

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
VETERINÁRIAS**

**TESE**

**CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE MUNICÍPIO SEM  
AUTOCTONIA PARA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA**

**Maria Cristina Fortes Santos de Bustamante**

**2008**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE MUNICÍPIO SEM  
AUTOCTONIA PARA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA**

**MARIA CRISTINA FORTES SANTOS DE BUSTAMANTE**

*Sob a Orientação da Professora*

**Maria Júlia Salim Pereira**

*e Co-orientação dos Professores*

**Armando de Oliveira Schubach**

**Adevair Henrique da Fonseca**

Tese submetida como requisito  
parcial para obtenção do grau de  
**Doutor** em Ciências Veterinárias,  
Área de Concentração em Sanidade  
Animal

Seropédica, RJ  
Dezembro de 2008

614.534

B982o

T

Bustamante, Maria Cristina Fortes Santos de, 1964-

Caracterização epidemiológica de município sem autoctonia para Leishmaniose Tegumentar Americana / Maria Cristina Fortes Santos de Bustamante - 2009. 49f. : il.

Orientador: Maria Júlia Salim Pereira.  
Tese (doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.  
Bibliografia: f. 31-44

1. Leishmaniose - Teses. 2. Leishmaniose - Epidemiologia - Teses. 3. Zoonoses - Teses. I. Pereira, Maria Júlia Salim, 1964-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

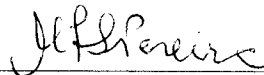
**Bibliotecário:** \_\_\_\_\_ **Data:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**MARIA CRISTINA FORTES SANTOS DE BUSTAMANTE**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Sanidade Animal.

TESE APROVADA EM 19/12/2008



---

Maria Júlia Salim Pereira (Orientador)



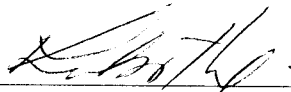
---

Armando de Oliveira Schubach - FIOCRUZ



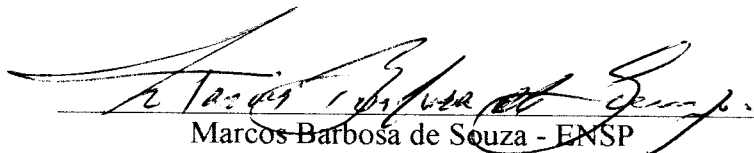
---

Maria de Fátima Madeira - FIOCRUZ



---

Norma Vollmer Labarthe - UFF



---

Marcos Barbosa de Souza - ENSP

## DEDICATÓRIA

*Ao meu marido, Braz, e a meus filhos Leonardo  
e Mariana, pelo amor, companheirismo e compreensão*

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Maria Júlia Salim Pereira, e meus co-orientadores, Dr. Armando de Oliveira Schubach e Prof. Adevair Henrique da Fonseca, pela confiança nos resultados de meu trabalho, pela atenção constante e pelas sugestões enriquecedoras.

Ao Dr. Marcos Barbosa de Souza e equipe, pelo apoio nas capturas e identificação dos flebotomíneos.

Ao Dr. Braga, Secretário Municipal de Saúde de Eng<sup>o</sup> Paulo de Frontin, à Enf<sup>a</sup> Alcione, chefe do Programa de Saúde da Família - PSF, e ao corpo de enfermeiras e agentes comunitários de saúde deste PSF, sem os quais não teria sido possível este trabalho.

Aos moradores e voluntários de Eng<sup>o</sup> Paulo de Frontin, pelas informações prestadas, por me receberem em suas casas e por se submeterem aos exames, ainda que incômodos.

À Dr<sup>a</sup> Daniela de Pita-Pereira, pela realização dos diagnósticos de infecção natural de flebotomíneos por *Leishmania (Viannia) braziliensis* através de reação em cadeia de polimerase (RCP).

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ, pelo financiamento do projeto de pesquisa.

## RESUMO

BUSTAMANTE, Maria Cristina Fortes Santos de. **Caracterização epidemiológica de município sem autoctonia para leishmaniose tegumentar americana**. 2008. 49 p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

O conhecimento acerca da epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) ainda possui lacunas. As influências de características ambientais e peridomésticas sobre sua ocorrência não estão bem definidas. Este estudo buscou investigar a possível ocorrência de infecção assintomática por *Leishmania (Viannia) braziliensis* em humanos e cães e a infecção natural dos flebotomíneos vetores no município de Engenheiro Paulo de Frontin, indene para LTA autóctone e circundado por municípios endêmicos. Foi realizado um inquérito epidemiológico entre março de 2006 e dezembro de 2007, sendo investigadas as cinco áreas de saúde do município, com apoio do Programa de Saúde da Família da Secretaria Municipal de Saúde. Participaram do estudo cinquenta famílias expostas ou não aos fatores de risco conhecidos, totalizando noventa e cinco voluntários. Entrevistas estruturadas, Intradermorreação de Montenegro (IDRM) e sorologia para leishmaniose, por ELISA e por Imunofluorescência Indireta (IFI) foram realizadas nos voluntários, cujos cães foram também submetidos a exame clínico e sorologia pelos mesmos métodos. O ambiente circundante foi descrito e flebotomíneos foram capturados nos peridomicílios para identificação das espécies presentes e de infecção por *L. (V.) braziliensis* pela técnica de reação em cadeia de polimerase (RCP). As frequências encontradas de positividade nos testes em humanos foram de: 9%, 6,4% e 13,8% para IDRM, ELISA e IFI, respectivamente. Dos trinta e nove cães examinados 5,1%, foram positivos ao ELISA e 23% à IFI. Das sete espécies de flebotomíneos capturadas, predominaram *Lutzomyia migonei* (59%) e *L. intermedia* (20,9%). A taxa de infecção natural dos flebotomíneos foi de até 5% à RCP. A ausência de casos ativos e as baixas positivities verificadas nos testes em humanos e em cães e a discordância entre os resultados levam a supor que não ocorre transmissão extraflorestal de *L. (V.) braziliensis* no município, a despeito da alta taxa de infecção natural dos flebotomíneos. Grandes áreas de mata preservada dispersas pelo território (52% do município) parecem ser o único diferencial em relação aos municípios circundantes, permitindo a manutenção dos nichos ecológicos dos flebotomíneos e reduzindo a pressão por mudanças adaptativas.

Palavras-chave: flebotomíneos, zoonoses, eco-epidemiologia

## ABSTRACT

BUSTAMANTE, Maria Cristina Fortes Santos de. **Epidemiological characterization of a non-disease municipality for american cutaneous leishmaniasis.** 2008. 49 p. Thesis (Doctor Science in Veterinary Sciences, Animal Health). Veterinary Institute, Department of Animal Parasitology, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.

The knowledge about epidemiology of American Cutaneous Leishmaniasis - ACL still has gaps. The influences of environmental and peridomestic characteristics over its occurrence are not well defined. This study aimed to investigate the asymptomatic occurrence of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in humans and dogs, and to evaluate the natural infection of phlebotomine vectors at Engenheiro Paulo de Frontin, a disease-free of autochthonous ACL municipality, part of an endemic region. An epidemiological inquiry was developed from march/2006 to december/2007 with the support of the Family Health Program of the Municipality Health Secretary Office in the five sanitary areas. Fifty families participated in the study, yielding a total of 95 volunteers who were exposed or not to known risk factors. Procedures involved structured interviews, Montenegro skin Test (IDRM), serology done by Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), and Indirect Immunofluorescence (IIF). All the volunteers had their dogs examined by the serology procedures and including a clinical exam. The existing environment was reported and phlebotomine sand flies were captured in the peridomestic environment to have all the present species identified. Infection by *L. (V.) braziliensis* was also determined by using polymerase chain reaction (PCR). Observed frequencies for positive results in humans were: 9%, 6.4% and 13.8% for IDRM, ELISA and IFI, respectively. Of 39 dogs examined, 5.1% were positive for ELISA and 23% for IFI, and from the seven species of phlebotomine sand flies captured, *Lutzomyia migonei* (59%) and *L. intermedia* (20.9%) were the most frequent. Natural infection rate of phlebotomine vectors were 5% or less, by PCR. The absence of active cases and the low percentage of positive tests found in humans and dogs, and the non-matching results, lead to the suggestion that there is no extra forest transmission of *L. (V.) braziliensis* in the county, despite of the high natural infection rate of phlebotomines sand flies. Large areas of preserved forests scattered around 52% of the municipality appears to be the only and main difference from the surrounding municipality, thus allowing maintenance of the ecological niches of the phlebotomine sand flies and reducing the pressure for adaptive changes.

Key-words: phlebotominae, zoonosis, eco-epidemiology



## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b>	1
2	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	3
2.1	A Leishmaniose Tegumentar Americana	3
2.2	Leishmaniose Tegumentar Americana em humano	4
2.3	Leishmaniose Tegumentar Americana em animais	4
2.4	Os vetores da Leishmaniose Tegumentar Americana	5
2.5	Fatores ambientais e sua influência sobre os vetores da Leishmaniose Tegumentar Americana	7
3	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	9
3.1	Área de estudo	9
3.2	Inquérito epidemiológico	11
3.3	Inquérito entomológico	12
3.4	Registro ambiental	14
3.5	Análise estatística	14
4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	15
4.1	Inquérito epidemiológico	15
4.2	Registro ambiental	19
4.3	Inquérito entomológico	21
5	<b>CONCLUSÕES</b>	27
6	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	28
7	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	29
8	<b>ANEXOS</b>	45



## 1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose, doença causada por protozoários do gênero *Leishmania* sp., ocupa hoje uma posição de destaque mundial, tanto em sua forma visceral quanto cutânea, sendo objeto de atenção e estudos por boa parte da comunidade científica de diversos países. No Brasil, as leishmanioses cutâneas vêm aumentando sua incidência e aproximando-se, cada vez mais, das cercanias dos grandes centros urbanos.

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), característica do Novo Mundo, é causada por várias espécies de leishmânias com tropismo pela pele e mucosas e possui como vetores conhecidos, até o momento, dípteros flebotomíneos. *Leishmania (Viannia) braziliensis* é a espécie de maior importância médica e dispersão pelo Brasil, sendo responsável por praticamente todos os casos notificados na Região Sudeste do país.

Diferentemente dos padrões epidemiológicos anteriores, nos quais sua ocorrência limitava-se a atividades laborais na floresta e a áreas de colonização recente, a LTA expandiu-se de forma imprevista e contínua por áreas de colonização antiga e periferias de metrópoles. Desta forma, a discriminação dos fatores de risco envolvidos torna-se difícil e imprecisa, posto que sua ocorrência fora dos cenários característicos aponta para claras modificações em seus ciclos de transmissão.

Nesse novo contexto, a LTA hoje se apresenta como uma enfermidade cujo ciclo extra-florestal adquire cada vez mais relevância, envolvendo cães, eqüídeos e seres humanos, possivelmente de forma não apenas acidental, mas como parte integrante e vital para a manutenção do mesmo.

Fora dos ambientes florestais, a busca dos elementos que compõem o panorama favorável ao aparecimento de casos de LTA tem sido permanente, embora ainda não tenha gerado informações inequívocas e completas sobre os determinantes nem sobre a participação de cada hospedeiro nos ciclos de transmissão. Alterações ambientais causadas pela ação humana parecem desequilibrar a vegetação e as populações animais silvestres de forma que os vetores flebotomíneos, mais propensos a se adaptarem aos ambientes antrópicos, sobrevivam, se multipliquem exacerbadamente e passem a desempenhar fundamental papel na disseminação da LTA. A importância de cães, eqüídeos e seres humanos na manutenção da LTA tem sido defendida por alguns autores e questionada por outros.

Há inúmeros estudos realizados sobre a leishmaniose tegumentar; entretanto, a quase totalidade parte de casos da doença verificados em seres humanos e animais. Os vetores e os reservatórios, classicamente incriminados, têm sido pesquisados e, até duas décadas atrás, se indicavam medidas de controle por vezes drásticas, como a eliminação dos cães sintomáticos ou positivos aos testes diagnósticos. Entretanto, com o passar do tempo, o baixo impacto destas medidas na incidência da doença tem levado à busca de novas propostas.

Partindo do princípio que, para se caracterizar a situação de desequilíbrio é imprescindível conhecer a situação de equilíbrio, procurou-se estudar e discriminar um ambiente aparentemente equilibrado, cercado de municípios endêmicos para LTA, no qual, entretanto, ainda não houve registro de casos autóctones da doença. Tal ambiente é o município de Engenheiro Paulo de Frontin, localizado na Região Centro-Sul, no Estado do Rio de Janeiro. Este município foi selecionado a partir de estudo anterior, realizado pela autora sobre o perfil epidemiológico para LTA da referida região, que serviu de base para sua dissertação de Mestrado.

O objetivo da pesquisa foi registrar as características ambientais, econômicas, sociais, ecoepidemiológicas e entomológicas do município em questão, até o momento considerado

indene à LTA. Desta forma, investigou-se a possível ocorrência de infecção assintomática por *L. (V.) braziliensis* em seres humanos e caninos e a presença e a infecção natural dos flebotomíneos vetores. O ambiente foi caracterizado quanto à distribuição dos fatores de risco tradicionalmente citados e sua possível influência sobre as diversas populações flebotomínicas.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A Leishmaniose Tegumentar Americana

Doença vetorial, transmitida por insetos hematófagos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) (CARRERA, 1991), a Leishmaniose Tegumentar Americana ou LTA é uma antroponose cujos agentes etiológicos são protozoários parasitas do gênero *Leishmania* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) (MARZOCHI et al., 2003) e que causa lesões ulcerosas únicas ou múltiplas na pele, podendo atingir áreas mucosas ou ambas, quando assume a forma cutâneo-mucosa, altamente destrutiva (ACHA; SZIFRES, 1989).

No Brasil, ocorreram surtos de LTA no início do século XX, que acompanharam a construção de ferrovias e o processo de urbanização do espaço (ARAGÃO, 1927; PESTANA et al., 1939; PESSÔA; MARTINS, 1982). Até meados do século passado a LTA tinha por característica afetar principalmente homens adultos, cuja ocupação se dava em ambiente silvestre ou agrícola, notadamente em áreas de colonização recente (FORATTINI, 1973). Seja pela diminuição dos desbravamentos (PESSÔA; MARTINS, 1982) ou pela derrubada das florestas, ambiente original de infecção, a perspectiva que se tinha era de que a LTA desapareceria junto com seus vetores e reservatórios silvestres (SAMPAIO, 1951).

Contrariando as previsões, os casos da doença que começaram a surgir em populações humanas já assentadas levaram à proposição da ocorrência de um processo de adaptação das leishmânias tegumentares ao Homem e aos animais domésticos, de forma que um ou ambos passassem a desempenhar o papel de reservatório do parasita (FORATTINI, 1960). A dispersão da LTA no Brasil deu-se em sequência ao final do período da extração da borracha na Amazônia (1912-1932), coincidindo com o retorno dos trabalhadores para suas cidades natais no Nordeste e a migração de parte destes para o Sudeste, como mão-de-obra atendendo à expansão das plantações de café (MARZOCHI; MARZOCHI, 1994).

Nas intensas campanhas de combate à malária levadas a cabo pela Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM), com aplicações de DDT nos domicílios, houve uma queda nas populações de vetores nas habitações humanas e, conseqüentemente, no número de notificações (NERY-GUIMARÃES, 1955; LIMA et al., 1988). Entretanto, com o banimento do DDT, os espaços antropizados foram sendo ocupados novamente por flebotomíneos. Atualmente, a LTA exibe difícil controle e comportamento imprevisível (TOLEZANO, 1994), pois a modificação dos ambientes florestais originais realmente forçou uma adaptação dos vetores e dos parasitas a novos hospedeiros e nichos (MELLO, 1991), de forma que a doença não atinge mais os grupos de risco tradicionalmente definidos (SANTA ROSA, 1997). As leishmanioses cutâneas estão em expansão, ocupando lugar de destaque entre as enfermidades infecto-parasitárias mais importantes para a Organização Mundial da Saúde (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

O aumento da população humana, processos migratórios intensos, desigualdades econômicas, desemprego, expansão desordenada do espaço urbano, elevação do estresse, disseminação de estados mórbidos, entre outros, contribuem em diversos graus para a elevação das taxas de incidência de doenças infecciosas, sendo as alterações climáticas agravantes destes quadros (GITHEKO et al., 2000).

Múltiplos fatores também estão envolvidos na transmissão da LTA no sudeste do Brasil (GOMES; NEVES, 1998), entre eles a altitude, a vegetação, a proximidade de coleções ou fontes de água e o clima (TOLEZANO, 1994; AGUIAR et al., 1996; NEVES et al., 2002; SOUZA et al., 2002), podendo-se, em certos casos, estabelecer claras conexões entre estas variáveis e a presença de atividade dos vetores (FERREIRA et al., 2001; MARCONDES et al., 2001; BRITO et al., 2002; SALOMÓN et al., 2002).

## 2.2 A Leishmaniose Tegumentar Americana em Humanos

O Homem tem sido também incriminado ou ao menos suspeito como reservatório das leishmanioses (ARAGÃO, 1927; SABROZA, 1981). Reforçam este argumento inúmeras pesquisas citadas por Vale e Furtado (2005) em artigo de revisão histórica da literatura, onde se relatam muitos aspectos consistentes com a ativa participação do ser humano na disseminação da LTA da Região Amazônica para o resto do continente. Vários trabalhos endossam essa suposição, seja pela verificação da disseminação hematogênica de *L. (V.) braziliensis* no ser humano, que pode permitir a persistência da infecção por anos (CAMERA et al., 2006), seja pelo encontro de cicatrizes parasitadas em pacientes clinicamente curados (SCHUBACH et al., 1998 a; SCHUBACH et al., 1998 b; SCHUBACH et al., 2001) ou pelo risco 7,5 vezes maior de adquirir LTA que outras pessoas da moradia correm ao coabitar com enfermos (OLIVEIRA et al., 2004).

Os achados de elevada positividade à Intradermorreação de Montenegro (IDRM), manifestando-se maior de acordo com a idade, e de pequena quantidade de cicatrizes – espontaneamente curadas - em populações indígenas na Amazônia, sem qualquer envolvimento secundário, sugerem uma estreita e antiga relação destes povos com o parasita, que freqüentemente se infectam sem adoecimento (ASTON; THORLEY, 1970; COIMBRA JR et al., 1996).

## 2.3 A Leishmaniose Tegumentar Americana em animais

A despeito da incriminação clássica dos flebotomíneos como vetores das leishmanioses, outros vetores e mecanismos de transmissão vêm sendo estudados na tentativa de explicar a ocorrência da doença em áreas livres ou de baixa densidade populacional de flebotomíneos. Carrapatos (COUTINHO et al., 2005) e pulgas (COUTINHO; LINARDI, 2007) já foram infectados experimentalmente por leishmânias viscerotrópicas. Experimentos com camundongos demonstraram que a aquisição de infecções pelas vias transplacentária e sexual é possível, ainda que em baixos níveis (LINDSAY; ROSYPAL, 2005). Comprovou-se, ainda, a transmissão de leishmaniose visceral entre cães através da transfusão de sangue (OWENS et al., 2001) e de forma vertical pelo encontro de DNA de *L. infantum* em sangue, linfonodos e órgãos de filhotes de cães recém-nascidos e em suas placentas (MASUCCI et al., 2003; ROSYPAL et al., 2005). Suspensões salinas a partir de fígados e baços de cães recém-nascidos de mães infectadas produziram infecções em hamsters através de injeções intraperitoneais, com achados de amastigotas em suas vísceras e culturas positivas para *L. infantum* (MANCIANTI; SOZZI, 1995).

Marsupiais, desdentados, quirópteros, roedores, primatas, eqüídeos e vários carnívoros já foram encontrados parasitados (PESSÔA; MARTINS, 1982). Roedores silvestres e sinantrópicos são capazes de hospedar *L. (V.) braziliensis* e, possivelmente, servem de reservatório natural para as mesmas (BRANDÃO-FILHO, 2001).

A participação dos cães como reservatórios do parasita no ciclo extra-florestal da LTA ainda é objeto de muita controvérsia (ZANZARINI et al., 2005). Enquanto alguns autores apontam o cão como hospedeiro e fonte de infecção inequívoca para o ser humano (SILVEIRA et al., 1996), outros vêm como acidental sua infecção, assim como a do Homem, e o consideram também como hospedeiro final (MAYRINK et al., 1979). A LTA já era comum na América pré-colombiana antes da chegada dos cães, introduzidos pelos colonizadores (ALTAMIRANO-ENCISO et al., 2003). Assim, evidências apontam para sua

possível participação nos ciclos de transmissão da LTA apenas após uma adaptação do parasita ao novo hospedeiro, o que parece ainda estar em curso, haja vista as baixas taxas de infecção encontradas (GOMES et al., 1990). A disseminação de *L. (V.) braziliensis* por via hematogênica no cão, dispersando-se por linfonodos, órgãos internos e pele é um forte indicativo de que o mesmo possa atuar como reservatório e fonte de infecção para os flebotomíneos vetores (REITHINGER; DAVIES, 2002).

Cães com resultados positivos aos testes diagnósticos em áreas endêmicas e associados temporal ou espacialmente a casos humanos foram encontrados por Barbosa et al. (1999). Por outro lado, a busca por esta associação nem sempre resulta positiva (SAVANI et al., 1999; BUSTAMANTE, 2004). Não houve demonstração que a simples presença do cão no domicílio fosse um fator de risco para a LTA humana, mas, sim, a quantidade de cães (REITHINGER et al., 2003).

## 2.4 Os Vetores da Leishmaniose Tegumentar Americana

Os dípteros considerados como vetores da LTA no Brasil são os flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae), conhecidos como mosquitos-palha, cangalhinha, tatuquira, birigui e outras denominações vulgares. Apenas as fêmeas são hematófagas, enquanto que os machos se alimentam de sucos vegetais. Tanto machos quanto fêmeas vivem, sob condições naturais, cerca de 45 dias. A umidade é imprescindível para o desenvolvimento destes insetos, que vivem em ambientes sombreados e úmidos. Como a oviposição se realiza em locais ricos em matéria orgânica, predominantemente de origem vegetal, as formas imaturas do inseto são encontradas em troncos e raízes de árvores, tocas de animais, rochas, solo florestal e folhas caídas (CARRERA, 1991).

Durante o repasto sanguíneo, as fêmeas se infectam ao ingerir macrófagos parasitados por amastigotas. Em cerca de sete dias, formam-se os promastigotas infectantes, que migram para o esôfago do inseto, bloqueando a sua faringe, sendo regurgitados durante os próximos repastos (SCHLEIN et al., 1992).

No Brasil, apenas o gênero *Lutzomyia* é provido de importância para a cadeia de transmissão da LTA.

Dentre os flebotomíneos vetores de LTA na Região Sudeste destacam-se *Lutzomyia intermedia*, já encontrada infectada por *L. (V.) braziliensis* no Estado do Rio de Janeiro, como de maior importância no ciclo de transmissão da LTA no ambiente antrópico (RANGEL et al., 1984). Exibindo uma suposta pré-adaptação ao ambiente modificado e às fontes alimentares animais ali presentes (LIMA, 1986), esta espécie é encontrada em grande número no peridomicílio e no interior das moradias, frequentemente associada à ocorrência de casos humanos de LTA (RANGEL et al., 1986; OLIVEIRA-NETO et al., 1988; RANGEL et al., 1990; BRITO et al., 2002; SOUZA et al., 2003), sendo intensamente atraída pelo ser humano (GOMES et al., 1983). A sobrevivência de fêmeas após a oviposição e a realização de um segundo repasto sanguíneo reforçam sua incriminação como principal vetor da LTA no ambiente modificado (GOMES et al., 1982). Sua população na mata preservada pode ser nula ou representar pequeno percentual no total de flebotomíneos (GOMES et al., 1980). Entretanto, seu predomínio cresce vertiginosamente conforme se aproxima do ambiente pouco modificado na borda da mata, até o ambiente antropizado, onde chega a representar 99,29% do total de capturas (TOLEZANO et al., 2001). Matas ciliares a grandes rios também são propícias à sua dominância (GOMES et al., 1989). A adaptação de *L. intermedia* ao ambiente extra-florestal, seu comportamento antropofílico e sua endofilia para se alimentar do Homem

demonstram claramente ser este o principal ambiente de infecção para os casos humanos (GOMES et al., 1986).

*Lutzomyia migonei* é outra espécie de flebotomíneo frequentemente encontrado nos arredores das habitações humanas e abrigos de animais, apresentando acentuada cinofilia (FALQUETO, 1995), e que pode estar envolvida na transmissão da LTA canina (RANGEL et al., 1986) e, mesmo, humana (CAMARGO-NEVES et al., 2002). Esta espécie já foi capturada naturalmente infectada por *L. (V.) braziliensis* (PESSÔA; PESTANA, 1940; AZEVEDO et al., 1990) e teve sua capacidade vetorial confirmada experimentalmente (NIEVES; PIMENTA, 2000), podendo atuar como vetor secundário de *L. (V.) braziliensis* devido à sua presença numerosa em focos da doença, ocupando o segundo lugar em frequência, em diversas ocasiões (FERREIRA et al., 2001).

A participação de *L. intermedia* na transmissão da LTA foi sugerida ao se obter infecção experimental através da inoculação de macerado de fêmeas no focinho de um cão (ARAGÃO, 1927), obtendo-se mais tarde a comprovação de sua competência vetorial (SILVA; GOMES, 2001). Em meados do século passado foram encontradas formas promastigotas de leishmânias em *L. migonei* (PESSÔA; PESTANA, 1940), sendo posteriormente confirmada sua infecção por *L. (V.) braziliensis* (AZEVEDO et al., 1990) e seu papel como vetor (NIEVES; PIMENTA, 2000). O envolvimento destas espécies na epidemiologia da LTA é evidenciado em estudos que correlacionam sua presença a casos humanos autóctones (CAMARGO-NEVES et al. 2002).

A presença, o repasto e a multiplicação desses insetos fora do ambiente florestal e, principalmente, no ambiente antrópico, vem sendo registrada e acompanhada desde Forattini (1953).

*Lutzomyia intermedia* e *L. migonei* foram capturadas em grande quantidade nos ambientes intra e peridomiciliares de focos em Jacarepaguá, no município do Rio de Janeiro/RJ (SABROZA, 1981) e em Mesquita (AGUILAR, 1987), à época pertencente ao município de Nova Iguaçu/RJ. Neste último, pôde-se verificar que ambas as espécies foram capturadas em galinheiros e sugando o Homem e eqüinos. Em áreas urbanizadas, bananais e galinheiros parecem favorecer o desenvolvimento dos vetores (OLIVEIRA et al., 2000). Em um estudo de preferência alimentar realizado no Espírito Santo, Falqueto (1995) pôde observar características de comportamento fundamentais para a compreensão da importância das espécies vetoras no ciclo de transmissão da LTA e comprovar a atração dos flebotomíneos por diversos hospedeiros. Estes achados demonstram a adaptação tanto do agente quanto do vetor a ecótopos antrópicos e a novos hospedeiros, o que vem permitindo a dispersão de *L. (V.) braziliensis* e a continuidade de sua existência (LAINSON et al., 1994).

Em Itaguaí, município litorâneo do Estado do Rio de Janeiro, quando a densidade de flebotomíneos antropofílicos foi avaliada em diferentes altitudes, no intra e peridomicílio, *L. intermedia* predominou a 100m acima do nível do mar, sendo capturada inclusive em troncos de bananeiras. Já *L. migonei* esteve mais presente a 300m de altitude, onde o ambiente apresentou-se mais seco e desprovido de bananais (AGUIAR et al., 1996). A alturas cada vez mais elevadas *L. intermedia* e *L. migonei* diminuem progressivamente sua população, coincidindo com a ausência da LTA, enquanto *L. fischeri* mantém-se estável e *L. monticola* torna-se mais populosa (FERREIRA et al., 2001).

O grande número de flebotomíneos capturados nos focos da doença (GONTIJO et al., 2002), somado aos achados de espécimes portando o protozoário, reforçam a incriminação desses insetos como vetores da LTA.

As taxas de infecção natural dos flebotomíneos por leishmanias são usualmente muito baixas e difíceis de serem constatadas pela observação direta, ainda que milhares de fêmeas



provenientes de área de transmissão tenham sido dissecadas ao longo de anos (AGUIAR et al., 1996; BRANDÃO-FILHO, 2001; SILVA; GOMES, 2001). Em condições experimentais, Silva e Gomes (2001) conseguiram atingir altos percentuais de infecção em *L. intermedia* silvestres, mas a transmissão para hamsters via picada não se verificou. Segundo os autores, a artificialidade do ambiente pode ter dificultado o sucesso do experimento; além disto, a maioria das fêmeas infectadas não realizou um segundo repasto sanguíneo.

A introdução da técnica de reação em cadeia de polimerase – RCP como método de detecção de infecção resultou em taxas variando de 0,4% (MIRANDA et al., 2002; OLIVEIRA-PEREIRA et al., 2006) a 2% (PITA-PEREIRA et al., 2005). Ainda assim, a pesquisa pode resultar negativa, mesmo em grande número de fêmeas provenientes de áreas com transmissão recente (NEITZKE et al., 2008). Para Miranda et al. (2002), o uso da técnica de PCR e a captura direcionada não aumentaram a detecção de leishmânias nos flebotomíneos; a taxa de infecção permaneceu baixa a despeito da maior sensibilidade do teste. Entretanto, a combinação dos dois métodos permitiu a melhor localização espacial da concentração de vetores parasitados, verificando-se sua coincidência com novos casos de LTA, sugerindo uma possível influência da taxa de infecção de *Lutzomyia* spp sobre a doença humana.

## **2.5 Fatores Ambientais e sua Influência Sobre os Vetores da Leishmaniose Tegumentar Americana**

Além da degradação das florestas, diversos outros fatores têm alterado o comportamento das enfermidades vectoriais por todo o planeta (HALES et al., 2002). Variações de temperatura e chuvas (GUIMARÃES et al., 2001; GLASSER; GOMES, 2002), de velocidade do vento (KAKITANI et al., 2003) ou mesmo um conjunto impreciso de fatores ou eventos coincidentes podem promover flutuações na densidade de vetores e no aparecimento destas enfermidades (REITER, 1988).

O clima global vem exibindo diferenças em seus padrões nos últimos anos, fruto da interferência humana no ambiente e em decorrência de um processo natural de acomodação dos ecossistemas. Os efeitos de sua mudança são percebidos em todo o mundo, com intensidade variável (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002). Os fenômenos El Niño e La Niña promovem secas e inundações que podem se relacionar com o aumento ou diminuição das populações de vetores (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000), apesar de não haver provas concretas de que sua ocorrência cause surtos ou epidemias de enfermidades.

A faixa divisória entre a floresta ou fragmento florestal e a área desflorestada, chamada de borda da floresta, é sujeita a influências do meio externo, causando alterações física e estruturais (TABANEZ et al., 1997), tendo como conseqüências alterações na composição e na abundância relativa de espécies neste espaço (FORMAN; GODRON, 1986). Áreas sob forte impacto de expansão urbana associam-se a casos de LTA ao longo dos anos, acompanhando os desmatamentos progressivos e desordenados levados a cabo para implantação de loteamentos (CORTE et al., 1996).

Há décadas, estratégias de dedetização empregadas em campanhas de combate à malária inibiram a proliferação de flebotomíneos nos ambientes antrópicos, fato comprovado pela sua inexpressiva captura em locais tratados, mesmo durante anos de pesquisa (GOMES et al., 1990). Entretanto, após a ocorrência de significativas alterações do ambiente circundante ou aspersões com inseticidas, freqüentemente são encontradas espécies de flebotomíneos antropofílicos em grande número e maior percentagem que as espécies selváticas que

predominavam anteriormente (DOMINGOS et al., 1998), evidenciando que estes fatores exercem grande influência na relação de dominância, no tamanho da população e na biodiversidade da fauna flebotomínica (TEODORO et al., 1999). Em áreas urbanizadas, bananais e galinheiros parecem favorecer o desenvolvimento dos vetores (OLIVEIRA et al., 2004). No ambiente que tem sido descrito como propício ao estabelecimento dos vetores antropofílicos verifica-se a presença de bananeiras (BARROS et al., 1985), mangueiras (GONTIJO et al., 2002) e abrigos de animais, principalmente galinheiros (GOMES et al., 1978; TEODORO et al., 2007) e pocilgas (FORATTINI, 1953; MOREIRA JR et al., 2003), que exercem grande atração sobre aqueles (GOMES et al., 1980). O início da atividade vetorial dá-se logo após as 17h00minh e o término nas primeiras horas após o nascer do sol, indicando fortemente que muitas das infecções podem se processar no ambiente domiciliar (FALQUETO, 1995).

Assim, conclui-se que o aumento dos casos humanos registrados deve-se à interrupção do equilíbrio do ciclo selvático da enfermidade, pela destruição de biótipos naturais que isolavam reservatórios e vetores e levando-os à dispersão ou adaptação às novas condições ambientais (MELLO, 1991). Esta conclusão está de acordo com Nery-Guimarães (1955) e é corroborada por Leonardo e Rebêlo (2004), que observaram o surgimento de casos de LTA em moradores de habitações próximas a matas que foram derrubadas, cerca de alguns meses após esta desflorestação. Tal impacto foi verificado mesmo ao redor de pequenos fragmentos florestais, sugerindo que, independentemente do tamanho da mata, esta pode propiciar o ambiente de manutenção para a LTA sem necessariamente envolver o ser humano que mora em suas adjacências (PROENÇA; MULLER, 1979). Por outro lado, a derrubada de matas primárias no sudeste brasileiro não foi sempre acompanhada de surtos (GOMES; GALATI, 1989); pelo contrário, estes vêm ocorrendo em áreas já colonizadas há anos, de forma explosiva e em determinados períodos, findo os quais se segue um silêncio epidemiológico (GOMES et al., 1992; BUSTAMANTE, 2004).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Área de Estudo

A área estudada correspondeu ao município de Engenheiro Paulo de Frontin, compreendido na Região Centro-Sul do Estado do Rio de Janeiro, Brasil, conforme figura 1 (FUNDAÇÃO CENTRO DE INFORMAÇÕES E DADOS DO RIO DE JANEIRO, 2003).

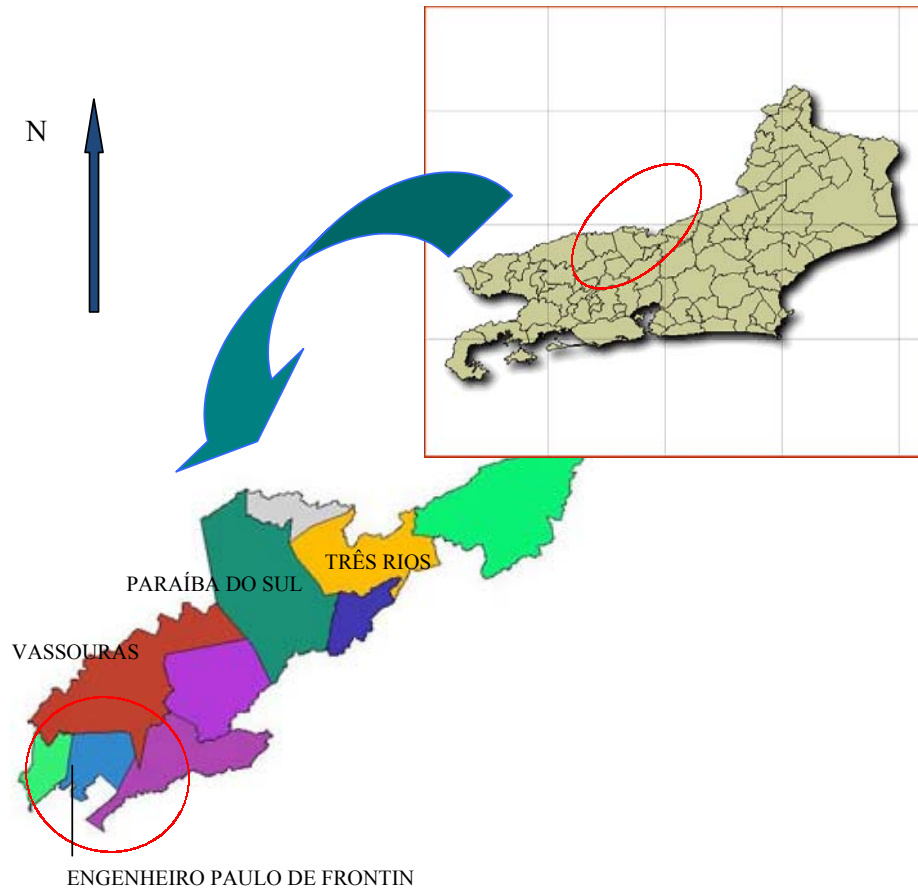


Figura 1. Mapa esquemático da Região Centro-Sul do Estado do Rio de Janeiro, Brasil, com destaque para a localização do município de Eng<sup>o</sup> Paulo de Frontin.

A população total do município é de 12.544 habitantes (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2008), distribuída em uma área de 139 km<sup>2</sup>. Sua sede situa-se nas coordenadas S 22°32'58,6" e W 43°40'40,2", a uma altitude de 386 metros acima do nível do mar, e dista 88 km da capital do Estado. A topografia dominante é montanhosa. Possui extensas áreas de mata atlântica original (floresta ombrófila densa perenifólia) entremeadas de pastagens e matas secundárias (figuras 2 e 3). As principais atividades econômicas são uma indústria de látex e o turismo; as agrícolas são bovinocultura de leite, avicultura, produção de mel e cultivo de alface, bananas, feijão e jiló (FUNDAÇÃO CENTRO DE INFORMAÇÕES E DADOS DO RIO DE JANEIRO, 2003).

Figura 2. Vista do centro da cidade, podendo-se observar a proximidade da mata em relação às residências. Engenheiro Paulo de Frontin, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

As normais climatológicas são de precipitação anual de cerca de 1.283,8 mm, variando ao longo do ano entre 21,6 mm e 232,4 mm ao mês; temperaturas médias de 17,2°C no inverno e 24°C no verão, com média anual de 20,8°C; a umidade relativa varia de 78% no inverno a 83% no verão; a insolação fica entre 140 horas no inverno e 190 horas no verão (SISTEMA DE METEOROLOGIA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, 2007).

O primeiro nome da cidade – Rodeio – está ligado aos rodeios que por lá se realizavam, utilizando gado de corte. Os passantes pagavam tributos na Barreira, em função do número de animais que conduziam. O crescimento do município se deu em virtude da construção do maior túnel da Rede Ferroviária Federal Sociedade Anônima - RFFSA e da instalação das fábricas de fogos de artifício Adrianino e de guarda-chuvas Ferrini.

Figura 3. Entorno da residência de morador participante do estudo, com mata densa próxima ao ambiente alterado do peridomicílio. Bairro da Graminha, Engenheiro Paulo de Frontin, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

### **3.2 Inquérito Epidemiológico**

Em junho de 2006, os Agentes Comunitários de Saúde (ACS) das equipes do Programa de Saúde da Família (PSF) participaram de palestra sobre as características clínicas e epidemiológicas da LTA. Posteriormente, as cinco enfermeiras responsáveis pelas equipes do PSF, bem como a coordenadora do Programa Municipal, receberam treinamento para aplicação e interpretação da IDRMM em humanos e reconhecimento de lesões e cicatrizes compatíveis com LTA no Centro de Referência em Leishmanioses do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas – Ipec/Fiocruz, no Rio de Janeiro. Após a palestra, as cinco equipes de Agentes Comunitários de Saúde do Programa de Saúde de Família iniciaram as visitas de rotina a todas as residências do município, realizando busca ativa de casos em atividade e de cicatrizes sugestivas, para avaliar se a falta de registros autóctones seria fruto de subnotificação, uma vez que os dados de anos anteriores se basearam em demanda espontânea da população. Nestas visitas explicaram aos moradores sobre a doença e mostraram fotos de pessoas e animais sintomáticos, procurando envolver a população no estudo.

A princípio, trinta unidades familiares (moradias) com cerca de 150 (cento e cinquenta) moradores, tanto de áreas rurais quanto urbanas, dos cinco distritos do município, foram selecionados de forma a contemplar, inclusive, os segmentos mais expostos aos fatores clássicos de risco, como exploração florestal, caça, acampamento, atividade agrícola ou pecuária, moradia próxima à mata, entre outros. Essas condições foram buscadas para incluir na pesquisa tanto pessoas sem risco aparente de contrair LTA, como outras que possuíam

hábitos e moravam em ambientes considerados propícios ao aparecimento da doença. Entretanto, como a doença é desconhecida pela população, não despertou muito interesse, ocorrendo um grande número de desistências ao longo do estudo, principalmente em função dos testes diagnósticos a serem aplicados. Os Agentes Comunitários de Saúde procuraram envolver outras famílias, para repor as perdas da previsão inicial, uma vez que em algumas residências apenas um morador concordou em participar. Ao final, participaram da pesquisa noventa e cinco moradores, de cinquenta moradias (unidades familiares), sendo que apenas os maiores de doze anos de idade foram envolvidos, para evitar mais desistências. As unidades familiares corresponderam a moradias distintas e com famílias independentes, ainda que dispostas no mesmo terreno.

Os moradores foram orientados sobre a metodologia e os objetivos da pesquisa e concordaram com a sua participação no estudo por meio de assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo I). Caso o participante fosse analfabeto ou impossibilitado de ler, seu conteúdo era lido por familiares ou vizinhos, que assinaram solidariamente. No caso de menores, os responsáveis assinaram por eles.

Entre janeiro e abril de 2007 os moradores foram levados aos Postos de Saúde da Família e submetidos a testes diagnósticos para LTA pelas equipes de cada PSF. Ao longo do ano de 2007 foram entrevistados em suas moradias. Os cães existentes nas residências dos entrevistados, desde que adultos e passíveis de contenção, foram submetidos a exame clínico, sendo também coletado sangue para diagnóstico sorológico.

Informações, como hábitos dos moradores e animais, dados pessoais e ambientais foram coletados por meio de entrevista estruturada, realizada por ocasião da visita ao domicílio do morador, segundo modelo (Anexo II). Fotografias de lesões de LTA foram mostradas a todos os entrevistados e servidores municipais envolvidos, para apurar sobre sua ocorrência anterior. Os relatos de ocorrência de casos de LTA foram averiguados, sendo os portadores de lesões e cicatrizes sugestivas encaminhados para avaliação clínica pela dermatologista da Secretaria Municipal de Saúde de Eng° Paulo de Frontin. No caso de animais, a própria pesquisadora procedeu as avaliações clínicas.

As amostras de sangue coletadas nos PSF foram centrifugadas, pipetadas e acondicionadas em microtubos no laboratório de patologia clínica da Secretaria Municipal de Saúde de Eng° Paulo de Frontin e levadas, congeladas, para análise no Laboratório de Vigilância em Leishmanioses (VIGILeish), do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, na Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. Foram utilizados os testes sorológicos ensaio imunoenzimático (ELISA) segundo técnicas recentemente descritas para cães (RIBEIRO et al., 2007) e seres humanos (BARROSO-FREITAS, 2006) e reação de imunofluorescência indireta (IFI), para detecção de anticorpos para *L. (V.) braziliensis*. O ELISA foi realizado com antígeno parcialmente solúvel de formas promastigotas de *L. (V.) braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903) e a IFI, com o *kit* de Bio-Manguinhos com antígeno heterólogo. A linha de corte (*cut off*) entre resultados positivos e negativos no ELISA entre positivos e negativos foi calculada com base na média das leituras de densidade óptica (DO) dos soros controles de indivíduos não doentes mais dois desvio padrão acrescido de 20%, ficando em **0,262** nas amostras humanas e em **0,386** nas amostras caninas. Leituras de densidade óptica (DO) acima deste valor foram consideradas positivas. Foram realizados dois ensaios para cada amostra e cada teste foi lido em separado por dois técnicos e reavaliado, em caso de dúvida. No caso da IFI foram considerados positivos resultados acima de 1:40.

Em seres humanos, também foi utilizada a intradermoreação de Montenegro, conforme Melo et al. (1977), com antígeno fenolado e leitura de 48 a 72 horas após a aplicação.

### 3.2 Inquérito Entomológico

No período entre março de 2006 e dezembro de 2007 foram realizadas capturas para verificação da presença de espécies de flebotomíneos potencialmente vetoras e sua possível infecção por *Leishmania (V.) braziliensis*. Não foi objetivo deste estudo determinar sazonalidade ou dominância populacional, de forma que as capturas não se deram de forma regular ao longo do ano.

Entre março de 2006 e março de 2007, nas moradias de 11 (onze) entrevistados, nas cinco áreas de estudo, foram montadas armadilhas luminosas, tipo HP (PUGEDO et al., 2005), para captura de flebotomíneos no peridomicílio e na borda da mata adjacente (figuras 4 e 5). Cada armadilha ficou montada entre as 18h00minh e as 06h00minh da manhã do dia posterior, por períodos de 12 horas. Os espécimes coletados foram acondicionados em álcool 70° GL e encaminhados para o Departamento de Ciências Biológicas da Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Instituto Oswaldo Cruz, para posterior identificação. As espécies encontradas foram listadas por ponto de captura, verificando-se sua densidade relativa.

Figura 4. Galinheiro fechado, de alvenaria, cercado de árvores e na borda da mata, no peridomicílio de morador. Bairro Morro Azul, Engenheiro Paulo de Frontin, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

Em outubro e dezembro de 2007, nos pontos que renderam maior número de flebotomíneos nas capturas anteriores foram montadas armadilhas para novas coletas, desta vez objetivando a verificação da taxa de infecção natural por *L. (V.) braziliensis*. Os insetos coletados foram separados por sexo, em *pools* contendo dez espécimes cada, conservados em

álcool 70° GL e enviados ao Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas do Instituto Oswaldo Cruz para identificação de DNA de leishmânias pela técnica de reação em cadeia de polimerase- RCP, como descrita por Pita-Pereira et al. (2005). A RCP desenvolvida por estes autores, utiliza dois pares de primers, permitindo simultaneamente a detecção de DNA de *Leishmania sp.* (através da amplificação da região conservada de minicírculos de kDNA) e de *Lutzomyia sp.* (com o uso de primers cujo alvo era genes constitutivos de *Lutzomyia sp.*), de forma a controlar eventuais inibições nas reações de amplificação que pudessem gerar resultados falso-negativos.

Em seqüência, os *pools* positivos são evidenciados quando os produtos da RCP são submetidos à hibridização com prova específica para o subgênero *Viannia*, resultando em alta especificidade para *L. (V.) braziliensis*. Este método demonstrou ser capaz de detectar um único parasita em um *pool* de dez insetos. Os *pools* de machos servem de controles negativos. Para estabelecimento da taxa de infecção, considera-se que cada *pool* (10 insetos) positivo possui ao menos uma fêmea positiva (1/10), de forma que o percentual de infecção resulta da divisão do número de *pools* positivos pelo número total de fêmeas investigadas.



Figura 5. Armadilha luminosa tipo CDC adaptado, colocada em galinheiro de alvenaria. Bairro Graminha, Engenheiro Paulo de Frontin, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

### 3.4 Registro Ambiental

As residências dos moradores selecionados foram visitadas e o ambiente que as circunda, fotografado. Características topográficas, de vegetação e de clima, foram anotadas em planilha, marcando-se as localizações de criadouros de animais no entorno da residência. Eventuais alterações ocorridas nos últimos anos foram anotadas.



Foram registradas as coordenadas e altitudes, utilizando-se aparelho de localização geográfica através do sistema de posicionamento global (GPS), de todas as residências de moradores entrevistados e que realizaram exames diagnósticos para LTA, bem como dos locais habituais de permanência dos animais examinados e dos locais de captura de vetores. Estas coordenadas não foram utilizadas neste trabalho, mas servirão de base para acompanhamentos posteriores, a serem realizados pela Secretaria Municipal de Saúde.

### **3.5 Análise Estatística**

Os dados obtidos foram computados e armazenados em um banco de dados montado no EPI INFO 2007 (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2007) e submetidos à análise de frequência.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Inquérito Epidemiológico

Dos 95 moradores estudados, 34 foram homens e 61 mulheres. Nove participantes, de três unidades familiares, não foram encontrados para as entrevistas após a realização dos exames diagnósticos, por motivo de mudança de endereço. Em função disto, os dados de perfil obtidos se referem aos 86 (oitenta e seis) moradores entrevistados e às suas 47 (quarenta e sete) moradias.

Os moradores entre 12 e 19 anos representaram 14% do total; entre 20 e 45 anos, 53,5%; entre 46 e 59 anos, 17,5% e acima de 60 anos, 15%. O tempo de residência na moradia está na tabela 1.

Tabela 1. Tempo de residência dos entrevistados no mesmo domicílio ou bairro. Município de Eng° Paulo de Frontin, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

FREQUÊNCIA	TEMPO DE RESIDENCIA (ANOS)			
	< 1	1 A 5	5 A 10	+ 10
Absoluta	1	18	11	56
Relativa	1 %	21%	13%	65%

O fato da grande maioria dos entrevistados residir há muitos anos e até décadas no mesmo domicílio ou bairro permite sua melhor percepção sobre a ausência da doença no município, como será abordado adiante. Em estudos em áreas endêmicas, o tempo de residência esteve proporcionalmente associado ao adoecimento (SABROZA, 1981; BUSTAMANTE, 2004; OLIVEIRA et al., 2004).

As ocupações usuais dos entrevistados estão na Tabela 2.

Tabela 2. Ocupações usuais dos entrevistados. Município de Eng° Paulo de Frontin, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

OCUPAÇÃO DOS ENTREVISTADOS	FREQUÊNCIA	
	ABSOLUTA	RELATIVA (%)
Caseiro	5	6
Estudante	13	15
Aposentado	9	10,5
Do Lar	17	20
Agente de Saúde	8	9,5
Doméstica	9	10,5
Agricultor	4	4,5
Cavaliário	1	1
Outros	20	23

Quanto à escolaridade, os entrevistados distribuíam-se segundo a tabela 3.

Tabela 3. Nível de escolaridade dos entrevistados. Município de Eng° Paulo de Frontin, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

FREQUÊNCIA	ESCOLARIDADE						
	ANALFABETO	1º GRAU		2º GRAU		SUPERIOR	
		INCOMPLETO	COMPLETO	INCOMPLETO	COMPLETO	INCOMPLETO	COMPLETO
Absoluta	3	49	7	7	17	1	2
Relativa (%)	3,5	57	8	8	20	1	2,5

Sessenta e um (71%) participantes já haviam recebido informações ou conheciam a doença antes da entrevista, mas apenas 10 (11,5%) já haviam visto alguém doente. Um dos entrevistados era militar e já havia visto um colega da farda com lesões, na Amazônia. Os outros nove residiam na localidade de Graminha e tiveram como vizinho, há pouco mais de dez anos, um senhor que desenvolvera LTA. Este caso será melhor explicado adiante.

Cerca de metade dos voluntários 40 (46,5%) exercia pelo menos uma atividade de risco, como caça, pesca, agropecuária, corte de bananas, etc. Sessenta e um entrevistados (71%) ficavam dentro de casa à noite, enquanto que 18 (21%) ficavam fora de casa ou possuíam atividade externa noturna e apenas 7 (8%) ficavam na varanda. A exposição noturna aos vetores, seja no peridomicílio ou participando de eventos, foi considerada por doentes como possivelmente ligada ao momento da infecção (BUSTAMANTE, 2004). Dormiam sozinhos 21 (25%), enquanto que 65 (75%) dividiam com outras pessoas o cômodo de pernoite.

Reclamaram de insetos picando à tarde 37 entrevistados (43%), mesmo número que à noite (43%), sendo que 44 perceberam sua presença no quintal (51%) e 27 no interior da casa (31%). Para 12 (14%), em ambos locais os insetos incomodam, enquanto que para 4 (5%) sua presença não foi notada.

Deslocavam-se com frequência para fora do bairro ou município 48 (56%) moradores, sendo que o restante não se afastava de seu local de moradia.

O perfil dos participantes foi semelhante ao de participantes sintomáticos de estudos realizados em áreas de transmissão (SABROZA, 1981; SANTA-ROSA, 1997).

No momento da coleta de sangue e da realização das entrevistas, nenhum dos participantes relatava doença anterior ou portava lesões ou cicatrizes sugestivas de LTA. A distribuição dos testes diagnósticos aplicados, segundo os distritos sanitários, encontra-se na tabela 4.

Tabela 4. Distribuição dos moradores testados no Posto de Saúde da Família para intradermorreação de Montenegro (IDRM) e sorologia para *Leishmania*, segundo distritos sanitários de moradia. Município de Eng<sup>o</sup> Paulo de Frontin, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

PSF	TESTES			TOTAL
	IDRM	IDRM + SOROLOGIA	SOROLOGIA	
Barreira	0	21	6	27
Centro	0	17	0	17
Sacra Família	0	10	5	15
Morro Azul	0	15	7	22
Ramalho	1	13	0	14
<b>TOTAL</b>	<b>1</b>	<b>76</b>	<b>18</b>	<b>95</b>

Os resultados diagnósticos, segundo o tipo de exame realizado, estão na tabela 5.

Tabela 5. Resultados diagnósticos para Leishmaniose Tegumentar Americana, de um total de 95 voluntários, segundo testes utilizados. Município de Engenheiro Paulo de Frontin, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

Moradores	TESTES				
	IDRM (77)	ELISA (94)	IFI (94)	ELISA+IFI (94)	ELISA + IFI + IDRM (76)
Positivos	07	06	13	02	0
Negativos	70	88	81	77	71

Dos 13 soros positivos para a IFI, 10 reagiram até 1:40, 2 até 1:80 e 1 até 1:160.

As DO dos soros positivos ao ELISA corresponderam aos valores de 0,263, 0,345, 0,361, 0,397, 0,607 e 0,747. Apenas dois dos voluntários, cujos valores de ELISA foram 0,345 e 0,397, exibiram positividade à IFI, reagindo até 1:40.

Os resultados positivos, discordantes e em ausência de sintomatologia, estão dentro do esperado para a sensibilidade e especificidade das técnicas e possivelmente referem-se a falso-positivos.

Reatividade cruzada pode ocorrer entre soros de pacientes com infecções por outros microorganismos e antígenos solúveis de *Leishmania* (VEXENAT et al., 1996). Diferentes resultados de acurácia das reações de IFI e ELISA, para diagnóstico de LTA humana, são relatados na literatura encontrando-se valores médios de especificidade de 80% e 90% para estes testes, respectivamente, com valores preditivos positivos baixos em áreas não endêmicas (BARROSO-FREITAS, 2006). Os resultados positivos estão dentro do esperado e podem ser de falso-positivos.

Apresentaram resultados positivos à IDRMM sete (9%) moradores, todos pertencentes ao PSF Ramalho, sendo que seis destes positivos não foram reagentes à sorologia e um não realizou testes sorológicos. A falsa-positividade registrada para este teste chega a 30%, podendo ser atribuída aos preservantes (fenol ou thimerosal) ou outras infecções (FOLADOR et al., 1999; FAGUNDES et al., 2003; BARROS et al., 2005).

Nenhum dos voluntários foi positivo às três técnicas e apenas dois foram positivos simultaneamente à IFI e ao ELISA. As fracas reações exibidas tanto à sorologia como à IDRMM e as discordâncias de resultados sugerem que o município realmente se apresenta indene à LTA. Em áreas endêmicas, a resposta à IDRMM aumenta de acordo com a faixa etária, ainda que na ausência de manifestações clínicas, sugerindo infecções subclínicas ou inaparentes (COIMBRA JR et al., 1996; OLIVEIRA et al., 2004). O fato de não ter sido encontrada positividade em nenhum dos outros quatro distritos sanitários, a despeito de terem participado do inquérito, voluntários com mais de 60 anos de idade e residentes há décadas no local, é um forte indicativo da não ocorrência de transmissão vetorial de *L. (V.) braziliensis* no município. Moradores com hábitos de caça, extração de lenha e colheita de bananas também não foram reagentes, apontando para a ausência de transmissão inclusive dentro da mata e nas áreas de cultivo.

Bustamante (2004) investigou todos os casos de LTA notificados pelos municípios da Região Centro-Sul do Estado do Rio de Janeiro entre 1997 e 2002 ao Sistema Nacional de Agravos de Notificação – SINAN, do Ministério da Saúde. O município de Engº Paulo de Frontin havia notificado dois casos, um em 2000 e outro em 2002. O primeiro caso, confirmado como LTA, foi adquirido fora do município. Já o segundo foi descartado, confirmado como esporotricose. No presente trabalho, nenhum canino ou equídeo apresentou lesões e cicatrizes sugestivas de LTA na busca ativa realizada, sendo encontrados apenas quatro casos humanos que possuíam, todos, fortes vínculos externos. Estes casos serão citados, mas, por não serem autóctones, não fizeram parte deste estudo.

O caso mais antigo foi de um senhor tratado há mais de 10 anos, morador de Itaguaí, município endêmico para LTA, à época do adoecimento e que morou durante dois meses no bairro da Graminha, em Engº Paulo de Frontin, para trabalhar em uma granja. Seu diagnóstico foi realizado em Itaguaí, sendo a notificação encaminhada pelo município. Nove de seus vizinhos que moravam na ocasião nas proximidades de sua residência na granja e que ainda residiam no bairro no período do estudo foram submetidos aos testes diagnósticos. Apenas dois exibiram fraca positividade à sorologia, sendo um ao ELISA (0,361) e outro à IFI (até 1:40), mas nenhum reagiu à IDRMM. Um cão de um dos vizinhos foi reator até 1:40 na IFI, mas negativo ao ELISA.

O outro caso já havia sido identificado por Bustamante (2004) e tratava-se de um caso importado do município de Angra dos Reis, cuja lesão iniciou-se durante um

acampamento na Ilha Grande. O morador já havia recebido tratamento e apresentava-se curado da doença.

O terceiro caso foi de um rapaz encontrado com lesão ativa no pé, que pernoitava alguns dias da semana com a família no bairro do Barreiro, no município de Vassouras, endêmico para LTA. Neste bairro foram notificados quatro casos em anos anteriores (BUSTAMANTE, 2004). Foi encaminhado para tratamento no Hospital Evandro Chagas, na Fiocruz, após triagem pela dermatologista da Secretaria Municipal de Saúde. Este rapaz trabalhava em um sítio em Eng<sup>o</sup> Paulo de Frontin com a tarefa de aplicar semanalmente inseticida por termonebulização, segundo ordens do proprietário, e residia no próprio local de trabalho.

O quarto caso foi de um senhor apresentando duas lesões cicatrizadas espontaneamente, uma em cada braço. Este senhor desenvolveu as lesões na época em que dormia na casa da filha, no bairro Águas Claras, no município de Mendes. Sua filha também havia sido acometida de LTA na própria residência e já se encontrava tratada quando entrevistada (BUSTAMANTE, 2004). Este senhor trabalhava em uma colônia de férias e lá não havia animais na ocasião do estudo. Após exame clínico pela dermatologista, foi encaminhado à Fiocruz para diagnóstico e acompanhamento médico.

Nenhum dos quatro acometidos jamais viu lesões semelhantes às suas em outros moradores ou animais em Eng<sup>o</sup> Paulo de Frontin. Todos os participantes do presente estudo relataram jamais terem visto lesões leishmanióticas em qualquer animal, seja doméstico ou silvestre, ainda que diversas fotografias lhes tenham sido mostradas.

Das quarenta e sete unidades familiares visitadas foram coletadas amostras de sangue de cães em 50 % delas, correspondendo a 39 cães, todos adultos e morando há mais de dois anos na residência de seus donos. Dez cães apresentaram reações positivas, de baixa e média intensidades, sendo um positivo apenas ao ELISA (DO= 0,537), oito apenas à IFI e um, positivo às duas técnicas (DO= 0,431 e reagente até 1:40). Vinte e nove (74,36%) foram negativos para ambas. O cão que foi positivo às duas técnicas apresentava-se assintomático e sem lesões ou cicatrizes sugestivas na ocasião da coleta, assim como todos os demais cães investigados. Seis cães foram reagentes até 1:40 e três até 1:80, pela IFI.

Na tabela 6 estão os resultados de exames humanos e caninos das duas únicas residências nas quais houve presença de casos positivos em ambas as espécies.

Tabela 6. Pareamento de resultados positivos caninos e humanos, em dois domicílios, por bairro e tipo de exame para Leishmaniose Tegumentar Americana. Município de Engenheiro Paulo de Frontin, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

CASA/ BAIRRO	CANINOS (CA)			HUMANOS (H)		
	NºCADASTRO	IFI	ELISA	NºCADASTRO	IFI	ELISA
08/Barreira	CA 020	NEG	POS (0,537)	H 13	NEG	NEG
				H 21	NEG	NEG
				H 22	POS (ATÉ 1:40)	NEG
				H 25	NEG	NEG
20/M. Azul	CA 028	POS (ATÉ 1:80)	NEG	H 34	NEG	NEG
	CA 029	POS (ATÉ 1:40)	NEG	H 69	NEG	NEG
	CA 030	POS (ATÉ 1:40)	NEG	H 70	NEG	NEG
	CA 031	NEG	NEG	H 73	NEG	NEG
	CA 032	NEG	NEG	H 74	NEG	NEG
				H 75	NEG	POS (0,747)
				H 80	NEG	NEG

Tanto em humanos como em cães, resultados falso-positivos são explicados por reações inespecíficas ou cruzadas, devido à esporotricose, babesiose, micoses, tripanosomoses e outras doenças infecciosas (LIMA BARROS et al., 2005; RIBEIRO et al., 2007). Principalmente a IFI, que utilizou antígeno não-homólogo, pode resultar em reação cruzada com infecções por *Ehrlichia canis* (FERREIRA et al., 2007), de prevalência desconhecida na população canina do município. Estudos epidemiológicos encontraram percentuais de infecção natural para erliquiose de 31,2% (AGUIAR, 2006) e de 36% (CARLOS et al., 2007).

A IFI é considerada a técnica de maior especificidade e o ELISA a de maior sensibilidade para LTA. As positivities em áreas endêmicas podem ser baixas e discordantes dos isolamentos (BARBOSA et al., 1999) ou até mesmo nulas (SAVANI et al., 1999) sendo sua aplicação, de forma isolada, questionável (UCHÔA et al., 2001). Pode não haver relação entre os diagnósticos sorológicos, detecção de DNA do parasita no sangue de caninos e a presença de lesões ativas (VELASQUEZ et al., 2006). Positividades de até 40% a IFI já foram relatadas em cães assintomáticos (SILVEIRA et al., 1996), sendo que Uchôa et al. (2001) encontraram cerca de 24,5% de positividade ao ELISA juntamente com IFI negativa.

Por outro lado, os percentuais de positividade revelados neste estudo pela IFI e pelo ELISA, se referentes a infecções verdadeiras, são um indicativo de alerta, pois a ausência de sintomatologia pode estar mascarando uma transmissão vetorial ativa. Estudos prospectivos devem ser conduzidos de forma a verificar o desenvolvimento ou não de sintomas nos seres humanos e animais com resultados positivos.

#### 4.2 Registro Ambiental

Os 47 domicílios estudados eram de alvenaria e distribuíram-se da seguinte forma: 14 (30%) na área urbana, seis (13%) na suburbana, 14 (30%) na rural e 13 (27%) na de expansão urbana, compreendendo esta última as áreas de sítios e chácaras de porte pequeno a médio, próximas umas das outras e deslocadas dos centros urbanos.

O número de moradores em cada domicílio estudado foi de um a três em 24 (51%), de quatro a seis em 19 (40,5%) e de sete ou mais em quatro (8,5%). O número de moradores por habitação foi relacionado ao risco de adoecimento por Sabroza (1981). As medidas de proteção adotadas nas residências pelos moradores estão descritas na Tabela 7.

Tabela 7. Medidas de proteção contra picadas de insetos à noite adotadas pelos entrevistados. Município de Eng<sup>o</sup> Paulo de Frontin, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

MEDIDAS DE PROTEÇÃO	FREQUÊNCIA	
	ABSOLUTA	RELATIVA (%)
REPELENTES ELÉTRICOS	5	10,5
REPELENTES DE QUEIMAR	6	13
INSETICIDAS ASPERGIDOS	7	15
COMBINA 2 OU +	2	4
QUEIMA MATERIAL	0	-
REPELENTES CUTÂNEOS	6	13
NÃO USA REPELENTE	21	44,5

Apenas em quatro (8,5%) dos domicílios havia telas nas janelas. As luzes permaneciam acesas à noite em 30 (64%) moradias, sendo que nove (19%) as mantinham acesas no exterior, 20 (42,5%) no interior e um (2%) em ambos locais.

A vegetação situava-se distante das paredes externas de 23 (49%) domicílios, próxima em 20 (42,5%) e encostada em quatro (8,5%). Em 36 (76,5%) casas a vegetação circundante era medianamente densa, esparsa em cinco (10,5%) e densa em seis (13%). Apenas em uma

das residências houve alteração substancial da vegetação circundante, que reduziu de média a esparsa, poucos anos antes da realização da entrevista.

Todas as residências possuíam animais domésticos. Em 10 (21%) algum animal dormia dentro de casa. Dezesesseis (34%) tinham abrigos animais contíguos às paredes externas. Dentro de casa os moradores percebiam a presença, ainda que esporádica, de ratos em 11 (23,5%), morcegos em sete (15%) e ambos em três (6,5%) dos domicílios. Nos demais quintais, a presença de animais sinantrópicos e silvestres está descrita na Tabela 8. Nos demais, estes animais não foram percebidos.

Tabela 8. Presença de animais sinantrópicos e silvestres nos quintais dos domicílios dos entrevistados. Município de Eng° Paulo de Frontin, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

ANIMAIS SINANTRÓPICOS E SILVESTRES	FREQUENCIA	
	ABSOLUTA	RELATIVA (%)
Ratos	1	2
Morcegos	6	13
Animais Silvestres	2	4
Ratos e Morcegos	7	15
Ratos e Animais Silvestres	7	15
Animais Silvestres e Morcegos	4	8,5
Ratos, Animais Silvestres e Morcegos	13	27

A presença no peridomicílio e distância entre a casa e os abrigos animais, tipo de vegetação e componentes naturais está disposta na Tabela 9.

Tabela 9. Frequência absoluta de componentes naturais e antrópicos no peridomicílio e cercanias das residências, em relação à distância em metros da moradia dos entrevistados. Município de Eng° Paulo de Frontin, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

DISTANCIA (m)	COMPONENTES NATURAIS E ANTRÓPICOS							
	GALINHEIRO	BANANEIRAS	MATA	FRUTÍFERAS	POCILGA	CURRAL	FONTE/ CÓRREGO	BAMBÚS
< 50	32	25	12	25	1	4	25	3
50 – 200	7	21	23	18	4	6	12	5
> 200	0	1	10	0	0	2	2	0
> 500	0	0	2	0	0	0	0	0
TOTAL	39	47	47	43	5	12	39	8

A presença de animais domésticos nos domicílios e cercanias dos domicílios dos voluntários encontra-se registrada na figura 6.

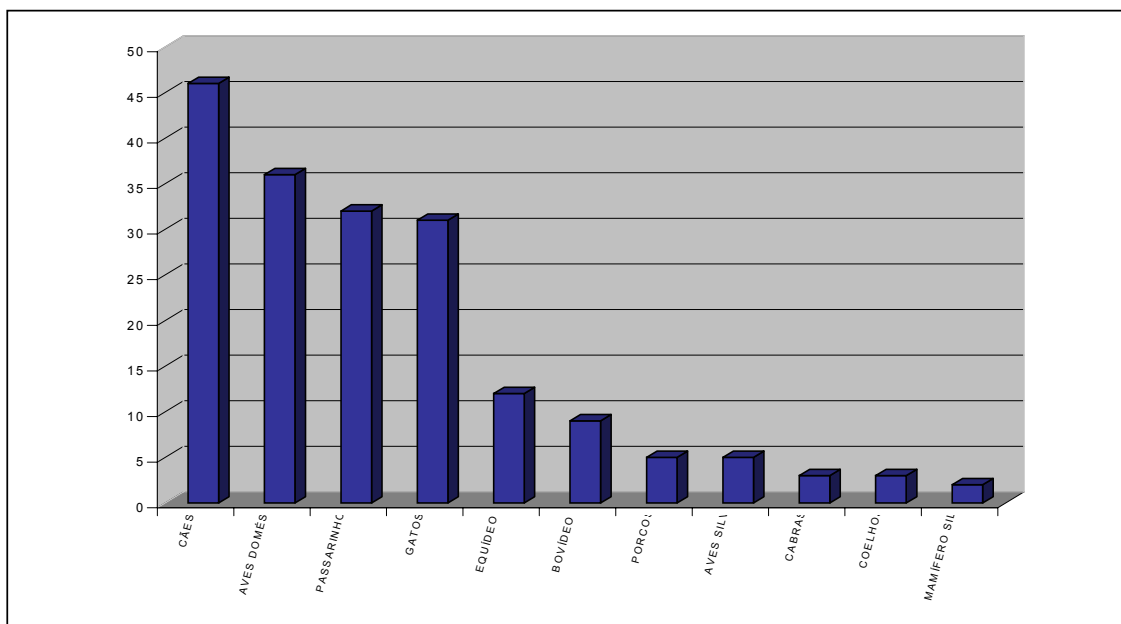


Figura 6. Número de domicílios de entrevistados com presença de animais, por grupo. Município de Eng<sup>o</sup> Paulo de Frontin, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

Em 13 (27%) domicílios havia horta e em todas estas se utilizava esterco animal como adubo. O destino dado às fezes humanas e animais é descrito na tabela 10.

Tabela 10. Destinação dada às fezes humanas e animais, nas residências dos entrevistados. Município de Eng<sup>o</sup> Paulo de Frontin, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

FEZES	DESTINAÇÃO DOS DEJETOS							
	ESGOTO	SUMIDOURO	CÉU ABERTO	CURSO D'ÁGUA	ABANDONA	ENTERRA	LIXO	TERRENO BALDIO
Humanas	10	9	4	24	-	-	-	-
Animais	-	2	-	6	8	3	7	21

Fatores ambientais considerados de risco, como bananeiras, abrigos animais, mata, estiveram presentes nas cercanias de praticamente todas as moradias dos entrevistados, evidenciando que sua presença por si só não é fator determinante para a existência da enfermidade.

#### 4.3 Inquérito Entomológico

As capturas resultaram no encontro de sete espécies de flebotomíneos, num total de 363 espécimes conforme a Tabela 11. A espécie mais numerosa foi *Lutzomyia migonei*, seguida de *L. intermedia*.



Tabela 11. Espécimes do gênero *Lutzomyia*, segundo o sexo, capturados em armadilhas luminosas entre março de 2006 e março de 2007. Município de Eng° Paulo de Frontin, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

		ESPÉCIMES/ ESPÉCIES						
SEXO		<i>L. migonei</i>	<i>L. intermedia</i>	<i>L. fischeri</i>	<i>L. hirsuta</i>	<i>L. monticola</i>	<i>L. shannoni</i>	<i>L.edwardsei</i>
Machos		179	56	21	2	0	0	0
Fêmeas		35	20	36	6	6	1	1
Total		<b>214</b>	<b>76</b>	<b>57</b>	<b>8</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
		<b>(58,95%)</b>	<b>(20,94%)</b>	<b>(15,70%)</b>	<b>(2,20%)</b>	<b>(1,65%)</b>	<b>(0,28%)</b>	<b>(0,28%)</b>

Quanto aos locais de captura, os galinheiros fechados foram onde se capturaram 311 espécimes, correspondendo a 85,7% do total. Em galinheiros abertos se capturaram apenas dois espécimes; em currais, quatro espécimes e, na borda da mata, 46. Sua distribuição está contemplada na tabela 12.

A espécie mais freqüente, *L. migonei*, já foi encontrada naturalmente infectada por leishmânias (PESSÔA; PESTANA, 1940; AZEVEDO; RANGEL, 1991; AZEVEDO et al., 1990; PITA-PEREIRA et al., 2005), bem como teve sua capacidade infectiva comprovada experimentalmente (NIEVES; PIMENTA, 2000). A colonização de galinheiros por esta espécie foi relatada há tempos (GOMES et al., 1978), encontrando-se neste tipo de abrigo número elevado de indivíduos (TEODORO et al., 1993; TEODORO; KUHLE, 1997; SILVA et al., 2004). É atraída avidamente pelo cão e pelo ser humano em diversos ambientes, inclusive no intra-domicílio (FALQUETO, 1995), mas sua cinofília acentuada pode indicar que esteja mais envolvida com o ciclo de transmissão canino (RANGEL et al., 1986).

Das espécies encontradas, *L. intermedia* é a mais importante do ponto de vista epidemiológico, devido a seu envolvimento com surtos de LTA. Sua população encontra-se sempre elevada e dominante em relação às dos demais flebotomíneos nas áreas de ocorrência da doença humana, podendo mostrar-se predominante – superando comumente 90% dos espécimes coletados - tanto no ambiente antrópico como no florestal (FORATTINI et al., 1976; LIMA et al., 1988; RANGEL et al., 1990; BRITO et al., 2002). Sua adaptabilidade ao ambiente modificado se verifica não só pela sua dominância nas capturas, mas pelo achado de formas imaturas emergentes em solo de pocilgas, demonstrando a colonização de áreas não florestais (FORATTINI, 1953). A fácil dispersão de *L. intermedia* para o ambiente antrópico é também conseqüência de sua elevada antropofilia, o que lhe proporciona vantagem sobre os outros flebotomíneos que não praticam hematofagia no ser humano (GOMES et al., 1983). Em regiões onde há prevalência de outra espécie antropofílica dominante, como *L. whitmani*, sua população decresce ou é imperceptível (SHERLOCK et al., 1996; LUZ et al., 2001; SOUZA et al., 2005; MUNIZ et al., 2006).

*Lutzomyia fischeri* apresenta hábitos antropofílicos e é considerada vetor potencial da LTA. É encontrada tanto em ambiente florestal quanto no peri e intra-domicílio (GOMES; GALATI, 1977; SOUZA et al., 2003), a despeito de ocorrer fora do ambiente silvestre em menor número que a *L. intermedia*. Sua valência inspira atenção, devido ao risco de futura adaptação a ambientes modificados e à elevada atração pelo ser humano (GOMES et al., 1989; FALQUETO, 1995; LUZ et al., 2001).

Tabela 12. Número de espécimes por espécie de *Lutzomyia* capturados em doze horas de atividade de cada armadilha luminosa, segundo sexo, bairro, local e data de captura. Município de Eng<sup>o</sup> Paulo de Frontin, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

Bairro – PSF	Data	Espécimes/ Espécies/														Local de captura	
		<i>L. intermedia</i>		<i>L. migonei</i>		<i>L. fischeri</i>		<i>L. hirsuta</i>		<i>L. shannoni</i>		<i>L. edwardsi</i>		<i>L. monticola</i>			
		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F		Total
PALMAS – SACRA FAMÍLIA	12/12/06	26	7	74	23	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	134	GALINHEIRO FECHADO
PALMAS – SACRA FAMÍLIA	19/3/07	5	1	29	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	38	GALINHEIRO FECHADO
CENTRO- SACRA FAMÍLIA	12/12/06	0	1	0	1	0	0	1	2	0	0	0	0	0	3	8	BORDA DA MATA GALINHEIRO
GRAMINHA- SACRA FAMÍLIA	20/3/07	1	0	13	3	1	3	1	0	0	0	0	0	0	0	22	FECHADO GALINHEIRO
GRAMINHA- SACRA FAMÍLIA	20/3/07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ABERTO GALINHEIRO
MORRO AZUL - MORRO AZUL	19/3/07	6	0	19	0	1	4	0	0	0	0	0	1	0	0	31	FECHADO GALINHEIRO
MORRO AZUL – MORRO AZUL	11/12/06	2	7	6	1	11	7	0	0	0	1	0	0	0	3	38	BORDA DA MATA GALINHEIRO
MORRO AZUL - MORRO AZUL	11/12/06	14	3	38	6	7	17	0	1	0	0	0	0	0	0	86	FECHADO GALINHEIRO
ADRIANINO- BARREIRA	21/3/07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	GALINHEIRO ABERTO
PALMEIRA DA SERRA	22/3/07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	GALINHEIRO ABERTO
RAMALHO – RAMALHO	22/03/07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	CURRAL ABERTO
LAGOA AZUL – BARREIRA	8/3/06	1	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	4	ABERTO CURRAL
LAGOA AZUL- BARREIRA	8/3/06	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	ABERTO GALINHEIRO
<b>TOTAL</b>		<b>56</b>	<b>20</b>	<b>179</b>	<b>35</b>	<b>21</b>	<b>36</b>	<b>2</b>	<b>6</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>6</b>	<b>363</b>	

*Lutzomyia shannoni* é um importante vetor do vírus da Estomatite Vesicular (VSV) para bovinos e ovelhas (COMER et al, 1994). Apesar de esta espécie se infectar experimentalmente com leishmânias, pouco se sabe sobre seu ciclo de vida na natureza, seu papel na transmissão da LTA e sua possível taxa de infecção natural (FERRO et al, 1998). Esta espécie já foi capturada em matas do Paraná, São Paulo, e do Espírito Santo (GOMES; GALATI, 1977; GOMES; GALATI, 1989; FALQUETO, 1995), em peridomicílios (PARDO et al., 1996), dentro de moradias e em armadilhas com isca humana (ALEXANDER et al., 1992; LUZ et al., 2001).

*Lutzomyia monticola* costuma aparecer em número baixo ou inexpressivo nas armadilhas (GOMES; GALATI, 1977; GOMES et al., 1989) e, apesar de já ter sido capturada com isca humana na mata em número superior ao de *L. intermedia* (LUZ et al., 2001; SOUZA et al., 2005), demonstra maior atração por animais silvestres (FALQUETO, 1995).

*Lutzomyia hirsuta* já foi encontrada infectada com *L. (V.) braziliensis* (RANGEL et al., 1985), porém, é fracamente atraída pelo ser humano (FALQUETO, 1995).

*Lutzomyia edwardsi* é fortemente atraída por animais silvestres e, apesar de parecer não ter envolvimento com a transmissão de LTA (FALQUETO, 1995), já foi encontrada parasitada por *L. (V.) braziliensis* (SUPERINTENDÊNCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS, 2005).

O tempo total de captura compreendeu 156 horas, com rendimento médio de 2,3 flebotomíneos/hora por armadilha, resultado similar ao encontrado em áreas de transmissão de LTA, utilizando procedimentos semelhantes aos deste estudo, com valores variando de

0,99 (BRITO et al., 2002) a 3,2 (DOMINGOS et al., 1998). Já Aguiar et al. (1996), utilizando a mesma metodologia, verificaram significativa diferença de rendimentos em armadilhas posicionadas em diferentes altitudes, resultando em 16,43 flebotomíneos/hora a 100m de altitude e 2,02 flebotomíneos/hora a 300m de altitude.

A alta densidade populacional de *L. intermedia* tem acompanhado os surtos de LTA em diversas regiões e seu declínio é concorrente com a queda nas notificações de casos humanos (GOMES et al., 1986). Além de invadir o intradomicílio, tem sido encontrada predominando massivamente em galinheiros e outros abrigos animais, principalmente se localizados na borda da mata e protegidos de intempéries (GOMES et al., 1980). Por outro lado, sua baixa população em ambientes de mata preservada, onde há maior diversidade de flebotomíneos, coincide com a ausência da doença, mesmo entre pessoas que freqüentam a floresta há anos (GOMES; GALATI, 1989). Pode-se, então, verificar dois distintos perfis nas florestas preservadas: um, no qual já estão presentes e abundantes as espécies potencialmente vetoras, que permitem e incrementam o processo de transmissão da LTA, e outro, onde a ocorrência destas espécies é nula ou baixa (GOMES; GALATI, 1989). Neste último ambiente, não se verifica circulação do parasita.

O pressuposto acima explica porque determinadas áreas de mata não são fonte de infecção natural para o ser humano. Neste estudo pôde-se verificar que a extensa cobertura florestal parece atuar como fator limitante à ocorrência e dispersão da LTA através da manutenção da biodiversidade no ambiente circundante. Provavelmente esta proteção se deva à disputa inter-específica entre flebotomíneos e à preservação de seus eventuais predadores naturais. Como a floresta em Eng<sup>o</sup> Paulo de Frontin está distribuída em grandes porções interligadas, as populações animais podem transitar, se reproduzir e se manter sob condições adequadas.

Já em áreas onde a floresta foi praticamente destruída e restam apenas fragmentos de mata residual, o risco de infecção é grande, pois estas matas mantêm pequenas comunidades de reservatórios e vetores que não conseguem sobreviver à custa de fontes alimentares naturais e buscam o peridomicílio humano para tanto (GOMES et al., 1980). O comprometimento da biodiversidade e o oferecimento de alimento através de plantações não sustentáveis, criatórios animais insalubres e despejo de lixo e restos de comida no entorno das residências, característicos de situações de exclusão social, propiciam o aumento da população de roedores e de vetores, agravado pela destruição ou fuga de seus predadores. Tal quadro é mais associado à ocorrência de LTA do que a habitação próxima a áreas florestais preservadas e em equilíbrio. Variações climáticas como a ENSO (El Nino Southern Oscillation) contribuem para agravar esta situação, uma vez que sua influência é maior em áreas degradadas ou plantações extensas do que sobre florestas (CHAVES; PASCUAL, 2006).

A atração mais intensa pelo ser humano que por animais silvestres, exibida pelos flebotomíneos em armadilhas e capturas, pode ser atribuída à sua maior massa e liberação de CO<sub>2</sub> em relação a animais menores, distorcendo as conclusões. Além da influência do odor do hospedeiro, a agregação de vários animais de mesma espécie nos abrigos explicaria o grande número de flebotomíneos convergindo para o local, já que a eliminação de CO<sub>2</sub> torna-se maior pelo conjunto (ALEXANDER et al., 2002). No presente estudo, possivelmente em função da grande quantidade de galinhas e da pouca circulação de ar nos galinheiros fechados (todas as paredes de alvenaria), tanto o odor quanto a emissão de CO<sub>2</sub> tenham servido como fortes atrativos aos flebotomíneos, justificando a captura de um número de espécimes muito superior ao de armadilhas em outros locais. Contribui para isto, também, o fato destes galinheiros não serem limpos e lavados com freqüência, apresentando uma grossa camada de excrementos de galinhas sobre o piso. Esta grande quantidade de material orgânico não só exala pronunciado cheiro, como serve de substrato para a reprodução de vetores. A ausência de calor e de odores fortes e a exposição da matéria orgânica ao sol e à chuva, ou sua

constante remoção por lavagens diárias provavelmente é a causa das capturas negativas nos três galinheiros abertos (apenas telados) onde se instalaram armadilhas.

Galinhões iluminados podem auxiliar na profilaxia da LTA, uma vez que funcionam como locais de atração para flebotomíneos (TEODORO et al., 2007) e as galinhas são refratárias à infecção por leishmânias (ALEXANDER et al., 2002). Sendo o sangue das galinhas diferente do sangue dos mamíferos, apresentando eritrócitos nucleados, menores valores de hemoglobina e hematócrito, os flebotomíneos devem ingerir maiores quantidades em função de sua baixa concentração de nutrientes. Entretanto, esta ingestão é limitada pela incapacidade de expulsão de partes não aproveitáveis do sangue durante seu repasto (READY, 1979). Em experimentos com flebotomíneos do Velho Mundo verificou-se que a ingestão de sangue de perus resultou em destruição das leishmânias que colonizavam seu trato digestivo, em função da ativação das DNases (SCHLEIN et al., 1983). Tal efeito não foi verificado nas condições do Novo Mundo, utilizando-se *Lutzomyia migonei* infectada com *L. (V.) braziliensis* e alimentada com diversas fontes sanguíneas, entre elas pintos e galinhas (NIEVES; PIMENTA, 2002).

Assim, posteriores estudos devem ser conduzidos para verificação da utilidade dos galinheiros como barreiras zooprofiláticas, uma vez que a presença e densidade de animais no peridomicílio também funcionam atraindo e alimentando os flebotomíneos (TEODORO et al., 1993). De qualquer forma, sua localização deve ser sempre entre a mata e a residência, e distante desta o quanto possível, de forma a manter os flebotomíneos atraídos longe da casa. Os excrementos devem ser regularmente removidos e expostos ao sol ou à fermentação, para que sejam inviáveis à eclosão dos ovos porventura neles depositados.

As capturas para verificação de infecção por *L. (V.) braziliensis* deram-se nos dois distritos com maior número de espécimes capturados anteriormente. Em Morro Azul foram coletados 17 *pools* de machos (170 insetos) e 11 *pools* de fêmeas (110 insetos), dos quais quatro *pools* foram positivos. Considerando que pelo menos um flebotomíneo foi positivo por tubo, a taxa de infecção natural correspondeu a 3,6% (4/110). Em Sacra Família, foram coletados nove *pools* de machos (90 insetos) e seis *pools* de fêmeas (60 insetos), dos quais três *pools* foram positivos. Pelo mesmo procedimento de cálculo, resultou em uma taxa de infecção natural de 5% (3/60). Todos os *pools* de machos foram negativos e serviram de controle. Estes valores são superiores aos registrados em áreas de transmissão ativa de LTA (MIRANDA et al., 2002; PITA-PEREIRA et al., 2005; OLIVEIRA-PEREIRA et al., 2006).

Aliam-se ao equilíbrio populacional, outros fatores que permitem o achado de taxas de infecção tão elevadas na ausência da enfermidade.

Pesquisas recentes revelaram a capacidade de resposta imunológica dos insetos através de defesas humorais, com a produção de peptídeos antimicrobianos, enzimas e proteínas, e celulares, com a ativação de mecanismos de fagocitose e encapsulamento mediados por hemócitos (células sanguíneas da hemolinfa) que são morfológica, molecular, antigênica e funcionalmente distintos (STRAND, 2008). O modelo mais estudado é o da *Drosophila*. Nesta espécie, os hemócitos se dividem em: 1) plasmócitos, com atividade fagocitária, 2) células cristalinas, que contêm enzimas necessárias aos processos de melanização e morte dos patógenos, e 3) lamelócitos, que encapsulam o microorganismo invasor (MELSTER; LAGUEUX, 2003). Ainda que *Drosophila* exiba apenas imunidade inata, dispõe de peptídeos antimicrobianos específicos contra fungos (a drosomicina), contra bactérias Gram-positivas (a defensina), e contra bactérias Gram-negativas (a dipterocina) (KANEKO; SILVERMAN, 2005). Os eicosanóides, a cujo grupo pertencem as prostaglandinas, mediam as reações de microgranulação e nodulação nas infecções bacterianas, tendo sua síntese aumentada pouco após a introdução do patógeno (STANLEY et al., 2002).

Diferentes compartimentos, órgãos e tipos de células desenvolvem funções imunes especializadas e conjuntamente protegem contra microorganismos infecciosos. Nos estudos sobre malária, a resistência de linhagens de *Anopheles* à invasão pelos plasmódios é verificada pela observação de grandes perdas numéricas dos parasitas durante as subseqüentes etapas invasivas, atribuídas à atuação de genes de defesa específicos (CHEN et al., 2008). Esta capacidade de destruição total dos plasmódios infectantes leva à conclusão de que há linhagens de anofelinos refratárias à infecção dos protozoários. No *A. gambiae*, a gambicina é ativa contra o agente da malária, ajudando a promover sua total eliminação (DIMOPOULOS, 2003).

Essa capacidade de resposta e eliminação poderia explicar a detecção de fragmentos de DNA de *L. (V.) braziliensis* nos flebotomíneos, sem que, entretanto, haja agentes viáveis, a exemplo do que ocorre quando se utiliza este teste diagnóstico em outras infecções humanas (De WIT et al., 1991; CHEMOULLI et al., 1996; IZUMI, 1999; CUNHA, 2003; WECKX, 2004). Ou seja, a positividade à reação em cadeia de polimerase não seria evidência unicamente de infecção ativa, mas, também, de contatos passados e restos de agentes microbianos presentes no hospedeiro.

Altos níveis de infecção podem afetar seriamente a saúde do inseto, levando-o frequentemente à morte, sendo uma infecção baixa a que maiores chances tem de obter sucesso na transmissão do agente. A infecção pode causar danos orgânicos, disfunções em órgãos ou tecidos, anorexia ou incapacidade de alimentar-se, infertilidade, redução na taxa de crescimento; mesmo diarreia é observada em casos de infecção com *Vibrio cholerae* e *Yersinia pseudotuberculosis* (SHIRAZU-HIZA; SCHNEIDER, 2007).

Nos flebotomíneos, a ingestão de açúcares facilita a infecção e o desenvolvimento das leishmânias, enquanto que uma dieta constante de sangue o inibe, provavelmente porque componentes do sangue inativam as enzimas quitinolíticas produzidas pelo protozoário. Estas enzimas danificam a válvula cárdica do estômago do inseto impedindo-o de se alimentar de forma plena, já que o conteúdo gástrico é regurgitado – juntamente com os parasitas - por conta do mau fechamento da válvula (SCHLEIN et al., 1992).

Como explicação à fonte de infecção de *L. (V.) braziliensis* para os flebotomíneos, é importante lembrar que o município de Eng<sup>o</sup> Paulo de Frontin acha-se cercado por municípios endêmicos ou onde a doença já foi registrada. Animais silvestres infectados, como roedores, podem se deslocar dentro das matas e carrear o agente, transmitindo-o aos flebotomíneos.

Com base nos achados acima é possível supor que determinadas populações de flebotomíneos tenham a capacidade inata de destruição das leishmânias antes do início do processo de adocimento do inseto. A positividade destes insetos detectada neste estudo indica que os flebotomíneos de Eng<sup>o</sup> Paulo de Frontin tiveram contato recente com *L. (V.) braziliensis*, uma vez que seu tempo de vida na natureza é estimado em 45 dias. Entretanto, o fato de não terem sido encontrados casos autóctones humanos ou animais no município é um indicativo de que as populações locais de flebotomíneos estão de fato em situação de equilíbrio e saúde. Assim como situações de estresse comprometem a capacidade de resposta frente aos microorganismos em animais superiores, também os insetos sujeitam-se às mesmas pressões por excesso populacional, escassez de alimento, utilização de fontes alimentares não adequadas, disputa por abrigo, entre outras (VON ZUBEN, 2000). A conservação das áreas florestais do município mantém a disponibilidade de alimentos, espaço físico e predadores naturais e promove situações normais de competição intra e interespecífica.

Sob este novo enfoque, o papel do flebotomíneo, assim como o de todos os insetos potencialmente vetores, não é o de mero carreador de patógenos, ou seja, ele não atua apenas como uma “probóscide infectada”. Antes, interage e reage aos microorganismos que não só o invadem, mas também o adoecem. Desta forma, os estudos epidemiológicos, os modelos de dispersão de doenças vetoriais e o conceito de equilíbrio ambiental devem levar em conta as

interações insetos-patógenos peculiares a cada espécie. É preciso ver o inseto como mais um animal a adoecer no ciclo da enfermidade e considerar com seriedade o aprofundamento de estudos sobre seu processo saúde-doença e sobre as estirpes refratárias.

## 5 CONCLUSÕES

O perfil dos entrevistados em Eng<sup>o</sup> Paulo de Frontin não difere do de outras populações de áreas endêmicas.

Embora não tenham sido encontrados casos autóctones, seja em humanos ou em animais, os resultados do inquérito epidemiológico não permitem afirmar, de forma inequívoca, que não ocorre transmissão ativa de *L. (V.) braziliensis* no município.

É possível que, neste cenário de equilíbrio com o ambiente, as populações potencialmente vetoras, mesmo que infectadas com *L. (V.) braziliensis*, consigam apresentar resposta imunológica suficiente para interromper a transmissão do agente.

Provavelmente, a extensa e preservada cobertura de mata do município é responsável pela manutenção deste equilíbrio, permitindo competições inter e intraespecíficas, bem como a alimentação dos flebotomíneos sobre animais silvestres, reduzindo sua busca por alimento fora do ambiente florestal.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A despeito da aparente estabilidade, o município é circundado por municípios endêmicos e tem por vizinho o município de Vassouras, cuja incidência de LTA responde por mais da metade dos casos da Região Centro-Sul. Esta zona limítrofe é justamente a mais vulnerável, por conta do desmatamento e formação de capoeiras e matas secundárias isoladas e de pequeno porte .

Como a cobertura de mata preservada aparenta atuar como barreira à proliferação e dispersão das espécies antropofílicas vetorais, é recomendável sua manutenção e propagação, principalmente nas áreas limítrofes degradadas. Porém, é fundamental um estudo ecológico mais acurado para que não se formem fragmentos isolados, que poderiam abrigar flebotomíneos, mas não ofereceriam também animais silvestres e predadores, obtendo efeito inverso ao desejado. A legislação municipal de conservação florestal é muito respeitada pelos municípios e é importante que ações no sentido de sua aplicação sejam promovidas e mantidas.

É recomendável vigilância ativa epidemiológica, entomológica e ambiental para detectar precocemente alterações no ambiente que possam acarretar em mudanças na densidade e variedade populacional dos flebotomíneos e o eventual surgimento de casos animais ou humanos, permitindo a adoção de medidas profiláticas. Estudos prospectivos devem ser conduzidos para melhor observação e entendimento das mudanças que poderão ocorrer nas relações entre vetores, hospedeiros e ambiente, resultando em instabilidade e doença.

O papel dos insetos como vetores ou barreiras sanitárias à dispersão de enfermidades vetoriais precisa ser mais discutido e é desejável que esta discussão se dê em fóruns científicos multiprofissionais, com a participação de epidemiologistas, clínicos, sanitaristas, entomologistas, ecólogos e outros envolvidos em estudos eco-epidemiológicos, para que haja interlocução entre as diversas áreas de pesquisa e atuação, avaliação trans-setorial dos conhecimentos e adoção conjunta de práticas preventivas e corretivas.



## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P. ; SZIFRES, B. Leishmaniasis Cutanea.. In : ACHA, P.; SZIFRES, B *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. 2ª ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 1989. p. 615-626

AGUIAR, D. M. de. *Aspectos epidemiológicos da erliquiose canina no Brasil*. 2006. 95 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses)-Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

AGUIAR, G.M., MEDEIROS, W.M., DE MARCO, T.S., SANTOS, S.C. ; GAMBARDELLA, S. Ecologia dos flebotômíneos da Serra do Mar, Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro, Brazil. I – A fauna flebotomínica e a prevalência pelo local e tipo de captura (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Cad. Saúde Públ.*, v. 12, n. 2, p. 195-206, 1996.

AGUILAR, C. M. *Estudos sobre a leishmaniose tegumentar americana em focos da Venezuela e do Brasil. Participação dos animais domésticos na transmissão*. 1987. 96 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) - Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1987.

ALEXANDER, J.B.; FERRO, C.; YOUNG, D.G.; MORALES, A.; TESH, R.B. Ecology of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a focus of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in Northeastern Colombia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 87, n.3 p. 387-395, 1992.

ALEXANDER, B.; CARVALHO, L.R.; McCALLUM, H.; PEREIRA, M.H. Role of the Domestic Chicken (*Gallus gallus*) in the Epidemiology of Urban Visceral Leishmaniasis in Brazil. *Emerg. Infect. Dis.*, v. 8, n. 12, p. 1480-5, 2002.

ALTAMIRANO-ENCISO, A.J.; MARZOCHI, M.C.A.; MOREIRA, J.S.; SCHUBACH, A.O.; MARZOCHI, K.B.F. Sobre a origem e dispersão das leishmanioses cutânea e mucosa com base em fontes históricas pré e pós-colombianas. *História, Ciências, Saúde*, v. 10, n. 2, p.: 853-882, 2003.

ARAGÃO, H. B. Leishmaniose tegumentar e sua transmissão pelos phlebotomos *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 20, n. 2, p.177-187, 1927

ASTON, D. L.; THORLEY, A.P. Leishmaniasis in Central Brazil: results of a Montenegro Skin Test survey among amerindians in the Xingu National Park. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 64, n. 5, p. 671-678, 1970.

AZEVEDO, A.C.; RANGEL, E.F. A study of sand fly species (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in a focus of cutaneous leishmaniasis in the municipality of Baturité, Ceará, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v.86, n.4, p. 405-410, 1991.

AZEVEDO, A.C.; RANGEL, E.F.; QUEIROZ, R.G. *Lutzomyia migonei* (França 1920) naturally infected with perpylarian flagellates in Baturité, a focus of cutaneous leishmaniasis in Ceará State, Brazil. *Mem Inst. Oswaldo Cruz*, v. 85, n. 4, p. 479, 1990.

BARBOSA, G.M.S.; MARZOCHI, M.C.A.; MASSARD, C.L.; LIMA, G.P.S. ; MOUTA-CONFORT, E. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana em cães, no

município de Paraty, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Cad. Saúde Públ.*, v. 15, n. 3, p. 641-646, 1999.

BARROS, G.C.; SESSA, P.A.; MATTOS, E.A.; CARIAS, V.R.D.; MAYRINK, W.; ALENCAR, J.T.A.; FALQUETO, A. ; JESUS, A.C. Foco de leishmaniose tegumentar americana nos municípios de Viana e Cariacica, Estado do Espírito Santo, Brasil. *Rev. Saúde Públ.*, v. 19, n. 2 , p. 146-153, 1985.

BARROS, M.B.L.; SCHUBACH, A.; FRANCESCONI-DO-VALE, A.C.; GUTIERREZ-GALHARDO, M.C.; SCHUBACH, T.M.P.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; SALGUEIRO, M.M.; MOUTA-CONFORT, E.; REIS, R.S.; MADEIRA, M.F.; CUZZI, T.; QUINTELLA, L.P.; PASSOS, J.P.S.; CONCEIÇÃO, M.J. ; MARZOCHI, M.C.A. Positive Montenegro skin test among patients with sporotrichosis in Rio de Janeiro. *Acta Trop.*, v. 93, n.1, p. 41-47, 2005.

BARROSO-FREITAS, A.P.T. *Diagnóstico Laboratorial da Leishmaniose Tegumentar causada por Leishmania (Viannia) braziliensis - avaliação dos parâmetros sorológicos com diferentes espécies do gênero Leishmania por Reação de Imunofluorescência Indireta e Imunoenzimática- ELISA.* 2006. 130 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2006.

BRANDÃO-FILHO, S. P. *Ecoepidemiologia da leishmaniose tegumentar americana associada à Leishmania (Viannia) braziliensis na Zona da Mata Atlântica do Estado de Pernambuco, Brasil.*2001 102 f. Tese (Doutorado em Ciências Biomédicas) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

BRITO, M.; CASANOVA, C.; MASCARINI, L.M.; WANDERLEY, D.M.V. ; CORRÊA, F.M.A. Phlebotominae (Diptera:Psychodidae) em área de transmissão de leishmaniose tegumentar americana no litoral norte do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* , v.35, n. 5, p. 431-437, 2002.

BUSTAMANTE, M.C.F S. *Perfil Epidemiológico dos Casos de Leishmaniose Tegumentar Americana, Notificados no Período de 1997 a 2002, na Região Centro-Sul do Estado do Rio de Janeiro, Brasil.* 2004. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2004.

CAMARGO-NEVES, V.L.F., GOMES, A.C.; ANTUNES, J.L.F. Correlação da presença de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) com registros de casos da leishmaniose tegumentar americana no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 35, n. 4, p. 299-306, 2002.

CAMERA, P.O.; JUNGER, J.; PIRES, F.E.S.S.; MATTOS, M.; OLIVEIRA-NETO, M.P.; FERNANDES, O.; PIRMEZ, C. Haematogenous dissemination of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in human American tegumentary leishmaniasis *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* v. 100, n. 12, p. 1112-1117, 2006.

CARLOS, R.S.A.; MUNIZ NETA, E.S.; SPAGNOL, S.H.; F.H.; OLIVEIRA, L.S.; BRITO, R.L.L.; ALBUQUERQUE,G.R.; ALMOSNY, N.R.P Frequência de anticorpos anti-Erlichia canis, Borrelia burgdorferi e antígenos de Dirofilaria immitis em cães na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil. *Rev. Bras. Parasit. Vet.*, v. 16, n. 3, p. 117-120, 2007.

CARRERA, M. Famílias Psychodidae, Simuliidae, Ceratopogonidae e Tabanidae. In: CARRERA, M. *Insetos de interesse médico e veterinário*. Curitiba: UFPR, 1991. p.111-130.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION . EPI INFO versão 3.5 Disponível em : <<http://www.cdc.gov/epiinfo/downloads.htm>> Acesso 20 nov. 2007

CHAVES, L.F. ; PASCUAL, M. Climate cycles and forecasts of cutaneous leishmaniasis, a nonstationary vector-borne disease. PLoS Med v. 3, n. 8, p. 1320-8 (e295), 2006. DOI: 10.1371/journal.pmed.0030295. Disponível em: <<http://www.plosmedicine.org>> Acesso em : 16 maio 2007.

CHEMOUILLI, P.; WOODS, S.; SAID, G. ; COLE, S.T. Detection of Mycobacterium leprae in nerve lesions by the polymerase chain reaction. *Int J lepr* ,v. 64, n.1, p.1-5, 1996.

CHEN, Y.; WENG, Z. ; ZHENG, L. Innate immunity against malaria parasites in *Anopheles gambiae*. *Insect Sci.*, v. 15, p. 45-52, 2008.

COIMBRA JR., C.E.A.; SANTOS, R.V. ; VALLE,A.C.F. Cutaneous leishmaniasis in Tupi-Mondé Amerindians from the Brazilian Amazonia. *Acta Trop.* v. 61, n.3, p. 201-211, 1996.

COMER, J.A.; KAVANAUGH, D.M.; STALLKNECHT, D.E. ; CORN, J.L. Population dynamics of *Lutzomyia shannoni* (Diptera: Psychodidae) in relation to the epizootiology of vesicular stomatitis virus on Ossabaw Island, Georgia. *J. Med. Entomol.* v.31, n.6, p. 850-854, 1994.

CORTE, A.A.; NOZAWA, M.R.; FERREIRA, M.C.; PIGNATTI, M.G.; RANGEL, O. ; LACERRA, S.S. Aspectos eco-epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana no Município de Campinas. *Cad. Saúde Públ.* v.12, n. 4, p.465-472, 1996.

COUTINHO, M.T.; BUENO, L.L.; STERZIK, A.; FUJIWARA, R.T.; BOTELHO, J.R.; DE MARIA, M.; GENARO, O.; LINARDI, P.M. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. *Vet. Parasitol.*, v. 128, n. 1-2, p. 149-155, 2005.

COUTINHO, M.T.Z.; LINARDI, P.M. Can fleas from dogs infected with canine visceral leishmaniasis transfer the infection to other mammals ? *Vet. Parasitol.*, v. 147, n. 3-4, p. 320-325, 2007.

CUNHA, F. M. B. *Reação em cadeia da polimerase (PCR) - Valor diagnóstico na hanseníase neural pura* 2003. 129 f. Tese (Doutorado em Medicina Interna)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

DE WIT, M.Y.L.; FABER, W.R.; KRIEG, S.R.; DOUGLAS, J.T.; LUCAS, S.B.; ASUWAT, N.M.; PATTYN, S.R.; HUSSAIN, R.; PONNIGHAUS, J.M.; HARTSKEERL, R.A. ; KLASTAR, P.R. Application of PCR for detection of *M. leprae* in skin tissues. *J. Clin. Microbiol.* v.29, n. 5, p. 906-910, 1991.

DOMINGOS, M.F.; CARRERI-BRUNO, G.C.; CIARAVOLO, R.M.C.; GALATI, E.A.B.; WANDERLEY, D.M.V. ; CORRÊA, F.M.A. Leishmaniose tegumentar americana:

flebotomíneos de área de transmissão, no município de Pedro de Toledo, região sul do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 31, n. 5, p.425-432, 1998.

DIMOPOULOS, George. Insect immunity and its implication in mosquito–malaria interactions. *Cellular Microb.*, v. 5, n. 1, p. 3-14, 2003.

FAGUNDES, A., MARZOCHI, K.B.F. ; MARZOCHI, M.C.A. Ocorrência de reação imediata generalizada à intradermoreação de Montenegro. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* v. 36, n. 3, p.413-414, 2003.

FALQUETO, A. *Especificidade alimentar de flebotomíneos em duas áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar no Estado do Espírito Santo*. 1995. 84 f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) -Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1995.

FERREIRA, A.L., SESSA, P.A., VAREJÃO, J.B.M. ; FALQUETO, A. Distribution of sand flies (Diptera: Psychodidae) at different altitudes in na endemic region of americam cutaneous leishmaniasis in the State of Espírito Santo, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* v. 96, n. 8, p. 1061-1067, 2001.

FERREIRA, E.C.; LANA, M.; CARNEIRO, M.; REIS, A.B.; PAES, D.V.; SILVA, E.S.; SCHALLIG, H. ; GONTIJO, C.M. Comparison of serological assays for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in animals presenting different clinical manifestations. *Vet. Parasitol.* v. 146, n. 3-4, p. 235-241, 2007.

FERRO, C.; CÁRDENAS, E.; CORREDOR, D.; MORALES, A. ; MUNSTERMANN, L.E. Life cycle and fecundity analysis of *Lutzomyia shannoni* (Dyar) (Diptera: Psychodidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* v. 93, n.2, p.195-199, 1998.

FOLADOR, I.; ARAUJO,C.; CARDOSO, M.A.; TAVARES-NETO, J.; BARRAL, A.; MIRANDA, J.C.; BITTENCOURT, A. ; CARVALHO, E.M. Surto de leishmaniose tegumentar americana em Canoa, Santo Amaro, Bahia, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* v. 32, n. 5, p. 497-506, 1999.

FORATTINI, Oswaldo, P. Nota sobre criadouros naturais de flebotomos em dependências peri-domiciliares no Estado de São Paulo. *Arq. Fac. Hig. Saúde Pública Univ. São Paulo* v. 7, n. 2, p. 157-165, 1953.

FORATTINI, Oswaldo P. Sobre os reservatórios naturais da leishmaniose tegumentar americana. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* v. 2, n. 4, p. 195-203, 1960.

FORATTINI, Oswaldo P *Entomologia médica* . 4 ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1973. 658 p

FORATTINI, O.P.; RABELLO, E.X.; SERRA, O.P.; COTRIM, M.D.; GALATI, E.A.B.; BARATA, J.M.S. Observações sobre a transmissão da leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Pública* v. 10, n.1, p. 31-43, 1976

FORMAN, R.T.T.; GODRON, M. *Landscape ecology*. New York: John Wiley e Sons, 1986. 619p.

FUNDAÇÃO CENTRO DE INFORMAÇÕES E DADOS DO RIO DE JANEIRO, 2003. Disponível em: <[http://www.cide.rj.gov.br/cide/banco\\_municipais.php](http://www.cide.rj.gov.br/cide/banco_municipais.php)>. Acesso em: 15 jun. 2003.

GITHEKO, A.K.; LINDSAY, S.W.; CONFALONIERI, U.E. ; PATZ, J.A. Climate change and vector-borne diseases: a regional analysis. *Bull World Health Organ* v. 78, n. 9, p. 1136-1147, 2000.

GLASSER, C.M. ; GOMES, A.C. Clima e sobreposição da distribuição de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* na infestação do estado de São Paulo. *Rev. Saúde Públ.*, v. 36, n.2, p.166-72, 2002.

GOMES, A.C. ; GALATI, E.A.B. Flebotomíneos de Londrina, Paraná (Brasil) e observações sobre algumas espécies. *Rev. Saúde Públ.*, v. 11, n. 2, p. 284-287, 1977.

GOMES, A.C. ; GALATI, E.A.B. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. 7 – Capacidade vetorial flebotomínea em ambiente florestal primário do sistema da Serra do Mar, Região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Públ.*, v. 23, n. 2, p. 136-142, 1989.

GOMES, A.C.; RABELLO, E.X. ; GALATI, E.A.B. Flebotomíneos encontrados em galinheiros experimentais nos estados de São Paulo e Minas Gerais (Brasil) e algumas observações ecológicas *Rev. Saúde Públ.*, v.12, n. 3, p. 403-407, 1978.

GOMES, A.C.; RABELLO, E.X.; SANTOS, J.L.F. ; GALATI, E.A.B. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana 1. Estudo experimental da frequência de flebotomíneos a ecótopos artificiais com referência especial a *Psychodopygus intermedius*. *Rev. Saúde Públ.*, v.14, n. 4, p. 540-546, 1980.

GOMES, A.C.; RABELLO, E.X.; SANTOS, J.L.F. ; GALATI, E.A.B. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana 2. ecótopo artificial como abrigo de *Psychodopygus intermedius* e observações sobre alimentação e reprodução sob influência de fatores físicos naturais. *Rev. Saúde Públ.*, v.16, n. 3, p. 149-159, 1982

GOMES, A.C.; RABELLO, E.X.; SANTOS, J.L.F. ; GALATI, E.A.B. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana 3. Observações naturais sobre o ritmo diário da atividade de *Psychodopygus intermedius* em ambiente florestal e extraflorestal. *Rev. Saúde Públ.*, v.17, n. 1, p. 23-30, 1983.

GOMES, A.C.; RABELLO, E.X.; SANTOS, J.L.F. ; GALATI, E.A.B. Ecological aspects of american cutaneous leishmaniasis 4. Observations on the endophilic behavior of the sandfly and the vectorial role of *Psychodopygus intermedius* in the Ribeira Valley Region on the São Paulo State, Brazil. *Rev. Saúde Públ.*, v.20, n. 4, p. 280-287, 1986.

GOMES, A.C.; RABELLO, E.X.; SANTOS, J.L.F. ; GALATI, E.A.B. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana 6. fauna flebotomínica antropófila de matas residuais situadas na região centro-nordeste do Estado de São Paulo, Brasil *Rev.Inst. Med. Trop. São Paulo*, v.31, n. 1, p. 32-39, 1989.

- GOMES, A.C.; RABELLO, E.X.; SANTOS, J.L.F. ; GALATI, E.A.B. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana 8. Avaliação da atividade enzoótica de *Leishmania (Viannia) braziliensis* em ambiente florestal e peridomiciliar, região do Vale da Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v.32, n. 2, p. 105-115, 1990.
- GOMES, A.C.; YAMAMOTO, Y.I.; CAPINZAIKI, A.N.; AMARAL, N.M.M. ; GUIMARÃES, A.J.G. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana 9. Prevalência/incidência da infecção humana nos municípios de Pedro de Toledo e Miracatu, São Paulo, Brasil *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v.34, n. 2, p. 149-158, 1992.
- GOMES, A.C. ; NEVES, V.L.F.C. Estratégia e perspectivas de controle da leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* v. 31, n. 6, p.553-558, 1998.
- GONTIJO, C.M.F.; SILVA, E.S.; FUCCIO, M.B.; SOUZA, M.C.A; PACHECO, R.S.; DIAS, E.S.; ANDRADE FILHO, J.D.; BRAZIL, R.P. ; MELO, M.N. Epidemiological studies of na outbrea of cutaneous leishmaniasis in the Rio Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, Brazil. *Acta Trop.*, n. 81, n. 2, p. 143-150, 2002.
- GUIMARÃES, A.E.; GENTILE, C.; LOPES, C.M. ; SANT'ANNA, A. Ecologia de mosquitos em áreas do Parque Nacional da Serra da Bocaina. II – frequência mensal e fatores climáticos. *Rev. Saúde Pública* v. 35, n. 4, p.392-399, 2001.
- HALES, S.; WET, N.; MAINDONALD, J. ; WOODWARD, A. Potential effect of population and climate changes on global distribution of dengue fever: an empirical model. *Lancet* v.360, n. 9336, p. 830-834, 2002. Disponível em: <<http://image.thelancet.com/extras/01art11175web.pdf>>. Acesso em 18 dez 2007.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA Cidades Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>Acesso em 10 out. 2008.
- IZUMI, S. Subclinical infection by *Mycobacterium leprae*. *Int J Lepr* v. 67, Suppl. 4, p. S67-S71, 1999.
- KAKITANI, I.; UENO, H.M. ; FORATTINI, O. P. Paridade e influência do vento sobre a frequência de *Anopheles marajoara*, São Paulo. *Rev. Saúde Pública* v. 37, n. 3, p. 280-4, 2003.
- KANEKO, T. ; SILVERMAN, N. Bacterial recognition and signalling by the Drosophila IMD pathway. *Cellular Microb.* v. 7, n. 4, 461-469, 2005.
- LAISON, R., SHAW, J.J., SILVEIRA, F.T., DE SOUZA, A.A.A., BRAGA, R.R.; ISHIKAWA, E.A.Y The dermal leishmaniasis of Brazil, with special reference to the Eco-epidemiology of the disease in Amazonia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 89, n. 3, p. 435 – 443. 1994.
- LEONARDO, F.S. ; REBÊLO, J.M.M. A peri-urbanização da *Lutzomyia whitmani* em área de foco de leishmaniose cutânea, no Estado do Maranhão, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* v. 37, n. 3, p. 282-284, 2004.
- LIMA, L.C. Ruralização da *Lutzomyia intermedia*, um provável caso de pré-adaptação. *Rev. Saúde Públ.*, v. 20, n. 1, p. 102-104, 1986.

LIMA, L.C.; MARZOCHI, M.C.A.; SABROZA, P.C. ; SOUZA, M.A. Observações sobre a leishmaniose tegumentar cinco anos após profilaxia. *Rev. Saúde Públ.*, v. 22, n.1, p.73-77, 1988.

LIMA BARROS, M.B.; SCHUBACH, A.; FRANCESCONI-DO-VALLE, A.C.; GUTIERREZ-GALHARDO, M.C.; SCHUBACH, T.M.; CONCEICAO-SILVA, F.; DE MATOS SALGUEIRO, M.; MOUTA-CONFORT, E.; REIS, R.S.; DE FATIMA MADEIRA, M.; CUZZI, T.; QUINTELLA, L.P.; DA SILVA PASSOS, J.P; CONCEICAO, M.J. ; DE ALMEIDA MARZOCHI, M.C. Positive Montenegro skin test among patients with sporotrichosis in Rio De Janeiro. *Acta Trop.* , v. 93, n. 1, p. 41-47, 2005.

LINDSAY, D.S.; ROSYPAL, A.C. Non-sand fly transmission of a north american isolate of *Leishmania infantum* in experimentally infected BALB/c mice *J. Parasitol.*, v. 91, n. 5, p.: 1113-1115, 2005.

LUZ, Z.M.P.; PIMENTA, D.N.; CABRAL, A.L.L.V.; FIÚZA, V.O.P. ; RABELLO, A. A urbanização das leishmanioses e a baixa resolatividade diagnóstica em municípios da Região Metropolitana de Belo Horizonte. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 34, n. 3, p. 249-254, 2001.

MANCIANTI, F; SOZZI, S. Isolation of *Leishmania* from a newborn puppy. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* v. 89, n. 4, p. 402, 1995.

MARCONDES, C.B.; SANTOS-NETO, L.G. ; LOZOVEI, A.L. Ecology of phlebotomine sandflies (Diptera, Psychodidae) in brazilian atlantic Forest. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* v. 34, n. 3, p. 255-260, 2001.

MARZOCHI, M.C.A.; MARZOCHI, K.B.F. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil – Emerging antropozoonosis and possibilities for their control. *Cad. Saúde Públ.* v. 10, Suppl. 2, p. 359-375.,1994.

MARZOCHI, MC; VILHENA, V.; BARRAL, A.; BARRAL-NETTO, M. Leishmanial infection: analysis of its first steps. A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* v. 98, n. 7, p. 861-870, 2003.

MASUCCI, M.; DE MAJO, M.; CONTARINO, R.B.; BORRUTO, G.; VITALE, F. Canine leishmaniasis in the newborn puppy. *Vet. Res. Commun.*, v. 27, suppl 1, p.: 771-774, 2003.

MAYRINK, W.; WILLIAMS, P.; COELHO, M.V.; DIAS, M.; VIANNA MARTINS, A.; MAGALHÃES, P.A.; DA COSTA, C.A.; FALCÃO, A.R.; MELO, M.N.; FALCÃO, A.L. Epidemiology of dermal leishmaniasis in the Rio Doce Valley, State of Minas Gerais, Brazil. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* , v. 73, n. 2, p: 123-137, 1979.

MELLO, D. A. Parasitic diseases in Brazil and the role of wild mammals: An analysis based on leishmaniasis, Chaga's disease and schistosomiasis mansoni. *Ciência e Cultura*, v. 43, n. 4, p. 274-278. 1991.

MELO, M.N.; MAYRINK, W.; DA COSTA, C.A.; MAGALHAES, P.A.; DIAS, M.; WILLIAMS, P.; ARAUJO, F.G.; COELHO, M.V.; BATISTA, S.M. Standardization of the Montenegro antigen. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, v. 19, n. 3, p.161-164, 1977

MELSTER, M. ; LAGUEUX, M. *Drosophila* blood cells. *Cellular Microb.*, v. 5, n. 9, p. 573-580, 2003.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Leishmaniose Tegumentar Americana. In: MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Guia de vigilância epidemiológica*. 6<sup>a</sup> ed., Brasília: Ministério da Saúde, 2005. p. 444-466.

MIRANDA, J.C.; REIS, E.; SCHRIEFER, A.; GONÇALVES, M.; REIS, M.G.; CARVALHO, L.; FERNANDES, O.; BARRAL-NETO, M. ; BARRAL, A. Frequency of infection of *Lutzomyia* phlebotomines with *Leishmania braziliensis* in a brazilian endemic area as assessed by pinpoint capture and polymerase chain reaction. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 97, n.2, p.185-188, 2002.

MOREIRA JR, E.D.; SOUZA, V.M.M.; SREENIVASAN, M.; LOPES, N.L.; BARRETO, R.B. ; CARVALHO, L.P. Peridomestic risk factors for canine leishmaniasis in urban dwellings: new findings from a prospective study in Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 69, n. 4, p. 393-397, 2003.

MUNIZ, L.H.G.; ROSSI, R.M.; NEITZKE, H.C.; MONTEIRO, W.M. ; TEODORO, U. Estudo dos hábitos alimentares de flebotomíneos em área rural no sul do Brasil. *Rev. Saúde Públ.*, v. 40, n. 6, p. 1087-1093, 2006.

NEITZKE, H.C.; SCODRO, R.B.L.; CASTRO, K.R.R.C.; SVERSUTTIL, A.C.D.; SILVEIRA, T.G.V. ; TEODORO, U. Pesquisa de infecção natural de flebotomíneos por *Leishmania*, no Estado do Paraná. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 41, n. 1, p. 17-22, 2008.

NERY-GUIMARÃES, F. Estudo de um foco de Leishmaniose mucocutânea na Baixada Fluminense (Estado do Rio de Janeiro). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Tomo 53, Fascículo 1, p. 1-11. 1955.

NEVES, V.L.F.C.; GOMES, A.C. ; ANTUNES, J.L.F. Correlação da presença de espécies de flebotomíneos (Diptera:Psychodidae) com registros de casos da leishmaniose tegumentar americana no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 35, n. 4, p. 299-306, 2002.

NIEVES, E. ; PIMENTA, P.F.P. Development of *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in the sand fly *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae). *J. Med. Entomol.*, v. 37, n. 1, p. 134-140, 2000.

NIEVES, E. ; PIMENTA, P.F.P. Influence of vertebrate blood meals on the development of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in the sand fly *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* v. 67, n.6, p. 640–647, 2002.

OLIVEIRA, A.G., FALCÃO, A.L.; BRAZIL, R.P. Primeiro encontro de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) na área urbana de Campo Grande, MS, Brasil. *Rev. Saúde Públ.*, v. 34, n. 6, p. 654-655, 2000.

OLIVEIRA, C.C.G.; LACERDA, H.G.; MARTINS, D.R.M.; BARBOSA, J.D.A.; MONTEIRO, G.R.; QUEIROZ, J.W.; SOUSA, J.M.A.; XIMENES, M.F.F.M. ; JERONIMO,



S.M.B. Changing epidemiology of american cutaneous leishmaniasis (ACL) in Brazil : a disease of the urban-rural interface. *Acta Trop.*, v. 90, .2, p. 155-162, 2004.

OLIVEIRA-NETO, M.P.; PIRMEZ, C.; RANGEL, E.; SCHUBACH, A.; GRIMALDI JÚNIOR, G. An outbreak of American cutaneous leishmaniasis (*Leishmania braziliensis braziliensis*) in a periurban area of Rio de Janeiro city, Brazil: clinical and epidemiological studies. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* v. 83, n. 4, p.:427-435, 1988.

OLIVEIRA-PEREIRA, Y.N.; MACÁRIO, J.M.; MORAES, J.L.P.; PEREIRA S.R.F. Diagnóstico molecular da taxa de infecção natural de flebotomíneos (Psychodidae, Lutzomyia) por *Leishmania sp.* na Amazônia maranhense. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* v. 39, n.6, p.:540-543, 2006.

OWENS, S.D.; OAKLEY, D.A.; MARRYOTT, K.; HATCHETT, W.; WALTON, R.; NOLAN, T.J.; NEWTON, A.; STEURER, F.; SCHANTZ, P.; GIGER, U. Transmission of visceral leishmaniasis through blood transfusions from infected English foxhounds to anemic dogs. *J Am Vet Med Assoc.* , v. 219, n. 8, p.1076-1083, 2001.

PARDO, R.H.; FARIETTA, S.; MUNSTERMANN, L.E. ; FERRO, C. Estudio preliminar de los flebotomos de Villeta y Quebradanegra (Cundinamarca), implicaciones en salud pública. *Biomedica* , v.16, n.4, p. 293-302, 1996.

PESSÔA, S.B. ; MARTINS A.V. Leishmanioses tegumentares. In PESSÔA, S.B. ; MARTINS A.V. *Parasitologia Médica*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1982. p. 79-103

PESSÔA, S.B. ; PESTANA, B.R Infecção natural do “*Flebotomus migonei*” por formas em leptomonas, provavelmente da “*Leishmania brasiliensis*”. *Acta Medica* , v. 5, p. 106-111, 1940.

PESTANA, B.R., PESSÔA, S.B. ; CORRÊA, A. Notas sobre a leishmaniose no município de Marília, São Paulo (Alta Paulista). *Folha Médica*, v. 20, p. 97-98., 1939.

PITA-PEREIRA, D.; ALVES, C.R.; SOUZA, M.B.; BRAZIL, R.P.; BERTHO, A.L.; de FIGUEIREDO BARBOSA, A. ; BRITTO, C.C. Identification of naturally infected *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia migonei* with *Leishmania (Viannia) braziliensis* in Rio de Janeiro (Brazil) revealed by a PCR multiplex non-isotopic hybridisation assay. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* v. 99, n. 12, p. 905-913, 2005.

PROENÇA, N.G. ; MULLER, H. Nota sobre a ocorrência de leishmaniose tegumentar americana na Serra da Cantareira, São Paulo, SP, Brasil. *Rev. Saúde Públ*, v. 13, n. 1, p. 56-59, 1979.

PUGEDO, H.; BARATA, R.A.; FRANÇA-SILVA, J.C.; SILVA, J.C.; DIAS, E.S. HP: um modelo aprimorado de armadilha luminosa de sucção para a captura de pequenos insetos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* v. 38, n. 1, p. 70-72, 2005.

RANGEL, E.F.; SOUZA, N.A.; WERMELINGER, E.D. ; BARBOSA, E.F. Infecção natural de *Lutzomyia intermedia* Lutz ; Neiva, 1912, em área endêmica de leishmaniose tegumentar no Estado do Rio de Janeiro. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 79, n.3, p. 395-396, 1984.

- RANGEL, E.F.; RYAN, L.; LAINSON R. ; SHAW J. Observations on the sandfly (Diptera: Psychodidae) fauna of Além Paraíba, State of Minas Gerais, Brazil, and the isolation of a parasite of the *Leishmania braziliensis* complex from *Psychodopygus hirsuta hirsuta*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* v. 80, n.3, p. 373-374, 1985.
- RANGEL, E.F.; SOUZA, N.A.; WERMELINGER, E.D.; AZEVEDO, A.C.R.; BARBOSA, A.F. ; ANDRADE, C.A. Flebótomos de Vargem Grande, foco de leishmaniose tegumentar no Estado do Rio de Janeiro. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 81, n. 3, p. 347-349, 1986.
- RANGEL, E.F.; AZEVEDO, A.C.R.; ANDRADE, C.A.; SOUZA, N.A. ; WERMELINGER, E.D. Studies on sandfly fauna (Diptera: Psychodidae) in a foci of cutaneous leishmaniasis in Mesquita, Rio de Janeiro State, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 85, n. 1, p. 39-45, 1990.
- READY, P.D. Factors affecting egg production of laboratory-bred *Lutzomyia longipalpis*. *J. Med. Entomology*, v. 16, n.5, p. 413-423, 1979.
- REITER, Paul Weather, vector biology and arboviral recrudescence. In: MONATH, T. P.(ed) *The arboviruses: Epidemiology and ecology*. Florida: CRC Press, 1988. vol 1. cap. 9. Disponível em: <<http://www.ciesin.columbia.edu/docs/001-378/001-378.html>>. Acesso em: 16 mar. 2008.
- REITHINGER, R.; DAVIES, C.R. American cutaneous leishmaniasis in domestic dogs: na example of the use of the polymerase chain reaction for mass screening in epidemiological studies. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 96, Supp 1, p. S1/123-S1/126, 2002.
- REITHINGER, R.; ESPINOZA, J.C.; LLANOS-CUENTAS, A.; DAVIES, C.R. Domestic dog ownership: a risk factor for human infection with *Leishmania (Viannia)* species. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* v. 97, n. 2, p. 141-145, 2003.
- RIBEIRO, F.C.; SCHUBACH, A.O.; MOUTA-CONFORT, E.; SCHUBACH, T.M.P.; MADEIRA, M.F. ; MARZOCHI, M.C.A. Use of ELISA employing *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Leishmania) chagasi* antigens for the detection of IgG and IgG1 and IgG2 subclasses in the diagnosis of American tegumentary leishmaniasis in dogs. *Vet. Parasitol.* v. 148, n. 3-4, p. 200-206, 2007.
- ROSYPAL, A.C.; TROY, G.C.; ZAJAC, A.M.; FRANK, G.; LINDSAY, D.S. Transplacental transmission of a north American isolate of *Leishmania infantum* in an experimentally infected beagle. *J Parasitol.* v.91, n. 4, p. 970-972, 2005
- SABROZA, Paulo C. *O domicílio como fator de risco na leishmaniose tegumentar americana*. 1981. 186 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública)- Escola Nacional de Saúde Pública - FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 1981.
- SALOMÓN, O.D.; ROSSI, G.C. ; SPINELLI, G.R. Ecological aspects of phlebotomine (Diptera, Psychodidae) in an endemic area of tegumentary leishmaniasis in the northeastern Argentina, 1993-1998. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* v. 97, n.2, p.163-168, 2002.
- SAMPAIO, Luiz F. O aparecimento, a expansão e o fim da leishmaniose no Estado de São Paulo. *Rev. Bras. Med.* v. 8, n.10, p. 717-721, 1951.

SANTA ROSA, Idael CA. *Perfil epidemiológico dos casos de Leishmaniose Tegumentar Americana notificados na Região Metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais, 1989 a 1995*. 1997. 96 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1997.

SAVANI, E.S.M.M.; GALATI, E.A.B.; CAMARGO, M.C.G.O.; D'AURIA, S.R.N.; DAMACENO, J.T. ; BALDUINO, S.A. Inquérito sorológico sobre leishmaniose tegumentar americana em cães errantes do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Públ.*, v. 33, n. 6, p. 629-631, 1999.

SCHLEIN, Y.; WARBURG, A.; SCHUR, L.F. ; SHLOMAI, J. Vector compatibility of *Phlebotomus papatasi* on differentially induced digestion. *Acta Trop* , v. 40, n.1, p. 65-70, 1983.

SCHLEIN, Y.; JACOBSON, R.L. ; MESSER, G. Leishmania infections damage the feeding mechanism of the sandfly vector and implement parasite transmission by bite. *Proc. Natl. Acad. Sci.* v. 89, n. 20, p. 9944-9948, 1992.

SCHUBACH, A., CUZZI-MAYA, T., OLIVEIRA, A.V., SARTORI, A., DE OLIVEIRA-NETO, M.P., MATTOS, M.S., ARAÚJO, M.L., SOUZA, M.J., HADDAD, F., PEREZ, M. De A., PACHECO, R.S., MOMEN, H., COUTINHO, S.G., DE ALMEIDA MARZOCHI, M.C., MARZOCHI, K.B.; De COSTA, S.C. Leishmanial antigens in the diagnosis of active lesions and ancient scars of american tegumentary leishmaniasis patients *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 96, n. 7, p. 987-996. 2001.

SCHUBACH, A., HADDAD, F. OLIVEIRA-NETO, M.P., DEGRAVE, W., PIRNY, C., GRIMALDI, G.Jr.; FERNANDES, O. Detection of *Leishmania* DNA by the polymerase chain reaction in scars of treated human patients. *J. Infect. Dis.*, v. 178, n. 3, p. 911-914. 1998 a

SCHUBACH, A., MARZOCHI, M.C., CUZZI-MAYO, T., OLIVEIRA, A.V., ARAÚJO, M.L., OLIVEIRA, A.L., PACHECO, R.S., MOMEN, H., CONCEIÇÃO SILVA, F., COUTINHO, S.G.; MARZOCHI, K.B. Cutaneous scars in american tegumentary leishmaniasis patients: a site of *Leishmania (Viannia) braziliensis* persistence and viability eleven years after antimonial therapy and clinical cure. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 58, n.6, p. 824-827. 1998 b

SHERLOCK, I.A.; MAIA, H. ; DIAS-LIMA, A.G. Resultados preliminares de um projeto sobre a ecologia dos flebotomíneos vetores de leishmaniose tegumentar no Estado da Bahia. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 29, n. 2, p. 207-214, 1996.

SHIRAZU-HIZA, M.M. ; SCHNEIDER, D.S. Confronting physiology: how do infected flies die? *Cellular Microb.*, v. 9, n. 12, p. 2775-2783, 2007.

SILVA, A.C. ; GOMES, A.C. Estudo da competência vetorial de *Lutzomyia intermedia* (Lutz; Neiva, 1912) para *Leishmania (Viannia) braziliensis*, Vianna, 1911. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* , v. 34, n. 2, p. 187-191, 2001.

SILVA, O.S.; BLAZIUS, R.D. ; ROMÃO, P.R.T. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) coletados em galinheiro no Rio Grande do Sul, Brasil. *Entomol. Vect.*, v. 11, n. 2, p. 283-289, 2004.

SILVEIRA, T.G.V., TEODORO, U., LONARDONI, M.V.C., GUILHERME, A.L.F., TOLEDO, M.J.O, RAMOS, M., ARRAES, S.M.A.A., BERTOLINI, D.A., SPINOZA, R.P. ; BARBOSA, O.C. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar em área endêmica do Estado do Paraná, Brasil. *Cad. Saúde Públ.*, v. 12, n. 2, p. 141-147. 1996.

SISTEMA DE METEOROLOGIA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO. Normais Climatológicas (1961-1990)..Disponível em: <[http://www.simerj.com/default\\_normais.php](http://www.simerj.com/default_normais.php)>. Acesso em 16 jul. 2007.

SOUZA, M.B. DE; CARDOSO, P.G.; SANAVRIA, A.; MARZOCHI, M.C. DE A.; CARVALHO, R.W. DE; RIBEIRO, P.C.; PONTE, C. DOS S.; MEIRA, A. DE M. ; MERÓDIO, J.C. Fauna flebotomínica do Município de Bom Jardim, Região Serrana do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 12, n. 4, p. 150-153, 2003.

SOUZA, N.A.; ANDRADE-COELHO, C.A.; VILELA, M.L.; PEIXOTO, A.A. ; RANGEL, E.F. Seasonality of *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), occurring sympatrically in area of cutaneous leishmaniasis in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* , v. 97,n. 6, p. 759-765, 2002.

SOUZA, N.A.; ANDRADE-COELHO, C.A.; PEIXOTO, A.A. ; RANGEL, E.F. Nocturnal activity rhythms of *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) in a transmission area of american cutaneous leishmaniasis in Rio de Janeiro State, Brazil. *J. Med. Entomol.* v. 42, n. 6, p. 986-992, 2005.

STANLEY, D.W.; ALIZA, A.R.N.; TUNAZ, H.; PUTNAM, S.M.; PARK, Y. ; BEDICK, J.C. Eicosanoids in insect biology. *Neotro.l Entomol.*, v. 31, n. 3, p. 341-350, 2002.

STRAND, Michael R. The insect cellular immune response. *Insect Sci.*, v. 15, n. 1, p. 1-14, 2008.

SUPERINTENDÊNCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS. Encontro de *Lutzomyia edwardsi* infectada na região da Grande São Paulo. *Rev Saúde Públ.*, v. 39, n. 1, p. 137-138, 2005.

TABANEZ, A.A.J.; VIANA, V.M. ; DIAS, A.S. Conseqüências da fragmentação e do efeito de borda sobre a estrutura, diversidade e sustentabilidade de um fragmento de floresta de planalto de Piracicaba, SP. *Rev. Bras. Biol.*, v. 57, n. 1, p.: 47-60, 1997.

TEODORO, U. ; KÜHL, J.B. Interação flebotomíneos, animais domésticos e dominância de *Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia* (Lutz ; Neiva, 1912) em área com alto grau de antropia, no Sul do Brasil. *Rev. Saúde Públ.*, v. 31, n. 5, p. 512-6, 1997.

TEODORO, U; LA SALVIA FILHO, V.; LIMA, E.M.; SPINOSA, R.P.; BARBOSA, O.C.; FERREIRA, M.E.M.C. ; LONARDONI, M.V.C. Observações sobre o comportamento de flebotomíneos em ecótopos florestais e extraflorestais, em área endêmica de leishmaniose

tegumentar americana, no norte do Estado do Paraná, sul do Brasil. *Rev. Saúde Públ.*, v. 27, n. 4, p. 242-9, 1993.

TEODORO, U., KÜHL, J.B., SANTOS, D.R.S. ; SANTOS, E.S. Impacto de alterações ambientais na ecologia de flebotomíneos no sul do Brasil. *Cad. Saúde Públ.*, v. 15, n. 4, p. 901-906, 1999.

TEODORO, U. LONARDONI, M.V.C.; SILVEIRA, T.G.V.; DIAS, A.C.; ABBAS, M.; ALBERTON, D. ; SANTOS, D.R. Luz e galinhas como fatores de atração de *Nyssomyia whitmani* em ambiente rural, Paraná, Brasil. *Rev. Saúde Públ.*, v. 41, n. 3, p. 383-388, 2007.

TOLEZANO, José Eduardo Ecoepidemiological aspects of american cutaneous leishmaniasis in the State of São Paulo, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* , v. 89, n. 3, p. 427-434, 1994.

TOLEZANO, J.E.; TANIGUCHI, H.H.; ELIAS, C.R.; LAROSA, R Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) no Estado de São Paulo. III. Influência da ação antrópica na sucessão vetorial da LTA *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v. 60, n. 1, p. 47-51, 2001

UCHÔA, C.M.A., SERRA, C.M.B.; DUARTE, R.; MAGALHÃES, C.M.; SILVA, R.M.; TEOFILO, F.; FIGLIUOLO, L.P.; HORTA, F.T. ; MADEIRA, M.F. Aspectos sorológicos e epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana canina em Maringá, Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* , v. 34, n. 6, p. 563-568, 2001.

VALE, E.C.S.; FURTADO, T. Leishmaniose tegumentar no Brasil: revisão histórica da origem, expansão e etiologia. *An. Bras. Dermatol.*, v. 80, n. 4, p. 421-428, 2005.

VELASQUEZ, L.G.; MEMBRIVE, N.; MEMBRIVE, U.; RODRIGUES, G.; REIS, N.; LONARDONI, M.V.C.; TEODORO, U.; TESSMANN, I.P.B. ; SILVEIRA, T.G.V. Aplicação do teste de reação em cadeia da polimerase (PCR) no estudo da leishmaniose tegumentar americana em cães, na região noroeste do Paraná, Brasil. *Cad. Saúde Públ.*, v. 22, n. 3, p. 571-578, 2006.

VEXENAT, A.C.; SANTANA, J.M.; TEIXEIRA, A.R.L. Cross-reactivity of antibodies in human infections by the kinetoplastid protozoa *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania chagasi* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, v. 38, n. 3, p. 177-185, 1996.

VON ZUBEN, C.J. Implicações do fenômeno de agregação espacial para a dinâmica de populações em insetos: I. Competição por recursos alimentares e espaço. *Rev. Bras. Zootecias* , v. 2, n. 1, p. 117-133, 2000.

WECKX, Luc L.M. Presence or absence of bacteria in otitis media with effusion ? *J Pediatrics*, v. 80, n. 1, p. 05-06, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION El Niño and its health impact. Fact Sheet nº 192, march 2000. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs192/en/index.html>>. Acesso em 10 out. 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION Planning meeting for ministries of health to address climate change and health. Meeting Report, Geneva, Switzerland, 18-19 march 2002.

Disponível em: <[http://whqlibdoc.who.int/HQ/2002/WHO\\_SDE\\_PHE\\_02.04.pdf](http://whqlibdoc.who.int/HQ/2002/WHO_SDE_PHE_02.04.pdf)>. Acesso em 14 mar. 2007.

ZANZARINI, P.D.; SANTOS, D.R.; SANTOS, E.R.; OLIVEIRA, O.; POIANI, L.P.; LONARDONI, M.V.C; TEODORO, U.; SILVEIRA, T.G.V. Leishmaniose tegumentar americana canina em municípios do norte do estado do Paraná, Brasil. *Cad. Saúde Públ.*, v. 21, n. 6, p.: 1957-1961, 2005.

## **ANEXOS**

**Anexo A – Formulário de Entrevista Estruturada (frente e verso)**

**Anexo B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (frente e verso)**

ANEXO A – Formulário de Entrevista Estruturada (frente e verso)

<u>CASA</u> °		<u>ANIMAIS NO DOMICÍLIO</u> : ( ) SIM ( ) NÃO		<u>SANGUE COLETADO DOS ANIMAIS</u> : ( ) SIM ( ) NÃO	
<u>ARMADILHA</u> : ( ) SIM ( ) NÃO ( ) POSITIVA ( ) NEGATIVA		<u>COLETA</u> : ( ) POSITIVA ( ) NEGATIVA			
<u>DATA</u> :		<u>BAIRRO</u> :		<u>PSF RESPONSÁVEL</u> :	
<u>ENDEREÇO</u> :			<u>PONTO DE REFERÊNCIA</u> :		
			<u>COORDENADAS</u> :		
<b>INFORMAÇÕES DO PACIENTE</b>					
<u>NOME COMPLETO</u> :					
<u>SEXO</u> ( ) M ( ) F ( ) I		<u>IDADE</u> : ( ) meses ( ) anos		<u>DATA DE NASC.</u> : / /	
				<u>MORA NO LOCAL</u> <u>HÁ</u> : ( ) M ( ) A	
<u>ESCOLARIDADE</u> : ( ) ANALFABETO ( ) 1º GRAU INCOMPLETO ( ) 1º GRAU ( ) 2º GRAU INCOMPLETO ( ) 2º GRAU ( ) SUPERIOR INCOM. ( ) SUPERIOR COMPL. ( ) NÃO SE APLICA			<u>OCUPAÇÃO ATUAL</u> : _____		
<u>DESLOCAMENTO DIÁRIO</u> : ( ) NÃO ( ) SIM, PARA _____			<u>NÚMERO DE MORADORES NA CASA</u> :		
<u>HORÁRIO (DESLOCAMENTO)</u> : ( ) DE DIA ( ) À NOITE <u>POR</u> : ( ) TRABALHO ( ) LAZER ( ) ACOMPANHAMENTO <u>DESLOCAMENTO NOS MESES ANTERIORES</u> : ( ) NÃO ( ) SIM, PARA _____			<u>ATIVIDADES DE RISCO</u> : ( ) CAÇA ( ) PESCA ( ) EXTRAÇÃO VEGETAL ( ) AGROPECUÁRIA ( ) COLHEITA DE BANANAS ( ) ACAMPAMENTO ( ) NENHUMA		
<u>ENDEREÇO ANTERIOR</u> (COMPLETO)				<u>TEMPO DE MORADIA ANTERIOR</u> ( ) M ( ) A	
<u>PONTO DE REFERÊNCIA ANTERIOR</u>					
<u>CONHECE A DOENÇA</u> ?		<u>CONHECE ALGUÉM</u> QUE TEVE ? ( ) SIM ( ) NÃO ( ) NÃO LEMBRA		<u>JÁ TEVE LEISHMANIOSE</u> ? ( ) NÃO ( ) SIM	
<u>DATA DE COLETA</u> PARA SOROLOGIA: / /		<u>RESULTADO SOROLOGIA</u> : ( ) POSITIVO ( ) SUSPEITO ( ) NEGATIVO		<u>REALIZAÇÃO DO TESTE DE MONTENEGRO</u> : / / <u>LEITURA DO TESTE DE MONTENEGRO</u> : / / RESULTADO: ( ) POSITIVO ( ) NEGATIVO	
<u>JÁ VIU ANIMAIS DOMÉSTICOS FERIDOS</u> ? ( ) SIM ( ) NÃO QUAIS ?		<u>HÁ QUANTO TEMPO</u> ? ( ) DIAS ( ) MESES ( ) ANOS		<u>COMO FICARAM</u> ? ( ) DOENTES ( ) BEM ( ) MORTOS ( ) NÃO SEI	
<u>ANIMAIS DOMÉSTICOS FERIDOS ERAM</u> : ( ) DA CASA ( ) DA MATA ( ) DE PARENTES ONDE PERNOITA ÀS VEZES ( ) DE VIZINHOS PRÓXIMOS ( ) DE VIZINHOS DISTANTES ( ) ERRANTES ( ) DE OUTRA CIDADE					
<u>JÁ VIU ANIMAIS SILVESTRES FERIDOS</u> ? ( ) SIM ( ) NÃO QUAIS ?		<u>HÁ QUANTO TEMPO</u> ? ( ) DIAS ( ) MESES ( ) ANOS		<u>COMO ESTÃO</u> ? ( ) DOENTES ( ) BEM ( ) MORTOS ( ) NÃO SEI	
<u>ANIMAIS SILVESTRES FERIDOS ERAM</u> : ( ) DA CASA ( ) DA MATA ( ) DE PARENTES ONDE PERNOITA ÀS VEZES ( ) DE VIZINHOS PRÓXIMOS ( ) DE VIZINHOS DISTANTES ( ) ERRANTES ( ) DE OUTRA CIDADE					



**HÁBITOS NOTURNOS** : ( ) FICAM DENTRO DA CASA ( ) FICAM NA VARANDA ( ) FICAM FORA DA CASA

**LUZES, À NOITE** : ( ) ACESAS NO EXTERIOR ( ) ACESAS NOS QUARTOS ( ) ACESAS DENTRO DE CASA ( ) APAGADAS

**PROTEÇÃO CONTRA INSETOS** : ( ) REPELENTES ELÉTRICOS ( ) REPELENTES DE QUEIMAR ( ) INSETICIDAS ASPERGIDOS  
 ( ) NÃO USA REPELENTES /INSETICIDAS ( ) COMBINA DOIS OU MAIS ( ) QUEIMA DE MATERIAIS DIVERSOS

**USO DE TELAS** : ( ) NAS JANELAS ( ) NAS PORTAS ( ) NÃO USA TELAS

**OUTRAS MEDIDAS DE PROTEÇÃO** \_\_\_\_\_

**CÔMODO ONDE DORME O ENTREVISTADO**: ( ) NA SALA ( ) NO QUARTO ( ) NA COZINHA ( ) OUTRO

**O ENTREVISTADO DO DORME** : ( ) SOZINHO ( ) COM OUTRAS PESSOAS, QUANTAS \_\_\_\_\_

**ONDE** : ( ) PRÓXIMO À PORTA ( ) PRÓXIMO À JANELA ( ) NO MEIO DO QUARTO ( ) ENCOSTADO À PAREDE

**ANIMAIS DO DOMICÍLIO/PERIDOMICÍLIO**

**CÃES** : ( ) SIM ( ) NÃO    **GATOS** : ( ) SIM ( ) NÃO    **EQUÍDEOS** : ( ) SIM ( ) NÃO    **BOVÍDEOS** : ( ) SIM ( ) NÃO

**CABRAS/OVELHAS** : ( ) SIM ( ) NÃO    **AVES DOMÉSTICAS** : ( ) SIM ( ) NÃO    **PASSARINHOS** : ( ) SIM ( ) NÃO

**PORCOS** : ( ) SIM ( ) NÃO    **AVES SILVESTRES** : ( ) SIM ( ) NÃO    **MAMÍFEROS SILVESTRES** : ( ) SIM ( ) NÃO

**ANIMAIS DORMEM DENTRO DE CASA** : ( ) SIM ( ) NÃO

**ABRIGO** DE ANIMAIS **CONTÍGUO** À PAREDE DA CASA : ( ) SIM ( ) NÃO

PRESENÇA/PROXIMIDADE DE **OUTROS ANIMAIS** NO INTRA-DOMICÍLIO :  
 ( ) RATOS ( ) MORCEGOS ( ) ANIMAIS SILVESTRES

PRESENÇA/PROXIMIDADE DE **OUTROS ANIMAIS** NO PERI-DOMICÍLIO :  
 ( ) RATOS ( ) MORCEGOS ( ) ANIMAIS SILVESTRES

**MOSQUITO PICANDO** : ( ) DE DIA ( ) DE TARDE ( ) À NOITE ( ) O DIA TODO

**PRESENÇA DE MOSQUITOS À NOITE** : ( ) DENTRO DE CASA ( ) NO QUINTAL

**RENDA FAMILIAR** : ( ) ATÉ 1 S. M. ( ) 1-4 S. M. ( ) 5-10 S. M. ( ) + 10 S.M.

PRINCIPAL **FONTE DE RENDA** : \_\_\_\_\_ **SALÁRIO MÍNIMO** = R\$ \_\_\_\_\_

SE TEVE A DOENÇA, EM QUANTO TEMPO PROCUROU O **SERVIÇO DE SAÚDE**, APÓS O APARECIMENTO DA FERIDA ?  
 ( ) DIAS ( ) MESES ( ) ANOS ( ) NÃO PROCUROU

ONDE FOI O **DIAGNÓSTICO** : ( ) MUNICÍPIO ( ) OUTRO MUNICÍPIO, QUAL \_\_\_\_\_ ( ) FIOCRUZ ( ) OUTRO

ONDE FOI O **TRATAMENTO** : ( ) MUNICÍPIO ( ) FIOCRUZ ( ) OUTRO HOSPITAL ( ) NÃO LEMBRA/SABE

FEZ **CONSULTA DE REVISÃO** : ( ) SIM ( ) NÃO

OBSERVAÇÕES :

ANEXO B -Termo de Consentimento Livre e Esclarecido<sup>1</sup>

**INSTITUIÇÃO:** Depto. de Parasitologia – Instituto de Veterinária - UFRRJ

**COORDENADORES DA PESQUISA:** Maria Cristina Fortes Santos de Bustamante e Maria Julia Salim Pereira

**ENDEREÇO:** Br 465 , km 7 - Seropédica - RJ CEP 23851 - 000

**TELEFONES:** (0xx21) 2682-2935 e 2682-1617 FAX (0xx21) 2682-2935

**NOME DO PROJETO DE PESQUISA:** INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO PARA AVALIAÇÃO DE ENDEMICIDADE DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO MUNICÍPIO DE ENGENHEIRO PAULO DE FRONTIN/RJ

**DOMICÍLIO A SER ESTUDADO:** \_\_\_\_\_

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença que atinge seres humanos e animais, causada por parasitos chamados leishmanias. A LTA se apresenta como feridas na pele de difícil cicatrização. Algumas vezes, a LTA pode se tornar mais grave, envolvendo as mucosas da parte interna do nariz e da garganta. A doença é transmitida pela picada do "mosquito palha". No início do século passado, a transmissão da doença no Estado do Rio de Janeiro, ocorria em zonas de derrubada de florestas para instalação de fazendas e construção de estradas e habitações. Atualmente o "mosquito palha" vive em regiões de mata, plantações de banana, manga etc. localizadas próximas às moradias humanas, onde costuma entrar para se alimentar de sangue de pessoas e de animais domésticos. Até hoje não sabemos ao certo como ocorreu essa mudança no comportamento do "mosquito palha" e na transmissão da LTA de áreas florestais para as áreas periurbanas e urbanas de colonização antiga.

Pelo presente documento, você está sendo convidado a participar de uma pesquisa com os seguintes objetivos:

✓ Descrever as características ambientais, econômicas, sociais e ecoepidemiológicas existentes no município de Engenheiro Paulo de Frontin, área sem casos notificados autóctones de leishmaniose tegumentar americana.

✓ Investigar a possível infecção de pessoas, cães, eqüídeos e vetores pelo agente da LTA, a *Leishmania (Viannia) braziliensis*.

Este documento tem a função de explicar sobre o problema de saúde em estudo e sobre a pesquisa que será realizada. Para isto fornece informações, detalha os procedimentos e exames, benefícios, inconvenientes e possíveis riscos .

A sua participação neste estudo é voluntária. Você poderá recusar-se a participar de uma ou todas as etapas da pesquisa ou, mesmo, se retirar dela a qualquer momento, sem que este fato lhe venha causar qualquer problema. Os pesquisadores poderão também interromper a sua participação a qualquer momento, se julgarem adequado.

A sua participação com relação ao Projeto consiste em:

✓ responder a um questionário com informações sobre sua moradia, seus hábitos e outros aspectos pessoais e familiares

✓ autorizar a realização de fotografias e/ou filmagens de sua residência ou de eventuais lesões de pele e cicatrizes encontradas nas pessoas ou nos animais

✓ permitir a colheita de sangue seu e de seus animais e a realização de um exame intradérmico, o teste de Montenegro, para verificação de seu contato com a *L. (V.) braziliensis*.

✓ Nas casas escolhidas, permitir a captura de insetos vetores, através do uso de capturadores manuais e/ou de armadilhas, zelando pelas mesmas no período em que estiverem em sua residência.

<sup>1</sup> 1ª via: Pesquisador

2ª via: Paciente

Tendo apresentado LTA no passado ou apresentando alguma lesão suspeita de LTA atualmente, você poderá buscar esclarecimentos ou atendimento médico na Secretaria Municipal de Saúde (SMS) de sua cidade. Caso seja necessário, a SMS poderá solicitar uma avaliação mais detalhada no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - Fiocruz e, se for necessário, você receberá todos os cuidados médicos adequados para a LTA .

Sua identidade será mantida como informação confidencial. Os resultados do estudo poderão ser publicados sem revelar a sua identidade e suas imagens poderão ser divulgadas desde que você não possa ser reconhecido. Os resultados dos seus exames serão de seu inteiro conhecimento. Entretanto, se necessário, os seus registros estarão disponíveis para a equipe envolvida no estudo, para o Comitê de Ética em Pesquisa, para as Autoridades Sanitárias e para você.

Você pode e deve fazer todas as perguntas que achar necessárias antes de concordar em participar do estudo, assim como a qualquer momento. Os pesquisadores deverão oferecer todas as informações necessárias relacionadas à sua saúde, aos seus direitos, e a eventuais riscos e benefícios relacionados à sua participação neste estudo.

**Procedimentos, exames e testes que serão utilizados:**

Haverá coleta de informações sobre a doença, sobre sua moradia e sobre os moradores; exame da pele com descrição e realização de fotografias e/ou filmagens de eventuais lesões. O sangue colhido será examinado, em laboratório, pelos testes de imunofluorescência e ELISA. O teste de intradermoreação de Montenegro, ou IDRM, será aplicado em seu braço, através de uma injeção, por enfermeiras da SMS de Engº Paulo de Frontin, sendo o resultado conferido por quem aplicou o reagente.

As coletas de insetos serão feitas à noitinha e noite, através da colocação de armadilhas, que serão conferidas pela manhã, e do uso de capturadores manuais, direto na parede do imóvel.

**Inconvenientes:**

Você poderá não se sentir confortável em responder a certas perguntas ou em permitir que sejam realizados exames e imagens de sua pessoa ou de sua moradia.

**Benefícios esperados:**

Os resultados deste estudo poderão ou não ajudá-lo diretamente, mas no futuro, poderão beneficiar outras pessoas. Caso você apresente LTA atualmente, você poderá receber tratamento adequado e, caso tenha apresentado LTA no passado, você terá direito a uma consulta para confirmar se está curado.

Declaro que li e entendi todas as informações sobre este estudo e que todas as minhas perguntas foram bem respondidas pela equipe de pesquisadores, e sei que eles estarão à disposição para responder minhas perguntas sempre que eu tiver dúvidas.

Recebi uma cópia deste termo de consentimento e através de minha assinatura permito, de vontade própria, minha participação nesta pesquisa.

\_\_\_\_\_  
Nome:

\_\_\_\_\_  
Data

\_\_\_\_\_  
Nome Pesquisador:

\_\_\_\_\_  
Data