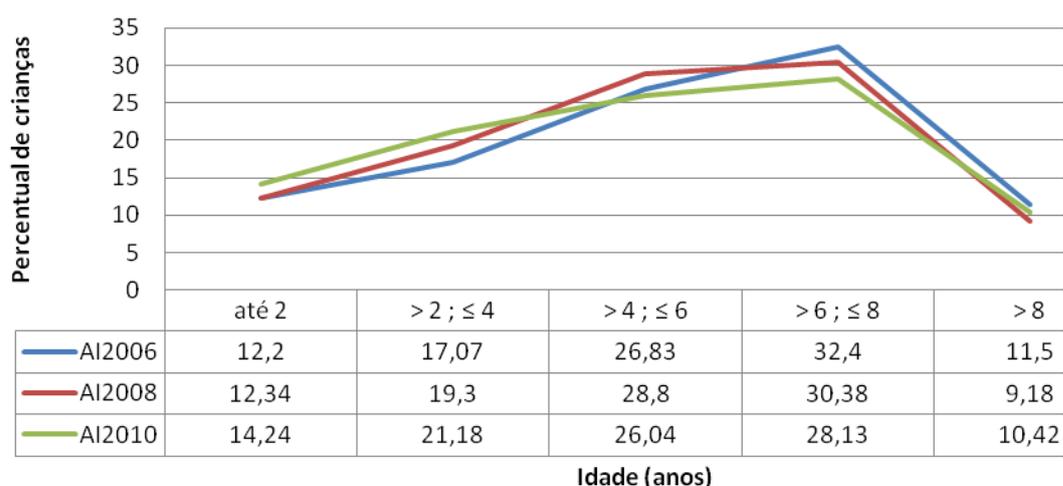


Figura 17: Representação gráfica da distribuição da amostra de crianças por idade nas três áreas de intervenção.

A figura 18 mostra a representação gráfica da curva de infecção de crianças por faixa etária, nas três áreas de intervenção. Observa-se que nas AI2006 e AI2010, as crianças com idades superiores a 49 meses passam a se infectar menos que as mais jovens. Na AI2010, observa-se que crianças com idades maiores que 73 meses são menos infectadas que as mais jovens.

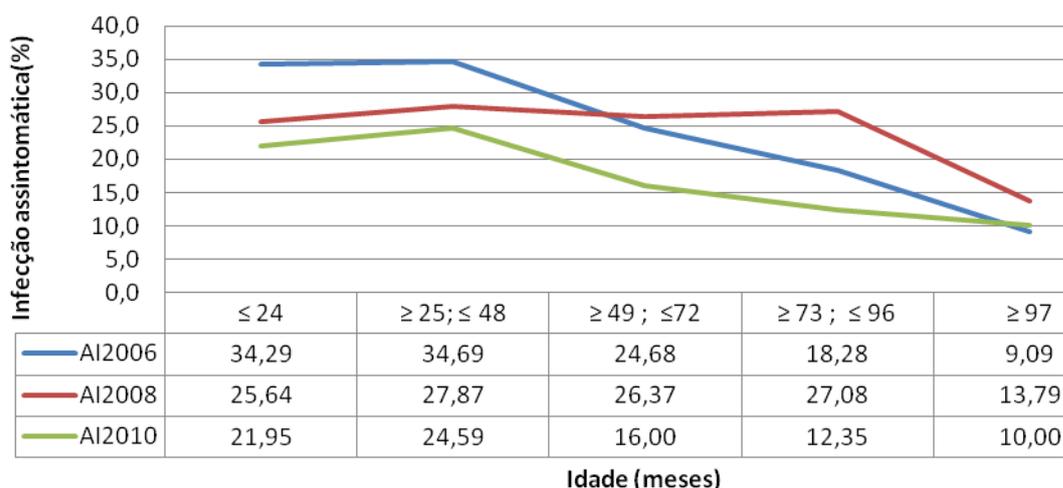


Figura 18: Representação gráfica da curva de infecção da amostra de crianças por faixa etária, nas três áreas de intervenção.

No delineamento transversal do estudo quase experimental II (n=891), foram visitados 659 domicílios. Algumas variáveis selecionadas na análise descritiva das áreas são mostradas na Tabela 8 e a tabela completa, com as demais variáveis é apresentada no Anexo 8. Em todas as áreas analisadas, o ensino médio completo foi a escolaridade mais frequente do chefe de família. O maior percentual de chefes de família com ensino superior em curso ou completo foi observado na AI2010 e de analfabetos na AI2006 (9,2%).

Em 2012, um salário mínimo (SM= R\$ 622,00; equivalia a 311 dólares). De acordo com o CCEB (2012), a maior parte das crianças residentes nas AI2006 (65,9%) e AI2008 (56,5%) pertence à classe econômica C ou inferior (renda menor que 1,6 SM), já as crianças da AI2010, pertencem principalmente à classe B ou superior (renda de 4,12 a 20,8 SM) (58,4%). No conjunto das residências visitadas nas três áreas (n= 659), destaca-se a criação de cães, a presença de plantas no peridomicílio e de árvores na vizinhança de mais da metade dos imóveis. Observa-se que a criação de galinhas é mais frequente nas AI2006 (14,8%) e AI2008 (10,8%), onde reside maior percentual de famílias de menor classe socioeconômicas.

De acordo com o teste quiquadrado, os conjuntos de residências das três áreas podem ser considerados estatisticamente diferentes quanto às variáveis “escolaridade do responsável” (p= 0,00), “classe econômica da família” (p=0,00), “presença de entulho” (p=0,006) e “presença de barranco” (p=0,00).

Tabela 8: Análise descritiva das características das residências e das famílias participantes do estudo quase experimental II.

Variável	AI 2006	AI 2008	AI 2010	p
	n (%)	n (%)	n (%)	
Nº de residências	229	223	207	
Escolaridade do responsável				
superior em curso ou completo	21 (9,2)	16 (7,2)	45 (21,8)	
ensino médio completo	103 (45,2)	121 (54,3)	86 (41,7)	
fundamental completo	51 (22,4)	40 (17,9)	36 (17,5)	
primário completo	32 (14,0)	41 (18,4)	27 (13,1)	
analfabeto	21 (9,2)	5 (2,2)	12 (5,8)	0,00
Classe econômica				
A1, A2 e B1 (20,8 a 7,1 SM)	24 (10,5)	31 (13,9)	49 (23,7)	
B2 (4,12 SM)	54 (23,6)	66 (29,6)	72 (34,8)	
C1, C2 e D (2,5 a 1,1 SM)	151 (65,9)	126 (56,5)	86 (41,5)	0,00
Criação de galinha				
Sim	34 (14,8)	24 (10,8)	18 (8,7)	
Não	195 (85,1)	199 (89,2)	189 (91,3)	0,12
Criação de cão				
Sim	119 (51,9)	120 (53,8)	104 (50,2)	
Não	110 (48,0)	103 (46,2)	103 (49,8)	0,76
Plantas no peridomicílio				
Sim	162 (70,7)	145 (65,0)	151 (72,9)	
Não	65 (28,4)	78 (35,0)	55 (26,6)	0,02
Árvore na vizinhança				
Sim	148 (64,6)	139 (62,3)	136 (65,7)	
Não	81 (35,4)	84 (37,7)	71 (34,3)	0,75
Presença de entulho				
Sim	93 (40,6)	68 (30,5)	56 (27,1)	
Não	132 (57,6)	153 (68,6)	151 (72,9)	0,006
Presença de barranco				
Sim	82 (35,8)	49 (22,0)	42 (20,3)	
Não	144 (62,9)	174 (78,0)	164 (79,2)	0,000
Presença de lixo				
Sim	35 (15,3)	30 (13,5)	31 (15,0)	
Não	191 (83,4)	193 (86,5)	176 (85,0)	0,195

- **Modelo multinível para avaliação da efetividade das estratégias de controle sobre a prevalência da infecção assintomática por *L. infantum* nas áreas de intervenção**

O modelo multinível final foi ajustado pelas variáveis associadas à infecção assintomática recente: idade da criança, área em que a criança reside, classe econômica da família, presença de árvore na vizinhança, criação de galinhas (Anexo 10). As áreas com diferentes tempos de intervenção pelo PVC-LV apresentaram diferença nas taxas de prevalência da infecção assintomática. Crianças que residem na AI2008 mostraram maior odds (OR=1,94; p=0,02) de infecção assintomática quando comparada a área controle AI2010. As intervenções do PVC-LV na AI2006 não mostraram diferença significativa sobre a odds de infecção assintomática por *L. infantum* (OR=1,71; p=0,07) em comparação a AI2010 (Tabela 9).

Tabela 9: Avaliação da efetividade das estratégias de controle do PVC-LV sobre a infecção por *L. infantum* nas áreas com diferentes tempos de intervenção: Estudo quase experimental II, delineamento transversal, Belo Horizonte, 2012

Delineamento Transversal						
Área de intervenção	OR ^a	IC 95%	p	OR ^b	p	IC
AI2010	1					
AI2008	1,94	1,1-3,42	0,02	1,84	0,03	1,06- 3,23
AI2006	1,71	1,1-3,42	0,07	1,68	0,07	0,94- 2,98

a=modelo não ajustado / b= modelo ajustado por idade da criança, área de residência, classe econômica da família, presença de árvore na vizinhança e criação de galinhas.

7.5. Análise de incidência

Do delineamento coorte do estudo quase experimental II, participou uma amostra de 160 crianças na AI2006, 180 crianças na AI2008 e 138 crianças na AI2010, totalizando 478 crianças. Na AI2010, observou-se maior percentual de crianças com idade inferior a 48 meses, quando comparado às AI2006 e AI2008. Na AI2008 observou-se maior percentual de crianças do sexo masculino em comparação às AI2006 e AI2010 e na AI2010, observou-se menor percentual de crianças do sexo feminino, em comparação às AI2006 e AI2008 (Tabela 10).

Tabela 10: Análise descritiva da amostra de crianças participantes do estudo de coorte

	AI 2006	AI 2008	AI 2010	p
Variável	n (%)	n (%)	n (%)	
Nº de crianças	160 (33,5)	180 (37,7)	138 (28,9)	
Idade da criança				
até 48 meses	13 (8,2)	17 (9,4)	28 (20,3)	
≥49 a 72 meses	52 (32,7)	61 (33,9)	42 (30,4)	
≥73 a 96 meses	64 (40,3)	76 (42,2)	46 (33,3)	
≥97 meses	30 (18,9)	26 (14,4)	22 (15,9)	0,03
Sexo da criança				
Masculino	78 (48,8)	91 (50,6)	77 (55,8)	
Feminino	82 (51,3)	89 (49,4)	61 (44,2)	0,46

A figura 19, mostra o gráfico com a distribuição da amostra de crianças participantes da coorte por área de estudo. Observa-se que a distribuição das faixas é semelhante entre as áreas de estudo, com maior percentual de crianças com idades superiores a 5 anos.

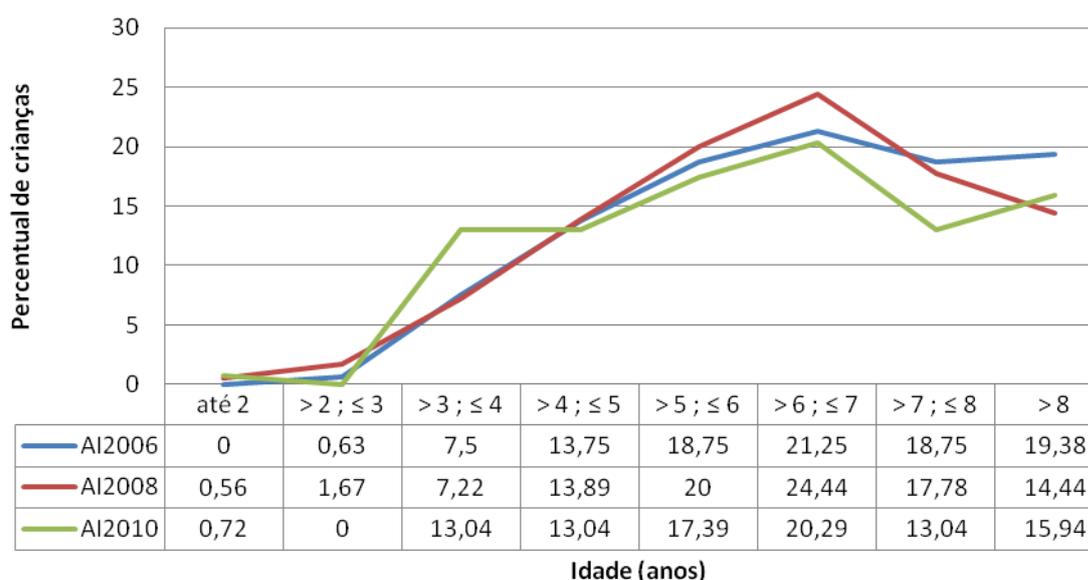


Figura 19: Representação gráfica da distribuição da amostra de crianças da coorte por idade nas três áreas de intervenção.

A figura 20 mostra a representação gráfica da curva de infecção da coorte de crianças por faixa etária, nas três áreas de intervenção. Observa-se que, nas AI2006 e AI2010, as crianças com idades superiores a 49 meses passam a se infectar menos que as mais jovens. Na AI2010, observa-se que crianças com idades maiores que 97 meses são

menos infectadas, no entanto, não há nessa área, uma tendência claramente decrescente na curva de infecção com o avançar da idade.

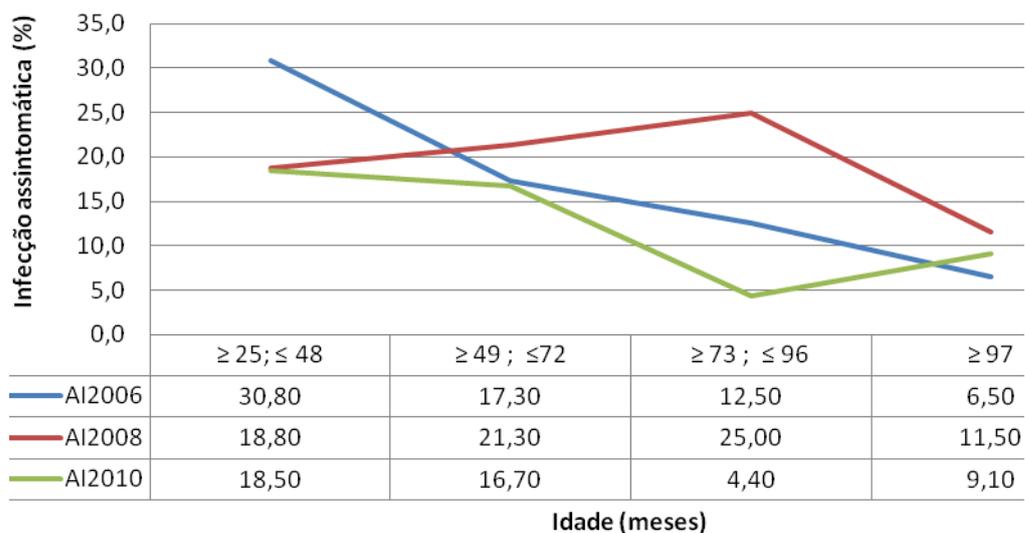


Figura 20: Representação gráfica da curva de infecção da coorte de crianças por faixa etária, nas três áreas de intervenção.

Na amostra do estudo de coorte (n=478), foram visitados 398 domicílios. Algumas variáveis selecionadas na análise descritiva das áreas são mostradas na Tabela 11 e a tabela completa, com as demais variáveis é apresentada no Anexo 9. Em todas as áreas analisadas, o ensino médio completo foi a escolaridade mais frequente do chefe de família (percentual geral= 47,2%). O maior percentual de chefes de família com ensino superior em curso ou completo também foi observado na AI2010 e o maior percentual de analfabetos na AI2006 (11,97%).

De acordo o CCEB, a maior parte das crianças residentes nas AI2006 (65,5%) e AI2008 (58,7%) pertence à classe econômica C ou inferior (renda menor que 1,6 SM). Já as crianças da AI2010 pertencem principalmente à classe B2 ou inferior (renda ≤ 4,12 SM) (58,4%) (Tabela 11).

Em mais da metade das residências visitadas nas três áreas (n= 398), destaca-se a criação de cães, a presença de plantas no peridomicílio e de árvores na vizinhança. Observa-se que a criação de galinhas é mais frequente nas AI2006 (14,1%) e AI2008 (12,6%), onde reside maior percentual de famílias de menor classe socioeconômicas.

De acordo como o teste quiquadrado, os conjuntos de residências das três áreas podem ser considerados estatisticamente diferentes quanto às variáveis “escolaridade do responsável” ($p= 0,00$) e “classe econômica da família” ($p=0,00$).

Tabela 11: Análise descritiva das características das residências e das famílias participantes do estudo quase experimental II (delineamento coorte).

Variável	AI 2006	AI 2008	AI 2010	P
	n (%)	n (%)	n (%)	
N° de residências	142 (35,7)	143 (35,9)	113 (28,4)	
Escolaridade do responsável				
superior em curso ou completo	15 (10,6)	7 (4,9)	27 (23,9)	
ensino médio completo	60 (42,3)	77 (53,9)	51 (45,1)	
fundamental completo	28 (19,7)	26 (18,2)	16 (14,2)	
primário completo	22 (15,5)	30 (21,0)	13 (11,5)	
Analfabeto	17 (12,0)	3 (2,10)	6 (5,31)	0,00
Classe econômica				
A1, A2 e B1 (20,8 a 7,1 SM)	16 (11,3)	18 (12,6)	30 (26,6)	
B2 (4,12 SM)	33 (23,2)	41 (28,7)	44 (38,9)	
C1, C2 e D (2,5 a 1,1 SM)	93 (65,5)	84 (58,7)	39 (34,5)	0,00
Criação de galinha				
Sim	20 (14,1)	18 (12,6)	10 (8,9)	
Não	122 (85,9)	125 (87,4)	103 (91,2)	0,43
Criação de cão				
Sim	75 (52,8)	80 (55,9)	60 (53,1)	
Não	67 (47,2)	63 (44,1)	53 (46,9)	0,85
Plantas no peridomicílio				
Sim	107 (75,4)	98 (68,5)	87 (77,0)	
Não	33 (23,24)	45 (31,47)	26 (23,0)	0,15
Árvore na vizinhança				
Sim	92 (64,8)	89 (62,2)	75 (66,4)	
Não	50 (35,2)	54 (37,8)	38 (33,6)	0,78
Presença de entulho				
Sim	55 (38,7)	39 (27,3)	29 (25,7)	
Não	85 (59,9)	101 (70,6)	84 (74,3)	0,064
Presença de barranco				
Sim	46 (32,4)	28 (19,6)	24 (21,2)	
Não	95 (66,9)	115 (80,4)	88 (77,9)	0,073
Presença de lixo				
Sim	18 (12,7)	18 (12,6)	21 (18,6)	
Não	122 (85,9)	125 (87,4)	92 (81,4)	0,208

- **Modelo de Poisson para avaliação da efetividade das estratégias de controle sobre a taxa de incidência da infecção por *L. infantum* nas áreas de intervenção**

O modelo de poisson final foi ajustado pelas variáveis associadas à infecção assintomática recente: idade da criança, área em que a criança reside, classe econômica da família e presença de árvore na vizinhança (Anexo 10). As áreas com diferentes tempos de

intervenção pelo PVC-LV apresentaram diferença nas taxas de incidência da infecção assintomática. Crianças que residem na AI2008, mostraram maior razão de incidência (IRR= 1,82; p=0,031), que aquelas que residem na área controle AI2010 (Tabela 12). Na AI2006, as intervenções do PVC-LV não mostraram diferença significativa na razão de incidência (IRR=1,24; p=0,48) de infecção assintomática por *L. infantum* em comparação a AI2010.

Tabela 12: Avaliação da efetividade das estratégias de controle do PVC-LV sobre a infecção por *L. infantum* nas áreas com diferentes tempos de intervenção: Estudo quase experimental II, delineamento coorte.

Delineamento coorte						
Área de intervenção	IRR ^a	IC 95%	p	IRR ^b	p	IC
AI2010	1					
AI2008	1,82	1,06-3,13	0,03	1,76	0,03	1,05-2,95
AI2006	1.24	0,68-2,25	0,48	1,18	0,59	0,65-2,14

a=modelo não ajustado / b= modelo ajustado por idade da criança, área de residência, classe econômica da família e presença de árvore na vizinhança.

7.6. Avaliação dos fatores associados à infecção por *L. infantum*

• Fatores associados à infecção das crianças por *L.infantum*

Esse modelo avaliou todas as crianças da amostra (n=891), sem considerar a área de residência como covariável.

No modelo logístico multinível final, os fatores associados à infecção por *L. infantum* diagnosticada por ELISA-rK39 foram: idade da criança, classe econômica e presença de árvore na vizinhança.

Foi verificada maior chance de infecção por *L. infantum* em crianças de faixas etárias mais jovens: crianças de até 72 meses foram mais susceptíveis à infecção por *L. infantum* quando comparadas às crianças com idade igual ou superior a 97 meses. As crianças de famílias de classe B2 ou inferior (renda abaixo de 4,1 SM) apresentaram maior chance de infecção *L. infantum* quando comparadas às crianças de famílias de classes

superiores. Crianças que residem em imóveis com árvores na vizinhança próxima (frente, e/ou lados, e/ou fundos) possuem maior chance de infecção quando comparadas às crianças que residem em imóveis sem árvores na vizinhança (Tabela 13).

Tabela 13: Modelo logístico multinível para avaliação dos fatores associados à infecção assintomática por *L. infantum* em crianças.

Variável	OR ^a	p-valor	IC 95%	OR ^b	p-valor	IC 95%
Idade						
>97 meses	1			1		
De 73 a 96 meses	2,31	0,069	0,94-5,69	2,45	0,055	0,98-6,11
De 49 a 72 meses	3,16	0,015	1,26-7,94	3,46	0,010	1,35-8,85
Até 48 meses	3,93	0,003	1,61-9,62	4,12	0,002	1,66-10,22
Classe econômica						
A1, A2 e B1	1			1		
B2	3,54	0,003	1,55-8,08	3,71	0,002	1,61-8,56
C1, C2 e D	3,16	0,004	1,46-6,86	3,35	0,003	1,52-7,36
Árvore na vizinhança						
Não	1			1		
Sim	1,78	0,024	1,08-2,94	1,89	0,014	1,14-3,15

a= análise univariada / b= análise multivariada

Crianças menores de 48 meses de idade apresentam maior percentual de infecção assintomática. Observa-se menor percentual de crianças infectadas nas faixas etárias maiores (Figura21).

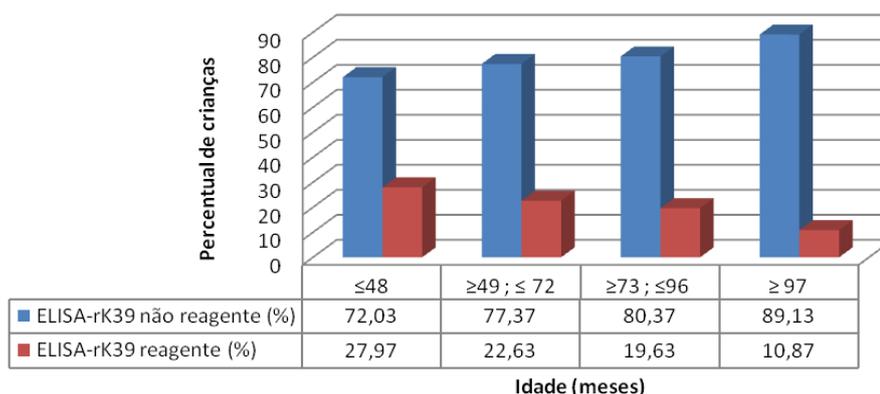


Figura 21: Representação gráfica do percentual de crianças com amostras reagentes e não reagentes no teste sorológico ELISA-rK39 por faixa etária.

Crianças que pertencem a famílias de classe C1 ou inferior foram as mais infectadas pela *L. infantum* diagnosticada por ELISA-rK39. No entanto, em uma análise geral,

percebeu-se que crianças que pertencem a famílias de classe B2 ou inferior (renda \leq 4,12 SM) são mais infectadas que aquelas de classes B1 ou superior (Figura 22).

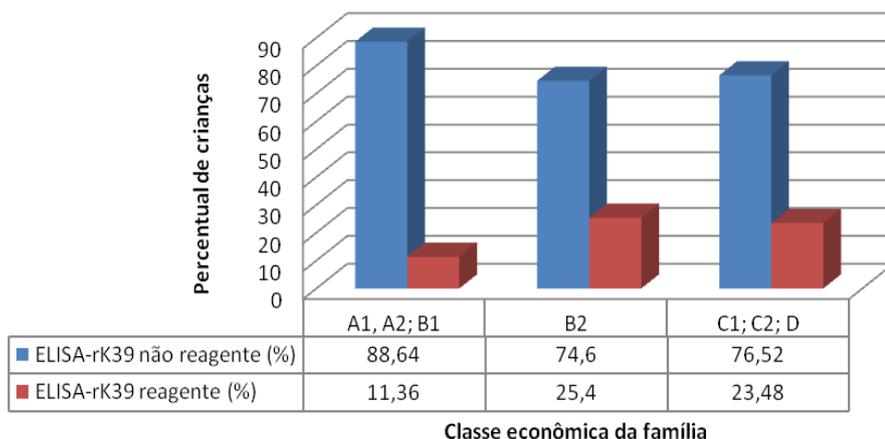


Figura 22: Representação gráfica do percentual de crianças com amostras reagentes e não reagentes no teste sorológico ELISA-rK39 por classe econômica das famílias.

Das crianças que residem em imóveis com árvores na vizinhança, 24,4% são infectadas. A variável presença de árvores na vizinhança considerou a existência de árvores visualizadas na frente, e/ou lados, e/ou fundos do imóvel (Figura 23).

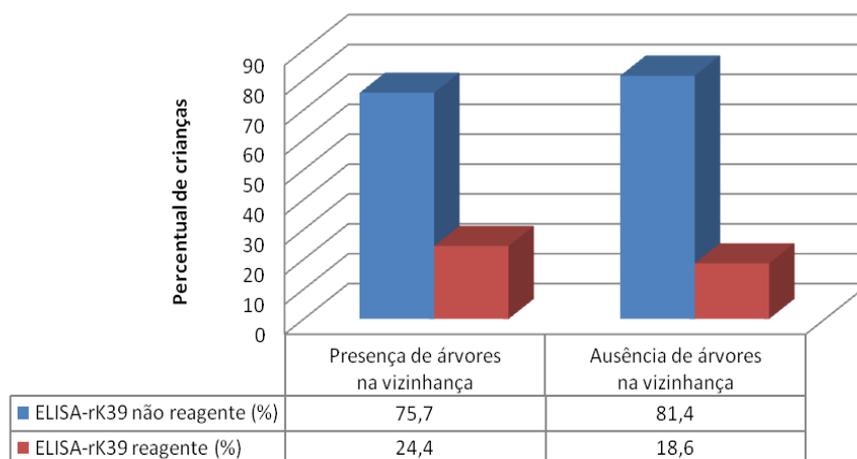


Figura 23: Representação gráfica do percentual de infecção assintomática por *L. infantum* associada à variável “árvore na vizinhança”, considerando 659 imóveis visitados.

• Fatores associados à infecção das crianças nas residências (casa positiva)

Para esta análise considerou-se o número total de residências amostradas (n=659), haja vista que em algumas situações mais de uma criança foi avaliada por residência. Foi

utilizada a amostra total desconsiderando a área de residência. A finalidade da análise foi a de avaliar os fatores associados à ocorrência de infecção recente em pelo menos uma criança residente no imóvel.

No modelo logístico multivariado final, os fatores associados à infecção por *L. infantum* diagnosticada por ELISA-rK39 em uma criança residente no domicílio foram: classe econômica da família e presença de árvore na vizinhança. Domicílios em que a classe econômica da família é inferior à B2 apresentam maior chance de apresentar crianças infectadas. Domicílios com presença de árvores na vizinhança (frente, e/ou lados, e/ou fundos do imóvel) também apresentam maior chance de apresentar crianças infectadas (Tabela 15).

Tabela 14: Modelo logístico multivariado final para avaliação dos fatores associados à infecção assintomática por *L. infantum* em criança residente no domicílio (“casa positiva”).

Variável	OR ^a	p-valor	IC 95%	OR ^b	p-valor	IC 95%
Classe econômica						
A1, A2 e B1	1			1		
B2	1,95	0,031	1,06-3,58	2,00	0,026	1,09-3,68
C1, C2 e D	2,05	0,013	1,16-3,62	2,14	0,009	1,21-3,78
Árvore na vizinhança						
Não	1			1		
Sim	1,49	0,038	1,02-2,16	1,54	0,026	1,05-2,24

a= análise univariada / b= análise multivariada

8. DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a efetividade das estratégias de controle sobre as taxas de prevalência e incidência da infecção assintomática por *L. infantum* em três áreas de Belo Horizonte, com diferentes tempos de intervenção pelo PVC-LV. As estratégias do PCLV visam priorização do controle em áreas onde há transmissão estabelecida e o risco de adoecimento é maior. Este estudo quase experimental é a continuação do estudo de Moraes. (2011), primeiro estudo que avaliou a efetividade das estratégias de controle da LV em Belo Horizonte.

Em outros municípios brasileiros, a efetividade das estratégias de controle sobre a transmissão por *L. infantum* também foi avaliada em estudos epidemiológicos, que utilizaram como indicador as taxas de infecção em populações humanas (COSTA *et al.*,

2007; SOUZA *et al.*, 2008; WERNECK *et al.*, 2008; WERNECK *et al.*, 2014). Os estudos disponíveis na literatura utilizam intervenções experimentais ou-ensaios comunitários para avaliação da efetividade das estratégias de controle (COSTA *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2008; WERNECK *et al.*, 2008; WERNECK *et al.*, 2014).

O presente estudo, que utilizou os delineamentos transversal e de coorte, avaliou as estratégias de controle da forma que são executadas, sem interromper ou modificar as condutas que são direcionadas pelo serviço de saúde local, conforme preconizada pelo PVC-LV.

Assim como observado na literatura, o presente estudo demonstrou elevadas taxas de infecção assintomática por *L. infantum* em todas as áreas de estudo (COSTA *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2008; WERNECK *et al.*, 2008; WERNECK *et al.*, 2014), excedendo número de casos de LVH notificados nas áreas (BADARÓ *et al.*, 1986; CALDAS *et al.*, 2001; MORENO *et al.*, 2006; BARÃO *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2008). Ao contrário do esperado, as áreas com maior tempo de intervenção pelo PVC-LV apresentaram maiores taxas de prevalência e incidência de infecção por *L. infantum* quando comparadas à área controle, com menor tempo de intervenção, evidenciando a dificuldade de controlar a circulação do parasito, mesmo com todos os esforços do PVC-LV.

As crianças com infecção assintomática por *L. infantum*, reavaliadas um ano após o estudo quase experimental II, não manifestaram sinais clínicos ou sintomas de LVH. A infecção assintomática, portanto, não mostrou associação com o adoecimento. Esse resultado corrobora o de outros autores que seguiram indivíduos com infecção assintomática por *L. infantum* (NASCIMENTO *et al.*, 2005; MORENO *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2011; MORENO *et al.*, 2009; CARNEIRO *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2013; MACIEL *et al.*, 2014; MARQUES *et al.*, 2012).

A epidemiologia da LVH ainda não está totalmente esclarecida principalmente em área urbana. É necessário conhecimento mais aprofundado dos fatores envolvidos no ciclo de transmissão urbana (MORENO *et al.*, 2005). Na literatura, os fatores associados à infecção assintomática apresentam divergência entre os diferentes estudos publicados, confirmando a necessidade de investigações, que busquem a identificação e avaliação do peso de cada fator no risco de infecção por *L. infantum*. No presente estudo, os fatores associados à infecção assintomática recente foram a idade das crianças, a classe econômica das famílias e a presença de árvores na vizinhança.

8.1. Considerações metodológicas

As medidas de prevalência da infecção assintomática por *L.infantum* em dois momentos e as medidas de incidência, em três áreas com diferentes tempos de intervenção pelo PVC-LV, permitiram avaliação mais robusta da efetividade das ações de controle empregadas em Belo Horizonte.

É sabido, que quando se pretende avaliar Programas de Controle, as ações não podem ser vistas isoladamente sem serem consideradas as diferenças sociais, econômicas e culturais das populações investigadas. Foram utilizados no presente estudo, modelos de análise estatística apropriados para as medidas de prevalência e incidência da infecção. Além disso, os modelos foram ajustados por potenciais variáveis de confusão ou variáveis extrínsecas, que podem interferir na associação entre as medidas de intervenção do PVC-LV e a infecção assintomática por *L. infantum*.

Na interpretação dos resultados encontrados é necessário comentar e discutir os possíveis vícios ou bias que podem ter ocorrido no presente estudo. Os vícios ou bias em estudos epidemiológicos podem ser introduzidos em qualquer etapa do estudo, incluindo delineamento, condução ou análise e tendem a afastar os resultados dos valores verdadeiros (GORDIS, 2009).

8.1.1. Vícios de seleção das áreas

O critério de seleção das áreas não foi aleatório, com isso, pode-se questionar se as diferenças entre as áreas configurariam vícios de seleção. Um indicador importante para avaliar a transmissão da LV é a soroprevalência da infecção canina, observada nos ISCC realizados pelo serviço de controle de zoonoses, em períodos próximos ao estudo quase experimental I (linha de base). Os resultados observados nos ISCC foram muito semelhantes entre as três áreas, demonstrando comparabilidade entre elas com relação à infecção do reservatório canino. Diferenças socioeconômicas e ambientais encontradas entre as áreas foram ajustadas nos modelos multivariados.

8.1.2. Vícios de informação

Diferentes vícios podem ocorrer durante a coleta de dados e na classificação dos eventos e das variáveis de exposição.

Vícios do entrevistador - podem ocorrer nos estudos epidemiológicos que utilizam o questionário como ferramenta de coleta de dados. Para minimizar esse vício, utilizou-se

questionário codificado, pré-testado, com manual de instrução para os entrevistadores e questões simples e objetivas. Os entrevistadores capacitados foram os mesmos em todas as áreas e houve supervisão do trabalho durante todo o período.

Vícios do entrevistado - principalmente relacionados à memória dos entrevistados referente às informações que envolvem situações passadas. No entanto, as informações coletadas referiam-se ao momento atual do estudo, minimizando este possível vício.

Vícios de diagnóstico - podem ocorrer devido à baixa acurácia das técnicas para diagnóstico da infecção assintomática (MORENO *et al.*, 2005; ROMERO *et al.*, 2009). Foram utilizadas as mesmas técnicas diagnósticas nas três áreas, nos diferentes períodos de estudo. Com isso, provavelmente a classificação errada quanto à presença ou não da infecção assintomática por *L. infantum* distribuiu-se homogeneamente nas três áreas de estudo.

8.1.3. Considerações sobre o delineamento do estudo

Para prevenir ou minimizar os vícios é importante analisar se o delineamento dos estudos epidemiológicos é adequado para testar a hipótese do estudo e definir cuidadosamente os métodos de coleta de dados. O desenho quase experimental permitiu dois delineamentos epidemiológicos: transversal e coorte. O delineamento transversal foi apropriado para conhecer em dois momentos distintos (2010 e 2012), a distribuição da infecção assintomática nas crianças. A coorte mostrou-se adequada para avaliar a soroconversão nas crianças em acompanhamento (taxa de incidência) e o curso da infecção assintomática por *L. infantum*. Estes delineamentos auxiliaram na avaliação da efetividade do PVC-LV sobre a transmissão do parasito e permitiram identificar alguns fatores associados à infecção.

Para o estudo de coorte foram selecionadas as crianças, que no estudo quase experimental I, apresentaram todos os testes de diagnóstico negativos para a infecção por *L. infantum*. Este critério foi uma forma de evitar a inclusão de falsos negativos na amostra de crianças a serem seguidas para avaliação das estimativas das taxas de incidência. Foram feitas tentativas de contato telefônico com todos os responsáveis pelas crianças que seriam seguidas. Muitos responsáveis não foram localizados por telefone, por isso, para minimizar as perdas de seguimento, foi realizada busca ativa das crianças visitando os endereços em que o contato telefônico não foi possível. Mesmo com essa abordagem a perda (taxa de atrito) foi elevada. As crianças que foram inseridas para complementar a amostra do estudo

transversal foram selecionadas aleatoriamente, a partir dos dados do cadastro BH Social do SUS-BH, minimizando assim o viés de seleção.

A taxa de prevalência é um indicador composto, afetado pela incidência e pela duração da infecção, o que é uma limitação na interpretação da infecção assintomática por *L. infantum*. Mesmo com as limitações relativas às perdas em estudos de coorte, ocasionadas pelo longo tempo de seguimento, estes estudos são de grande relevância, por permitirem a estimativa da taxa de incidência, medida mais apropriada no entendimento da ocorrência da transmissão.

Na avaliação da efetividade das estratégias de controle, o PVC-LV não foi avaliado operacionalmente, ou seja, o presente estudo não considerou quantos imóveis foram visitados, recusados, fechados, quantos cães foram examinados, quantos deles foram recolhidos para eutanásia por LVC e quantos permaneceram no campo. Estas variáveis não entraram nos modelos estatísticos. A premissa desta avaliação é que o programa foi devidamente executado de acordo com o planejamento estratégico, baseado na avaliação epidemiológica de cada área.

8.1.4. Amostra de crianças

Para o estudo quase experimental com o objetivo de avaliar a efetividade das estratégias de controle do PVC-LV sobre a infecção, em 2010, optou-se por trabalhar com uma amostra de crianças de até 7 anos de idade. Em 2012, a amostra total de crianças que compôs o delineamento transversal do estudo, poderia ter entre 2 meses a 10 anos, considerando-se que parte da amostra em seguimento já havia atingido 10 anos de idade.

O conhecimento da circulação recente do parasito nas áreas permite avaliação mais real da efetividade das estratégias de controle do PVC-LV, dentro do período de tempo desejado para avaliar. A estimativa da circulação recente do parasito é mais adequada em amostras de crianças, uma vez que em adultos não é possível identificar o tempo em que ocorreu a infecção, já que a sororreatividade nos testes sorológicos pode durar por período indeterminado.

8.1.5. Seleção das áreas de estudo

O objetivo do estudo foi avaliar a efetividade das estratégias do PVC-LV sobre a transmissão recente de *L. infantum*. Para isso, foram selecionadas de forma não aleatória, áreas contíguas, com diferentes tempos de intervenção pelo PVC-LV. Os tempos de

intervenção foram definidos de acordo com a estratificação das áreas por incidência acumulada de casos de LVH, associada a outros indicadores, principalmente fatores ambientais e sociais. Dessa forma, a área com menor tempo de intervenção, foi utilizada nas análises como área controle, a fim de avaliar se em áreas com maior tempo de intervenções pelo programa, há impacto no controle da transmissão recente do parasito, quando comparadas à área controle.

As estratégias do PCLV visam priorização do controle em áreas onde há transmissão estabelecida e o risco de adoecimento é maior. De acordo com Werneck *et al.* (2008) a própria situação de risco diferenciado, entre as áreas, relacionados aos diferentes cenários intra-urbanos, pode influenciar na força de transmissão da doença.

É importante ressaltar, que as prevalências basais de infecção por *L. infantum* obtidas no estudo de base em 2010, não apresentaram variações consideráveis entre as áreas, o que é importante para a validade do estudo, pois assegura que as áreas são comparáveis no que diz respeito às taxas basais de transmissão e configura elemento para inferência causal em doenças infecciosas (HALLORAN, 1998).

Na análise descritiva das áreas trabalhadas, observou-se que as famílias residentes nas AI2006 e AI2008 apresentam menor escolaridade e pertencem a classes econômicas inferiores quando comparadas às famílias residentes na AI2010. As características de urbanização dessas duas áreas condizem com perfil de periferias, com muitos núcleos familiares, criação de animais nos peridomicílios, algumas áreas de vila e características ambientais favoráveis ao desenvolvimento do vetor. A AI2010 é habitada predominantemente por famílias de maior escolaridade e maior classe econômica que as demais áreas.

8.1.6. Coleta de dados

Foi realizado um estudo piloto antes de se iniciar a coleta de dados, para avaliar as dificuldades identificadas na aplicação do questionário. Perguntas e/ou respostas com dificuldade de entendimento, ou que geraram dúvidas, foram reformuladas.

Ao iniciar o trabalho de campo nas áreas, os gestores dos Centros de Saúde foram comunicados e a equipe de pesquisa reuniu-se com a equipe local de saúde (os agentes comunitários de saúde e agentes de combate a endemias) para esclarecimentos sobre o trabalho de campo a ser realizado pelo grupo de pesquisa. Assim, estes funcionários foram inteirados a respeito do conteúdo e dos objetivos da pesquisa, caso fossem questionados

pela população, quando estivessem trabalhando nas áreas onde o projeto estivesse sendo executado.

Houve supervisão da equipe treinada durante todo o trabalho de campo, além de reuniões periódicas para manter o padrão de coleta de dados. Os questionários foram então encaminhados para a codificação e digitação em dupla entrada.

Portanto, para minimizar as limitações metodológicas do estudo, condutas e padronizações pré-estabelecidas foram seguidas para a coleta de dados. Para a entrevista foi utilizado um questionário codificado, com manual de instrução para aplicação, e avaliado com realização de pré-testes. As entrevistas foram realizadas pela mesma equipe, que recebeu treinamento teórico-prático e foi supervisionada e auxiliada pelo grupo de pesquisas durante todo o trabalho de campo. Reuniões periódicas eram realizadas com a equipe para discussão e avaliação das condutas, procurando sempre a padronização e interpretação para as perguntas e respostas do questionário. O entrevistado era um adulto responsável pela criança, sempre que possível um dos pais, que geralmente são aqueles que detêm maior conhecimento e recordação de todas as informações sobre a criança, prevenindo assim o viés de informação. Além disso, a coleta de dados foi realizada em curto período de tempo.

8.1.7. Análise de perdas

O percentual de perda foi homogêneo em relação às áreas, o que assegura a comparabilidade entre elas. Foram comparadas as características dos participantes do estudo e dos indivíduos perdidos. Os participantes diferem dos não participantes apenas no grau de escolaridade e na classe socioeconômica da família. Na análise das perdas, as crianças que saíram da amostra pertenciam a famílias de classes econômicas iguais ou inferiores a B2 e com menor escolaridade. Provavelmente, um perfil de famílias que não possui casa própria e por isso, tem maior mobilidade.

8.1.8. Diagnóstico da infecção assintomática por *L. infantum*

Os estudos populacionais utilizam com frequência o teste de ELISA para diagnóstico da infecção por *L. infantum* (DIETZE *et al.*, 1997; CALDAS *et al.*, 2001; COSTA *et al.*, 2007; MORENO *et al.*, 2009). O papel filtro é amplamente utilizado para coleta de sangue em inquéritos epidemiológicos, pela praticidade, simplicidade da coleta, armazenamento e facilidade na utilização em ampla escala (DYE *et al.*, 1992). Para

padronização do método de coleta, as técnicas de enfermagem foram treinadas para realizar preenchimento de 2/3 do papel filtro com sangue das crianças e identificação correta das amostras. As amostras foram acondicionadas adequadamente, com secagem em temperatura ambiente e posterior embalagem.

Mais de um antígeno para teste sorológico foi utilizado no momento da triagem de indivíduos com infecção assintomática (AgS e rK39), com o objetivo de aumentar a sensibilidade do diagnóstico, no entanto, houve discordância entre os resultados obtidos com os dois antígenos. Esta discordância entre resultados de testes sorológicos também foi observada no estudo quase experimental I de Moraes. (2011).

Uma vez que o objetivo dos estudos quase experimental I e II não foi comparar métodos sorológicos para diagnóstico da infecção assintomática, optou-se pelo antígeno rK39 para critério de diagnóstico, pelos seguintes motivos:

- O antígeno rK39 mostrou maior sensibilidade para diagnosticar a infecção por *L. infantum* nos estudos quase experimental I e II. Devido à baixa sensibilidade que foi mostrada pelo AgS e especificidade sabidamente menor quando comparado ao antígeno rk39, para evitar superestimação das taxas de infecção, crianças com resultados reagentes apenas neste teste, não foram consideradas infectadas nas análises de efetividade do PVC-LV.
- Os antígenos brutos, como é o caso do AgS não discriminam infecção presente e passada. O antígeno rK39 tem sido associado à doença ativa (BADARÓ *et al.*, 1996) e muito utilizado em inquéritos epidemiológicos para a identificação da infecção (DIETZE *et al.*, 1997; CALDAS *et al.*, 2001; COSTA *et al.*, 2007; MORENO *et al.*, 2009).
- Os resultados do teste ELISA-rK39 foram utilizados para as análises de avaliação da efetividade do PVC-LV no presente estudo para manter a comparabilidade com as análises realizadas no estudo quase experimental I, que utilizou o mesmo teste para esta avaliação.

A baixa concordância entre os resultados dos testes de ELISA realizados com diferentes antígenos para o diagnóstico da infecção por *L. infantum*, pode ser atribuída ao baixo nível de anticorpos circulantes no soro de indivíduos assintomáticos, pois a carga parasitária é escassa (BADARÓ *et al.*, 1996; PAMPIGLIONE *et al.*, 1974; PIARROUX *et al.*, 1994; MORENO *et al.*, 2009; ROMERO *et al.*, 2009). Essa discordância pode ser

explicada também pelo simples fato de tratar-se de dois antígenos diferentes. Diferentes antígenos geram várias possibilidades de interação antígeno-anticorpo, que repercutem na sensibilidade e especificidade dos testes (SINGH & SIVAKUMAR, 2003).

Esperavam-se maiores taxas de prevalência e incidência da infecção assintomática diagnosticadas por ELISA-AgS, por ser um antígeno bruto, considerado de maior sensibilidade e possibilidade de reações cruzadas com outros tripanossomatídeos, hanseníase e tuberculose. Enquanto isso, o antígeno rK39 apresenta alta sensibilidade e especificidade para parasitos do complexo *L. donovani* e ocorre predominantemente em amastigotas (BADARÓ *et al.*, 1996). O teste ELISA-rK39 reagente parece indicar replicação ativa do parasito, no entanto em níveis muito inferiores à replicação ocorrida na forma clínica da LV (ZIJLSTRA *et al.*, 1998).

As espécies de *Leishmania*, as formas e os tipos de cultivo, também podem influenciar na sensibilidade das técnicas sorológicas, pois as leishmanias apresentam grande variabilidade de antígenos específicos e inespecíficos que geram interações distintas (TAVARES *et al.*, 2003). Deve-se considerar ainda, a possibilidade de erros no processamento da técnica, embora tenham sido usados controles positivos e negativos nas reações, para minimizar essa possibilidade.

Para minimizar as limitações do diagnóstico, a coleta de amostras biológicas e o processamento laboratorial das amostras foram realizados em curto período de tempo. A coleta foi realizada por técnicos de enfermagem treinados e as amostras foram processadas em laboratório de pesquisas clínicas, utilizando técnica previamente padronizada. O critério de positividade considerou o antígeno mais sensível e mais específico, de maior confiabilidade para o diagnóstico.

8.2. Avaliação da Efetividade do PVC-LV

As comparações entre as taxas brutas de prevalência da infecção assintomática por *L. infantum* nos estudos conduzidos em 2010 e 2012, mostraram que houve aumento nas áreas AI2006 e AI2008 e discreta redução na AI2010, a despeito das ações de controle implantadas e dos tempos de intervenção do PVC-LV. A elevação nas taxas de prevalências foi 83,7% na AI2006, 74,1% na AI2008 e redução de 5% na AI2010. A taxa de incidência bruta após dois anos de acompanhamento foi maior na AI2008 (21,1%), seguida pelas AI2006 (14,4%) e AI2010 (11,6%).

No estudo quase experimental I, linha de base, conduzido por Morais. (2011), em regressão logística multinível, observou-se diferença significativa entre as AI2006 e AI2010, para infecção estimada por ELISA-rk39. Na linha de base, residir na AI2010 significou chance 1,7 vezes maior de se infectar por *L. infantum*. Este achado somado à redução da ocorrência de casos de LVH nas áreas e aos dados do PVC-LV referentes à soroprevalência canina, levou Morais (2011) a inferir, que as atividades do PVC-LV foram efetivas no controle da infecção por *L. infantum*. No entanto, no estudo quase experimental I, utilizou-se delineamento transversal para iniciar a avaliação da efetividade das estratégias de controle sobre a transmissão recente. Dessa forma, Morais. (2011) ressaltou a importância da continuidade do estudo em um delineamento de coorte, a fim de se obter medidas mais robustas, como a incidência de infecção recente nestas mesmas áreas, proporcionando uma avaliação mais aprofundada da efetividade do PVC-LV. Entretanto, os resultados obtidos em ambos os delineamentos, transversal e coorte do presente estudo quase experimental II, não confirmaram os resultados do estudo quase experimental I.

Foram realizados dois tipos de análises para comparação das prevalências da infecção assintomática estimadas nos estudos quase experimental I e II por faixas etárias - análise transversal e coorte etária. Observaram-se em ambas as análises, maiores taxas de prevalência da infecção em crianças mais jovens, representadas pelas diferenças relativas. Nas AI2006 e AI2008 as taxas de infecção foram maiores em crianças com idades inferiores a 73 meses. Na AI2010, a redução das taxas de prevalência da infecção, ocorreu mais precocemente, sendo observada em faixas etárias a partir de 48 meses. Esta análise é de difícil interpretação, por tratar-se de medidas de prevalência. No entanto, as prevalências estimadas em dois momentos, permitiram inferências a respeito da dinâmica da infecção no mesmo grupo etário e em faixas etárias em acompanhamento. O que se observa é que a despeito do PVC-LV, as crianças mais jovens estão se infectando consideravelmente nas áreas com maior tempo de intervenção pelo PVC-LV, ou seja, o programa não impactou da forma esperada na redução da infecção recente. Altas taxas de infecção nas faixas etárias mais jovens podem significar baixa efetividade das estratégias de controle na redução da circulação recente do parasito, principalmente em áreas de elevada transmissão, como as AI2006 e AI2008. Outra hipótese, é que crianças mais jovens são mais susceptíveis à infecção e estão mais expostas ao risco de infecção nas AI2006 e AI2008, onde sabidamente há maior circulação do parasito, demonstrada pelas altas taxas de infecção estimadas no estudo. A redução precoce das taxas de infecção

assintomática por faixa etária, observada na AI2010, leva a inferir, que nessa área as crianças estão menos expostas ao risco de infecção, por ser uma área de menor transmissão, conforme demonstrado por meio das taxas de prevalência e incidência da infecção. Com isso, a infecção foi concentrada na faixa etária mais susceptível imunologicamente.

Após o ajuste dos modelos estatísticos foi demonstrada maior odds e maior razão de incidência de infecção em crianças residentes na AI2008 em comparação àquelas que residem na área controle, AI2010. Na área com maior tempo de intervenção, AI2006, não houve diferença significativa na odds e na razão de incidência da infecção, quando comparada a área controle. Os resultados indicam que as estratégias de controle do PVC-LV não foram efetivas para a redução da transmissão de *L. infantum* nas áreas com intervenção.

Embora os resultados tenham demonstrado que não houve impacto suficiente das atividades de controle sobre as taxas de prevalência e incidência da infecção, a ocorrência de casos de LVH reduziu ao longo do período de estudo nas AI2006 e AI2008, assim como a prevalência da LVC diminuiu em todas as áreas, segundo dados dos ISCC realizados pelo PVC-LV / SMSA-BH. Com isso, o que se pode inferir é que a infecção em crianças é um bom indicador da circulação recente do parasito nas áreas, mas não está associada ao adoecimento por LV, uma vez que a ocorrência da infecção assintomática excedeu consideravelmente a ocorrência da doença nas áreas. Outros autores também observaram que a infecção assintomática é mais frequente do que a ocorrência de casos clínicos de LVH (BADARÓ *et al.*, 1986; CALDAS *et al.*, 2001; MORENO *et al.*, 2006; BARÃO *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2008). A diminuição da ocorrência de LVH observada nas AI2006 e AI2008, paralela à elevação nas taxas de infecção assintomática recente, nos faz inferir que o adoecimento esteja relacionado a fatores distintos daqueles associados à infecção, provavelmente individuais (desnutrição, idade e doenças associadas) e contextuais (ambientais e socioeconômicos), não abordados nos objetivos desse estudo.

Segundo Werneck *et al.* (2008), é fundamental considerar a heterogeneidade da transmissão em diferentes cenários urbanos, pois a efetividade das medidas de controle podem ser influenciadas por vários fatores, como o nível de transmissão, número de indivíduos suscetíveis, tamanho das populações caninas, densidade vetorial, nível socioeconômico e características do peridomicílio. As diferenças detectadas nas áreas no

presente estudo foram consideradas como variáveis de ajustamento nos modelos estatísticos de análise, que minimizaram as potenciais variações entre elas.

Nem todas as diversidades ambientais são passíveis de serem incluídas nos dados coletados e ajustadas nos modelos estatísticos. Por isso, é importante considerar, que além das heterogeneidades ajustadas nos modelos, observa-se na AI2008, grande diversidade ambiental, maior extensão geográfica e maior densidade populacional, características que provavelmente podem ter limitado a efetividade das estratégias de controle, em comparação com a AI2010. Na área controle, AI2010, embora não tenha havido aumento na prevalência final, pode-se considerar que houve manutenção da transmissão. Observou-se pequena redução (5%) na prevalência final bruta, com relação à prevalência inicial e menor taxa de incidência da infecção bruta, quando comparada às demais áreas estudadas. Apesar do menor tempo de intervenção pelo PVC-LV, as estratégias de controle implantadas nesta área a partir do ano de 2010, parecem ter sido mais efetivas que nas demais áreas, provavelmente, devido às melhores condições ambientais, socioeconômicas e de urbanização dessa área. Mesmo considerando o ajuste pelas variáveis de confusão nos modelos estatísticos de análise, deve-se considerar que diferentes cenários epidemiológicos e particularidades intra-urbanas nas áreas de estudo, podem ser capazes de amplificar ou reduzir o impacto das intervenções de controle.

Apesar das diretrizes bem definidas para o controle da leishmaniose visceral e os investimentos feitos na organização de serviços, o PVCLV não tem demonstrado a efetividade esperada e apresenta limitações em controlar a LV nas áreas urbanas. Os vetores e os reservatórios apresentam os maiores desafios para o programa de controle da doença. Os fatores limitantes são a necessidade de melhor compreensão do comportamento do vetor no ambiente urbano, as dificuldades operacionais para a realização das atividades em tempo suficiente para impactar os resultados, e o alto custo de implementação das medidas propostas (MAIA ELKHURY *et al.*, 2008).

Em teoria, o controle vetorial é considerado a estratégia mais eficaz de controle da transmissão (MS, 2006). Pode-se inferir que parte do insucesso das estratégias de controle sobre a transmissão do parasito nas áreas estudadas, pode ser devido às limitações estruturais e operacionais do serviço público de saúde, que impossibilitam a execução de mais de um ciclo de aplicação do inseticida em todas as áreas prioritárias, conforme preconizado pelo Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral do Ministério da Saúde (2006). O controle vetorial é dificultado por problemas operacionais,

conhecimento limitado sobre ecologia e biologia do vetor em áreas urbanas, e a necessidade de um extenso sistema de vigilância entomológica para estimar a dimensão da população de vetores (MAIA-ELKHOURY *et al.*, 2008). O manejo ambiental proposto pelo Ministério da Saúde também é um importante pilar do PVC-LV, no entanto, é inviável sua realização nos quintais das residências pelo serviço público de saúde, o que limita a efetividade das estratégias de controle vetorial. É necessário contar apenas com as atividades de educação em saúde, que têm efeito ainda limitado para sensibilizar a população a colaborar com o manejo ambiental de seus quintais.

A soroprevalência de LVC também seguiu tendência decrescente ao longo dos anos nas áreas de estudo, provavelmente devido ao impacto da remoção constante dos cães com leishmaniose, visto que a redução dos reservatórios diminui a força de infecção. No entanto, há uma constante reposição dos cães eutanasiados por outros cães suscetíveis (ROMERO *et al.*, 2010), mantendo uma população de reservatórios ainda capaz de sustentar a transmissão, uma vez que as estratégias para controle vetorial são insatisfatórias. Segundo Dye. (1996), novos cães repostos pela população tornam-se infectados em aproximadamente dois meses. Werneck *et al.* (2014) em estudo para avaliar a eficácia do uso de inseticidas e eutanásia de cães sobre a incidência da infecção por *L. infantum* em humanos no Brasil, encontraram baixa eficácia na eutanásia de cães, e apontaram que a retirada de cães com LVC associada ao controle químico do vetor, não teve impacto sobre a infecção, pelo menos da forma que estas estratégias são implementadas.

Embora os casos de adoecimento por LVH sejam raros, observou-se redução da ocorrência de casos nas AI2006 e AI2008 (SINAN). A diminuição da ocorrência de LVH, paralela à redução da soroprevalência canina, observadas na série temporal das áreas de estudo (SCZOO-PBH), parecem apoiar a hipótese de que a identificação e eutanásia de cães infectados podem contribuir para reduzir as taxas de adoecimento, assim como observado por Werneck *et al.* (2007) em modelo multinível para avaliar fatores associados à distribuição espacial da LV. Por outro lado, a atuação do PVC-LV sobre o reservatório canino, não impactou na redução das taxas de infecção assintomática recente. Ainda são necessárias mais pesquisas sobre o papel do cão infectado na ocorrência de LVH e na infecção por *L. infantum*.

A fraca associação entre a redução da soroprevalência canina e as taxas de infecção assintomática, também pode estar relacionada às limitações do diagnóstico da LVC, devido

à baixa sensibilidade do teste confirmatório IFI no eluato de sangue (EVANS *et al.*, 1990; PARANHOS-SILVA *et al.*, 1996). O método diagnóstico realizado até o momento dessa avaliação (2012) poderia subestimar as taxas de infecção canina (DYE *et al.*, 1993). Esse protocolo também apresentava tempo prolongado entre o diagnóstico e a retirada dos cães (30 a 80 dias), o que permitia a permanência de animais sororreagentes nas áreas e consequente manutenção do ciclo de transmissão (LIRA *et al.*, 2006). Devido às limitações mencionadas, foi realizado um estudo multicêntrico sob coordenação do Ministério da saúde, que serviu como base para recomendação de um novo protocolo para diagnóstico da LVC, que utiliza o teste rápido de plataforma dupla TR DPP®, como teste de triagem e ELISA como teste confirmatório (FUNED, 2013). Este protocolo foi implementado em Belo Horizonte a partir de julho 2013. As taxas prevalência canina no município foram 8,7% em 2014 (SCZOO-PBH) e 9,8% em 2015 (dados parciais SCZOO-PBH, 17/08/2015).

Era esperado que as áreas com maior tempo de intervenção apresentassem taxas prevalência e de incidência de infecção assintomáticas menores que as observadas na área controle, com menor tempo de intervenção. No entanto, os resultados do PVC-LV não impactaram redução nas taxas de infecção em áreas com maior tempo de intervenção, quando comparadas à área controle. A maior taxa de incidência da infecção assintomática observada na AI2008 pode ser referente ao tempo de intervenção do PVC-LV nesta área. Infere-se que pelas características da área é necessário maior tempo de intervenção do PVC-LV para que seja encontrada taxa de incidência pelo menos semelhante à área controle.

A AI2010, embora apresente a menor incidência acumulada de LVH, com apenas um caso em 2010, no primeiro ISSC mostrou resultados similares para sororreatividade canina aos encontrados nas outras áreas do estudo, já trabalhadas pelo PVC-LV (PBH), mostrando, portanto, que no início da intervenção já havia transmissão na área.

Embora os resultados deste trabalho indiquem que há baixa efetividade das estratégias de controle sobre a infecção recente por *L. infantum*, o mesmo não se pode afirmar ao avaliar o impacto do PVC-LV sobre o adoecimento por LVH nas áreas. Houve redução da ocorrência da doença ao longo dos anos, o que é um dos objetivos do PVC-LV e um dos indicadores de efetividade das estratégias do PVC-LV. Embora este objetivo de reduzir o adoecimento humano tenha sido alcançado, a ocorrência de casos de LVH pode ser considerada um indicador frágil para avaliar efetividade das ações de controle sobre a

transmissão, uma vez que a LVH é uma doença de ocorrência rara (BADARÓ *et al.*, 1986; GAIS, 2009). O pequeno número de casos dificulta a análise estatística, principalmente quando o objetivo é avaliar o impacto das atividades de controle em áreas específicas. Outro fator a ser considerado é que as ações do PCV-LV são priorizadas de acordo com a ocorrência de caso nas áreas, no entanto, este pode não ser um bom indicador do risco de transmissão na área, pois não é possível assegurar que em todos os casos a transmissão tenha ocorrido na área.

Deve-se considerar também, que um dos objetivos da Vigilância Epidemiológica proposta pelo PVC-LV é a redução do risco de transmissão (MS, 2006). No entanto, não há uma ferramenta acessível e viável para o serviço de saúde avaliar rotineiramente a efetividade das estratégias de controle sobre a transmissão. Essa avaliação é realizada eventualmente, apenas por pesquisas acadêmicas, em poucas localidades no Brasil, utilizando-se como indicador de transmissão, a infecção assintomática por *L. infantum* (SOUZA *et al.*, 2008; COSTA *et al.*, 2007; WERNECK *et al.*, 2008; WERNECK *et al.*, 2014).

Considerando-se que o presente estudo foi realizado em três áreas com diferentes tempos de intervenção, estes resultados podem ser extrapolados para outras áreas do município, alertando que altas taxas de infecção podem ocorrer, apesar das atividades estratégicas de controle. Provavelmente também há taxas de transmissão maiores que o esperado em outras áreas do município. Por isso, faz-se necessária discussão técnica e operacional acerca das atividades desenvolvidas, pois os casos clínicos até o momento podem representar apenas a ponta do iceberg, como observado por outros autores (BADARÓ *et al.* 1986; ASHFORD *et al.*, 1992). No entanto, até o presente momento, não se sabe qual o significado destes indivíduos infectados na epidemiologia da doença. Corroborando com outros autores, algumas questões necessitam ainda de respostas. Os indivíduos assintomáticos funcionariam apenas como indicadores de circulação e transmissão do parasito nas áreas? Por que nestas áreas de Belo Horizonte, a ocorrência da doença reduziu no tempo de estudo e as taxas de infecção recente são elevadas?

Salienta-se que este não é um estudo controlado, mas sim, uma avaliação real do PVC-LV. Nesta experiência, foi possível observar a dificuldade de se obter efetividade das estratégias de controle sobre a transmissão da *L. infantum*, na rotina do PVC-LV, medida pela infecção assintomática. Segundo Araújo *et al.* (2013), em Belo Horizonte, é provável que a eficácia e a sustentabilidade das estratégias do PVC-LV, sejam influenciadas pela

complexidade da LVH em uma área territorial com altas densidades populacionais humanas e caninas e diferenças intra-urbanas. O mesmo pode-se inferir para a manutenção da transmissão do parasito, que foi observada no presente estudo apesar das estratégias de controle adotadas. A interação de diversos fatores ambientais, sociais, econômicos e individuais no ambiente urbano que são determinantes na epidemiologia da doença (CALDAS *et al.*, 2001) também parecem limitar o impacto das atividades de controle sobre a transmissão. As estratégias de controle não mostraram efetividade sobre a transmissão nas áreas de estudo, no entanto, não se sabe qual seria o desfecho da infecção e do adoecimento humano na ausência destas medidas de controle.

Os achados do presente estudo devem ser avaliados com cautela, uma vez que, o período do estudo é relativamente curto para se medir a efetividade das ações, além dos fatores limitantes já discutidos como o diagnóstico da infecção humana e canina.

8.3. Avaliação do curso da infecção assintomática por *L. infantum*

Reforçando a hipótese de que a infecção assintomática por *L. infantum* não está relacionada ao risco de adoecimento por LVH, o resultado positivo nos testes sorológicos em indivíduos residentes nas áreas estudadas não indicou risco de progressão da infecção para LVH, visto que nenhuma criança em seguimento desenvolveu qualquer sinal clínico ou sintoma da doença.

Nessa etapa foram realizados três testes para diagnóstico da infecção por *L. infantum*: ELISA-rK39, ELISA-AgS e qPCR. Mesmo já havendo observado que há baixa reprodutibilidade entre ELISA-rK39 e ELISA-AgS, os dois testes foram novamente utilizados para avaliar o curso da infecção em 2013. O ELISA-AgS, embora tenha demonstrado baixa sensibilidade nas etapas anteriores, não foi excluído dos experimentos, pois houve o cuidado de manter exatamente a mesma metodologia realizada nos estudos quase experimentais em 2010 e em 2012. Com isso, foi possível confirmar a baixa concordância entre os testes e a maior sensibilidade do ELISA-rK39 em todas as etapas do estudo. A qPCR foi utilizada como método qualitativo de diagnóstico. O método foi utilizado nessa subamostra de crianças como mais um teste para validar nossos achados, demonstrando, que realmente há circulação do parasito entre as crianças diagnosticadas sorologicamente.

Houve persistência de 26,6% de positividade no ELISA-rK39 nas crianças assintomáticas reavaliadas um ano após o estudo quase experimental II. Esse percentual de

persistência da sororreatividade pode ser explicado pela baixa reprodutibilidade dos testes no diagnóstico da infecção assintomática, devido aos baixos níveis de anticorpos (MORENO *et al.*, 2009, ROMERO *et al.*, 2009). O percentual de crianças que apresentaram qPCR positiva provavelmente está relacionado à baixa carga parasitária, como descrito por Marques *et al.* (2012).

Outra hipótese pode ser atribuída à dinâmica da infecção. É possível que a sororreatividade seja temporária, com cura espontânea da infecção, o que pode ter acontecido no período decorrido entre o estudo quase experimental II e a etapa de avaliação do curso da infecção. Le Fichoux *et al.* (1999) demonstraram em doadores de sangue com infecção assintomática por *L. infantum*, a ocorrência transitória de parasitos no sangue. Marques *et al.* (2012), que estudaram a infecção assintomática por meio de qPCR, também discutiram a possibilidade da infecção ser autorregulada com o aclaramento parcial ou total dos parasitos.

É possível ainda, que as crianças infectadas tenham desenvolvido sinais subclínicos inespecíficos e transitórios no intervalo entre o diagnóstico e a etapa de avaliação do curso da infecção. Essas possíveis manifestações subclínicas, que não estavam presentes no momento da avaliação clínica, podem ter passado despercebidas ou os responsáveis conferiram a elas pouca importância, por isso não foram relatadas no momento da anamnese. Podem ser exemplificadas por febre, tosse, diarreia e prostração (BADARÓ *et al.*, 1996).

No Brasil, outros autores que seguiram clinicamente indivíduos assintomáticos com teste de ELISA rk39 reagente, também observaram que nenhum dos indivíduos seguidos desenvolveu a doença (NASCIMENTO *et al.*, 2005; MORENO *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2011; MORENO *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2013; MACIEL *et al.*, 2014; MARQUES *et al.*, 2012). O grande número de indivíduos infectados sem progressão da doença pode sugerir que repetidas infecções são comuns nas áreas endêmicas, o que pode induzir o desenvolvimento de imunidade celular, autorresolução da infecção e resistência à doença (ARAÚJO, 2001; BARBOSA *et al.*, 2010; CRESCENTE *et al.*, 2009; MORENO *et al.*, 2009).

8.4. Fatores associados à infecção assintomática recente por *L. infantum*

Os estudos dos fatores associados à infecção assintomática por *L. infantum*, no modelo de regressão logística multinível apontaram maior odds de infecção para crianças

mais jovens, de famílias de classe econômica B2 ou inferior e crianças que residem em domicílios com árvores na vizinhança.

Crianças com idades mais avançadas podem apresentar uma imunidade adquirida devido a contatos anteriores com o parasito e autorresolução da infecção (ARAÚJO, 2001). A susceptibilidade de crianças mais jovens pode estar associada ao estado imunológico ainda em formação. Assim como encontramos associação entre idade e infecção, alguns autores observaram que a idade também é um fator de risco associado ao adoecimento por LVH (COSTA *et al.*, 1990; BORGES *et al.*, 2008; COSTA *et al.*, 2002). O estudo de Dye & Willians. (1993) conduzido em áreas endêmicas do Brasil, concluiu que crianças são mais susceptíveis a LVH quando mais jovens. Araújo. (2001), ao descrever uma epidemia da doença em Feira de Santana (região Nordeste do Brasil), verificou maior taxa de incidência da doença em crianças de 1 a 4 anos de idade. A infecção por LV confere imunidade duradoura e cria imunidade de rebanho, sendo assim, a força de infecção é inversamente proporcional à idade (COSTA, 2008).

O fato das crianças de famílias de classe econômica B2 ou inferior (renda menor que 4,1 SM), apresentaram maior odds de infecção por *L. infantum*, é um resultado esperado, uma vez que a baixa renda pode estar associada a condições sanitárias e de moradia precárias, que ocasionam condições ambientais propícias ao desenvolvimento do vetor e em consequência elevam o risco de infecção. Outros autores também mencionaram, que baixos níveis socioeconômicos podem contribuir para maior risco de infecção por *L. infantum* (ARAÚJO *et al.*, 2013; CALDAS *et al.*, 2001; BARÃO *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Neste estudo, a avaliação da presença de árvores na vizinhança não foi quantitativa, mas sua associação com a infecção assintomática corrobora achados de outros autores, que identificaram a presença de mata ou de vegetação nas proximidades das residências, como fator de risco para a infecção e consequente ocorrência de LVC (WERNECK & MAGUIRE, 2002; BORGES *et al.*, 2009; BARBOSA *et al.*, 2010). Sabe-se que a vegetação fornece condições favoráveis ao desenvolvimento do vetor e, além disso, origina matéria orgânica necessária para estabelecer os criadouros do vetor (MORENO *et al.*, 2002).

Como observado, com exceção da idade da criança, que é um fator individual, os demais fatores associados estão direta ou indiretamente relacionados às características ambientais, que podem criar condições favoráveis ao desenvolvimento do vetor. Com isso,

reforça-se a importância do manejo ambiental adequado para que as estratégias de controle vetorial possam surtir efeito. No entanto, as piores condições ambientais estão relacionadas à classe econômica das famílias, que conseqüentemente residem em moradias com condições precárias e têm pouco ou nenhum conhecimento sobre a doença. Trata-se de um problema social, fator complicador para a efetividade das estratégias de controle e depende de políticas públicas e sociais mais atuantes.

9. Conclusões

- Em virtude das características epidemiológicas e do conhecimento ainda insuficiente sobre os vários elementos que compõem a complexa cadeia de transmissão da LV, as estratégias de controle são laboriosas e ainda pouco efetivas sobre a circulação do parasito, demonstrada pela infecção assintomática recente.
- A infecção assintomática pode ser um bom indicador da circulação do parasito. Observou-se aumento da taxa de prevalência nas áreas com maior tempo de intervenção pelo PVC-LV e altas taxas de incidência em todas as áreas, evidenciando a baixa efetividade das estratégias de controle sobre a circulação do parasito, pelo menos da maneira que foram executadas nas áreas estudadas. Os tempos de intervenção do PVC-LV não impactaram na redução das taxas de infecção por *L. infantum* nas áreas.
- A infecção não está relacionada ao adoecimento humano, uma vez que a transmissão é mantida nas áreas, mas a ocorrência de casos LVH é decrescente. Além disso, as crianças infectadas não desenvolveram a doença no período de estudo. Portanto pode-se inferir que o adoecimento humano está associado a outros fatores.
- A importância dos indivíduos assintomáticos na epidemiologia da doença não é conhecida e precisa ser mais estudada e melhor investigada. O curso da infecção com hipótese de auto-cura, também necessita estudos mais aprofundados.
- Os fatores associados à infecção por *L. infantum* interferem diretamente (presença de árvores na vizinhança) ou indiretamente (classe socioeconômica) na transmissão, pois podem criar condições favoráveis ao desenvolvimento do flebotômíneo. Esse resultado ressalta a relevância das estratégias de controle vetorial, que são executadas de forma insuficiente.

10. Referências Bibliográficas

- ALENCAR, J. E.; DIETZE, R.; VERONESI, R. Leishmaniose visceral (Calazar). *Doenças infecciosas e parasitárias*, 8. Ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 706-17, 1991.
- ALVIM, M. G.; ALVIM, A. C.; ALVIM, M. O. B.; VALE, J. J. F. Situação atual do calazar na Ilha de São Luiz, Estado do Maranhão. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*, 19 (Supl.): 73, 1986.
- ARAÚJO, V.E., PINHEIRO, L.C., ALMEIDA, M.C., MENEZES, F.C., MORAIS, M.H., REIS, I.A., ASSUNÇÃO, R.M., CARNEIRO, M. Relative risk of visceral leishmaniasis in Brazil: a spatial analysis in urban área. *PLoS Negl. Trop. Dis*, 7, p.2540, 2013
- ARAÚJO, T. M. Caracterização da epidemia e avaliação das medidas de controle no Município de Feira de Santana, de 1995 a 2000. Tese de doutorado da Universidade da Bahia, Salvador, 2001.
- ARIAS, J.R.; MONTEIRO, P.S., ZICKER, M.D. Pan American Health Organization, Brasilia, Brazil; *Emerg Infect Dis Emerging*, v.2, n.2, April-June, 1996.
- ASHFORD, D.A.; DAVID, J.R.; FREIRE, M.; DAVID, R.; SHERLOCK, I.; EULÁLIO, M.C.; SAMPAIO, D.P.; BADARO, R. Studies on control of visceral leishmaniasis: impact of dog control on canine and human visceral leishmaniasis in Jacobina, Bahia, Brazil. *Am J Trop Med Hyg*, 59, p.53-57, 1998.
- ASSIS, T.S.M.; BRAGA, A.S.C.; PEDRAS, M.J.; BARRAL, A.; SIQUEIRA, IC, *et al.* Validação do teste imunocromatográfico rápido IT-LEISH® para o diagnóstico da leishmaniose visceral humana. *Epidemiol Serv Saúde*, 17, p.105–116, 2008.
- BADARÓ, R.; JONES, T.C.; LORENÇO, R.; CERF, B.J.; SAMPAIO, D.; CARVALHO, E.M.; ROCHA, H.; TEIXEIRA, R.; JOHNSON, W.D. A prospective study of visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. *J Infect Dis*, 154, p.639-649, 1986.
- BADARÓ, R.; JONES, T.C.; LORENÇO, R.A. A prospective study of visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. *J Infect Dis*, 154, p.639-649, 1994.

- BADARÓ, R.; BENSON, D; EUHIIIIO, M. C; FREIRE, M; CUNHA, S; NETTO, E. M; PEDRAL-SAMPAIO, D; MADUREIRA, C; BURNS, J. M; HOUGHTON, R. L; DAVID, J. R; REED, S. G. rK39: A Cloned Antigen of *Leishmania chagasi* that Predicts Active Visceral Leishmaniasis. *J Infect Dis*, p.173, mar, 1996.
- BARÃO, SC; CAMARGO-NEVES, VLF; RESENDE, MR; SILVA, LJ. Human Asymptomatic infection in visceral leishmaniasis: A seroprevalence study in an urban area of low endemicity. Preliminary Results. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, 77(6): p.1051-1053, 2007.
- BARATA, R.A.; FRANÇA-SILVA, J.C.; MAYRINK, W.; SILVA, J.C.; PRATA, A.; LOROSA, E.S, *et al.* Aspectos da ecologia e do comportamento de flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose visceral, Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop*; 38, p.421-425, 2005.
- BARBOSA, R.N.P.; CORRÊA, Z.J.C.; JESUS, R.C.S.; EVERDOSA, D.R.; BRANDÃO, J.A, COELHO, R.N, *et al.* Novas Evidências sobre o valor diagnóstico da reação de imunofluorescência indireta e reação intradérmica de hipersensibilidade tardia na infecção por humana *Leishmania (L.) infantum chagasi* na Amazônia, Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 103, p.33-44, 2010.
- BERMAN, J. Visceral leishmaniasis in the New World & Africa. *Indian J Med Res*, 123, p.289–294, 2006.
- BORGES, B.K.A.; SILVA, J.A.; HADDAD, J.P.A.; MOREIRA, E.C.; MAGALHÃES, D.F.; RIBEIRO, L.M.L.; FIÚZA, V.O.P. Presença de animais associada ao risco de transmissão da leishmaniose visceral em humanos em Belo Horizonte, Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61, p.1035-1043, 2009.
- BORGES, B.K.A.; SILVA, J.A.; HADDAD, J.P.A.; MOREIRA, É.C.; MAGALHÃES, D.FD, RIBEIRO, L.M.L.; FIÚZA, V.O.P. Avaliação do nível de conhecimento e de atitudes preventivas da população sobre a leishmaniose visceral em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. *Cad Saúde Pública*, 24, p.777-784, 2008.
- BRAGA, M.D.M.; COELHO, I.C.B.; POMPEU, M.M.L.; EVANS, T.G.; MACAULLIFE, I.T.; TEIXEIRA, M.J.; LIMA, J.W.O. Controle do calazar canino: comparação dos resultados de um programa de remoção rápida de cães sororreagentes por ensaio imuno-enzimático com outro de remoção tardia de cães

sororreagentes por teste de imunofluorescência indireta de eluato de papel filtro. *Rev Soc Bras Med Trop*, 31, p.419-424, 1998.

- BRAY, R. S. Immunodiagnosis of leishmaniasis. Cohen and E. H. Sadun (ed.), *Immunology of parasitic infections*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, United Kingdom, p.65-76, 1976.
- CALDAS, A.J.; COSTA, J.M.; SILVA, A.A.; VINHAS, V.; BARRAL, A. Os fatores de risco associados com infecção assintomática por *Leishmania chagasi* no Nordeste do Brasil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 96, p.21-28, 2002.
- CALDAS, A.J.M.; SILVA, D.R.C.; PEREIRA, C.C.R.; NUNES, P.M.; SILVA, B.P.; SILVA, A.A.M.; BARRAL, A.; COSTA, J.M.L. Infecção por *Leishmania (Leishmania) chagasi* em crianças de uma área endêmica de leishmaniose visceral americana na Ilha de São Luís-MA, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*, 34, p.445-451, 2001.
- CAMPBELL, D.T, STANLEY, J. Experimental and quasi-experimental design for research. Boston. *Houghton Mifflin Company*, 5, 1966.
- CARNEIRO, M. Estudos epidemiológicos na avaliação de efetividade do Programa de Controle da Doença de Chagas: discussão metodológica. *Rev Bras Epidemiol*, 5, p.129-141, 2002.
- CARNEIRO, M.; MORENO, E.C.; GONÇALVES, A.V.; LAMBERTUCCI, J.R.; ANTUNES, C.M.F. Visceral Leishmaniasis: Challenges in identifying subclinical *Leishmania* infection. *Drug Develop Res*, 72, p.442-450, 2011.
- CHAPPUIS, F., RIJAL, S.; SOTO, A., MENTEN, J.; BOELAERT, M. A meta-analysis of the diagnostic performance of the direct agglutination test and rK39 dipstick for visceral leishmaniasis. *BMJ*, 333 (723): 2006.
- COSTA, C.H.N.; TAPETY1, C.M.M.; WERNECK.G. Control of visceral leishmaniasis in urban areas: randomized factorial intervention Trial. *Rev Soc Bras Med Trop*, 40(4): p.415-419, jul-ago, 2007.
- COSTA, C.H & VIEIRA, J.B. Changes in the control program of visceral leishmaniasis in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*, 34, p.223-228, 2001.
- COSTA, C.H. Characterization and speculations on the urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. *Cad Saude Publica*, 24, p.2959-2963, 2008.

- COSTA, C.H.; PEREIRA, H.F.; ARAÚJO, M.V. Visceral leishmaniasis epidemic in the State of Piauí, Brazil, 1980-1986. *Rev Saude Publica*, 24, p.361-372, 1990.
- COSTA, C.H.; STEWART, J.M.; GOMES, R.B.; GARCEZ, L.M.; RAMOS, P.K.; BOZZA, M.; SATOSKAR, A.; DISSANAYAKE, S.; SANTOS, R.S.; SILVA, M.R.; SHAW, J.J.; DAVID, J.R.; MAGUIRE, J.H. Asymptomatic human carriers of *Leishmania chagasi*. *Am J Trop Med Hyg*, 66, p.334-337, 2002.
- COSTA, C.H.N. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? a critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. *Rev Soc Bras Med Trop*, 44, p.232-242, 2011
- COSTA, C.H.N.; VIEIRA, J.B.F. Mudanças no controle da leishmaniose visceral no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*; 34, p.223-228, 2001.
- COURA-VITAL, W. Estudo Epidemiológico prospectivo em cães assintomáticos infectados por *Leishmania (Leishmania) infantum* e identificação de biomarcadores de infecção clínica. Doutor, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011
- CRESCENTE, J.A.B.; SILVEIRA, F.T.; LAINSON, R.; GOMES, C.M.C.; LAURENTI, M.D.; CORBETT, C.E.P. Um estudo transversal sobre o espectro clínico e imunológico humano *Leishmania (L.) infantum chagasi* infecção na região amazônica brasileira. *Trans R Soc Trop Med Hyg*; 103, p.1250-6, 2009
- D'OLIVEIRA, JR. A.; COSTA, S.R.M.; BARBOSA, A.B.; ORGE, M.L., CARVALHO, E.M. Asymptomatic *Leishmania chagasi* infection in relatives and neighbors of patients with visceral leishmaniasis. *Mem do Inst Oswaldo Cruz*. Rio de Janeiro 92, p.15-20, 1997.
- DANTAS-TORRES, F.; BRANDÃO-FILHO, S.P. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 48: p.151-156, 2006.
- De GOUVEA VIANA, L., DE ASSIS, T.S., et al. Combined diagnostic methods identify a remarkable proportion of asymptomatic *Leishmania (Leishmania) chagasi* carriers who present modulated cytokine profiles. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg*, 102, p.548-555, 2008.
- DEANE, M.P.; DEANE, L.M. Infecção experimental do *Phlebotomus longipalpis* em raposa (*Lycalopex vetulus*) naturalmente infectada pela *L. donovani*. *O Hospital*, 46, p.651-653, 1954.

- DEANE, L. M. Epidemiologia e profilaxia do calazar americano. *Rev. bras. Malar.* 10, p.431-49, 1958.
- DEDET, J.P.; PRATLONG, F. Leishmania, Trypanosoma and monoxenous trypanosomatids as emerging opportunistic agents. *J Eukaryot Microbiol*, 47, p.37-9, 2000.
- DIETZE, R.; BARROS, G. B.; TEIXEIRA, L.; HARRIS, J.; MICHAELSON, K.; FALQUETO, A. & COREY, R. Effect of eliminating seropositive canines on the transmission of visceral leishmaniasis in Brasil. *Clin Infect Dis*, 25, p.1240-1242, 1997.
- DYE, C. The logic of visceral leishmaniasis control. *Am J Trop Med Hyg*, 55, p.125-130, 1996.
- DYE, C.; VIDOR, E.; DEREURE, J. Serological diagnosis of leishmaniasis: on detecting infection as well as disease. *Epidemiol Infect*, 110: p.647-656, 1993
- DYE, C.; WILLIAMS, B.G. Malnutrition, age and the risk of parasitic disease: visceral leishmaniasis revisited. *Proc Biol Sci*, 254, p.33-39. 65, 1993.
- DYE, C.; KILLICK KENDRICK, R.; VITUTIA, M.M., WALTON, R.; KILLICK KENDRICK, M.; HARITH, A.E.; GUY, M.W.; CANAVATE, M.C.; HASIBEDER, G. Epidemiology of canine leishmaniasis, prevalence, incidence and basic reproduction number calculated from a cross sectional survey on the Island of Gozo, Malta. *Parasitology*, 105, p. 35-41, 1992.
- EVANS, T.G.; VASCONCELOS, I.A.B.; LIMA, J.W.; TEIXEIRA, J.M.; MCAULIFFE, I.T.; LOPES, U.G.; PEARSON, R.D.; VASCONCELOS, A.W. Canine visceral Leishmaniasis in northeast Brazil -Assessment of serodiagnostic methods. *Am J Trop Med Hyg*, 42, p.118-123, 1990.
- FAKHAR, M.; MOTAZEDIAN, M.H.; HATAM, G.R.; ASGARI, Q.; KALANTARI, M.; MOHEBALI, M. Asymptomatic human carriers of *Leishmania infantum*: possible reservoirs for Mediterranean visceral leishmaniasis in southern Iran. *Ann Trop Med Parasitol*, 102, p.77-583, 2008.
- FELIPE, I, M, A.; AQUINO, D.M.C, KUPPINGER, O.; SANTOS, M.D.C.; RANGEL.; M.E.S, BARBOSA, D.S.; BARRA, A.; WERNECK, G.L.; CALDAS, A.J.MENDES. *Leishmania* infection in humans, dogs and sandflies in a visceral leishmaniasis endemic area in Maranhão, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 106(2): p.207-211, March, 2011.

- FIUZA, V.O.P.; BRANDÃO, S.T.; PESSANHA, J.E.M.; MENEZES, F.C.; COSTA, I.O.; MESQUITA, D.M.; BESSA, M.A.S.; MORAIS, M.H.F.; SAID, R.F.C. Perspectivas para a produção de insumos estratégicos para vigilância e controle das leishmanioses. A situação e as necessidades de grandes centros urbanos no Brasil: o exemplo de Belo Horizonte. *Periodical* [serial on the Internet, 41(III): p.82-88, 2008.
- FUNED, 2013. Manual do Programa de Avaliação da Qualidade Imunodiagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina. <http://funed.mg.gov.br/>, acesso em 16 de julho de 2015.
- GAIS 2009. Boletim eletrônico do grupo técnico de avaliação e informações de saúde, 1(1), maio, 2009.
- GENARO, O.; TOLEDO, V.P.; COSTA, C.A.; HERMETO, M.V.; AFONSO, L.C.; MAYRINK, W. Vaccine for prophylaxis and immunotherapy, Brasil. *Clinical Dermatology* 14, p.503-512, 1996.
- GONTIJO, C.M.F.; MELO, M.N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Rev Bras Epidemiol*, 7, p.338-349, 2004.
- GORDIS, L. *Epidemiology*. 4th Edition ed., 4th Edition ed., Saunders, 2009.
- HABICHT, J.P.; VICTORA, C.G.; VAUGHAN, J.P. Evaluation designs for adequacy, plausibility and probability of public health programme performance and impact. *Int J Epidemiol*, 28, p.10-18, 1999.
- HALLORAN, M.E. Concepts of infectious disease epidemiology. In: Rothman, K.J, Greenland, S, editors. *Modern Epidemiology*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; p.529-554, 1998.
- KELSEY, J.L.; WHITTEMORE, A.S, EVANS, A.S, THOMPSONS, W.D. *Methods in observational epidemiology*, 2nd ed. New York: Oxford University Press; 1996.
- KILLICK-KENDRICK, R.; KILLICK-KENDRICK, M.; FOCHEUX, C.; DEREUBE, J.; PUCH, M.P, CADIERGUES, C. Protection of dogs from bites of phlebotomines sandflies by deltamethrin collars for control of canine. *Med Vet Entomol*, 11, p.105-11, 1997.
- LAINSON, R.; SHAW, J.J. Epidemiology and ecology of leishmaniasis in Latin America. *Nature*, 273(Parasit Suppl): p.595-600, 1978.

- LE FICHOUX, Y.; QUARANTA, J.F.; AUFEUVRE, J.P.; LELIEVRE, A.; MARTY, P, et al. Occurrence of *Leishmania infantum* parasitemia in asymptomatic blood donors living in an area of endemicity in southern France. *J Clin Microbiol*, 37, p.1953–1957, (1999).
- LIRA, R.A.; CAVALCANTI, M.P.; NAKAZAWA, M.; FERREIRA, A.G.P.; SILVA, E.D.; ABATH, F.G.C, ALVES, L.C.; SOUZA, W.V.; GOMES, Y.M. Canine visceral leishmaniosis: A comparative analysis of the EIE-leishmaniose-visceral-canina-Bio-Manguinhos and the IFI leishmaniosevisceral-canina-Bio-Manguinhos kits. *Vet Parasitol*, 137, p.11-16, 2006.
- MACIEL, D.B.; SILVA, T.A.; GOMES, L.I.; DE OLIVEIRA, E.; TIBÚRCIO, M.G.; DE OLIVEIRA, R.F.; AVELAR, D.; BARBOSA, J.R.; FURTADO, E.; RABELLO, A.; SILVA, L.A. Infection with *Leishmania (Leishmania) infantum* of 0 to 18-Month-old children living in a visceral leishmaniasis-endemic area in Brazil. *Am J Trop Med Hyg*, 91(2): p.329-35, 2014.
- MAIA-ELKHOURY, A.N.S.; ALVES, W.A.; SOUSA-GOMES, M.L., SENA, J.M.; LUNA, E.A. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. *Cad Saude Publica*, 24, p.2941-2947, 2008.
- MARQUES, L.H.S.; GOMES, L.I.; ROCHA, I.C.M.; SILVA, T.A.M.; OLIVEIRA, E.; MORAIS, M.H.F.; RABELLO, A.; CARNEIRO, C. Low Parasite Load Estimated by qPCR in a Cohort of Children Living in Urban Area Endemic for Visceral Leishmaniasis in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis*, December, 6(12), 1955.
- MORAIS, M.H.F.; FIUZA, V.O.P.; PESSANHA, J.E.M.; MENEZES, F.C.; RIBEIRO, A.A.; JARDIM, C.C.G. Uso de ferramentas espaciais para aprimorar as ações de vigilância e controle da Leishmanose Visceral em Belo Horizonte. In *7a. EXPOEPI - Mostra Nacional de Experiências bem sucedidas em epidemiologia, prevenção e controle de doenças*, Anais da 7a. EXPOEPI, Brasília, DF, Brasil, 2007.
- MORAIS, M.H.F. Avaliação das atividades de controle da leishmaniose visceral na Regional Noroeste de Belo Horizonte, 2006 a 2010. Tese apresentada ao Programa de Pósgraduação em Parasitologia do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.
- MOREIRA, E.D.; MENDES DE SOUZA, V.M.; SREENIVASAN, M.; NASCIMENTO, E.G.; PONTES DE CARVALHO, L. Assessment of an optimized dog-culling program in the dynamics of canine *Leishmania* transmission. *Vet Parasitol*, 122, p.245-252, 2004.

- MORENO, E.C.; GONÇALVES, A.V.; CHAVES, A.V.; MELO, M.N.; LAMBERTUCCI, J.R.; ANDRADE, A.S.; NEGRÃO-CORRÊA, D.F.; ANTUNES, C.M.; CARNEIRO, M. Inaccuracy of enzymelinked immunosorbent assay using soluble and recombinant antigens to detect asymptomatic infection by *Leishmania infantum*. *PLoS Negl Trop Dis*, 3, p.536, 2009.
- MORENO, E.C.; MELO, M.N.; GENARO, O.; LAMBERTUCCI, J.R.; SERUFO, J.C.; ANDRADE, A.S.; ANTUNES, C.M.; CARNEIRO, M. Risk factors for *Leishmania chagasi* infection in an urban area of Minas Gerais State. *Rev Soc Bras Med Trop*, 38, p.456-463, 2005.
- MORENO, E.C.; MELO, M.N.; LAMBERTUCCI, J.R.; SERUFO, J.C.; ANDRADE, A.S.; ANTUNES, C.M.; GENARO, O.; CARNEIRO, M. Diagnosing human asymptomatic visceral leishmaniasis in an urban area of the State of Minas Gerais, using serological and molecular biology techniques. *Rev Soc Bras Med Trop*, 39, p.421-427, 2006.
- MORENO, E.; MELO, M. N.; ANTUNES, C.M. F. *et al.* Epidemiologia da leishmaniose visceral humana assintomática em área urbana, Sabará, Minas Gerais, 1998-1999. *Informe epidemiológico do SUS*, 11, p.37-9, 2002.
- MOURA, G.S.; DOS SANTOS, A.M.; DE AQUINO, D.M.C.; DA SILVA, A.A.M.; CALDAS, A.J.M. Factors associated with asymptomatic infection in family members and neighbors of patients with visceral leishmaniasis *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 28(12): p.2306-2314, dez, 2012.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS). *Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose visceral*. 1ª ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2006.
- MUSSO, O.; SOMMER, P.; DROUET, E.; COTTE, L.; NEYRA, M.; GRIMAUD, J.A.; CHEVALLIER, M.. *In situ* detection of human cytomegalovirus DNA in gastrointestinal biopsies from AIDS patients by means of various PCR-derived methods. *J Virol Methods*, 56, p.125-137, 1996.
- NASCIMENTO, E.L.T.; MARTINS, D.R.; MONTEIRO, G.R.; BARBOSA, J.D.; XIMENES, M.F.F.; MACIEL, B.L. *et al.* Forum: geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Postscript: new challenges in the epidemiology of *Leishmania chagasi* infection. *Cad Saúde Pública*; 24, p.2964-7, 2008.

- NASCIMENTO, M.D.; SOUZA, E.C.; DA SILVA, L.M.; LEAL, P.C.; CANTANHEDE, K.L.; BEZERRA, G.F.; VIANA, G.M. Prevalence of infection by *Leishmania chagasi* using ELISA (rK39 and CRUDE) and the Montenegro skin test in an endemic leishmaniasis area of Maranhao, Brazil. *Cad Saúde Pública*, 21(6): p.1801-1807, 2005.
- NASCIMENTO, M.D.S.B.; COSTA, J.M.I.; FIORI, B.I.P.; VIANA, G.M.C.; FILHO, M.S.G.; ALVIN, A.C.; BASTOS, O.C.; NAKATANI, M.; REED, S.; BADARÓ, R.; SILVA, A.R.; BURATTINI, M.N. Aspectos epidemiológicos na manutenção da leishmaniose visceral no Estado do Maranhão, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*, 29, p.233-240, 1996.
- NUNES, C.M.; LIMA, V.M.; PAULA, H.N.; PERRI, S.H.; ANDRADE, A.M.; DIAS, F.E, *et al.* Dog culling and replacement in an area endemic for visceral leishmaniasis in Brazil. *Vet Parasitol*; 153, p.19-23, 2008.
- OLIVEIRA, C.L.; MORAIS, M.H.F.; MACHADO-COELHO, G. Visceral leishmaniasis in large Brazilian cities: challenges for control. *Cad Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 24(12): p.2953-2958, dez, 2008.
- OLIVEIRA, C.L.; ASSUNÇÃO, R.M.; REIS, I.A.; PROIETTI, F.A. Spatial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brasil, 1994- 1997. *Cad Saude Publica*, 17, p.1231-1239, 2001.
- OLIVEIRA SS & ARAÚJO TM. Avaliação das ações de controle da leishmaniose visceral (calazar) em uma área endêmica do Estado da Bahia, Brasil (1995-2000). *Cad Saude Publica*, 19, p.1681-1690, 2003.
- ORSINI, M.; CANELA, J.R.; DISCH, J.; MACIEL, F.; GRECO, D, *et al.* High frequency of asymptomatic *Leishmania* spp. infection among HIV-infected patients living in endemic areas for visceral leishmaniasis in Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 106, p.283–288, 2012.
- PALATNIK-DE-SOUSA, C.B.; DUTRA, H.S.; BOROJEVIC, R. Lrshftumid donovani surface glycoconjugate GP36 is the major immunogen component of the Fucose-Mannose Ligand (FML). *Acta Trop*, 5, p.59-72, 1993.
- PAMPIGLIONE, S.; MANSON-BAHR, P.E.; GIUNGI, F.; GIUNTI, G.; PARENTI, A.; CANESTRI TROTTI, G. Studies on Mediterranean leishmaniasis. 2. Asymptomatic cases of visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 68, p.447-453, 1974.

- PARANHOS-SILVA, M.; NASCIMENTO, E.G.; MELRO, M.C.; OLIVEIRA, G.G.; DOS SANTOS, W.L.; PONTES-DE-CARVALHO, L.C.; OLIVEIRA-DOS-SANTOS, A.J. Cohort study on canine emigration and *Leishmania* infection in an endemic area for American visceral leishmaniasis. Implications for the disease control. *Acta Trop*, 69, p.75-83, 1998.
- PBH, 2015. <http://portalpbh.pbh.gov.br/> Acesso em março de 2015.
- PEARSON, R. D & SOUSA, A. Q. Clinical spectrum of Leishmaniasis. *Clin. Infect. Dis.* 22, p.1-13, 1996.
- PEREIRA, M.G. *Epidemiologia: Teoria e Prática*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.
- PIARROUX, R.; AZAIEZ, R.; LOSSI, A.M.; REYNIER, P.; MUSCATELLI, F, *et al.* Isolation and characterization of a repetitive DNA sequence from *Leishmania infantum*: development of a visceral leishmaniasis polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg*, 49, p.364–369, 1993.
- PONTE, C.B.; SOUZA, N.C.; CAVALCANTE, M.N.; BARRAL, A.M.P., DE AQUINO, D.M.C.; CALDAS, A.J.M. Risk factors for *Leishmania chagasi* infection in an endemic area in Raposa, State of Maranhão, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*, 44(6): p.717-721, nov-dez, 2011.
- RANGEL, O.; HIRAMOTO, R.M.; HENRIQUES, L.F.; TANIGUCHI, H.H.; CIARAVOLO, R.M.C.; TOLEZANO, J.E, *et al.* Classificação epidemiológica dos municípios segundo o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana no Estado de São Paulo, para 2013. *Bol Epidemiol Paul.*; 10(111): p.3-14, 2013.
- RANGEL, E.F.; VILELA, M.L. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. *Cad Saúde Pública*, 24, p.2948-52, 2008.
- RIBAS, L.M.; ZAHER, V.L.; SHIMOZAKO, H.J.; MASSAD, E. Estimating the Optimal Control of Zoonotic Visceral Leishmaniasis by the Use of a Mathematical Model. *The ScientificWorld Journal*, 2013.
- RIERA, C.; FISA, R.; UDINA, M.; GALLEGÓ, M.; PORTUS, M. Detection of *Leishmania infantum* cryptic infection in asymptomatic blood donors living in an endemic area (Eivissa, Balearic Islands, Spain) by different diagnostic methods. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 98, p.102–110, 2004.

- RIPSА REDE INTERAGENCIAL DE INFORMAÇÃO PARA A SAÚDE. Indicadores Básicos para a Saúde no Brasil: Conceitos e Aplicações, 2010. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/tabdata/livroidb/2ed/aspectos.pdf>. Acesso em 02/04/2015.
 - ROMERO, G.A.S.; BOELAERT, M. Control of Visceral Leishmaniasis in Latin America-A Systematic Review. *PLoS Negl Trop Dis*, 4, 2010.
 - ROMERO, H.D.; SILVA, L.A.; SILVA-VERGARA, M.L.; RODRIGUES, V.; COSTA, R.T.; GUIMARÃES, S.F.; ALECRIM, W.; MORAES-SOUZA, H.; PRATA, A. Comparative study of serologic tests for the diagnosis of asymptomatic visceral leishmaniasis in an endemic area. *Am J Trop Med Hyg*, 81, p.27-33, 2009.
 - SANTOS, I.S.; VICTORA, C.G. Serviços de saúde: epidemiologia, pesquisa e avaliação. *Cad Saude Publica*, 20, p.337-341, 2004.
- SANTOS, S. O.; ARIAS, J.; RIBEIRO, A. A.*et al.* Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American visceral leishmaniasis. *Med. Vet Entomol*, 12, p.315-317, 1998.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL (SBMT), 2011 – disponível em: <http://www.sbmt.org.br>. Acesso em 02/03/2015.
 - SELTZ, WRIGHTSMAN, COOK. *Métodos de pesquisa nas relações sociais*. Delineamentos de pesquisa, 1, São Paulo, 1976.
 - SILVA, E.S.; GONTIJO, C.M.; PACHECO, R.S.; FIUZA, V.O.; BRAZIL, R.P. Visceral leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*; 96, p.285-91, 2001.
 - SILVA, L.A.; ROMERO, H.D.; NASCENTES, G.N.N.; COSTA, R.T.; RODRIGUES, V.; PRATA, A. Antileishmania Immunological Tests for Asymptomatic Subjects Living in a Visceral Leishmaniasis-Endemic Area in Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, 84(2): p.261–266, 2011.
 - SILVA, L.A, ROMERO, H.D.; Aline FAGUNDES, A.; NEHME, N.; FERNANDES, O.; RODRIGUES, V.; COSTA, R.T.; PRATA. Use of the polymerase chain reaction for the diagnosis of asymptomatic *leishmania* infection in a visceral leishmaniasis-endemic area. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 55(2): p.101-104, March-April, 2013.

- SINGH, S; SIVAKUMAR, R. Recent advances in the diagnosis of leishmaniasis. *J Postgrad Med*, 49, p.55-60, 2003.
- SMSA, 2003- Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte. Gerência de Epidemiologia e Informação. Índice de Vulnerabilidade à Saúde 2003. Disponível em <http://www.pbh.gov.br/smsa/biblioteca/gabinete/risco2003.pdf>
- SMSA. Perfil epidemiológico e medidas de prevenção e controle da leishmaniose visceral. *Boletim Epidemiológico da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte*, 1, p.6-11, 2006.
- SMSA. AVALIAÇÃO DO CONTROLE DE LEISHMANIOSE VISCERAL EM BELO HORIZONTE. *Boletim Epidemiológico da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte*, setembro, 2013.
- SOUZA, V.M.M.; JULIÃO, F.S.; NEVES, R.C.S.; MAGALHÃES, P.B.; BISINOTTO, T.V.; LIMA A.S.; OLIVEIRA, S.S.; MOREIRA JÚNIOR, E.D. Ensaio comunitário para avaliação da efetividade de estratégias de prevenção e controle da leishmaniose visceral humana no Município de Feira de Santana, Estado da Bahia, Brasil. *Epidemiol Serv Saúde*, 17, p.97-106, 2008.
-
- STEINDEL, M; MENIN, A; EVANGELISTA, T; STOCO, P; MARLOW, M; FLEITH, R; PILATI, C; GRISARD, E. Surto autóctone de leishmaniose visceral canina no Estado de Santa Catarina. *Pesqui Vet Bras*, 33(4), Rio de Janeiro, Abr, 2013.
- TAVARES C.A; FERNANDES, A.P; MELO, M.N. Molecular diagnosis of leishmaniasis. *Expert Rev Mol Diagn* 3, p.657–667, 2003.
- WERNECK, G.L.; COSTA, C.H.N.; DE CARVALHO, F.A.A.; PIRES E CRUZ, M.S; JAMES H. MAGUIRE J.H; CASTRO, M.C. Effectiveness of Insecticide Spraying and Culling of Dogs on the Incidence of *Leishmania infantum* Infection in Humans: A Cluster Randomized Trial in Teresina, Brazil. *PLoS Negl Trop Dis*, 8(10): October, 2014.
- WERNECK, G.L.; COSTA, C.H.; WALKER, A.M.; DAVID, J.R.; WAND, M.; MAGUIRE, J.H. Multilevel modelling of the incidence of visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. *Epidemiol Infect*, 135, p.195-201, 2007.
- WERNECK, G.L.; MAGUIRE, J.H. Spatial modeling using mixed models: an ecologic study of visceral leishmaniasis in Teresina, Piauí State, Brazil. *Cad Saude Publica*, 18, p.633-637, 2002

- WERNECK, G. L. Calazar canino como fator de risco para ocorrência de calazar humano: implicações para a definição de estratégias de controle. *Rev Soc Bras Med Trop*, 35(Supl. III): p.82 – 86, 2002.
- WERNECK, G.L. 2008b. Forum: geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Introduction. *Cad Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 24(12): p.2937-2940.
- WERNEK, G.L.; FARIAS, T.J.C.; FARIAS, G.C.; SILVA, F.O.; CHAVES, F.C.; GOUVÊA, M.V.; COSTA, C.H.N.; CARVALHO, F.A. Avaliação da efetividade das estratégias de controle da leishmaniose visceral na cidade de Teresina, Estado do Piauí, Brasil: resultados do inquérito inicial – 2004. *Epidemiol Serv Saúde*, 17, p.87-96, 2008a.
- WHO, 2015 <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>. Acesso em março de 2015.
- YOUNG, G.D.; ARIAS, J.R. Flebótomos Vectores de Leishmaniasis en las Américas. *OPS Cuad Téc*, 33, p. 28. 1992.
- ZIJLSTRA, E.E.; DAIFALLA, N.S.; KAGER, P.A.; KHALIL, E.A.; EL HASSAN, A.M.; REED, S.G, *et al.* rK39 enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of *Leishmania donovani* infection. *Clin Diagn Lab Immunol*, 5, p.717–20, 1998

11. ANEXOS

ANEXO 1- Parecer COEP UFMG 2013



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE –12046113.0.0000.5149

Interessado(a): Profa. Mariângela Carneiro
Departamento de Parasitologia
Instituto de Ciências Biológicas - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 28 de março de 2013, o projeto de pesquisa intitulado "**Leishmaniose Visceral: estudo de coorte em crianças com infecção assintomática por Leishmania (Leishmania) infantum em Belo Horizonte, Minas Gerais, 2010 a 2013**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


Prof. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

ANEXO 2-Termo de consentimento livre esclarecido(TCLE)-Estudo quase experimentalII – Crianças e menores de 18 anos

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG
Laboratório de Epidemiologia das Doenças Infecciosas e Parasitárias
SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE - PBH

Consentimento Livre e Esclarecido - Crianças e menores de 18 anos

Convite para participar

Seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade, cujo nome é _____ está convidado(a) para participar, voluntariamente, do Projeto "Avaliação da associação entre o risco para leishmaniose visceral e fatores ambientais, socioeconômicos e sanitários em diferentes áreas de Belo Horizonte, Minas Gerais."

Leia e/ou ouça atentamente as informações a seguir antes de dar o seu consentimento.

Informações sobre o Estudo

A Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e a Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte estão realizando uma pesquisa com crianças residentes nas Áreas de Abrangência dos Distritos Sanitários em Belo Horizonte. O objetivo deste estudo é o de avaliar o risco de adoecimento por Leishmaniose Visceral em sua região. Será também realizada uma avaliação da transmissão da infecção humana em crianças menores de seis anos. Os resultados deste estudo irão auxiliar nas ações de prevenção e controle da doença na cidade. Sua casa e seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade foram escolhidos por sorteio, usando um método científico para obtenção de uma amostra representativa da população desse Distrito Sanitário em Belo Horizonte.

Sua participação

Ao concordar com a participação de seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade você permitirá que:

1. Seja realizada uma entrevista confidencial com perguntas sobre as características pessoais de seu filho(a); sexo, idade, escolaridade, condição socioeconômica da família; características da residência incluindo todos os anexos, construções e lixo no quintal; armazenamento e disposição do lixo doméstico; destino das águas servidas; existência de áreas em erosão próximas à residência; presença de animais domésticos; conhecimento sobre leishmanioses canina e humana e vetores; fatores relacionados às medidas de controle da doença.
2. Seja coletada de seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade uma pequena quantidade de sangue por punção capilar na ponta do dedo da mão para pesquisa de anticorpos (células de defesa do corpo humano) para a Leishmaniose Visceral e fragmentos do parasito transmissor.

A entrevista dura em torno de 30 minutos e a coleta de sangue cerca de 3 minutos. A coleta de sangue é feita por técnicos especialmente treinados e utiliza-se material esterilizado e descartável, ou seja, material que só é usado uma única vez.

Riscos e Benefícios

Os benefícios provenientes da participação do seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade consistem na geração de novos conhecimentos para embasar as ações de prevenção e controle da leishmaniose visceral no município; além de subsídios para futuras análises de adequação do programa de controle vigente.

O risco para o seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade que porventura participe da pesquisa está no momento da coleta de sangue por punção digital. Entretanto, por se tratar de punção capilar na ponta do dedo, o risco de perda de integridade da pele é mínimo.

Confidencialidade:

Toda informação pessoal obtida nesta pesquisa é considerada confidencial e a identificação de seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade será mantida como informação sigilosa. A amostra de sangue de seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade será guardada apenas com um número, sem o nome. Os relatórios e resultados deste estudo serão publicados na forma de textos, tabelas, gráficos e figuras, sem nenhuma forma de identificação individual.

Pagamento por participação:

A participação do seu filho(a) ou do menor sob sua responsabilidade é isenta de despesas e não haverá qualquer pagamento pela participação.

Acesso às informações

Você e seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade poderão receber, se assim o quiser, os resultados de seus exames. Estes resultados só serão revelados a você ou seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade, pela equipe da pesquisa. Para informações adicionais sobre este estudo, você ou seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade poderá se comunicar com Leticia Helena dos Santos Marques ou Iara Caixeta Marques da Rocha, nos telefones 3409-2973/ 9318-4975/ 9951-5689, no horário de 8 às 12 horas e de 14 às 18 horas de segunda à sexta-feira.

Para informações éticas do estudo, você poderá contatar o Comitê de Ética da UFMG - Av. Antônio Carlos, 6627 Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005 Campus Pampulha. Telefone: 3409-4592.

Você e seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade também podem e devem fazer todas as perguntas que julgar necessárias, assim como recorrer a seu médico ou agente de saúde para maiores informações, se assim entender.

Informações adicionais

A participação é totalmente voluntária e você e seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade poderão se recusar a participar do estudo sem qualquer prejuízo pessoal para ambos.

Você e seu filho (a) ou menor sob sua responsabilidade têm a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração e participação nesta pesquisa no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação.

A desistência não causará nenhum prejuízo à saúde ou bem estar físico do seu filho ou menor sob sua responsabilidade. Não virá interferir no atendimento e na assistência a ser prestada em caso de necessidade.

Declaro que li e entendi as informações relativas a este estudo. Concordo com a participação voluntária de meu filho(a) ou menor sob minha responsabilidade nesta pesquisa.

Assinatura do participante ou responsável

Assinatura da criança (apenas se possuir mais de 7 anos)

Você gostaria de ser informado sobre os resultados dos exames

Sim: __ Não: __

Assinatura do entrevistador

ENDEREÇO E TELEFONE DOS PESQUISADORES

Mariângela Carneiro
Avenida Antonio Carlos 6627-
Campus UFMG
Departamento de Parasitologia/ICB
Bloco E4 - Sala 254
31-34092839

Iara Caixeta Marques da Rocha /
Leticia Helena dos Santos Marques
Avenida Antonio Carlos 6627-
Campus UFMG
Departamento de Parasitologia/ICB
Bloco E4 - Sala 254
31-3409-2973

Entrevistador: Guarde com você este Consentimento Livre e Esclarecido, datado e assinado. Entregue cópia , também datada e assinada, ao participante.

Belo Horizonte, de de 2012.

ANEXO 3- Termo de consentimento livre esclarecido (TCLE) – Avaliação do curso da infecção. Crianças e menores de 18 anos

Convite para participar

Seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade, cujo nome é _____ está convidado(a) para participar, voluntariamente da segunda etapa do Projeto “Avaliação da associação entre o risco para leishmaniose visceral e fatores ambientais, socioeconômicos e sanitários em diferentes áreas de Belo Horizonte, Minas Gerais, 2010 a 2013.”

Leia e/ou ouça atentamente as informações a seguir antes de dar o seu consentimento.

Informações sobre o Estudo

O projeto em andamento é conduzido pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e a Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte. Seu objetivo é avaliar o risco de adoecimento por Leishmaniose Visceral em sua região.

Ao concordar com a participação de seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade você respondeu a um questionário confidencial e autorizou a coleta de uma pequena quantidade de sangue por punção capilar na ponta do dedo da mão para pesquisa de anticorpos (células de defesa do corpo humano) para o parasito *Leishmania chagasi*, agente causador da leishmaniose visceral em Belo Horizonte.

Sua participação

Ao concordar com a continuidade da participação de seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade nessa nova etapa você permitirá que

1. Seja coletada de seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade uma pequena quantidade de sangue por punção venosa para realização de um exame de sangue do tipo Hemograma, para caracterização imunológica e para pesquisa de fragmentos do parasito transmissor. A coleta de sangue será realizada por técnicos especialmente treinados e utiliza-se material esterilizado e descartável, ou seja, material que só é usado uma única vez.

2. Seja atendido por um médico especialista, contratado pelo projeto para avaliação clínica da criança. A consulta e a coleta de sangue serão realizados no centro de saúde de referência da sua área de residência.

Riscos e Benefícios

Os benefícios provenientes da participação do seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade consistem na geração de novos conhecimentos para embasar as ações de prevenção e controle da leishmaniose visceral no município; além de subsídios para futuras análises de adequação do programa de controle vigente. O risco para o seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade que porventura participe da pesquisa está no momento da coleta de sangue. Entretanto, a mesma será realizada por profissionais especializados em local adequado, portanto o risco de perda de integridade da pele é mínimo.

Confidencialidade:

Toda informação pessoal obtida nesta pesquisa é considerada confidencial e a identificação de seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade será mantida como informação sigilosa. A amostra de sangue de seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade será guardada apenas com um número, sem o nome. Os relatórios e resultados deste estudo serão publicados na forma de textos, tabelas, gráficos e figuras, sem nenhuma forma de identificação individual.

Pagamento por participação:

A participação do seu filho(a) ou do menor sob sua responsabilidade é isenta de despesas e não haverá qualquer pagamento pela participação.

Acesso às informações

Você e seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade poderão receber, se assim o quiser, os resultados de seus exames. Estes resultados só serão revelados a você ou seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade, pela equipe da pesquisa. Para informações adicionais sobre este estudo, você ou seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade poderá se comunicar com Letícia Helena dos Santos Marques, nos telefones 3409-2973 e 9318-4975 no horário de 8 às 12 horas e de 14 às 18 horas de segunda à sexta-feira. Para informações éticas do estudo, você poderá contatar o Comitê de Ética da UFMG - Av. Antônio Carlos,

6627 Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005 Campus Pampulha. Telefone: 3409-4592.

Você e seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade também podem e devem fazer todas as perguntas que julgar necessárias, assim como recorrer a seu médico ou agente de saúde para maiores informações, se assim entender.

Informações adicionais

A participação é totalmente voluntária e você e seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade poderão se recusar a participar do estudo sem qualquer prejuízo pessoal para ambos.

Você e seu filho (a) ou menor sob sua responsabilidade têm a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração e participação nesta pesquisa no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação.

A desistência não causará nenhum prejuízo à saúde ou bem estar físico do seu filho ou menor sob sua responsabilidade. Não virá interferir no atendimento e na assistência a ser prestada em caso de necessidade.

Declaro que li e entendi as informações relativas a este estudo. Concordo com a participação voluntária de meu filho(a) ou menor sob minha responsabilidade nesta pesquisa.

Nome do responsável: _____

Assinatura do participante ou responsável: _____

Assinatura da criança maior de 7 anos: _____

Belo Horizonte, ___ de _____ de 2013.

ENDEREÇO E TELEFONE DOS PESQUISADORES

Mariângela Carneiro
Avenida Antonio Carlos 6627-
Campus UFMG
Departamento de Parasitologia/ICB
Bloco E4 - Sala 254
31-34092839

Letícia Helena dos Santos Marques
Avenida Antonio Carlos 6627-
Campus UFMG
Departamento de Parasitologia/ICB
Bloco E4 - Sala 254. Tel 31-3409-2973

ANEXO 4 - Termo de assentimento do menor

Termo de assentimento do menor

Você está sendo convidado para participar da nossa pesquisa, que se chama "Avaliação da associação entre o risco para leishmaniose visceral e fatores ambientais, socioeconômicos e sanitários em diferentes áreas de Belo Horizonte, Minas Gerais, 2010 a 2013". Seus pais permitiram que você participe.



Nós estudamos a leishmaniose, que é aquela doença que o mosquito passa para o cachorro e depois para as pessoas.



A leishmaniose deixa as pessoas muito doentes no hospital.

Queremos entender porque as pessoas pegam esta doença na região onde você mora e descobrir coisas que possam ajudar as pessoas a terem uma vida boa sem ficarem doentes.



Para ajudar nestas descobertas, outras crianças da sua idade e mais novas que você estão participando da nossa pesquisa. Se você quiser, também pode participar para ajudar a diminuir a quantidade de pessoas que podem pegar leishmaniose, mas não terá nenhum problema se não quiser participar ou se desistir depois.



O médico vai consultar você em sua casa. A consulta não dói. Depois vamos coletar uma pequena quantidade de sangue em seu braço, usando um material limpo que nunca foi usado em ninguém. Você pode sentir uma picadinha na hora da coleta de sangue, mas você não será machucado, pois a pessoa que vai tirar o seu sangue é muito treinada e faz isso sempre em outras crianças.

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa. O seu nome não vai aparecer em lugar nenhum. Se você tiver alguma dúvida, você pode perguntar para os médicos que te consultarem e para as pesquisadoras Lara Caixeta ou Mariângela Carneiro pelo telefone 3409-2973.

Eu _____
aceito participar da pesquisa. Entendi que posso sentir uma picadinha para tirar sangue, mas com isso posso ajudar pessoas a não adoecerem. Entendi que posso dizer "sim" e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer "não" e desistir. Os pesquisadores conversaram com os meus responsáveis. Recebi uma cópia deste termo de assentimento, li e quero participar da pesquisa.

ANEXO 5 - Manual de Aplicação do questionário

MANUAL DO QUESTIONÁRIO PROJETO EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL EM BELO HORIZONTE

- A entrevista deverá ser respondida pelos pais ou responsável.
- As perguntas são sobre a criança, o domicílio, as características socioeconômicas, animais de criação e sobre o vetor. Algumas respostas dependem da observação do ambiente pelo próprio entrevistador.
- Todas as questões **devem ter assinalada uma alternativa**, portanto, sem deixar campos em branco.
- O entrevistador deverá ler a pergunta. Se o entrevistado tiver dúvida e se for necessário explicação, utilizar linguagem adequada de acordo com o nível do entrevistado, evitando o uso de termos técnicos.
- O entrevistador deverá informar que se trata de um levantamento amostral e que as informações prestadas são sigilosas e que serão utilizadas somente para a pesquisa.
- O entrevistador deverá informar também que os resultados dos exames serão informados por telefone. Caso algum exame seja positivo os pais serão informados e a criança será avaliada novamente. É importante esclarecer que se a criança apresentar algum exame positivo, não significa que ela está com leishmaniose visceral e sim que teve contato com o agente da doença em algum momento, através da picada do mosquito transmissor.
- Após terminar a entrevista ou ao final do dia, conferir o preenchimento do questionário, completando os dados, se necessário.
- Antes de iniciar a entrevista ou coleta, ler e colher a assinatura do responsável pela criança, no *Termo de Consentimento Livre e Esclarecido*, além de assinar e datar no local do entrevistador e do coletor. Serão assinados duas vias do termo de consentimento, sendo que uma será entregue aos pais e a outra guardada com você, e entregue ao supervisor ao final do dia.
- O espaço reservado para a codificação das respostas será preenchido posteriormente por outra pessoa.
- Se o responsável não permitir a coleta ou não quiser participar da pesquisa, preencher apenas o formulário de RECUSA (pergunta nº 52 recebido em folha separada do questionário).

1. Opções de respostas:

- **SIM: Codificação 1** – O entrevistado compreende o que está sendo perguntado e sua resposta é afirmativa.
- **NÃO: Codificação 0** – O entrevistado compreende o que está sendo perguntado e sua resposta é negativa. Nunca deixar de marcar se a resposta for negativa.

- **NS (Não sabe): Codificação 7** – O entrevistado não compreende o que está sendo perguntado e não tem conhecimento nenhum a respeito ou então compreende o que está sendo perguntado, mas fica em dúvida quanto à resposta.
- **NR (Não respondeu): Codificação 9** – O entrevistado **recusou-se** a responder a esta pergunta.
- **NA (Não se aplica): Codificação 8** – A pergunta não se aplica ao entrevistado e, geralmente depende da pergunta anterior (quando a pergunta anterior indica “pular para outra questão”, a pergunta que foi saltada deve ser marcada como NA).

VARIÁVEIS

Entrevistador: anotar o nome do entrevistador

1. **Nome do entrevistador:** Escrever por extenso o nome de quem fez a entrevista
IDCOLETOR: é o número de identificação de quem fez a coleta.
Nome do coletor: Nome por extenso de quem coletou a amostra de sangue
Nome do entrevistador, IDCOLETOR e Nome do coletor: identifica quem fez a coleta.
2. **IDUM 1:** (Número de identificação da amostra). Este número é proveniente da primeira coleta, realizada em 2009/2010. Será preenchido apenas copiando o dado já existente que será previamente fornecido.
ATENÇÃO! Existem crianças que nunca foram coletadas anteriormente, portanto essas crianças não possuem o IDNUM1. Nesse caso, deve-se preencher os campos do IDNUM1 com 8 8 8 8 8 para diferenciar as crianças novas na amostra, daquelas antigas. Para evitar confusão entre crianças antigas e novas na amostra, esses campos não devem ficar em branco.
3. **IDUM 2:** (Número de identificação da amostra) É o n^o da área, seguido do n^o da dupla de coletor e entrevistador, acrescido da numeração seqüencial de coletas de cada coletor, da seguinte forma: 001 (corresponde à primeira criança que recebeu a coleta pelo coletor). O número final será composto de cinco dígitos: número da área (1^o dígito), coletor (2^o dígito) e número da criança com os próximos 3 dígitos.

Os números das áreas são:

Pindorama = 1 Glória = 2 Serrano = 3 Minascaixa = 4
 Professor Amílcar Viana = 5

N^o da área N^o da dupla N^o seqüencial de coletas do coletor

Ex: IDNUM2= 34001 (corresponde a primeira criança coletada pela dupla 4, no Serrano).

ATENÇÃO! Deve-se preencher o IDNUM2 no canto superior de TODAS as folhas do questionário, para evitar perda de informações caso as folhas se soltem.

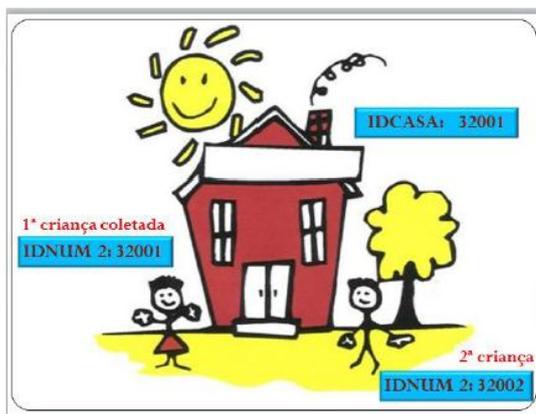
4. **IDCASA:** Quando for feita coleta em apenas uma criança na casa, o IDCASA será igual ao IDNUM 2. Quando mais de uma coleta for feita na mesma casa, o IDCASA será igual ao IDNUM 2 da primeira criança, ou seja, deve-se repetir o IDNUM 2 da primeira criança que tiver o sangue coletado na casa. Ex:

Coleta de apenas uma criança na casa.

IDNUM 2: 34001	IDCASA: 34001
----------------	---------------

Coleta de mais de uma criança na mesma casa:

1ª criança: IDNUM 2: 32001	2ª criança: IDNUM 2: 32002
IDCASA: 32001	IDCASA: 32001
Ou seja, IDNUM 2 = IDCASA	Ou seja, IDNUM 2 da 1ª criança = IDCASA



5. **Código da área:** Marcar o nome da área onde a coleta está sendo realizada.

I. IDENTIFICAÇÃO

6. **Nome do principal responsável:** nome completo da pessoa que se responsabiliza pela criação da criança. Não abreviar o nome e perguntar como se escreve para evitar erros na grafia.
7. **Grau de parentesco com a criança:** autoexplicativo. No caso de não se enquadrar em nenhuma das opções, assinalar outro e descrever o tipo de vínculo com a criança.
8. **Endereço completo:** preencher nome da Rua ou Av. ou Beco, n^o do imóvel, complemento se houver, bairro, CEP e telefone(s) de contato. O número do quarteirão está situado sempre nas esquinas (Muro na esquina ou postes).

9. **Outra referência de contato:** Pode ser um parente de preferência, ou uma pessoa que seja próxima do entrevistado. Preencher nome da Rua ou Av. ou Beco, nº do imóvel, complemento se houver, bairro e telefone(s) de contato.

II. DADOS SOBRE A CRIANÇA

10. **Nome da criança:** nome completo da criança que receberá a coleta digital. Não abreviar o nome e perguntar como se escreve para evitar erros na grafia.
11. **Data de nascimento:** preencher dia, mês e ano do nascimento.
12. **Idade:** resposta em anos e meses.
13. **Sexo:** auto-explicativo
14. **Quanto tempo a criança mora neste domicílio?** Preencher anos e meses.
15. **Se não mora desde que nasceu, onde morou antes?** Auto-explicativo. Se for em outro Município, preencher qual é o Município e o Estado.
16. **Onde a criança permanece/brinca entre as 18 e 22 horas?** Auto explicativo. Se necessário, ler as alternativas para o entrevistado. Se for em uma creche, escolinha, casa de parentes, amigos ou qualquer local diferente do local de residência, a resposta é “ Em outro local”. Para assinalar a alternativa “2” ou “3”, cabe ao entrevistador verificar com o entrevistado se este outro local é no mesmo bairro onde a criança mora, ou em outro bairro.
17. **Onde a criança permanece/brinca durante a maior parte do dia?** Auto explicativo. Se necessário, ler as alternativas para o entrevistado. Se for em uma creche, escolinha, casa de parentes, amigos ou qualquer local diferente do local de residência, a resposta é “ Em outro local”. Para assinalar a alternativa “2” ou “3”, cabe ao entrevistador verificar com o entrevistado se este outro local é no mesmo bairro onde a criança mora, ou em outro bairro.

III. DADOS SOCIOECONÔMICOS

18. **Qual o grau de escolaridade do chefe da família?** Autoexplicativo. Lembrar da mudança atual do currículo e ficar atento às alternativas, pois estas descrevem os sinônimos de todas as formas curriculares conhecidas.

Grau de Instrução do chefe de família

Nomenclatura Antiga	Nomenclatura Atual
Analfabeto/ Primário incompleto	Analfabeto/ Até 3ª série Fundamental/ Até 3ª série 1º. Grau
Primário completo/ Ginásial incompleto	Até 4ª série Fundamental / Até 4ª série 1º. Grau
Ginásial completo/ Colegial incompleto	Fundamental completo/ 1º. Grau completo
Colegial completo/ Superior incompleto	Médio completo/ 2º. Grau completo
Superior completo	Superior completo

Esta pergunta foi retirada do Critério de Classificação Econômica Brasil (CCEB). O CCEB enfatiza sua função de estimar o poder de compra das pessoas e famílias urbanas.

19. Qual é o tipo de profissão/ocupação do chefe da família: Auto explicativo. ATENÇÃO!

Não é a profissão do entrevistado, mas sim, a profissão do CHEFE DA FAMÍLIA (Da principal pessoa que mantém a família). Qualquer profissão que aparentemente não se enquadre nas alternativas, ficar atento, pois provavelmente se enquadrará nas opções “profissional liberal” ou “empregado de empresa privada”.

- ✚ *Empresário ou Produtor rural:* Empresário é o proprietário de comércio ou empresas em geral (padaria, bar, farmácia, oficina mecânica, marcenaria, vidraçaria, lojas, supermercado, sacolão, salão de beleza, buffet, escritórios em geral, clínica veterinária, clínica de estética, academia, frotista, etc), donos de micro ou grandes empresas em geral. A pergunta que deve ser feita para auxiliar o enquadramento do entrevistado nesta categoria é: A pessoa dispõe de um lugar físico próprio ou alugado de sua responsabilidade para prestar o serviço? (ex: um escritório, um salão, uma loja, uma oficina, um bar?) Se a resposta for sim, ele é um empresário. Se a resposta for não, ele pode não ser empresário. Nesse caso, deve-se verificar o enquadramento em “profissional liberal”.

O produtor rural é o proprietário de sítio ou fazenda de produção. Ele vive da renda proveniente de sua produção rural. Ele também é um empregador rural caso sua produção rural gere empregos.

- ✚ *Profissional liberal ou autônomo:* Todo profissional (pessoa física) que presta serviços de natureza urbana ou rural, em caráter eventual, a uma ou mais empresas ou pessoas, sem relação de emprego. Ou seja, é um empregado sem carteira assinada. Um profissional que é contratado como autônomo e/ou trabalha prestando serviços por conta própria, assumindo os riscos de suas atividades, sem patrão. Ex de autônomos: Costureira, manicure, eletricista, vendedor ambulante, lavador de carro, flanelinha, dono de um taxi, motorista sem vínculo empregatício. (Exceto empregadas domésticas em geral, que são enquadradas em categoria específica). Profissionais liberais que também se enquadram na mesma alternativa: advogado, contador, veterinário e outras profissões protegidas por um conselho, que prestam serviços sem vínculo.

- ✚ *Servidor público:* Funcionário concursado (efetivo), ou contratado por órgão público municipal, estadual ou nacional. Funcionários da Prefeitura, do Estado e da União em geral. Ex: Professor de escola pública, comunicador, engenheiro, advogados, e auxiliar administrativo da Prefeitura, Estado ou da União. Funcionários públicos vinculados ao SUS por contrato, concurso ou seleção pública, como ACS, Agente sanitário, Biólogos, Médicos, Enfermeiros, Técnicos em enfermagem, Dentistas, Veterinários, Fisioterapeutas, Nutricionista, Educador físico da academia da cidade e todos os demais cargos ou empregos públicos.

- ✦ *Empregado de empresa privada*: Funcionário contratado por qualquer empresa privada com carteira assinada. Tem vínculo empregatício com a empresa, prestando os serviços contratados. Ex: Funcionários contratados por empresas em geral - telemarketing, motorista de empresa privada ou de taxi com vínculo empregatício (não é proprietário do taxi, pois este é autônomo ou empresário, dependendo da quantidade de carros que possui), balconista, recepcionista de empresas, vendedores de lojas em geral, caixa, atendente, professor de escola particular, médico, veterinário, biólogo, dentista, fisioterapeuta, enfermeiro, técnico em enfermagem, engenheiro, nutricionista, professor de educação física contratados por empresa privada.
- ✦ *Empregado Rural*: É toda pessoa física que, em propriedade rural, presta serviços de natureza não-eventual ao empregador rural, mediante salário.
- ✦ *Desempregado*: É aquele que no momento está sem emprego, foi recentemente demitido ou pediu demissão. ATENÇÃO! Não deve ser considerado desempregado aquela pessoa que se aposentou ou vive de pensão, nem as donas de casa que sempre foram do lar e não estão à procura de emprego. Essa família pode viver com renda do Programa bolsa família.
- ✦ *Do lar (dona de casa)*: É aquela pessoa que não trabalha fora. É apenas dona de casa. ATENÇÃO! Cuidado para não confundir com desempregado! A dona de casa não está à procura de emprego. Sua função é cuidar da casa e/ou dos filhos. Essa família também pode viver com a renda do programa bolsa família.
- ✦ *Empregada doméstica mensalista/ faxineira/ diarista/ babá/ cuidador de idoso*: Pessoa que presta serviços do lar ou cuidando de pessoas (crianças ou idosos a domicílio) com carteira assinada ou não. ATENÇÃO! As domésticas prestadoras de serviço sem carteira assinada, não deixam de ser autônomas, mas irão se enquadrar na categoria específica para empregadas domésticas (com ou sem carteira assinada).
- ✦ *Aposentado ou pensionista*: Pessoa que se aposentou e/ou vive de pensão.

20. Qual a renda familiar das pessoas que moram nesta residência? Auto explicativo.

Considerar a renda de todos os moradores do imóvel onde a criança reside.

21. Itens presentes no domicílio. Neste domicílio, qual a quantidade existente de: Esta pergunta também foi retirada do Critério de Classificação Econômica Brasil (CCEB).

Perguntar e assinalar com um “X” no espaço correspondente à quantidade existente de cada item.

✚ *Televisores*

Considerar apenas os televisores em cores. Televisores de uso de empregados domésticos (declaração espontânea) só devem ser considerados caso tenha(m) sido adquirido(s) pela família empregadora.

✚ *Rádio*

Considerar qualquer tipo de rádio no domicílio, mesmo que esteja incorporado a outro equipamento de som ou televisor. Rádios tipo walkman, conjunto 3 em 1 ou microsystems devem ser considerados, desde que possam sintonizar as emissoras de rádio convencionais. Não pode ser considerado o rádio de automóvel.

✚ *Banheiro*

O que define o banheiro é a existência de vaso sanitário. Considerar todos os banheiros e lavabos com vaso sanitário, incluindo os de empregada, os localizados fora de casa e os da(s) suite(s). Para ser considerado, o banheiro tem que ser privativo do domicílio. Banheiros coletivos (que servem a mais de uma habitação) não devem ser considerados.

✚ *Automóvel*

Não considerar táxis, vans ou pick-ups usados para fretes, ou qualquer veículo usado para atividades profissionais. Veículos de uso misto (lazer e profissional) não devem ser considerados.

✚ *Empregado doméstico*

Considerar apenas os empregados mensalistas, isto é, aqueles que trabalham pelo menos 5 dias por semana, durmam ou não no emprego. Não esquecer de incluir babás, motoristas, cozinheiras, copeiras, arrumadeiras, considerando sempre os mensalistas. Note bem: o termo empregados mensalistas se refere aos empregados que trabalham no domicílio de forma permanente e/ou contínua, pelo menos 5 dias por semana, e não ao regime de pagamento do salário.

✚ *Máquina de Lavar*

Considerar máquina de lavar roupa, somente as máquinas automáticas e/ou semiautomática. O tanquinho NÃO deve ser considerado.

✚ *Videocassete e/ou DVD*

Verificar presença de qualquer tipo de vídeo cassete ou aparelho de DVD.

✚ *Geladeira e Freezer*

Geladeira: Considerar geladeira com ou sem freezer.

Freezer: Considerar o freezer incorporado a geladeira e freezer independente.

O CCEB tem um sistema de pontos definido para cada grau de instrução do chefe da família e para a quantidade de cada item na residência (TV, freezer, rádio, etc...). Com as respostas que os entrevistadores obtiverem para as perguntas retiradas do CCEB (nº18 e 21), os pesquisadores

do projeto irão somar a pontuação atribuída a cada resposta e estimar a classe econômica e a renda das famílias. (Os entrevistadores irão apenas marcar o grau de escolaridade na pergunta 18 e a quantidade de cada item no domicílio, na pergunta 21). A pontuação para cada resposta é de responsabilidade dos pesquisadores.

RENDA FAMILIAR POR CLASSES

Classe	Pontos	Renda média familiar (Valor Bruto em R\$)
		2010
A1	42 a 46	12.926
A2	35 a 41	8.418
B1	29 a 34	4.418
B2	23 a 28	2.565
C1	18 a 22	1.541
C2	14 a 17	1.024
D	8 a 13	714
E	0 a 7	477

VI. CARACTERÍSTICAS DO DOMICÍLIO

22. Marcar o tipo de imóvel:

- ✚ *Casa independente:* Uma casa apenas no lote.
- ✚ *Casa geminada:* é a construção de duas ou mais casas ligadas umas as outras, que dividem proporcionalmente o lote de acordo com a quantidade de unidades. É um tipo de residência simétrica que compartilha parte da estrutura de paredes e telhado com outra, com o mesmo arranjo interno invertido uma à outra. Geralmente, estas unidades formam um condomínio.
- ✚ *Apartamento:* Se a criança residir em um prédio
- ✚ *Núcleo familiar:* Mais de uma casa/família no mesmo lote.

23. Que tipo de material que está presente na construção das paredes da casa?

Auto explicativo. Se possível, o entrevistador deve observar.

24. Que tipo de material está presente na construção do telhado da casa? Auto explicativo.

Se possível, o entrevistador deve observar.

25. Número de cômodos: Perguntar para o entrevistado e escrever por extenso o numero de cômodos

26. Número de quartos: Perguntar para o entrevistado e escrever por extenso o numero de quartos.

27. Número de pessoas que residem no imóvel: Perguntar para o entrevistado e escrever por extenso o numero de moradores que residem atualmente no imóvel.

V. CARACTERÍSTICAS DO PERIDOMICÍLIO

28. **Há quintal na residência:** autoexplicativo

29. **O entrevistador teve acesso ao quintal?** O entrevistador observou o quintal ou as informações obtidas sobre o quintal foram fornecidas pelo entrevistado? Marcar sim, não ou NA para o caso da casa não ter quintal.

30. **Marcar como é o piso do quintal:** autoexplicativo. O entrevistador deve observar os tipos de piso possíveis e assinalar sim ou não para a presença destes. Perguntar ao entrevistado apenas o que não for possível observar.

31. **O que existe nesse quintal?** Marcar sim ou não para as alternativas abaixo:

✚ *Barranco ou desnível:*



✚ *Árvores frutíferas:* árvores que produzem frutas, como goiabeira, jabuticabeira, pitangueira, Ameixeira, frutas cítricas (laranjeira, limoeiro etc.), Mangueira, Pessegueiro, etc.



✚ *Árvores não frutíferas de médio a grande porte:* Aquelas que não produzem frutos. Considerar árvore de médio porte aquelas que forem capazes de fazer alguma sombra. Considerar arbustos, caso sejam capazes de fazer sombra.



- ✦ *Vasos de planta, canteiro de plantas ou horta:* Considerar plantinhas em vasos, jardins e canteiros com flores e plantas em geral, hortas com plantação de verduras, legumes e hortaliças.



- ✦ *Bananeiras:*



- ✦ *Material orgânico em decomposição:* Considerar folhas e frutas caídas no chão, tronco de árvore podre, esterco e acúmulo de fezes de animais.



- ✦ *Entulhos:* Monte de madeira, de telhas, de tijolos, resto de material de construção, etc.



- ✦ *Lixo não acondicionado adequadamente:* Lixo espalhado fora da lixeira, em sacos não amarrados, jogado no quintal.



- ✚ *Galinheiro*: Espaço específico para criar galinha ou qualquer criação de galinha no próprio quintal, mesmo que não seja dentro de um galinheiro.
- ✚ *Canil*: É um espaço fechado para criação de um ou mais cães, delimitando a circulação dos mesmos àquele espaço. A casinha do cachorro no quintal, que não seja fechada ou cercada por um murinho ou grade, não é considerada canil, pois permite livre circulação do cão pelo quintal.



32. **Com qual frequência o quintal é limpo?** Auto explicativo. Aguardar resposta espontânea. Se necessário, ler as alternativas para o entrevistado.

VI. PRESENÇA DE ANIMAIS NA RESIDÊNCIA

33. **Possui animais? (EXCETO CÃO):** Autoexplicativo. Não considerar o cão nesta pergunta.
34. **Se sim, qual?** autoexplicativo. Não deixar de assinalar nenhuma alternativa, mesmo que a resposta seja NÃO ou NA.

VII. DADOS DO CÃO E DA DOENÇA

35. **Possui cão?** Responder sim ou não. Se sim, escrever por extenso quantos cães.
36. **Há quanto tempo você possui o (os) cão (cães) na atual residência? (considerar o cão mais antigo):** Escrever anos e meses por extenso. Apenas o cão mais velho deve ser considerado nesta pergunta. Se a pessoa não souber ou não responder a respeito desse cão especificamente, assinalar “NS” (Não sabe) ou “NR” (Não respondeu).
37. **Alguns dos cães tem acesso a rua?** Mesmo se apenas um cão tiver acesso à rua, assinalar “sim”.
38. **Seu cão (ou algum de seus cães) passa a noite:** autoexplicativo. Não deixar de assinalar nenhuma alternativa, mesmo que a resposta seja NÃO ou NA.
39. **Você tem ou já teve algum cão com exame de sangue positivo pra Leishmaniose?**

Autoexplicativo. Nesta pergunta, deve-se ler as alternativas para o entrevistado e ficar atento à marcação após a resposta do entrevistado, pois “Não” é diferente de “Nunca fez”. Se qualquer cão, mesmo que não esteja mais na casa, já teve exame positivo é o suficiente para marcar “sim”, mesmo que os outros sejam negativos ou nunca tiverem feito o exame.

40. O cão foi recolhido pela prefeitura ou encaminhado para ser sacrificado?

Autoexplicativo. O objetivo é saber se o cão foi eutanasiado (sacrificado).

41. Alguém em sua residência já teve Leishmaniose Visceral? Auto explicativo. Não serve conhecido ou familiar que não mora na casa. Deve ser uma pessoa que quando teve a doença residia no local onde está acontecendo a entrevista, ou seja, onde mora a criança atualmente.

VIII. DADOS SOBRE O VETOR

42. Você saberia indicar qual desses insetos transmite a leishmaniose? (mostrar os 3 tubos com os 3 insetos e ver se o entrevistado acerta qual é o flebótomo).

Deve-se mostrar os 3 tubos e perguntar se a pessoa sabe qual é o inseto vetor. Se a pessoa apontá-lo com firmeza e acertar, marcar “CERTO”. Se apontar com dúvida, assinalar “DUVIDOSO”. Se arriscar apontar o inseto e errar, marcar “ERRADO”. Se o entrevistado disser logo que não sabe, marcar “NS”. Se ele se recusar a responder, marcar “NR”.

43. Você já viu esse mosquito em sua residência ou quintal? (Mostrar quem é o flebótomo no tubo).

Auto explicativo. Ficar atento se o entrevistado tem dúvida ao responder sim ou não. Caso note que há dúvida, marcar “duvidoso”.

44. Em qual local do domicílio você o vê com mais frequência?

Autoexplicativo. Esperar resposta espontânea e caso o local não conste nas alternativas, assinalar “outros” e especificar.

45. Seu imóvel foi borrifado pela PREFEITURA nos últimos 12 meses?

Autoexplicativo. ATENÇÃO! Considerar apenas borrifação feita pela prefeitura! ! Não se trata de visitas para controle da dengue, nem o carro fumacê. É uma borrifação das paredes internas e externas da casa, específica para o controle da leishmaniose.

IX. OBSREVAÇÕES DA VIZINHANÇA

46. Presença de cão em alguma das casas da vizinhança (lado direito, esquerdo, frente e fundos da residência)?

Considerar as casas que cercam a residência do entrevistado. A casa dos dois lados (direito e esquerdo), a casa do fundo e a de frente. Perguntar ao entrevistado sobre a presença de cães nessas casas. Se o entrevistador notar a existência de cão nessa vizinhança especificada, já pode marcar diretamente “sim”.

47. Vizinhança lado direito da residência:

Ler as alternativas para o entrevistado. Se o entrevistador conseguir observar com clareza a existência de casa com quintal, prédio, comércio ou terreno baldio no lote do lado direito da casa, deve assinalar a alternativa correspondente, mesmo que o entrevistado responda NS.

Assinalar NA, caso a residência não tenha nenhum vizinho à direita, por exemplo, uma casa de esquina.

48. Vizinhança do lado esquerdo da residência:

Ler as alternativas para o entrevistado. Se o entrevistador conseguir observar com clareza a existência de casa com quintal, prédio, comércio ou terreno baldio, no lote do lado esquerdo da casa, deve assinalar a alternativa correspondente, mesmo que o entrevistado responda NS. Assinalar NA, caso a residência não tenha nenhum vizinho à direita, por exemplo, uma casa de esquina.

49. Vizinhança frente da residência:

Ler as alternativas para o entrevistado. Se o entrevistador conseguir observar com clareza a existência de casa com quintal, prédio, comércio ou terreno baldio, no lote à frente da casa, deve assinalar a alternativa correspondente, mesmo que o entrevistado responda NS. Assinalar NA, caso a residência não tenha nenhum vizinho de frente.

50. Vizinhança fundos da residência:

Ler as alternativas para o entrevistado. Se o entrevistador conseguir observar com clareza a existência de casa com quintal, prédio, comércio ou terreno baldio, no lote de trás da casa, deve assinalar a alternativa correspondente, mesmo que o entrevistado responda NS. Assinalar NA, caso a residência não tenha nenhum vizinho de fundos.

51. Presença de árvores na frente da casa ou na frente das casas vizinhas (lado direito, esquerdo e frente):

Cabe ao entrevistador observar a presença de árvores na frente da residência e das residências vizinhas de frente, lado direito e lado esquerdo.

52. Recusa: Se o responsável se recusar a participar assinalar as condições da recusa, o endereço e o motivo(s).

ANEXO 6 - Questionário

QUESTIONÁRIO - PROJETO EPIDEMIOLOGIA DA LV EM BELO HORIZONTE	CODIFICAÇÃO
ENTREVISTADOR: _____ 1. IDCOLETOR: ____ NOME COLETOR: _____	1. IDCOL: _____
2. IDNUM1: _____ 3. IDNUM2: _____ 4. IDCASA: _____	2. IDNUM1: _____ 3. IDNUM2: _____ 4. IDCASA: _____
5. Código da área 1. () Pindorama (5330) 2. () Glória (5250) 3. () Serrano (5380) 4. () Minascaixa (9250) 5. () Professor Amílcar Viana Martins (7400)	5. AREA: _____
I. IDENTIFICAÇÃO	
6. Nome do principal responsável:	
7. Grau de parentesco com a criança 1. () Mãe/Pai 2. () Tio(a) 3. () Avó (ô) 4. () Outro _____	7. CRRESPAR: _____
8. Endereço: Rua/Av.: _____ Nº: _____ Complemento: _____ Bairro: _____ Nº. do quarteirão _____ CEP: _____ Telefone(s): _____	
9. Outra referência de contato (parentes próximos): Nome: _____ Vínculo ou parentesco _____ Endereço: Rua/Av.: _____ Nº: _____ Complemento: _____ Bairro: _____ Telefone(s): _____	
II. DADOS SOBRE A CRIANÇA	
10. Nome da criança:	
11. Data de nascimento: ___/___/___	11. CRDTNAS: ___/___/___
12. Idade: _____ anos _____ meses (Preencher anos e meses para todos)	12. CRIDADE: _____
13. Sexo: 1. () masculino 2. () feminino	13. CRSEXO: _____
14. Quanto tempo a criança mora neste domicílio? _____ anos e _____ meses. (Se mora desde que nasceu, preencher e ir para questão 16). 7. () NS 9. () NR	14. CRTPODOM: _____
15. Se não mora desde que nasceu, onde morou antes? 0. () Em outro domicílio no mesmo bairro 1. () Em outro domicílio em outra região do município. 2. () Em outro município. Qual? _____ UF: _____ 7. () NS 9. () NR 8. () NA	15. CRONDMOR: _____

<p>16. Onde a criança permanece/brinca entre as 18 e 22 horas?</p> <p>0. () Nodomicílio (dentro de casa)</p> <p>1. () No peridomicílio (quintal ou na rua)</p> <p>2. () Em outro local/domicílio, mas no mesmo bairro</p> <p>3. () Em outro local/ domicílio, mas em outro bairro</p> <p>7. () NS</p> <p>9. () NR</p>	<p>16. CRNOITE</p> <p>_____</p>
<p>17. Onde a criança permanece/brinca durante a maior parte do dia?</p> <p>0. () Nodomicílio (dentro de casa)</p> <p>1. () No peridomicílio (quintal ou na rua)</p> <p>2. () Em outro local/domicílio, mas no mesmo bairro</p> <p>3. () Em outro local/ domicílio, mas em outro bairro</p> <p>7. () NS</p> <p>9. () NR</p>	<p>17. CRDIA</p> <p>_____</p>
<p>III. DADOS SOCIOECONOMICOS</p>	
<p>18. Qual o grau de escolaridade do chefe da família?</p> <p>4. () Analfabeto/até a 3ª série Fundamental/até a 3ª série do 1º grau (primário incompleto)</p> <p>3. () Até a 4ª série Fundamental/até a 4ª série do 1º grau (primário completo)</p> <p>2. () Fundamental completo/ 8ª série completa (1º grau completo)</p> <p>1. () Médio completo/ 2º grau completo (3º ano científico completo)</p> <p>0. () Superior em curso ou completo</p>	<p>18.RESGRINS</p> <p>_____</p>
<p>19. Qual é o tipo de profissão/ocupação do chefe da família?</p> <p>0. () Empresário / Produtor rural</p> <p>1. () Profissional liberal (Autônomo)</p> <p>2. () Servidor Público</p> <p>3. () Empregado de Empresa Privada</p> <p>4. () Empregado Rural</p> <p>5. () Desempregado</p> <p>6. () Do lar (dona de casa)</p> <p>7. () Empregada doméstica mensalista/ faxineira/ diarista/ babá/ cuidador de idoso.</p> <p>8. () Aposentado ou pensionista.</p>	<p>19. RESPROF</p> <p>_____</p>
<p>20. Qual a renda familiar total das pessoas que moram nesta residência?</p> <p>7. () Até 1 salário mínimo (Correspondente no CCEB = R\$622)</p> <p>6. () Entre 1 e 2 salários mínimos (Correspondente no CCEB = R\$1.244)</p> <p>5. () Entre 2 e 3 salários mínimos (Correspondente no CCEB = R\$1.866)</p> <p>4. () Entre 3 e 4 salários mínimos (Correspondente no CCEB = R\$2.488)</p> <p>3. () Entre 4 e 7 salários mínimos (Correspondente no CCEB = R\$4.354)</p> <p>2. () Entre 7 e 10 salários mínimos (Correspondente no CCEB = R\$6.220)</p> <p>1. () Entre 10 e 20 salários mínimos (Correspondente no CCEB = R\$12.440)</p> <p>0. () Acima de 20 salários mínimos (Correspondente no CCEB = R\$13.062)</p> <p>77. () NS</p> <p>99. () NR</p>	<p>20. RENDA</p> <p>_____</p>

30. Marcar como é o piso do quintal: 0. () Cimento ou piso com revestimento (cerâmica, pedra, etc.) 1. () Terra 2. () Misto (terra e cimento/cerâmica/pedra) 7. () NS 9. () NR 8. () NA	30. PISO _____
31. O que existe neste quintal? Marcar sim ou não para as alternativas abaixo:	
31.1 Barranco ou desnível 1. () Sim 0. () Não 8. () NA 9. () NR	31.1. BARR_____
31.2 Árvores frutíferas 1. () Sim (quantas?_____) 0. () Não 9. () NR 8. () NA	31.2. ARFRUT_____
31.3 Árvores não frutíferas de médio a grande porte 1. () Sim (quantas?_____) 0. () Não 9. () NR 8. () NA	31.3. ARNFRUT_____
31.4 - Vasos de plantas, canteiro de plantas ou horta 1. () Sim 0. () Não 9. () NR 8. () NA	31.4. PLANTA_____
31.5 - Bananeiras 1. () Sim (quantas?_____) 0. () Não 9. () NR 8. () NA	31.5. BANAN_____
31.6- Material orgânico em decomposição (folhas, frutos, tronco podre) 1. () Sim 0. () Não 9. () NR 8. () NA	31.6. MATORG _____
31.7- Entulhos (monte de madeira, telhas, tijolos) 1. () Sim 0. () Não 9. () NR 8. () NA	31.7. ENTLH_____
31.8- Lixo não condicionado adequadamente 1. () Sim 0. () Não 9. () NR 8. () NA	31.8. LIXO_____
31.9- Galinheiro 1. () Sim 0. () Não 9. () NR 8. () NA	31.9. GALNH_____
31.10- Canil 1. () Sim 0. () Não 9. () NR 8. () NA	31.10. CANIL_____
32. Com qual frequência o quintal é limpo? 0. () Diariamente 1. () Semanalmente 2. () Esporadicamente 3. () Nunca 9. () NR 8. () NA	32. PERILIMP _____
VI. PRESENÇA DE ANIMAIS NA RESIDENCIA	
33. Possui animais?(EXCETO CÃO). 1. () Sim 0. () Não. Se não, pular para pergunta 35. 7. () NS. Pular para pergunta 35. 9. () NR. Pular para pergunta 35.	33. PERIAN _____

<p>34. Se sim, quais?</p> <p>1. Galinha 1. () Sim 0. () Não 8. () NA</p> <p>2. Pato 1. () Sim 0. () Não 8. () NA</p> <p>3. Porco 1. () Sim 0. () Não 8. () NA</p> <p>4. Gato 1. () Sim 0. () Não 8. () NA</p> <p>5. Grandes animais – ex.; cavalo, vaca. 1. () Sim 0. () Não 8. () NA</p> <p>6. Pássaros em gaiola ou viveiro. 1. () Sim 0. () Não 8. () NA</p> <p>7. Outros, quais? _____</p>	<p>34.1. GALINHA_____</p> <p>34.2. PATO_____</p> <p>34.3. PORCO_____</p> <p>34.4. GATO_____</p> <p>34.5. GDSAN_____</p> <p>34.6. PASRO_____</p> <p>34.7. ANIOUTR_____</p>
VII. DADOS DO CÃO E DA DOENÇA	
<p>35. Possui cão?</p> <p>1. () Sim. Quantos? _____</p> <p>0. () Não (Se não, pular para pergunta 39)</p>	<p>35. CAO</p> <p>_____</p>
<p>36. Há quanto tempo você possui o(s) cão(cães) na residência atual? (considerar o cão mais antigo) _____ anos _____ meses.</p> <p>7. () NS</p> <p>9. () NR</p> <p>8. () NA</p>	<p>36. CAOTEMP</p> <p>_____</p>
<p>37. Algum dos cães tem acesso à rua?</p> <p>1. () Sim</p> <p>0. () Não</p> <p>7. () NS</p> <p>9. () NR</p> <p>8. () NA</p>	<p>37. CAORUA</p> <p>_____</p>
<p>38. Seu cão (ou algum de seus cães), passa a noite:</p> <p>0. Dentro de casa 1. () Sim 0. () Não 9. () NR 8. () NA</p> <p>1. Solto no quintal 1. () Sim 0. () Não 9. () NR 8. () NA</p> <p>2. Preso no canil 1. () Sim 0. () Não 9. () NR 8. () NA</p> <p>3. Solto na rua 1. () Sim 0. () Não 9. () NR 8. () NA</p>	<p>38.0. CAOCASA_____</p> <p>38.1. CAOQTL_____</p> <p>38.2. CAOCNL_____</p> <p>38.3. CAONRUA_____</p>
<p>39. Você tem ou já teve algum cão com exame de sangue positivo para Leishmaniose?</p> <p>1. () Sim</p> <p>0. () Não (Se não, pular para pergunta 41).</p> <p>2. () Nunca fez exame (pular para pergunta 41).</p> <p>7. () NS (pular para pergunta 41).</p> <p>9. () NR (pular para pergunta 41).</p> <p>8. () NA - Nunca tive um cão (pular para pergunta 41).</p>	<p>39. CAOLV</p> <p>_____</p>
<p>40. O cão foi recolhido pela prefeitura ou encaminhado para ser sacrificado?</p> <p>1. () Sim</p> <p>0. () Não</p> <p>7. () NS</p> <p>8. () NA</p> <p>9. () NR</p>	<p>40. CAOLVEU</p> <p>_____</p>

41. Alguém em sua residência já teve leishmaniose visceral? 1. () Sim 0. () Não 7. () NS 9. () NR	41. MORADLV _____
VIII. DADOS SOBRE VETOR	
42. Você saberia indicar qual desses insetos transmite a leishmaniose? (mostrar o tubo com os 3 insetos e ver se o entrevistado acerta qual é o Flebótomo). 0. () Certo 1. () Duvidoso 2. () Errado 7. () NS 9. () NR	42. VETCONHC _____
43. Você já viu esse mosquito em sua residência ou quintal? (Mostrar o tubo com o flebótomo) 0. () Não (Se não, pular para 45) 1. () Sim 2. () Duvidoso 7. () NS (Se NS, pular para 45) 9. () NR (Se NR, pular para 45)	43. VETPERI _____
44. Em qual local do domicílio você o vê com mais frequência? 0. () Dentro de casa 1. () Canil 2. () Galinheiro 3. () Quintal 4. () Outros. Onde? _____ 7. () NS 9. () NR 8. () NA	44. VETLOCAL _____
45. Seu imóvel foi borrifado com inseticida PELA PREFEITURA nos últimos 12 meses? 1. () Sim 0. () Não 7. () NS 9. () NR	45. VETBORRI
IX. OBSERVAÇÕES DA VIZINHANÇA	
46. Presença de cão em alguma das casas da vizinhança? (frente, lado esquerdo, lado direito) (perguntar e se possível observar). 0. () Não 8. () NA (Se não houver casas vizinhas) 1. () Sim 9. () NR 7. () NS	46. VIZCAO _____
47. Vizinhança- lado direito da residência (perguntar e se possível observar). 1. () casa com quintal 2. () casa sem quintal 3. () prédio 4. () ponto comercial 5. () terreno/ terreno abandonado 7. () NS 8. () NA (Se não houver vizinho à direita)	47. VIZDIR _____

<p>48. Vizinhança- lado esquerdo da residência (perguntar e se possível observar).</p> <p>1. () casa com quintal 2. () casa sem quintal 3. () prédio 4. () ponto comercial 5. () terreno/ terreno abandonado 7. () NS 9. () NR 8. () NA (Se não houver vizinho à esquerda)</p>	<p>48. VIZESQ</p> <p>_____</p>
<p>49. Vizinhança- frente da residência (perguntar e se possível observar).</p> <p>1. () casa com quintal 2. () casa sem quintal 3. () prédio 4. () ponto comercial 5. () terreno/ terreno abandonado 7. () NS 9. () NR 8. () NA (Se não houver vizinho de frente)</p>	<p>49. VIZFRENT</p> <p>_____</p>
<p>50. Vizinhança - fundos da residência (perguntar e se possível observar).</p> <p>1. () casa com quintal 2. () casa sem quintal 3. () prédio 4. () ponto comercial 5. () terreno/ terreno abandonado 7. () NS 9. () NR 8. () NA (Se não houver vizinho nos fundos)</p>	<p>50. VIZFUNDO</p> <p>_____</p>
<p>51. Presença de árvores na frente da casa ou na frente da casa dos vizinhos (direita, esquerda e frente) (observação do entrevistador).</p> <p>0. () Não 1. () Sim, quantas? ____</p>	<p>51. VIZARVO</p> <p>_____</p>
<p>Assinaturas:</p> <p>Entrevistador: _____ Data: ____/____/____</p> <p>Coletador: _____</p> <p>RESPONSÁVEL: _____</p> <p>Supervisor: _____</p>	

<p>48. Vizinhança- lado esquerdo da residência (perguntar e se possível observar).</p> <p>1. () casa com quintal 2. () casa sem quintal 3. () prédio 4. () ponto comercial 5. () terreno/ terreno abandonado 7. () NS 9. () NR 8. () NA (Se não houver vizinho à esquerda)</p>	<p>48. VIZESQ</p> <p>_____</p>
<p>49. Vizinhança- frente da residência (perguntar e se possível observar).</p> <p>1. () casa com quintal 2. () casa sem quintal 3. () prédio 4. () ponto comercial 5. () terreno/ terreno abandonado 7. () NS 9. () NR 8. () NA (Se não houver vizinho de frente)</p>	<p>49. VIZFRENT</p> <p>_____</p>
<p>50. Vizinhança - fundos da residência (perguntar e se possível observar).</p> <p>1. () casa com quintal 2. () casa sem quintal 3. () prédio 4. () ponto comercial 5. () terreno/ terreno abandonado 7. () NS 9. () NR 8. () NA (Se não houver vizinho nos fundos)</p>	<p>50. VIZFUNDO</p> <p>_____</p>
<p>51. Presença de árvores na frente da casa ou na frente da casa dos vizinhos (direita, esquerda e frente) (observação do entrevistador).</p> <p>0. () Não 1. () Sim, quantas? ____</p>	<p>51. VIZARVO</p> <p>_____</p>
<p>Assinaturas:</p> <p>Entrevistador: _____ Data: ____/____/____</p> <p>Coletador: _____</p> <p>RESPONSÁVEL: _____</p> <p>Supervisor: _____</p>	

ANEXO 7 - Critério de Classificação Econômica Brasil (CCEB): Sistema de pontos:

Posse de itens

	Quantidade de Itens				
	0	1	2	3	4 ou +
Televisão em cores	0	1	2	3	4
Rádio	0	1	2	3	4
Banheiro	0	4	5	6	7
Automóvel	0	4	7	9	9
Empregada mensalista	0	3	4	4	4
Máquina de lavar	0	2	2	2	2
Videocassete e/ou DVD	0	2	2	2	2
Geladeira	0	4	4	4	4
Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)	0	2	2	2	2

Grau de Instrução do chefe de família

Nomenclatura Antiga	Nomenclatura Atual	
Analfabeto/ Primário incompleto	Analfabeto/ Até 3ª série Fundamental/ Até 3ª série 1º. Grau	0
Primário completo/ Ginasial incompleto	Até 4ª série Fundamental / Até 4ª série 1º. Grau	1
Ginasial completo/ Colegial incompleto	Fundamental completo/ 1º. Grau completo	2
Colegial completo/ Superior incompleto	Médio completo/ 2º. Grau completo	4
Superior completo	Superior completo	8

CORTES DO CRITÉRIO BRASIL

Classe	Pontos
A1	42 - 46
A2	35 - 41
B1	29 - 34
B2	23 - 28
C1	18 - 22
C2	14 - 17
D	8 - 13
E	0 - 7

RENDA FAMILIAR POR CLASSES

Classe	Pontos	Renda média familiar (Valor Bruto em R\$)
		2010
A1	42 a 46	12.926
A2	35 a 41	8.418
B1	29 a 34	4.418
B2	23 a 28	2.565
C1	18 a 22	1.541
C2	14 a 17	1.024
D	8 a 13	714
E	0 a 7	477

ANEXO 8 - Tabela complementar: análise descritiva completa das características das famílias, das crianças participantes, das residências, da vizinhança, do reservatório e do vetor. Delineamento transversal do estudo quase experimental II

	AI 2006	AI 2008	AI 2010	p
Variável	n (%)	n (%)	n (%)	
N° de residências	229	223	207	
<i>Informações sobre a família</i>				
Escolaridade do responsável				
superior em curso ou completo	21 (9,2)	16 (7,2)	45 (21,8)	
ensino médio completo	103 (45,2)	121 (54,3)	86 (41,7)	
fundamental completo	51 (22,4)	40 (17,9)	36 (17,5)	
primário completo	32 (14,0)	41 (18,4)	27 (13,1)	
analfabeto	21 (9,2)	5 (2,2)	12 (5,8)	0,00
Profissão do chefe da família				
Empresário / produtor rural	5 (2.18)	13 (5.83)	16 (7.73)	
Profissional autônomo	59 (25.76)	61 (27.35)	55 (26.57)	
Servidor público	9 (3.93)	10 (4.48)	20 (9.66)	
Empregado de empresa privada	132 (57.64)	101 (45.29)	80 (38.65)	
Empregado rural	1 (0.44)	0 (0.00)	0 (0.00)	
Desempregado	5 (2.18)	10 (4.48)	8 (3.86)	
Do lar (dona de casa)	3 (1.31)	7 (3.14)	2 (0.97)	
Doméstica/faxineira/cuidadora	1 (0.44)	3 (1.35)	6 (2.90)	
Aposentado ou pensionista	14 (6.11)	18 (8.07)	20 (9.66)	0,003
Classe econômica da família				
A1, A2 e B1 (20,8 a 7,1 SM)	24 (10,5)	31 (13,9)	49 (23, 7)	
B2 (4,12 SM)	54 (23,6)	66 (29,6)	72 (34,8)	
C1, C2 e D (2,5 a 1,1 SM)	151 (65,9)	126 (56,5)	86 (41,5)	0,00
<i>Informações sobre a criança</i>				
Onde a criança brinca à noite				
Dentro de casa	180 (78.60)	195 (87.44)	173 (83.57)	
Quintal ou na rua	31 (13.54)	20 (8.97)	20 (9.66)	
Outro local no bairro	15 (6.55)	5 (2.24)	7 (33.8)	
Outro local em outro bairro	3 (1.31)	3 (1.35)	6 (2.90)	0,105
Onde a criança brinca durante o dia				
Dentro de casa	88 (38.43)	64 (28.70)	73 (35.27)	
Quintal ou na rua	50 (21.83)	39 (17.49)	33 (15.94)	
Outro local no bairro	79 (34.50)	101 (45.29)	71 (34.30)	
Outro local em outro bairro	12 (5.24)	19 (8.52)	28 (13.53)	0,004
<i>Informações do domicílio</i>				
Tipo de imóvel				
Casa independente	89 (38.86)	88 (39.46)	99 (47.83)	
Casa geminada	1 (0.44)	1 (0.45)	1 (0.48)	

Apartamento	1 (0.44)	9 (4.04)	26 (12.56)	
Núcleo familiar	138 (60.26)	125 (56.05)	81 (39.13)	0,000
Tipo de parede				
Tijolo com reboco	195 (85.15)	202 (90.58)	189 (91.30)	
Tijolo sem reboco	8 (3.49)	7 (3.14)	4 (1.93)	
Misto tijolo com e sem reboco	25 (10.92)	13 (5.83)	13 (6.28)	
Tijolo com madeira	1 (0.44)	0 (0.00)	0 (0.00)	0,332
Tipo de cobertura				
Apenas laje	80 (34.93)	59 (26.46)	60 (28.99)	
Telha de barro sem laje	8 (3.49)	10 (4.48)	0 (0.00)	
Telha de zinco sem laje	26 (11.35)	25 (11.21)	25 (12.08)	
Laje com telha de barro	39 (17.03)	46 (20.63)	56 (27.05)	
Laje com telha de zinco	76 (33.19)	83 (37.22)	66 (31.88)	0,023
<u>Informações do Peridomicílio</u>				
Presença de quintal				
Sim	207 (90.39)	203 (91.03)	179 (86.47)	
Não	21 (9.17)	20 (8.97)	28 (13.53)	0,302
Tipo de piso do quintal				
Cimento	110 (48.03)	118 (52.91)	117 (56.52)	
Terra	20 (8.73)	10 (4.48)	7 (3.38)	
Terra e revestimento	77 (33.62)	75 (33.63)	55 (26.57)	0,066
Plantas no peridomicílio				
Sim	162 (70,7)	145 (65,0)	151 (72,9)	
Não	65 (28,4)	78 (35,0)	55 (26,6)	0,02
Presença de entulho				
Sim	93 (40,6)	68 (30,5)	56 (27,1)	
Não	132 (57,6)	153 (68,6)	151(72,9)	0,006
Presença de barranco				
Sim	82 (35,8)	49 (22,0)	42 (20,3)	
Não	144 (62,9)	174 (78,0)	164 (79,2)	0,000
Presença de lixo				
Sim	35 (15,3)	30 (13,5)	31 (15,0)	
Não	191(83,4)	193 (86,5)	176 (85,0)	0,195
Presença de árvores frutíferas				
Sim	92 (40.17)	83 (37.22)	66 (31.88)	
Não	114 (49.78)	120 (53.81)	112 (54.11)	0,305
Presença de árvores não frutíferas				
Sim	49 (21.40)	39 (17.49)	41 (19.81)	
Não	157 (68.56)	164 (73.54)	138 (66.67)	0,229
Presença de bananeiras				
Sim	27 (11.79)	21 (9.42)	7 (3.38)	
Não	179 (78.17)	182 (81.61)	171 (82.61)	0,013
Frequência de limpeza do quintal				
Diariamente	139 (60.70)	145 (65.02)	131 (63.29)	

Semanalmente	51 (22.27)	43 (19.28)	41 (19.81)	
Esporadicamente	13 (5.68)	13 (5.83)	7 (3.38)	
Nunca	2 (0.87)	0 (0.00)	0 (0.00)	0,462

Informações sobre a presença de animais na residência

Criação de galinha

Sim	34 (14,8)	24 (10,8)	18 (8,7)	
Não	195 (85,1)	199 (89,2)	189 (91,3)	0,12

Criação de cão

Sim	119 (51,9)	120 (53,8)	104 (50,2)	
Não	110 (48,0)	103 (46,2)	103 (49,8)	0,76

Criação de gatos

Sim	33 (14.41)	26 (11.66)	24 (11.59)	
Não	69 (30.13)	80 (35.87)	68 (32.85)	0,680

Criação de pássaros

Sim	55 (24.02)	64 (28.70)	50 (24.15)	
Não	47 (20.52)	42 (18.83)	42 (20.29)	0,797

Informações sobre o cão e a doença

Cão com acesso à rua

Sim	35 (15.28)	30 (13.45)	35 (16.91)	
Não	84 (36.68)	90 (40.36)	69 (33.33)	0,631

Cão passa a noite no intradomicílio

Sim	98 (42.79)	103 (46.19)	89 (43.00)	
Não	18 (7.86)	17 (7.62)	15 (7.25)	0,386

Cão passa a noite no quintal

Sim	79 (34.50)	94 (42.15)	75 (36.23)	
Não	38 (16.59)	26 (11.66)	29 (14.01)	0,245

Cão passa a noite no canil

Sim	25 (10.92)	25 (11.21)	13 (6.28)	
Não	92 (40.17)	95 (42.60)	91 (43.96)	0,251

Cão passa a noite na rua

Sim	1 (0.44)	2 (0.90)	4 (1.93)	
Não	114 (49.78)	118 (52.91)	100 (48.31)	0,100

Tem ou já teve cão com exame positivo para LVC

Sim	73 (31.88)	59 (26.46)	47 (22.71)	
Não	139 (60.70)	152 (68.16)	144 (69.57)	
Nunca fez exame	2 (0.87)	0 (0,0)	1 (0.48)	0,232

O cão positivo foi encaminhado para eutanásia

Sim	63 (27.51)	53 (23.77)	37 (17.87)	
Não	9 (3.93)	7 (3.14)	9 (4.35)	
Não soube responder	2 (0.87)	0 (0.00)	1 (0.48)	0,338

Informações sobre o vetor**Sabe indicar o vetor da LV**

Indicou corretamente	64 (27.95)	74 (33.18)	62 (29.95)	
Indicou incorretamente	20 (8.73)	17 (7.62)	13 (6.28)	
Indicou de forma duvidosa	104 (45.41)	86 (38.57)	89 (43.00)	
Não soube indicar	40 (17.47)	42 (18.83)	43 (20.77)	
Não respondeu	1 (0.44)	4 (1.79)	0 (0.00)	0,356

Já viu o *L.longipalpis* em algum local da residência

Sim	18 (7.89)	16 (7.24)	20 (9.66)	
Não	179 (78.51)	178 (80.54)	162 (78.26)	
Duvidoso	7 (3.07)	9 (4.07)	13 (6.28)	
Não soube responder	24 (10.53)	18 (8.14)	12 (5.80)	0,373

Em que local da residência vê o inseto com mais frequência

Dentro de casa	6 (2.62)	5 (2.24)	9 (4.35)	
No canil	0 (0.00)	1 (0.45)	1 (0.48)	
Galinheiro	1 (0.44)	0 (0.00)	0 (0.00)	
No quintal	9 (3.93)	7 (3.14)	9 (4.35)	
Outro local	2 (0.87)	3 (1.35)	2 (0.97)	
Não soube responder	5 (2.18)	6 (2.69)	4 (1.93)	0,890

Controle químico do vetor realizado pela PBH no último ano

Sim	89 (38.86)	43 (19.28)	22 (10.63)	
Não	124 (54.15)	168 (75.34)	178 (85.99)	
Não soube responder	15 (6.55)	11 (4.93)	6 (2.90)	0,000

Observações sobre a vizinhança**Cães nas casas vizinhas**

Sim	215 (93.89)	209 (93.72)	189 (91.30)	
Não	10 (4.37)	11 (4.93)	15 (7.25)	
Não soube responder	4 (1.75)	2 (0.90)	2 (0.97)	0,702

Árvore na vizinhança

Sim	148 (64,6)	139 (62,3)	136 (65,7)	
Não	81 (35,4)	84 (37,7)	71 (34,3)	0,75

ANEXO 9 - Tabela complementar: análise descritiva completa das características das famílias, das crianças participantes, das residências, da vizinhança, do reservatório e do vetor. Delineamento de coorte do estudo quase experimental II

Variável	AI 2006	AI 2008	AI 2010	P
	n (%)	n (%)	n (%)	
N° de residências	142 (35,7)	143 (35,9)	113 (28,4)	
<u>Informações sobre a família</u>				
Escolaridade do responsável				
superior em curso ou completo	15 (10,6)	7 (4,9)	27 (23,9)	
ensino médio completo	60 (42,3)	77 (53,9)	51 (45,1)	
fundamental completo	28 (19,7)	26 (18,2)	16 (14,2)	
primário completo	22 (15,5)	30 (21,0)	13 (11,5)	
Analfabeto	17 (12,0)	3 (2,10)	6 (5,31)	0,00
Profissão do chefe da família				
Empresário / produtor rural	4 (2,8)	12 (8,4)	9 (8,0)	
Profissional autônomo	25 (17,6)	39 (27,3)	29 (25,7)	
Servidor público	8 (5,6)	8 (5,6)	11 (9,7)	
Empregado de empresa privada	86 (60,6)	58 (40,6)	46 (40,7)	
Empregado rural	4 (2,8)	7 (4,9)	7 (6,2)	
Desempregado	3 (2,1)	5 (3,5)	1 (0,9)	
Do lar (dona de casa)	1 (0,7)	2 (1,4)	3 (2,6)	
Doméstica/faxineira/cuidadora	11 (7,7)	12 (8,4)	7 (6,2)	
Aposentado ou pensionista	4 (2,8)	12 (8,4)	9 (8,0)	0,066
Classe econômica				
A1, A2 e B1 (20,8 a 7,1 SM)	16 (11,3)	18 (12,6)	30 (26,6)	
B2 (4,12 SM)	33 (23,2)	41 (28,7)	44 (38,9)	
C1, C2 e D (2,5 a 1,1 SM)	93 (65,5)	84 (58,7)	39 (34,5)	0,00
<u>Informações sobre a criança</u>				
Onde a criança brinca à noite				
Dentro de casa	110 (77,5)	130 (90,9)	93 (82,30)	
Quintal ou na rua	25 (17,6)	10 (7,0)	12 (10,6)	
Outro local no bairro	6 (4,2)	1 (0,7)	5 (4,4)	
Outro local em outro bairro	1 (0,7)	2 (1,4)	3 (2,6)	0,028
Onde a criança brinca durante o dia				
Dentro de casa	48 (33,8)	33 (23,1)	37 (32,7)	
Quintal ou na rua	33 (23,2)	18 (12,6)	18 (15,9)	
Outro local no bairro	53 (37,3)	77 (53,8)	45 (39,8)	
Outro local em outro bairro	8 (5,6)	15 (10,5)	12 (10,6)	0,020
<u>Informações do domicílio</u>				
Tipo de imóvel				
Casa independente	54 (38,0)	54 (37,8)	52 (46,0)	
Casa geminada	0 (0,0)	1 (0,7)	1 (0,9)	
Apartamento	1 (0,7)	6 (4,2)	11 (9,7)	

Núcleo familiar	87 (61.3)	82 (57.4)	49 (43.4)	0,007
Tipo de parede				
Tijolo com reboco	117 (82.4)	130 (90.9)	101 (89.4)	
Tijolo sem reboco	4 (2.8)	3 (2.1)	3 (2.6)	
Misto tijolo com e sem reboco	20 (14.1)	9 (6.3)	9 (8,0)	0,364
Tijolo com madeira	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Tipo de cobertura				
Apenas laje	52 (36.6)	40 (28,0)	30 (26.5)	
Telha de barro sem laje	1 (0.7)	8 (5.6)	0 (0.0)	
Telha de zinco sem laje	16 (11.3)	13 (9.1)	11 (9.7)	
Laje com telha de barro	32 (22.5)	31 (21.7)	31 (27.4)	
Laje com telha de zinco	41 (28.9)	51 (35.7)	41 (36.3)	0,037
<u>Informações do Peridomicílio</u>				
Presença de quintal				
Sim	131 (92.2)	129 (90.2)	98 (86.7)	
Não	11 (7.7)	14 (9.8)	15(13.3)	0,342
Tipo de piso do quintal				
Cimento	73 (51.4)	74 (51.7)	60 (53.1)	
Terra	12 (8.4)	8 (5.6)	7 (6.2)	
Terra e revestimento	46 (32.4)	47 (32.9)	31 (27.4)	0,729
Plantas no peridomicílio				
Sim	107 (75,4)	98 (68,5)	87 (77,0)	
Não	33 (23,2)	45 (31,5)	26 (23,0)	0,15
Presença de entulho				
Sim	55 (38,7)	39 (27,3)	29 (25,7)	
Não	85 (59,9)	101 (70,6)	84 (74,3)	0,064
Presença de barranco				
Sim	46 (32,4)	28 (19,6)	24 (21,2)	
Não	95 (66,9)	115 (80,4)	88 (77,9)	0,073
Presença de lixo				
Sim	18 (12,7)	18 (12,6)	21 (18,6)	
Não	122 (85,9)	125 (87,4)	92 (81,4)	0,208
Presença de árvores frutíferas				
Sim	57 (40,1)	55 (38,5)	36 (31,9)	
Não	74 (52,1)	74 (51,7)	61 (54,0)	0,449
Presença de árvores não frutíferas				
Sim	35 (24,6)	22 (15,4)	22 (19,5)	
Não	96 (67,6)	107 (74,8)	76 (67,3)	0,220
Presença de bananeiras				
Sim	22 (15,5)	12 (8,4)	4 (3,5)	
Não	108 (76,1)	117 (81,8)	93 (82,3)	0,040
Frequência de limpeza do quintal				
Diariamente	83 (58,4)	99 (69,2)	74 (65,5)	
Semanalmente	33 (23,2)	22 (15,4)	20 (17,7)	
Esporadicamente	12 (8,4)	7 (4,9)	4 (3,54)	

Nunca	11 (7.7)	14 (9.8)	15 (13.3)	0,169
<u>Informações sobre a presença de animais na residência</u>				
Criação de galinha				
Sim	20 (14,1)	18 (12,6)	10 (8,9)	
Não	122 (85,9)	125 (87,4)	103 (91,2)	0,43
Criação de cão				
Sim	75 (52,8)	80 (55,9)	60 (53,1)	
Não	67 (47,2)	63 (44,1)	53 (46,9)	0,85
Criação de gatos				
Sim	27 (19,0)	15 (10,5)	13 (11,5)	
Não	43 (30,3)	54 (37,8)	32 (28,3)	0,106
Criação de pássaros				
Sim	38 (26,7)	45 (31,5)	28 (24,8)	
Não	32 (22,5)	24 (16,8)	17 (15,0)	0,336
<u>Informações sobre o cão e a doença</u>				
Cão com acesso à rua				
Sim	23 (16,2)	19 (13,3)	24 (21,2)	
Não	52 (36,6)	61 (42,7)	36 (31,9)	0,329
Cão passa a noite no intradomicílio				
Sim	11 (7,7)	16 (11,2)	10 (8,8)	
Não	61 (43,0)	64 (44,8)	50 (44,2)	0,361
Cão passa a noite no quintal				
Sim	48 (33,8)	61 (42,7)	44 (38,9)	
Não	26 (18,3)	19 (13,3)	16 (14,2)	0,575
Cão passa a noite no canil				
Sim	17 (12,0)	17 (11,9)	5 (4,4)	
Não	57 (40,1)	63 (44,1)	55 (48,7)	0,263
Cão passa a noite na rua				
Sim	1 (0,7)	1 (0,7)	3 (2,6)	
Não	71 (50,0)	79 (55,2)	57 (50,4)	0,204
Tem ou já teve cão com exame positivo para LVC				
Sim	42 (29,6)	40 (28,0)	30 (26,5)	
Não	88 (62,0)	99 (69,2)	72 (63,7)	
Nunca fez exame	1 (0,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Não soube responder	6 (4,2)	2 (1,4)	2 (1,8)	0,145
O cão positivo foi encaminhado para eutanásia				
Sim	36 (25,3)	36 (25,2)	24 (21,2)	
Não	6 (4,2)	4 (2,8)	5 (4,4)	
Não soube responder	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (0,9)	0,625

Informações sobre o vetor

Sabe indicar o vetor da LV

Indicou corretamente	40 (28.2)	46 (32.2)	35 (31,0)	
Indicou incorretamente	14 (9.9)	13 (9.09)	4 (3.54)	
Indicou de forma duvidosa	64 (45.1)	55 (38.5)	54 (47.8)	
Não soube indicar	24 (16.9)	25 (17.5)	20 (17.7)	
Não respondeu	0 (0.0)	4 (2.8)	0 (0.0)	0,124

Já viu o *L.longipalpis* em algum local da residência

Sim	8 (5.6)	14 (10.0)	15 (13.3)	
Não	118 (83.1)	108 (77.1)	84 (74.3)	
Duvidoso	3 (2.1)	5 (3.6)	10 (8.8)	
Não soube responder	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,022

Em que local da residência vê o inseto com mais frequência

Dentro de casa	3 (2.1)	5 (3.5)	5 (4.4)	
No canil	0 (0.0)	1 (0.7)	1 (0.9)	
Galinheiro	3 (2.1)	4 (2.8)	7 (6.2)	
No quintal	2 (1.4)	4 (2.8)	2 (1.8)	
Outro local	2 (1.4)	4 (2.8)	4 (3.5)	
Não soube responder	132 (93,0)	125 (87.4)	93 (82.3)	0,545

Controle químico do vetor realizado pela PBH no último ano

Sim	56 (39.4)	32 (22.4)	12 (10.6)	
Não	78 (54.9)	103 (72.0)	97 (85.8)	
Não soube responder	7 (4.9)	7 (4.9)	3 (2.6)	0,000

Observações sobre a vizinhança

Cães nas casas vizinhas

Sim	133 (93.7)	133 (93.0)	105 (92.9)	
Não	7 (4.9)	8 (5.6)	6 (5.3)	
Não soube responder	2 (1.4)	2 (1.4)	1 (0.9)	0,838

Árvore na vizinhança

Sim	92 (64,8)	89 (62,2)	75 (66,4)	
Não	50 (35,2)	54 (37,8)	38 (33,6)	0,782

ANEXO 10 - Modelos finais para análise de efetividade do PVC-LV nas áreas: análises univariadas e modelo multivariado dos delineamentos transversal e coorte, com as variáveis de ajustamento

Variável	OR ^a	p-valor	IC 95%	OR ^b	p-valor	IC 95%
Área						
AI2010	1			1		
AI2006	1,71	0,068	0,96 ; 3,04	1,68	0,075	0,94 ; 2,98
AI2008	1,94	0,023	1,10; 3,42	1,84	0,031	1,06 ; 3,23
Idade						
≥ 97 meses	1			1		
≥ 73 ; ≤96 meses	1,66	0,063	0,97 ; 2,82	2,3	0,067	0,94 ; 5,65
≥ 49 ; ≤72 meses	2,11	0,009	1,21 ; 3,70	3,37	0,01	1,34 ; 8,45
≤ 48 meses	1,98	0,038	1,04 ; 3,79	4,04	0,002	1,66 ; 9,83
Classe econômica						
A1, A2 e B1	1			1		
B2	3,54	0,003	1,55 ; 8,08	3,41	0,003	1,52 ; 7,64
C1, C2 e D	3,16	0,004	1,46 ; 6,86	2,99	0,005	1,39 ; 6,44
Galinha(s) no peridomicílio						
Não	1			1		
Sim	0,52	0,086	0,25 ; 1,09	0,46	0,038	0,22 ; 0,95
Árvore na vizinhança						
Não	1			1		
Sim	1,78	0,024	1,08 ; 2,93	1,89	0,011	1,16 ; 3,1

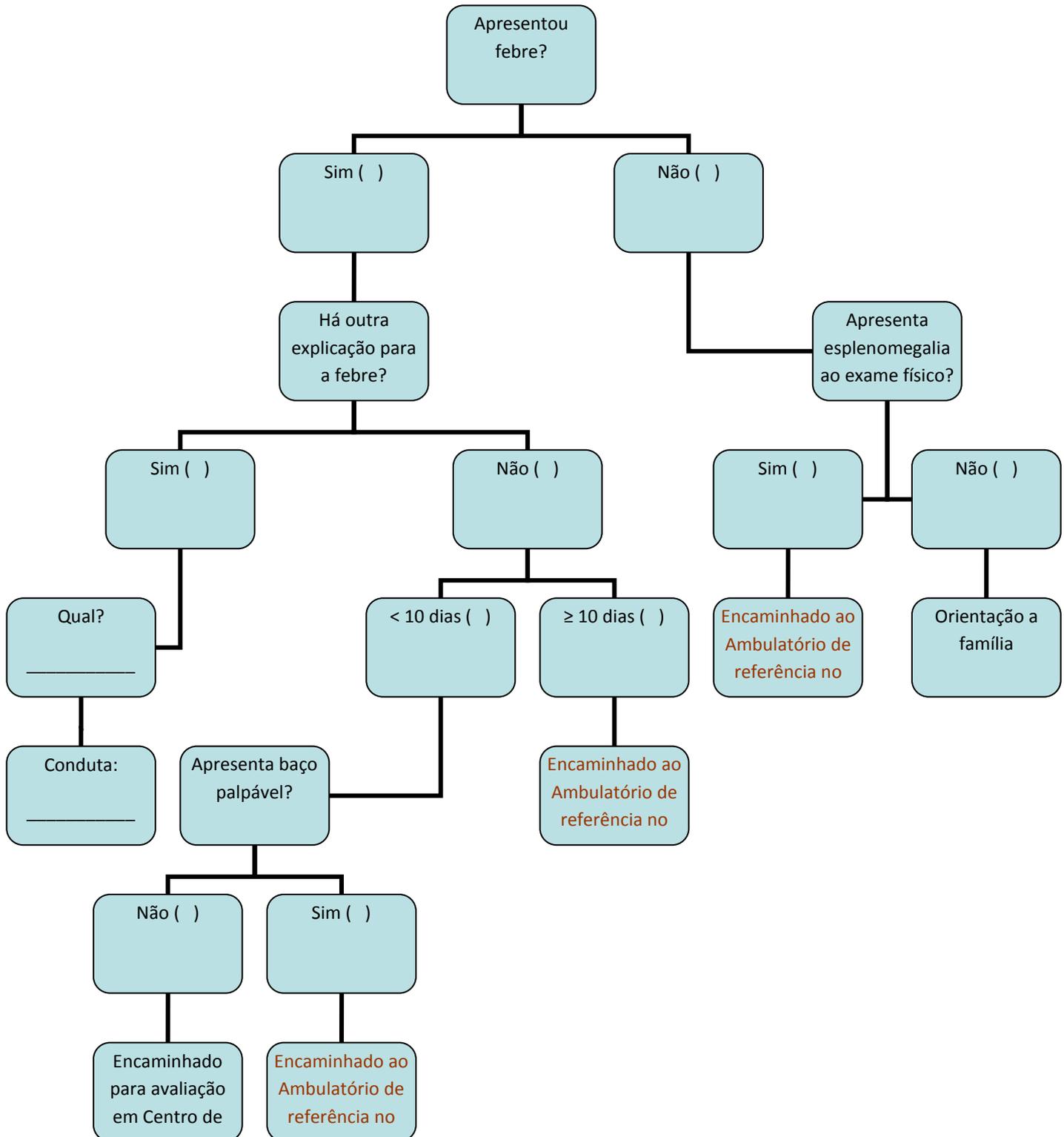
Delineamento transversal: modelo logístico multinível final: a= análise univariada / b= análise multivariada

	IRR ^a	p-valor	IC 95%	IRR ^b	p-valor	IC 95%
Idade						
>97 meses	1			1		
≥ 73 ; ≤96 meses	2,03	0,1	0,87 ; 4,69	2,02	0,1	0,87 ; 4,66
≥ 49 ; ≤72 meses	2,43	0,04	1,05 ; 5,62	2,53	0,03	1,09 ; 5,88
≤ 48 meses	2,69	0,04	1,07 ; 6,75	2,68	0,04	1,05 ; 6,81
Área						
AI2010	1			1		
AI2006	1.24	0,48	.68 ; 2.25	1,18	0,59	0,65 ; 2,14
AI2008	1.82	0,03	1.06 ; 3.13	1,76	0,03	1,05 ; 2,95
Classe econômica						
A1, A2 e B1	1			1		
B2	3,78	0,01	1,37 ; 10,4	3,48	0,02	1,28 ; 9,64
C1, C2 e D	3,52	0,01	1,31 ; 9,49	3,31	0,02	1,26 ; 8,72
Árvore na vizinhança						
Não	1			1		
Sim	1,83	0,02	1,10 ; 3,03	1,88	0,01	1,14 ; 3,09

Delineamento de coorte: modelo de regressão de Poisson final: a= análise univariada / b= análise multivariada

ANEXO 11- Ficha de Investigação – Investigação de leishmaniose visceral em pacientes assintomáticos

II - Fluxograma de Triagem



ANEXO 12 - Ficha de Investigação – Investigação de leishmaniose visceral em pacientes assintomáticos

I - Identificação

1 – Nome:

2 – IDNUM:

3 – Sexo: () Masculino () Feminino

4 – Idade (ou data de nascimento)

5 – Data da avaliação: ___/___/___

II – Investigação de sintomas e sinais associados a leishmaniose visceral

6 – Apresenta febre?

() Sim () Não

() Sem informação

7 – Há causa evidente da febre?

() Sim () Não

() Sem informação () Não se aplica

8 – Se há causa evidente, qual é? _____

9 - Qual conduta a ser tomada? _____

10 – Se não há causa evidente da febre, qual a sua duração?

() < 10 dias () ≥ 10 dias

() Sem informação () Não se aplica

11 – Se febre < 10 dias, há baço palpável?

() Sim () Não

() Sem informação () Não se aplica

12- Se não apresenta febre, há baço palpável?

Sim Não

Sem informação Não se aplica

III - História de Leishmaniose visceral prévia

13 – Já foi diagnosticado quadro de leishmaniose visceral?

Sim

Não

Sem informação

IV - Comorbidades

Ausentes

Infecção pelo vírus HIV

Uso de corticóide oral por mais de 2 semanas, em dose superior à equivalente a 1mg/kg/dia de prednisona

Uso de imunosspressores

Outros: _____

Sem informação

V – Observações adicionais:

Responsável pelo exame clínico:

Nome: _____

CRM-MG: _____