

CRISTIAN FERREIRA DE SOUZA

**ESTUDO DA URBANIZAÇÃO DE FLEBOTOMÍNEOS E ASPECTOS
EPIDEMIOLÓGICOS DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA
NO MUNICÍPIO DE TIMÓTEO, MINAS GERAIS, BRASIL**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Medicina
Veterinária, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS -BRASIL
2011

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S729e
2011

Souza, Cristian Ferreira de, 1980-

Estudo da urbanização de flebotomíneos e aspectos epidemiológicos de leishmaniose tegumentar americana no município de Timóteo, Minas Gerais, Brasil / Cristian Ferreira de Souza. – Viçosa, MG, 2011.

xviii, 101f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Paula Dias Bevilacqua.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 75-91.

1. Leishmaniose. 2. Flebotomíneo. 3. Urbanização.
4. *Leishmania*. 5. Epidemiologia. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

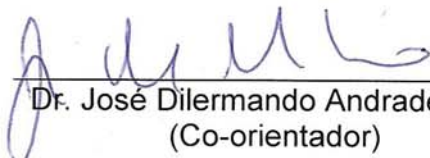
CDD 22. ed. 636.08969364

CRISTIAN FERREIRA DE SOUZA

**ESTUDO DA URBANIZAÇÃO DE FLEBOTOMÍNEOS E ASPECTOS
EPIDEMIOLÓGICOS DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA
NO MUNICÍPIO DE TIMÓTEO, MINAS GERAIS, BRASIL**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Medicina
Veterinária, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

APROVADA: 02 de setembro de 2011.


Dr. José Dilermando Andrade Filho
(Co-orientador)


Dr. Reginaldo Peçanha Brazil


Profa. Juliana Lopes Rangel Fietto


Profa. Paula Dias Bevilacqua
(Orientadora)

“É melhor atirar-se à luta em busca de dias melhores, mesmo correndo o risco de perder tudo, do que permanecer estático, como os pobres de espírito, que não lutam, mas também não vencem, que não conhecem a dor da derrota, nem a glória de ressurgir dos escombros. Esses pobres de espírito, ao final de sua jornada na Terra não agradecem a Deus por terem vivido, mas desculpam-se perante Ele, por terem apenas passado pela vida.”

Bob Marley

À minha família, em especial minha mãe, Perpetua

AGRADECIMENTOS

Engraçado, deixei esse momento por último, pois imaginei ser o mais fácil e simples. Pois então, me enganei! É sem dúvida o mais difícil. Aproveito esse espaço para deixar aqui todo meu carinho e gratidão às pessoas que contribuíram com esse trabalho.

Aos todos os meus familiares e amigos de Timóteo, que sempre torceram por mim.

Ao meu grande amigo Jadir, que tirou horas dos seus dias para ajudar a confeccionar as armadilhas.

A toda família Carvalho que sempre deu apoio, em especial à Inácia e José Elias, que sempre me acolheram em sua casa.

Aos meus amigos da Câmara Municipal de Timóteo, que sempre levarei no coração, em especial meu grande amigo Keisson.

À Prefeitura Municipal de Timóteo, que foi uma grande parceira por meio da Secretaria Municipal de Saúde.

Ao meu amigo Carlos Alberto, funcionário do Setor de Controle de Zoonoses, que sempre esteve presente, colocando a mão na massa e aos motoristas e técnicos que trabalharam aos sábados e domingos em prol da realização do trabalho.

A funcionária Joaneete (*in memoriam*), do Setor de Vigilância Epidemiológica, que sempre se mostrou prestativa ao fornecer os dados referentes aos casos notificados de leishmaniose do município.

A todos as pessoas do município de Timóteo que participaram do projeto, em especial aos proprietários das residências, que nos permitiram desenvolver todo esse projeto.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico e Científico (CNPq), pela concessão de recursos financeiros (Processo 473974/2009-6).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Ministério do Meio Ambiente, através do IBAMA pela autorização para capturas de flebotomíneos.

Ao programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária e à Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de realizar o mestrado.

A todos os técnicos do Departamento de Veterinária, em especial José Luiz.

Às secretárias do Programa, Beth e Rosi, que são exemplos de profissionais. Se todo departamento tivesse pelo menos uma “Rosi” tudo seria muito mais fácil!

Aos professores do Programa de Pós-Graduação, em especial Luiz Nero, que sempre buscou nos ajudar, e um agradecimento todo especial à Professora Cidinha, que foi amiga e conselheira.

Aos amigos que fiz no Laboratório de Doenças Bacterianas do Departamento de Veterinária, em especial ao Fabio, João Carlos, Vitor , Isabel que foram acolhedores e sempre ajudaram!

A todos os meus amigos do Departamento de Nutrição, em especial Flavia, Fernanda, Dani, Gabi, Luana, Alejara, Leandro, Caio, Lívia e minha grande amiga Tati, pessoas que me mostraram que não existe tempo ruim.

À Mayara e Tassy, que mesmo nas férias se disponibilizaram a me ajudar.

Aos meus amigos Cristiane e Junior, pessoas incríveis, que estiveram presentes durante esse período.

Aos moradores e agregados da República Os Largado, onde vivenciei um pouco de tudo.

Aos integrantes da minha banca examinadora, Juliana Fietto e Reginaldo Brasil, pelas sugestões, críticas e elogios.

À Rose Ferraz, da Escola de Saúde Pública do Estado de Minas Gerais, pela atenção e disponibilidade em ajudar nas análises espaciais.

Ao Centro de Pesquisas René Rachou (CPqRR/Fiocruz), pela possibilidade de desenvolver grande parte do projeto.

Aos amigos do Centro de Referência Nacional e Internacional para Flebotomíneos - CPqRR/Fiocruz: Cristiani, Gustavo, Ana Paula, Daphne, Juliana, Rogério, Cynthia, Lara, pela ajuda e possibilidade de aprender um pouco mais.

À Patrícia Quaresma, do Laboratório de Leishmanioses do CPqRR, pela paciência e pelos ensinamentos de biologia molecular e por sempre estar disponível em todas as etapas do projeto.

À Mariana Ramos e Paula, do Centro de Referência Nacional e Internacional para Flebotomíneos - CPqRR/Fiocruz, pela ajuda ao analisar os dados, por serem pessoas tão alegres, pela amizade e pelas piadinhas!!!

Ao meu coorientador José Dilermando, pela calma e tranquilidade, pelas sugestões, pelos ensinamentos, treinamentos, por ter aberto as portas do seu laboratório, e por colocar no meu caminho pessoas tão importantes nessa jornada. Obrigado por tudo!

À minha orientadora Paula Bevilacqua, que mesmo passando um ano distante nunca esteve ausente. Agradeço também pela atenção e pelas críticas, pelos ensinamentos e paciência, pela confiança e dedicação, pela convivência, pelo exemplo de profissionalismo, pelas correções do dia a dia, enfim, obrigado por tudo, serei sempre grato!

Às minhas irmãs e meus irmãos, sobrinhos, sobrinhas, cunhados e cunhada, que estiveram ao meu lado e, junto com meus pais, formam o pilares que sempre me apoiaram.

À minha mãe Perpetua, que sempre foi um exemplo a ser seguido, e mesmo com todas as dificuldades sempre foi confiante e soube me incentivar e ao meu pai Sebastião (*in memoriam*).

Por fim, agradeço a Deus, que da melhor forma possível permitiu a presença de todas essas pessoas na minha vida.

Obrigado a todos, essa conquista é nossa!!!!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE QUADROS	xiv
LISTA DE TABELAS	xv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xviii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Breve histórico da leishmaniose tegumentar americana	4
2.2 Os agentes etiológicos envolvidos na transmissão da LTA	5
2.3 Os vetor no ciclo de transmissão da LTA	6
2.4 O papel dos reservatórios na transmissão da LTA	7
2.5 Ciclo biológico da <i>Leishmania</i> spp.	9
2.6 Epidemiologia da LTA	9
2.7 Aspectos ambientais relacionados à transmissão da LTA e ao processo de urbanização	11
2.8 Uso de ferramentas moleculares para identificação de <i>Leishmania</i> spp. em flebotomíneos	12
2.9 Utilização da análise espacial em estudos epidemiológicos	14
3 OBJETIVO	20
3.1 Objetivo geral	20
3.2 Objetivos específicos	20
4 MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1 Caracterização da área de estudo	21

4.2	Caracterização dos casos humanos	22
4.3	Inquérito entomológico.....	23
4.3.1	Método de captura dos flebotomíneos	23
4.3.2	Identificação dos flebotomíneos	28
4.4	Ensaio molecular para detecção de <i>Leishmania</i> spp. em fêmeas de flebotomíneos.....	29
4.5	Análises dos dados.....	32
4.5.1	Análises descritivas e de correlação	32
4.5.2	Análise espacial segundo método de varredura de Kulldorff	34
4.6	Aspectos éticos.....	36
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	Evolução dos casos notificados.....	38
5.2	Descrição dos casos humanos de LTA notificados segundo variáveis do paciente.....	41
5.3	Descrição das residências utilizadas como locais de coletas de flebotomíneos.....	47
5.4	Inquérito entomológico do vetor de LTA na área urbana do município.....	50
5.5	Detecção da infecção natural por <i>Leishmania</i> spp. nas fêmeas de flebotomíneos.....	53
5.6	Correlação entre a presença de vetores e sazonalidade.....	60
5.7	Identificação de conglomerados de casos de LTA	68
6	CONCLUSÕES.....	73
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
	APÊNDICE 1.....	92
	APÊNDICE 2.....	94
	APÊNDICE 3.....	98
	APÊNDICE 4.....	100

LISTA DE ABREVIATURAS

SIGLA	DESCRIÇÃO
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
DNA	Deoxyribonucleic Acid
FUNASA	Fundação Nacional da Saúde
GPS	Global Positioning System
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
LTA	Leishmaniose Tegumentar Americana
LV	Leishmaniose Visceral
MS	Ministério da Saúde
PCR	Polymerase Chain Reaction
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
WHO	World Health Organization

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Exemplo hipotético da varredura espacial da estatística scan.....	16
Figura 2: Procedimento de varredura espaço-temporal.....	18
Figura 3: Seleção das residências com casos de LTA para instalação das armadilhas utilizadas para captura de flebotomíneos, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010.	25
Figura 4: Localização das residências selecionadas para instalação das armadilhas utilizadas para captura de flebotomíneos, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010.	27
Figura 5: Armadilha luminosa tipo Falcão.....	28
Figura 6: Região intergênica do ITS-1	30
Figura 7: Distribuição anual dos casos humanos notificados e dos coeficientes de detecção para LTA, município de Timóteo-MG, 2002 a 2010.....	39
Figura 8: Distribuição anual dos casos humanos notificados, coeficientes de detecção para LTA e linha de tendência, município de Timóteo-MG, 2002, 2004-2006 e 2008-2010.....	40
Figura 9: Detecção de infecção natural por <i>Leishmania</i> spp, através de PCR da região ITS 1	54
Figura 10: Análise de espécies de <i>Leishmania</i> spp. por RFLP dos produtos de amplificação da região do ITS 1.....	56
Figura 11: Distribuição dos flebotomíneos capturados e da temperatura média, segundo o período de coleta, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010.....	63
Figura 12: Distribuição dos flebotomíneos capturados e da pluviosidade média, segundo o período de coleta, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010.....	63
Figura 13: Gráficos de dispersão entre número de flebotomíneos capturados e temperatura média em diferentes momentos: (a) durante a coleta; (b) 24 horas antes da coleta; (c) uma semana antes da coleta; (d) duas semanas antes da	

coleta e (e) 30 dias antes da coleta, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010.....66

Figura 14: Distribuição espacial dos casos autóctones de LTA e dos conglomerados primário e secundários identificados, município de Timóteo-MG, 2002 a 2010.....69

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Espécies de <i>Leishmania</i> responsáveis pela LTA no Brasil, distribuição geográfica e vetores envolvidos	6
Quadro 2: Armadilhas instaladas em residências com casos e sem casos de LTA segundo setores censitários, Timóteo-MG, 2009 a 2010	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Distribuição anual dos casos humanos notificados, população e coeficiente de detecção para LTA, município de Timóteo-MG, 2002 a 2010....	38
Tabela 2: Distribuição dos casos humanos notificados de LTA segundo variáveis do paciente, município de Timóteo-MG, 2002 a 2010	46
Tabela 3: Caracterização das residências utilizadas para coletas de flebotomíneos, segundo variáveis estruturais, de saneamento e ambientais, município de Timóteo- MG, 2009 a 2010	49
Tabela 4: Frequência de flebotomíneos capturados, segundo espécie e sexo, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010	51
Tabela 5: Frequência de amostras de flebotomíneos capturados e com infecção natural por <i>Leishmania</i> spp, segundo setor censitário, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010	55
Tabela 6: Taxa de infecção natural de <i>Leishmania braziliensis</i> por espécie de flebotomíneos capturados, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010	56
Tabela 7: Frequência e percentual de flebotomíneos capturados, segundo o período de coleta, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010	61
Tabela 8: Estatística descritiva para dados climáticos, segundo o período de coleta, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010	62
Tabela 9: Análise de correlação linear entre número de flebotomíneos capturados e dados climáticos médios e medianos em diferentes momentos, unicipio de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010	65
Tabela 10: Número e frequência de flebotomíneos capturados, segundo setor censitário, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010..	70
Tabela 11: Presença de Flebotomíneos infectados segundo setores censitários, Timóteo, 2009 a 2010	72

RESUMO

SOUZA, Cristian Ferreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2011. **Estudo da urbanização de flebotomíneos e aspectos epidemiológicos de leishmaniose tegumentar americana no município de Timóteo, Minas Gerais, Brasil.** Orientadora: Paula Dias Bevilacqua. Coorientador: José Dilermando Andrade Filho.

O presente trabalho se caracterizou como um estudo descritivo dos casos humanos autóctones de leishmaniose tegumentar americana notificados no município de Timóteo-MG, no período de 2002 a 2010, associado à pesquisa entomológica na área urbana e detecção de *Leishmania* spp. em amostras de flebotomíneos capturadas. Os casos humanos foram caracterizados através da ficha de notificação e aplicação de questionário socioeconômico e ambiental; o estudo entomológico foi realizado com a utilização de armadilhas Falcão, distribuídas em 35 residências onde houveram casos e 15 com ausência de casos na área urbana do município. Os flebotomíneos capturados foram identificados e verificou-se a infecção natural das fêmeas utilizando a técnica de PCR/RFLR. Foi realizada análise do comportamento sazonal dos flebotomíneos, onde se trabalhou com as variáveis pluviosidade, umidade relativa do ar e temperatura. Em busca de enriquecer o estudo, os casos humanos autóctones de leishmaniose tegumentar americana foram analisados a partir de um estudo quantitativo, para a detecção de conglomerados de casos segundo setores censitários, utilizando como ferramenta a análise espacial. Através da caracterização dos casos é sugerida a presença de dois ciclos de leishmaniose tegumentar americana instalados no município, um rural e outro urbano. O ciclo de transmissão de leishmaniose na área urbana do município ficou mais evidente após o grande número de flebotomíneos coletados na área urbana do município e a presença de amostras infectadas com *Leishmania braziliensis*. Entre os flebotomíneos capturados *Nyssomyia whitmani* foi a espécie mais encontrada, e também com maior número de amostras infectadas por *Leishmania braziliensis*, seguidas por *Nyssomyia intermedia* e *Micropygomyia quinquefer* ambas espécies também encontradas com infecção por *Leishmania braziliensis*. Nas análises espaciais ficou evidenciado que os

setores censitários próximos ao Parque Estadual do Rio Doce são os mais afetados com a doença, necessitando de maior atenção. Esse perfil de ocorrência da doença sugere a necessidade de reorientação das estratégias de controle e prevenção adotadas pelos órgãos de saúde do município.

ABSTRACT

SOUZA, Cristian Ferreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, September, 2011. **Studies of sandflies urbanization and epidemiological aspects of American leishmaniasis cutaneous in the municipality of Timóteo, Minas Gerais, Brazil.** Adviser: Paula Dias Bevilacqua. Adviser: José Dilermando Andrade Filho.

The present work was characterized as a descriptive study of autochthonous human cases of cutaneous leishmaniasis reported between 2002 and 2010 in the city of Timóteo-Minas Gerais, associated with entomological research in the urban area and detection of *Leishmania* spp. among samples of sandflies captured. The human cases were characterized by a notification form and a socioeconomic and environmental questionnaire; the entomological survey was conducted with the use of Falcão traps distributed in 35 houses where cases were reported and in 15 with the absence of cases in the urban area of the municipality. The sandflies captured were identified and it was verified the natural infection of the female using PCR/RFLR technique. It was analyzed the seasonal behavior of sandflies considering the variables rainfall, air relative humidity and temperature. To enrich the study, autochthonous human cases of American cutaneous leishmaniasis were analyzed from a quantitative study, to detect clusters of cases according to census sectors, using spatial analysis as a tool. Through the characterization of cases it is suggested the presence of two installed cycles of American cutaneous leishmaniasis in the municipality, one rural and one rural. The transmission cycle of leishmaniasis in the urban area was more evident after the high number of sandflies collected in the urban area and the presence of infected samples with *Leishmania braziliensis*. Among the captured sandflies *Nyssomyia whitmani* was the specie most commonly found and also with higher number of samples infected with *Leishmania braziliensis*, followed by *Nyssomyia intermedia* and *Micropygomyia quinquefer*, and both species were also found to be infected with *Leishmania braziliensis*. In the spatial analysis it was evidenced that the census sectors near to Parque Estadual do Rio Doce are the most affected with the disease, requiring more attention. This profile of the occurrence of the disease suggests the need for

reorientation of the strategies adopted for the control and prevention of the disease by the health agencies of the municipality.

1 INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é um espectro de doenças causadas por protozoários do gênero *Leishmania*. Sua transmissão natural ocorre pela picada de fêmeas de flebotomíneos.

O Brasil é um dos países com o maior número de casos de Leishmaniose Tegumentar no mundo. Os casos notificados no país, somados aos do Irã, Peru, Arábia Saudita e Síria, representam 90% dos casos notificados em todo o mundo, (WHO, 2011). Atualmente, a LTA encontra-se em franca expansão geográfica, sendo que no início da década de 80, haviam sido registrados casos autóctones em 19 estados brasileiros e, em 2003, foi confirmada autoctonia em todas as unidades federativas do país (BRASIL, 2011).

O aumento dos casos de LTA ao longo dos anos é devido as ações humanas sobre o meio ambiente, como exemplo as destruição de vegetação nativa. Ações que atuam diretamente na mudança de comportamento e habitat, tanto dos vetores quanto dos reservatórios, possibilitando a seleção de espécies e adaptação ao ambiente antrópico, explicando, em parte, a persistência das leishmanioses em área domiciliar e peridomiciliar. Além disso, as habitações humanas de má qualidade ou em locais inadequados, a construção desordenada de abrigos de animais domésticos no ambiente peridomiciliar e a carência de condições mínimas de saneamento básico são condições comuns em áreas rurais e periféricas de centros urbanos (TEODORO, 1996; TEODORO *et al.*, 2001; LIMA *et al.*, 2002). Nessas áreas, os mamíferos reservatórios de *Leishmania* spp. têm sobrevivido e os flebotomíneos têm sido capturados em grande número (TEODORO, 1996; CARVALHO *et al.*, 2010) favorecendo a infecção humana e de animais domésticos.

Diferentes regiões brasileiras vêm, nas últimas décadas, passando por um processo de urbanização da leishmaniose, o que leva a um crescimento dos casos de Leishmaniose. No estado de Minas Gerais é possível observar, segundo dados do Ministério da Saúde, que número de caso notificados de LTA aumentaram de 1.116 casos em 2001 para 1.887 casos notificados em 2010 (BRASIL, 2011). O município de Timóteo-MG possui registros sistematizados de casos humanos de LTA desde 2002, totalizando 164 casos até o ano de 2010. Entretanto, a investigação desses casos é um processo pouco eficiente e moroso. Para o efetivo estabelecimento de medidas de controle da LTA, é importante o conhecimento da epidemiologia desse agravo, identificando a população sob risco, quais os possíveis reservatórios existentes e as espécies de flebotomíneos e *Leishmania* que participam do ciclo de transmissão da LTA.

Estudos no município de Timóteo, envolvendo a caracterização da fauna de flebotomíneos, vêm demonstrando a ocorrência de espécies incriminadas como vetores de LTA, como é o caso de *Nyssomyia (Ny.) whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) e *Ny. intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (ANDRADE FILHO *et al.*, 1997; SOUZA *et al.*, 2009), porém estudos de detecção de infecção natural ainda não foram realizados.

A busca constante de informações sobre o aumento do número de casos humanos de LTA em áreas urbanas e a adaptação dos vetores a esses ambientes é necessária para a compreensão da epidemiologia desse agravo e o subsídio de ações de prevenção e controle. Especificamente na área urbana do município de Timóteo, apesar dos trabalhos já realizados (ANDRADE FILHO *et al.*, 1997; SOUZA; BORGES, 2008; SOUZA *et al.*, 2009), poucos são os dados existentes sobre os aspectos ecológicos e a transmissão de leishmanioses, embora sejam notificados casos humanos de LTA nesse ambiente desde 2002.

Nesse sentido, o conhecimento de aspectos que interagem na transmissão da LTA, como a determinação das espécies de flebotomíneos vetores, o monitoramento da taxa de infecção de populações de flebotomíneos e o estudo epidemiológico dos casos em ambientes urbanos no município de Timóteo é de

grande relevância para o planejamento eficaz das ações de intervenção e controle.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Breve histórico da leishmaniose tegumentar americana

As leishmanioses, por se tratarem de um complexo grupo de doenças devido às diferenças e peculiaridades de suas características clínicas e epidemiológicas, foram separadas em dois grupos: a leishmaniose visceral (LV), também conhecida como calazar, e a LTA, que recebe este nome por afetar principalmente a estrutura da pele e das mucosas.

A LTA pode se apresentar das seguintes formas: cutânea, com lesões discretas de pele que se curam dentro de alguns meses, deixando cicatrizes; cutânea difusa disseminada, que produz lesões crônicas de pele de difícil tratamento; e mucocutânea, que apresenta lesões que podem destruir total ou parcialmente as mucosas do nariz, boca e garganta, além das cavidades e tecidos circundantes (BRASIL, 2007).

A LTA é uma doença antiga com relatos e descrição na literatura desde o século I d.C., na Ásia Central, ao norte do Afeganistão, onde era conhecida como “Úlcera de Balkh” (LAVERAN, 1917). Nas Américas, os primeiros registros foram em cerâmicas incas, entre os anos de 400 e 900 do século I d.C., onde se encontraram imagens humanas com mutilações de lábios e nariz, sintomas característicos da leishmaniose mucocutânea (LAINSON; SHAW, 1988). No Brasil, a primeira confirmação de um caso de Leishmaniose com lesões cutâneas e nasofaríngeas se deu na cidade de Bauru, interior do estado de São Paulo em 1909, por Lindenberg, que encontrou formas de *Leishmania*, idênticas à *Leishmania (Leishmania) tropica* (Wright, 1903), um dos agentes da leishmaniose tegumentar do Velho Mundo, em indivíduos que trabalhavam nas

matas do interior do estado (PESSÔA; MARTINS, 1982). Gaspar Vianna, em 1911, (citado por SILVEIRA *et al.*, 1997) em suas observações, considerou o parasito diferente da *L. tropica*, e deu o nome de *Leishmania (Viannia) braziliensis* (Vianna, 1911), ficando assim denominado o agente etiológico da "úlceras de Bauru", "ferida brava" ou "nariz de tapir".

2.2 Os agentes etiológicos envolvidos na transmissão da LTA

O gênero *Leishmania* constitui um grupo de espécies morfológicamente muito similares. Até a década de 70, todos os casos de LTA, no Brasil, eram associados à *L. braziliensis*. Com o aprimoramento das técnicas de análise e a intensificação dos estudos ecológicos e epidemiológicos, outras espécies foram descritas. Atualmente, nas Américas são conhecidas 11 espécies dermatótropas de *Leishmania* causadoras de doença humana. No Brasil já foram identificadas sete espécies, sendo 6 do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania* (LAINSON; SHAW, 1987; BRASIL, 2009).

As promastigotas de *Leishmania* podem ser classificadas de acordo com sua distribuição preferencial das populações dentro do trato digestivo, formando 'micro-habitats' nas partes anatômicas. Considerando essa colonização Lainson e Shaw (1987) propôs uma divisão do gênero *Leishmania* em dois subgêneros: *Vianna* e *Leishmania*, respectivamente, para parasitas com padrão de desenvolvimento peripilárico (áreas posteriores do trato digestivo, intestino médio abdominal e a região pilórica) e suprapilárico (restrito à porção do trato digestivo anterior ao piloro, regiões abdominais e torácicas do intestino médio).

As espécies *L. (Vianna) guyanensis* (Floch, 195), *L. (Vianna) braziliensis* e *L. (Leishmania) amazonenses* (Lainson & Shaw, 1972), são os principais agentes responsáveis pela maioria dos casos de LTA no Brasil,. O Quadro 1 apresenta as sete espécies de *Leishmania* presentes no Brasil, sua distribuição geográfica e os principais vetores responsáveis pela sua transmissão no país.

Quadro 1: Espécies de *Leishmania* responsáveis pela LTA no Brasil, distribuição geográfica e vetores envolvidos

	Espécie de <i>Leishmania</i>	Onde ocorre	Vetor
Subgênero Viannia	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Difundido em todo o Brasil (mais frequente no Pará, Mato Grosso, Minas Gerais e São Paulo)	<i>Psychodopygus wellcomei</i> <i>Nyssomyia whitmani</i> <i>Nyssomyia intermedia</i> <i>Nyssomyia neivai</i>
	<i>L. (V.) guyanensis</i>	Amapá, Amazonas, Pará, Roraima, Acre e Mato Grosso	<i>Nyssomyia umbratilis</i> <i>Nyssomyia whitmani</i> <i>Nyssomyia anduzei</i>
	<i>L. (V.) lindenbergi</i>	Pará	<i>Nyssomyia antunesi</i>
	<i>L. (V.) lainsoni</i>	Pará, Acre e Rondônia	<i>Trichophoromyia ubiquitalis</i>
	<i>L. (V.) shawi</i>	Maranhão, Pará, Pernambuco e Piauí	<i>Nyssomyia whitmani</i>
	<i>L. (V.) naiffi</i>	Pará e Amazonas	<i>Nyssomyia whitmani</i>
Subgênero Leishmania	<i>L. (L.) amazonensis</i>	Acre, Pará, Amazonas, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro, Santa Catarina, Maranhão, Ceará, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rondônia, Tocantins, São Paulo, Goiás	<i>Bichromomyia flaviscutellata</i> <i>Nyssomyia reducta</i> <i>Nyssomyia olmeca nociva</i>

Fonte: Adaptado de Young e Duncan (2004); WHO (2010); Brasil (2007).

2.3 Os vetores no ciclo de transmissão da LTA

Os vetores da LTA são insetos denominados flebotomíneos, pertencentes à Ordem Díptera, Família Psychodidae, Subfamília Phlebotominae, que se infectam no momento em que as fêmeas picam para se alimentar de sangue do vertebrado infectado (ASHFORD, 2000). As primeiras espécies de flebotomíneos registradas nas Américas foram descritas no ano de 1907 e até 1940 se limitavam a 33 espécies. Com a incriminação de algumas espécies de flebotomíneos como transmissores de leishmanioses o interesse de estudar estes insetos aumentou e o quadro das espécies conhecidas mudou, passando atualmente para aproximadamente 500 espécies e subespécies descritas nas Américas. O Brasil possui uma grande variedade de espécies de flebotomíneos, sendo o país com maior número de espécies e subespécies, em torno de 229, em todo mundo (AGUIAR; MEDEIROS, 2003).

As principais espécies envolvidas na transmissão da LTA, no Brasil, são: *Bichromomyia flaviscutellata* (Mangabeira, 1942), *Nyssomyia whitmani*, *Nyssomyia umbratilis* (Ward & Fraiha, 1977), *Nyssomyia intermedia*, *Psychodopygus wellcomei* (Fraiha, Shaw & Lainson, 1971) e *Migonemyia migonei* (França, 1920). No município de Timóteo, já foram relatadas as presenças de *Ny. intermedia*, *Ny. whitmani*, *Br. flaviscutellata* e *Mg. migonei*, sendo essas as principais espécies encontradas no estado de Minas Gerais e envolvidas na transmissão de LTA (AGUIAR; MEDEIROS, 2003; SOUZA *et al*, 2009; BRASIL, 2007).

Os flebotomíneos são insetos holometabólicos, suas formas imaturas têm o habitat terrestre, desenvolvendo-se em locais ricos em matéria orgânica em decomposição, especialmente de natureza vegetal (AGUIAR; MEDEIROS, 2003).

Os abrigos utilizados pelos flebotomíneos adultos variam de acordo com o micro-habitat, estação do ano, umidade relativa do ar e de acordo com a espécie. Os ventos e chuvas podem influenciar no nível de atuação dos flebotomíneos, sendo os fenômenos mais importantes na inibição da atividade desses insetos, embora quando moderados não impeçam sua atividade. O ciclo lunar também interfere consideravelmente na distribuição dos flebotomíneos, principalmente em noites mais claras, proporcionadas pela lua cheia. Assim, a densidade populacional dos flebotomíneos pode ser afetada por fatores climáticos, alterações do 'micro-habitat', disponibilidade de sangue para o repasto das fêmeas, competição entre espécies e fatores ligados a alterações antrópicas do ambiente (AGUIAR *et al.*, 1987; FERRO *et al.*, 1997).

2.4 O papel dos reservatórios na transmissão da LTA

Segundo o Ministério da Saúde, é considerado como reservatório, a espécie ou o conjunto de espécies que garantem a circulação de um determinado parasito na natureza, dentro de um recorte de tempo e espaço. A dispersão da leishmaniose está diretamente ligada aos movimentos de seus reservatórios, e identificá-los é de fundamental importância para o controle efetivo da transmissão (BRASIL, 2007).

Segundo Lainson e Shaw (1988), os reservatórios de leishmaniose podem ser classificados em dois tipos: reservatório primário, que se refere aos reservatórios infectados que albergam o parasito e são responsáveis pela manutenção do ciclo do parasito na natureza; e reservatório secundário, que se refere à situação onde o animal está infectado, mas é incapaz de manter o ciclo do parasito. A infecção dos reservatórios por *Leishmania* já foi descrita em espécies de animais silvestres, sinantrópicos e domésticos.

Os reservatórios silvestres naturais de LTA têm sido alvo de vários estudos desde as primeiras décadas do século XX e muitos relatos têm sido documentados, como a presença de *Leishmania* em roedores, marsupiais, edentados e canídeos silvestres (NERY GUIMARÃES *et al.*, 1968; BRASIL, 2007). No Brasil, muitos autores já descreveram a participação de roedores na epidemiologia das leishmanioses. No estado de Minas Gerais, Oliveira *et al.*, (2005) relataram a infecção de *L. (V.) braziliensis* presentes em amostras de sangue e de pele de roedores sinantrópicos e silvestres.

No estudo realizado por Melo (2008), em Belo Horizonte, foi investigada a taxa de infecção natural em 34 marsupiais do gênero *Didelphis*, e foi detectada uma taxa de 23,5% de animais positivos para *L. (V.) braziliensis*. Esses animais são facilmente encontrados em florestas alteradas pela ação antrópica e são frequentemente vistos nos quintais de residências situadas próximo de matas. Eles são fonte de alimento para diferentes espécies de flebotomíneos, o que os leva a serem elos perfeitos entre os ciclos silvestres e periurbano (CABRERA *et al.*, 2003).

Inúmeros animais domésticos já foram relatados com infecção por *Leishmania*, tais como: suínos (BRAZIL *et al.*, 1987), felinos (PENNISI *et al.*, 2004; SOUZA, 2005) e equinos (AGUILAR *et al.*, 1986), porém seu papel na manutenção do parasito no meio ambiente ainda não foi esclarecido. Apesar de os cães serem o reservatório doméstico mais importante da LV e já terem sido observados infectados com *L. (V.) braziliensis* em áreas endêmicas de LTA (GONTIJO *et al.*, 2002, MADEIRA *et al.*, 2003), ainda não se pode afirmar que sejam um reservatório na transmissão de LTA, pois não há evidências científicas que

comprovem o seu papel como reservatório, sendo considerados reservatórios acidentais da doença (BRASIL, 2007).

O ministério da Saúde não recomenda ações de controle de animais silvestres e sinantrópicos em áreas endêmicas para LTA e nos casos de animais domésticos com LTA só é permitida a eutanásia quando as lesões mucosas e infecções secundárias causem sofrimento ao animal. Desta forma, conhecer a biologia dos reservatórios é importante para oferecer alternativas mais eficazes para o controle dos vetores (LAINSON; SHAW, 1988; BRASIL, 2007).

2.5 Ciclo biológico da *Leishmania* spp.

A transmissão de *Leishmania* ao ser humano e outros mamíferos normalmente se dá quando a fêmea de flebotomíneo infectada pica o hospedeiro vertebrado, durante o repasto sanguíneo, ingerindo macrófagos infectados pelas formas amastigotas. O ciclo de vida de *Leishmania* é intracelular: o parasito se desenvolve e multiplica dentro dos macrófagos, células do sistema mononuclear fagocitário. As amastigotas, ao serem ingeridas pelos flebotomíneos, se multiplicam e se transformam em formas extracelulares, flageladas, alongadas e móveis, no intestino do inseto, denominadas de promastigotas. (PIMENTA *et al.*, 2003; DESJEUX, 2004).

Os flebotomíneos infectados, ao realizarem um novo repasto sanguíneo, transmitem para o hospedeiro vertebrado as promastigotas que tendem a ser fagocitadas pelos macrófagos e se transformam em amastigotas. A multiplicação dos protozoários no interior das células ocupa todo o citoplasma, deslocando o núcleo até o rompimento da membrana celular, ocasionando a liberação das amastigotas no tecido, sendo essas novamente fagocitadas, dando continuidade ao ciclo biológico (NIEVES; PIMENTA, 2000; REY, 2001; PIMENTA *et al.*, 2003).

2.6 Epidemiologia da LTA

As leishmanioses encontram-se amplamente distribuídas em 88 países ameaçando cerca de 350 milhões de pessoas, em quatro continentes (Ásia, Europa, África e América) com registro de 1 a 2 milhões de casos novos por

ano. Na América do Sul, apenas Chile e Uruguai não apresentam registro de casos. A Organização Mundial de Saúde considera a Leishmaniose como uma das seis mais importantes doenças infecciosas. Pelo seu alto coeficiente de detecção e capacidade de produzir deformidades, é classificada como uma doença negligenciada, devido aos limites dos recursos investidos em diagnóstico, tratamento, controle e sua grande associação à população de baixa renda (WHO, 2011; BRASIL, 2007; CDC, 2011).

A epidemiologia da LTA nas Américas é complexa, com variação nos ciclos de transmissão, reservatórios, vetores, manifestações clínicas e resposta à terapia, além das espécies de *Leishmania* que circulam na mesma área geográfica. A LTA era, predominantemente, uma doença profissional, relacionada com atividades como extração de borracha, operações militares, construção de estradas e de desenvolvimento agrícola. A exposição ocupacional continua a ser importante, mas o desmatamento generalizado levou a um rápido aumento no número de casos, mudando os aspectos epidemiológicos da doença. No Brasil, por exemplo, de 1980 a 2001, houve um aumento de 10 vezes na incidência de LTA, em todos os estados (BRASIL, 2007; WHO, 2010).

Além da incidência da doença aumentar substancialmente, os sub-registro de casos nos impede de conhecer a magnitude do problema. O controle das leishmanioses é uma das prioridades da OMS. Medidas como eliminação de vetores com inseticidas no domicílio e peridomicílio, colares impregnados para prevenir a infecção canina, além do sacrifício de cães com LV, não causaram o impacto esperado. Uma vacina eficaz seria uma alternativa, porém o que se tem até o momento são pesquisas clínicas (DESJEUX, 2004; FUNASA, 1999; BRASIL, 2007).

O estado de Minas Gerais tem registrado ocorrências de surtos desde a metade do século passado e a grande maioria dos casos está relacionada com atividades de desmatamento para a construção de estradas e implantação de projetos agrários (MARTINS *et al.*, 1956; FURTADO *et al.*, 1966). Ao longo dos anos, este quadro veio se modificando, há registros de ocorrência de surtos em áreas já colonizadas (HERMETO *et al.* 1994; GONTIJO *et al.*, 2002), além do

aparecimento de casos em áreas periurbanas das cidades, como por exemplo no estudo de Mayrink *et al.*, (1979), realizado na cidade de Caratinga, Vale do Rio Doce.

2.7 Aspectos ambientais relacionados à transmissão da LTA e ao processo de urbanização

Em um dos primeiros estudos de LTA realizados no Brasil, Pessôa (1963) identificou um padrão de transmissão fundamentado no contato do ser humano com o ambiente silvestre. Assim, os grupos humanos mais expostos a contrair esta enfermidade seriam constituídos por indivíduos que trabalham em atividades extrativistas vegetais ou minerais e aqueles que se ocupam da construção de obras de engenharia civil desenvolvidas em zonas florestais. Porém, esse padrão de transmissão vem sofrendo alterações, devido à grande expansão geográfica dos casos de LTA, ao longo dos anos, decorrente da extensa modificação de ambiente florestais primários, por meio de intervenções massivas do ser humano.

De acordo com Barreto *et al.* (1984), podem-se descrever três padrões de transmissão de LTA no Brasil: o primeiro padrão foi descrito como silvestre, ocorrendo em focos naturais em ecossistemas florestais, localizados na região Amazônica e no Centro-Oeste brasileiro; o segundo padrão foi identificado em áreas desmatadas e agrícolas próximas de mata, como ocorre no Nordeste nos estados do Ceará e da Bahia, na Região Sudeste, em Minas Gerais e no Rio de Janeiro; e o terceiro padrão de transmissão, cuja ocorrência tem sido observada nas periferias de áreas urbanas, graças a um processo de urbanização dos vetores (SARAIVA *et al.*, 2011).

Um grande problema relatado nos estudos é a proximidade das residências às áreas de matas (CORTE *et al.*, 1996). Em um estudo realizado na Bolívia, Alcáis *et al.* (1997), analisando as características ambientais onde se encontravam as residências envolvidas nos casos, verificaram que, a proximidade das habitações a áreas de matas, e locais de trabalho e lazer dos pacientes também próximos de mata, também influenciariam no risco de contrair a doença.

As alterações ambientais causadas pelo ser humano provocam efeitos diretos sobre a saúde pública, causando impactos sobre os ciclos de transmissão de doenças, modificando os habitats, e deslocando as doenças para as proximidades dos peridomicílios do entorno das áreas impactadas (OLIVEIRA, 2006).

2.8 Uso de ferramentas moleculares para identificação de *Leishmania* spp. em flebotomíneos

Diagnosticar e identificar *Leishmania* sempre foi um grande desafio. Ross, em 1903, tentou classificar os parasitos do gênero *Leishmania* apenas considerando aspectos clínicos e epidemiológicos da doença, pois a distinção de espécies através da morfologia do parasito nunca foi um método fácil, devido a similaridade entre as espécies e suas diferenças morfológicas minúsculas. Da década de 80 em diante, técnicas de biologia molecular vêm sendo desenvolvidas para a detecção e identificação precisa desses parasitos, sem a necessidade de isolamento em cultura, auxiliando na caracterização taxonômica das espécies de *Leishmania* (QUARESMA *et al*, 2009; MARGONARI *et al*, 2010; QUARESMA *et al*, 2011, SARAIVA *et al*, 2010).

No presente estudo foi utilizado, como técnica de biologia molecular, a PCR (Reação em cadeia da polimerase), método esse baseado na amplificação de fragmentos de DNA (Ácido desoxirribonucléico) e têm sido desenvolvido para a detecção de material genético de *Leishmania* (SCHALLIG; OSKAN, 2002). A PCR tem sido utilizada para várias finalidades, desde o diagnóstico até monitoramento do tratamento e estudos epidemiológicos. Esta técnica tem sido descrita como um método sensível para a detecção do parasito, independente da imunocompetência ou da história clínica do paciente (WEISS, 1995). Apesar de ser um método sensível para a detecção de *Leishmania* em uma variedade de amostras biológicas de humanos e cães, a PCR tem sido mais utilizada em estudos epidemiológicos do que no diagnóstico de rotina (SOLANO-GALLEGO *et al*, 2001), isso porque para o emprego da PCR em larga escala, seriam necessários ajustes para que a técnica se tornasse mais simples e com custo mais baixo.

A PCR é um método que vem inovando a pesquisa com vetores e reservatórios de *Leishmania* spp. É um método que possui alta sensibilidade e especificidade, com resultados rápidos e seguros. Esse método se baseia na síntese de milhares de cópias de DNA *in vitro* catalisada pela Taq DNA polimerase. A técnica requer o conhecimento do DNA alvo de um determinado organismo, para o desenvolvimento de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) que irão hibridizar-se especificamente à sequência alvo (YANG; ROTHMAN, 2004; ROSELINO, 2008; SOARES *et al.*, 2005).

A PCR também tem sido muito utilizada para diagnóstico etiológico da LTA por se tratar de uma técnica mais sensível que as convencionais (GARCIA *et al.*, 2005). Em um estudo realizado no estado de São Paulo, foram comparadas as técnicas de identificação do parasito por PCR e detecção histopatológica. Os autores relataram que a técnica de PCR demonstrou ser superior à detecção histopatológica de *Leishmania* para o diagnóstico da LTA (MEDEIROS *et al.*, 2002).

Para se identificar as diferentes espécies de *Leishmania*, tanto em flebotomíneos quanto nos diagnósticos etiológicos, tem sido descrita na literatura, a utilização de uma grande quantidade de enzimas de restrição, por se tratar de um método mais barato e mais rápido (GARCIA *et al.*, 2005; ROTUREAL *et al.*, 2006).

Além do bom desempenho no diagnóstico etiológico, a PCR tem sido muito utilizada nos estudos epidemiológicos que buscam identificar animais silvestres ou domésticos como possíveis hospedeiros reservatórios de diferentes espécies de *Leishmania* (SOLANO-GALLEGO *et al.* 2001, BRANDÃO FILHO *et al.* 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2005, QUARESMA *et al.*, 2009).

Apesar do grande avanço tecnológico, os métodos de biologia molecular apresentam limitações que incluem falsos-positivos devido à contaminação, falsos-negativos devido à baixa carga parasitária em alguns tecidos e também limitações intrínsecas da PCR como a presença de inibidores da reação (YANG; ROTHMAN, 2004).

2.9 Utilização da análise espacial em estudos epidemiológicos

Em diversos estudos de enfermidade dos seres humanos, é cada vez mais comum a abordagem ambiental oferecida pela epidemiologia paisagística, associada à utilização de Sistemas de Informação Geográfica (SIG). Segundo a OMS, os SIGs estão se tornando ferramentas importantes para a compreensão da epidemiologia das leishmanioses (WHO, 2010). A evolução do Sistema de Informação Geográfica possibilitou sua crescente utilização como ferramenta de auxílio a análise espacial, tornando possível avaliar cenários geográficos com rapidez e, conseqüentemente, tornar mais ágil as tomadas de decisões, com uma vasta gama de dados de diferentes fontes, incluindo o geoprocessamento e o sensoriamento remoto (CROSS *et al.*, 1996; MIRANDA *et al.*, 1996; COSTA, 2001). Além disso, os SIGs podem ser flexíveis e se adaptam às necessidades dos países e regiões geográficas, facilitando a tomada de decisões e apoiando o planejamento estratégico para a disponibilização de recursos e controle eficaz das leishmanioses. Os dados dos sistemas, aliados aos dados das atividades de vigilância epidemiológica, podem gerar mapas delineando a dispersão dos casos, com base na prevalência ou incidência da leishmaniose e mapear a distribuição de vetores e reservatórios, produzindo, assim, mapas de zona de risco de contato entre o vetor da LTA e o ser humano, em busca de relações dessas zonas de contato com fatores ambientais (APARICIO; BITENCOURT, 2004; WHO, 2010).

As aplicações do SIG mostram o poder e o potencial desses sistemas para lidar com questões importantes de saúde em nível local, nacional e internacional. Isso, graças ao sistema de análises espaciais, uma ferramenta que possibilita manipular dados espaciais de diferentes formas e extrair conhecimento adicional como resposta (CLARKE *et al.*, 1996).

Em 2004, Câmara *et al.*, relataram que a taxonomia mais utilizada em análise espacial considera três tipos de dados: (i) eventos ou padrões pontuais, fenômenos expressos por ocorrências identificadas como pontos localizados no espaço, denominados processos pontuais (exemplo: localização de crimes, ocorrências de doenças, entre outros); (ii) superfícies contínuas, estimadas

com base em um conjunto de amostras de campo que podem estar regularmente ou irregularmente distribuídas (usualmente, esse tipo de dado é resultante de levantamento de recursos naturais e incluem mapas geológicos, topográficos, ecológicos); (iii) áreas com contagens e taxas agregadas, referem-se a dados associados a levantamentos populacionais, como censos e estatísticas de saúde e que originalmente relacionam-se a indivíduos localizados em pontos específicos do espaço.

Na década de 80, surgem o interesse no estudo dos padrões espaciais e temporais de doenças, conforme salienta a literatura publicada em periódicos de diferentes áreas (WILLIAMS, 1984; SMITH, 1982; MARSHALL, 1991; KULLDORFF *et al.*, 1998). A distribuição de doenças no espaço e no tempo é um tema muito explorado em epidemiologia (WERNECK; STRUCHINER, 1997). Dentre os desenhos epidemiológicos utilizados neste contexto, destacam-se os denominados estudos de “cluster” ou conglomerado, onde o objetivo central da investigação é o esclarecimento dos mecanismos responsáveis pela sua formação (MARSHALL, 1991).

Segundo Moura (2006), um conglomerado é uma área que apresenta risco de casos para uma determinada variável resposta e, ao se detectar um conglomerado de casos, busca-se o(s) fator(es) gerador(es) destes conglomerados. Estes casos podem ser: doenças, espécies de vetor, hospedeiro, espécies de plantas entre outros. Nos últimos anos, os estudos de conglomerados espaciais vêm ganhado espaço e alguns métodos vêm sendo sugeridos (KULLDORFF; NAGARWALLA, 1995; KULLDORFF, 1997; ASSUNÇÃO, 2001).

Os métodos de detecção de conglomerados espaciais se dividem em duas categorias: gerais e focados, segundo Besag e Newell (1991). Os testes de agregações gerais são aqueles que visam identificar a existência de conglomerados sem o conhecimento *a priori*, da localização deste. Já os testes de agregações focados visam avaliar a presença de conglomerados de casos em torno de uma fonte suspeita.

De acordo com Kulldorf e Nagarwalla (1995), os conglomerados podem ser detectados em dois tipos: *hot-spot*, que apresentam risco elevado em toda sua

área; e clinais, que apresentam risco elevado no seu centro e, à medida que vai se afastando do centro, o risco diminui de forma a ficar praticamente desprezível.

O método de varredura de Kulldorff, também conhecido como estatística *Scan*, pertence à classe de testes de agregação gerais e foi desenvolvido inicialmente por Kulldorff e Nagarwalla (1995).

Ao utilizar o estatística *Scan*, algumas letras funcionam como símbolos: N representa o número total de indivíduos na população; C , o número total de casos observados na região de estudo; Z , o conjunto das áreas z candidatas a formarem um conglomerado. As áreas candidatas z são círculos de raio (r) arbitrário centrados em cada um dos n centróides (ponto central dos círculos). Esses círculos são limitados à distância dos outros centróides ou, ainda, limitados ao raio que determina que o conglomerado z contenha no máximo 50% da população total da área (KULLDORFF, 1997) (Figura 1).

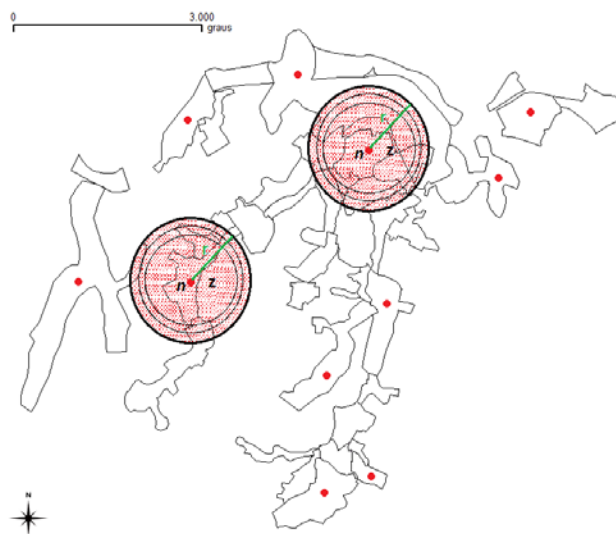


Figura 1: Exemplo hipotético da varredura espacial da estatística scan

O estatística *Scan* possui como vantagens: evitar o viés de pré-seleção na busca de conglomerados, sem especificar a sua dimensão ou localização, reduzindo o problema da unidade de área modificável referente ao zoneamento; considerar a densidade populacional não constante na região e também qualquer número de variáveis de risco conhecidas, como idade e sexo; fornecer a localização mais provável e mais correta do aglomerado, fornecendo

um p-valor real caso a hipótese nula for rejeitada (BALIEIRO, 2008; CARMO, 2009).

Entre as desvantagens do método, estão: a fixação da forma geométrica dos candidatos a aglomerados como círculo, que tende a criar aglomerados compactos englobando muitas vezes áreas que, de fato, não fazem parte do aglomerado; o baixo poder de detecção em situações onde há um grande número de pequenos aglomerados localizados em posições bastante diferentes (ASSUNÇÃO, 2001).

O estatística *Scan* utiliza o modelo de probabilidade de acordo com a variável de interesse no estudo, para dados com origem em contagens são indicados os modelos de Poisson, Bernoulli e Permutação espaço-temporal. Os modelos a serem utilizados nos estudos dependem também de como as contagens são apresentadas, por exemplo: quando o número de casos for representado através de categorias hierárquicas (nível baixo, médio e alto) o modelo ordinal é o mais indicado; no caso dos números contínuos (positivo e negativo) os modelos normal e ordinal podem ser usados (KULLDORFF, 1997).

Nos modelos de Poisson e de permutação espaço-temporal, é possível incorporar informações de co-variáveis, porém, apenas o modelo Poisson permite a incorporação de dados sobre a população em risco, enquanto o modelo permutação espaço-tempo só ajusta conglomerados espaço-temporais (BALIEIRO, 2008; CARMO, 2009).

Análises de detecção de conglomerados puramente temporais e espaço-temporal podem ser executadas de duas maneiras: análise retrospectiva, que visa detectar em um espaço e tempo fixados, tanto os conglomerados ativos, que permanecem até o período final do estudo, quanto conglomerados históricos, que por sua vez, deixam de existir até o final do estudo; e a análise prospectiva: visa detectar apenas os conglomerados ativos, aqueles que nunca deixaram de ocorrer no período de tempo estudado (KULLDORFF *et al.*, 1998).

Para realizar a análise espaço-temporal, a varredura usa cilindros (Figura 2), sendo que a base da varredura do cilindro representa o espaço geográfico e a altura do cilindro representa o tempo.

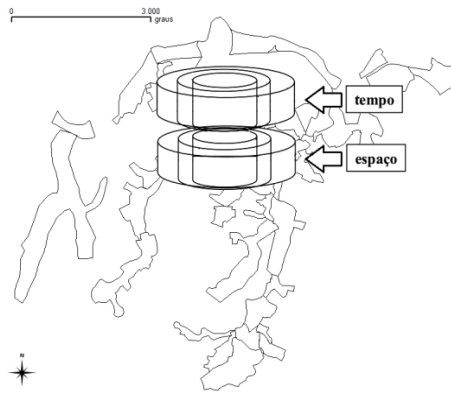


Figura 2: Procedimento de varredura espaço-temporal

Durante as últimas décadas, o número de casos de Leishmaniose no Brasil vem crescendo e sua distribuição geográfica se ampliando e se tornando um dos problemas mais sérios enfrentados pelas autoridades em saúde pública (BRASIL, 2006). A epidemiologia das leishmanioses só será compreendida plenamente através da análise da ecologia dos vetores e reservatórios envolvidos na transmissão da doença. Sendo assim, informações sobre a distribuição dos vetores associadas a variações sazonais associados e a incidência de casos de LTA são essenciais para o conhecimento da epidemiologia das leishmanioses (SARAIVA *et al.*, 2011). Neste trabalho foi empregado o modelo de Poisson para compreender melhor o processo de dispersão dos casos de LTA ao longo dos anos, entre os setores censitários do município de Timóteo-MG.

Esse estudo, desenvolvido no município de Timóteo-MG, compreendeu quatro fases/etapas de investigação. Inicialmente, foram trabalhadas as fichas de investigação de casos humanos de LTA, notificadas no município, e aplicação de questionário para obtenção de dados dos pacientes e das residências envolvidas no estudo. A partir dos endereços dos pacientes, obtidos na ficha de notificação, foram selecionadas residências de casos e não casos, da área urbana do município, onde foram instaladas armadilhas para o levantamento entomológico da fauna de flebotomíneos. Os flebotomíneos capturados foram submetidos às técnicas moleculares para a detecção de infecção natural por

Leishmania spp. Por fim, foi realizado análise espacial em busca de identificar conglomerados de casos de LTA, associados a presença do vetor infectado.

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

- Avaliar o processo de urbanização da leishmaniose tegumentar americana no município de Timóteo-MG, através de aspectos entomológicos e comportamentos espacial dos casos notificados de LTA.

3.2 Objetivos específicos

- Pesquisar a presença de flebotomíneos vetores na área urbana do município.
- Verificar a taxa de infecção natural por *Leishmania* spp. nas fêmeas de flebotomíneos capturados.
- Verificar a variação sazonal da ocorrência do vetor durante o período de 12 meses.
- Realizar estudo descritivo dos casos humanos notificados.
- Identificar possíveis fatores que contribuem para a proliferação do vetor no meio urbano.
- Identificar a ocorrência de conglomerados de LTA através do método de varredura de Kulldorff.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Caracterização da área de estudo

A área escolhida para a realização do trabalho foi o município de Timóteo, situado na região Leste do estado de Minas Gerais, Mesorregião do Vale do Rio Doce, Região Metropolitana do Vale do Aço. O município possui uma área de 144.381 km², o centro do município situa-se a 42°38'16" de Longitude Oeste e 19°30'36" Latitude Sul, distando 198 km da cidade de Belo Horizonte, capital do estado, e possui uma população de 81.119 habitantes, dos quais 99,85% e 0,15% vivem em áreas urbanas e rurais, respectivamente¹. Timóteo tem como municípios limítrofes Antonio Dias, Bom Jesus do Galho, Caratinga, Coronel Fabriciano, Ipatinga, Marliéria, e Jaguarauçu. Entre o município de Timóteo e os municípios de Marliéria e Dionísio está localizado o Parque Estadual do Rio Doce, que constitui uma das maiores áreas de conservação do país².

O clima é classificado como tropical de altitude, com secas no inverno e chuvas no verão. No inverno, a média de temperaturas mínimas é de 15°C, e no verão a máxima ultrapassa os 35°C, podendo chegar aos 40°C³.

O relevo é bem acidentado, sendo composto, principalmente, por montanhas. O ponto mais alto é o Pico do Ana Moura com 864 metros de altura³.

A vegetação nativa é do tipo Floresta Tropical do Sudeste Brasileiro, matas de galerias e ciliares, que atualmente restringem-se a poucas manchas e à área delimitada pelo Parque Estadual do Rio Doce³.

¹ http://www.censo2010.ibge.gov.br/resultados_do_censo2010.php

² <http://www.mapas.ibge.gov.br/MapadeDivisõesTerritoriais>

³ <http://www.timoteo.mg.gov.br/entidades.aspx?cd=27>

4.2 Caracterização dos casos humanos

O estudo descritivo dos casos humanos foi realizado a partir da revisão rigorosa de todas as fichas de investigação dos casos de LTA procedentes do município de Timóteo-MG, notificados pela Secretaria Municipal de Saúde (SMS-Timóteo), durante o período de janeiro de 2002 a agosto de 2010 (Apêndice 1) e que integram o Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN).

Na revisão das fichas, foram selecionadas apenas aquelas que correspondiam a casos humanos residentes em área urbana do município de Timóteo e confirmados como casos de LTA por critério laboratorial (parasitológico direto, intradermorreação de Montenegro ou histopatológico). As demais fichas foram descartadas do estudo. Das fichas selecionadas, foram obtidas as seguintes variáveis: data de notificação, idade, endereço, sexo, escolaridade e ocupação do paciente.

A partir do endereço registrado na ficha de notificação, o paciente (ou seu responsável) foi procurado e solicitado que respondesse a um questionário para obtenção de dados socioeconômicos e demográficos, referentes ao paciente e dados ambientais e de saneamento, referentes ao domicílio do paciente (Apêndice 2). Na entrevista, orientou-se que o respondente procurasse se referir a um período de um ano antes do diagnóstico de LTA para responder às seguintes questões: tempo de residência no município (em meses), registro de viagem distante do município (sim/não), frequência à área rural (sim/não) e se tinha conhecimento sobre o provável local onde ocorreu a infecção.

Além das variáveis mencionadas, foram coletadas também, referindo-se ao momento da aplicação do questionário, as seguintes informações: renda familiar (em salários), ocupação, escolaridade, (se iniciaram e concluíram), presença de lesão e/ou cicatriz (sim/não), conhecimento sobre a forma de transmissão da LTA (sim/não) e conhecimento sobre o inseto vetor/flebotomíneo (sim/não).

4.3 Inquérito entomológico

4.3.1 Método de captura dos flebotomíneos

Para o inquérito entomológico, foram selecionadas residências na área urbana com e sem casos humanos notificados no período de janeiro de 2002 a julho de 2009.

Para escolha dos pontos de amostragem e instalação das armadilhas, foi tomado como referência o mapa do município de Timóteo, com suas divisões por setores censitários, segundo o IBGE (2009), totalizando 95 setores censitários. As residências com casos de LTA notificados no período indicado anteriormente foram localizadas no mapa e, com o auxílio do programa CorelDRAW Graphics Suite X4, foi desenhada ao redor de cada residência uma circunferência com raio de 250 m. Esse valor foi adotado tendo como critério a metade da distância máxima de dispersão de espécies de flebotomíneo observado por Forattini (1973), qual seja, 500 m. Em seguida, foram definidas como pontos de amostragem todas as residências com circunferências isoladas. Os locais onde as circunferências apresentaram sobreposições foram considerados como uma única área e se escolheram, visualmente, as residências com casos que melhor representassem espacialmente as áreas, ou seja, que incluíssem o maior número de residências (Figura 3). Os proprietários das residências selecionadas foram procurados e solicitados a participar do estudo, permitindo a instalação de armadilhas. Caso o proprietário da residência escolhida não concordasse em participar do estudo, era escolhida outra residência localizada na mesma área e, quando a residência era única na circunferência, a mesma era retirada do estudo.

Além das armadilhas instaladas nas residências com casos, foram instaladas armadilhas em setores censitários que não apresentavam casos de LTA notificados até outubro de 2009. Para determinar esses setores censitários foram sorteados 20% de um total de 75 setores sem casos de LTA, resultando em 15 setores censitários. Em cada um dos 15 setores censitários selecionados, foi sorteada uma rua, avenida ou praça e, em seguida, foi sorteado um número de uma residência da rua, avenida ou praça sorteadas,

onde foi instalada a armadilha (Figura 4). Não havendo possibilidade da instalação das armadilhas nas residências selecionadas, era escolhida a residência localizada imediatamente ao lado direito. Não havendo possibilidade da instalação na residência do lado direito, era selecionada a residência do lado esquerdo como ponto de amostragem.

Foram instaladas 30 armadilhas em residências com casos notificados de LTA e 15 armadilhas em residências sem casos notificados até outubro de 2009 (Quadro 2 e Figura 4).

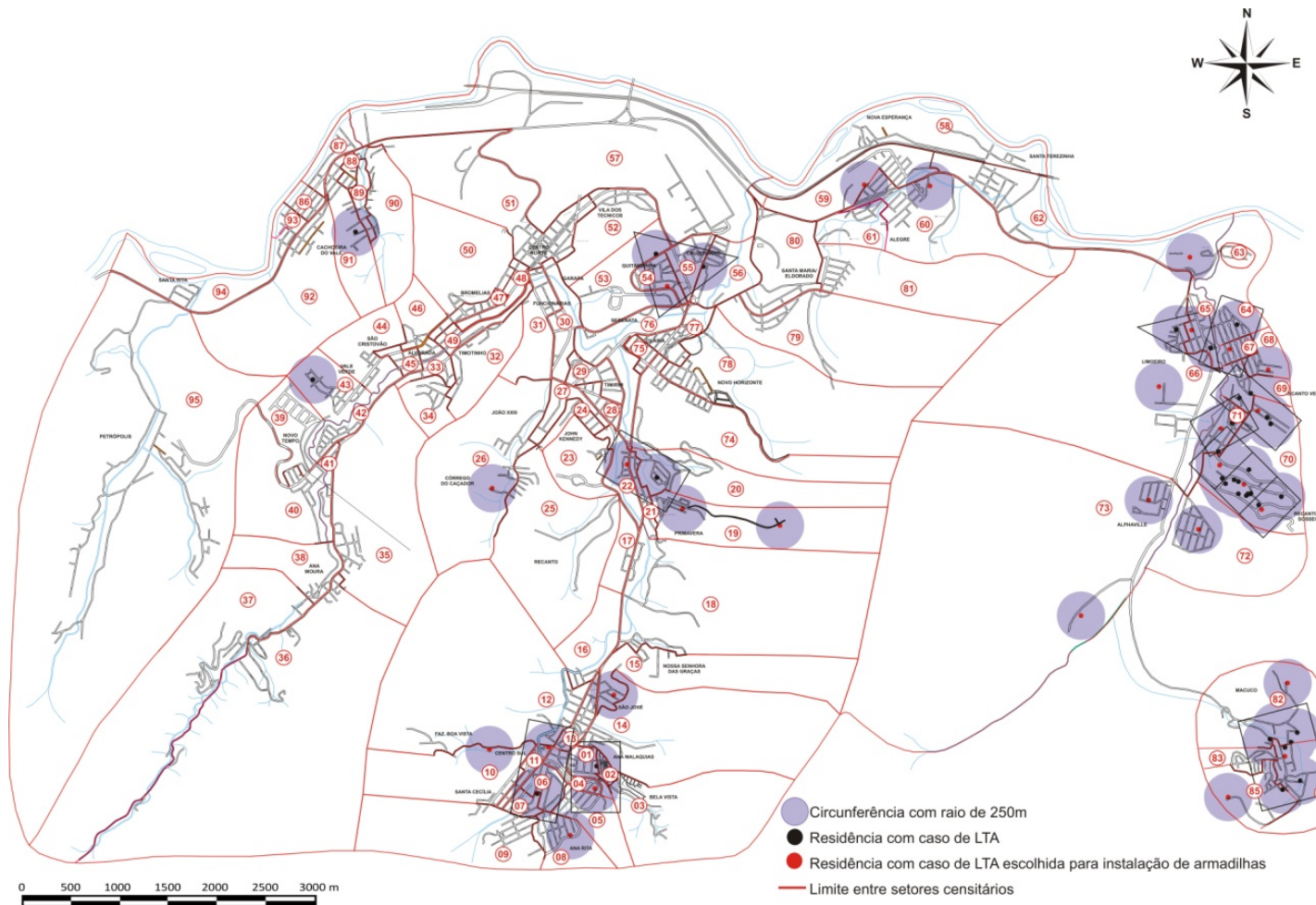


Figura 3: Seleção das residências com casos de LTA para instalação das armadilhas utilizadas para captura de flebotomíneos, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010.

Quadro 2: Armadilhas instaladas em residências com casos e sem casos de LTA segundo setores censitários, Timóteo-MG, 2009 a 2010

RESIDÊNCIA	ARMADILHA	SETOR CENSITÁRIO
Com casos de LTA	01	8
	02	4
	05	11
	06	10
	07	15
	09	19
	10	19
	11	22
	12	26
	13	54
	16	43
	19	91
	20	59
	21	60
	22	62
	23	65
	24	67
	25	68
	26	66
	27	71
	28	70
	29	70
	30	70
	31	70
	32	73
	33	72
	34	73
	35	82
	37	84
	39	85
Sem casos de LTA	03	06
	04	58
	08	18
	14	51
	15	78
	17	40
	18	88
	36	92
	38	95
	40	03
	41	12
	42	13
43	23	
44	24	
45	45	

Em cada residência selecionada, foram colocadas armadilhas luminosa do tipo Falcão (FALCÃO, 1981) (Figura 5), sendo uma armadilha por residência. As capturas foram realizadas durante duas noites consecutivas, a cada mês, no período de novembro de 2009 a outubro de 2010. Foram instaladas 45 armadilhas com distância de, no máximo, 20 m do entorno da residência e a uma altura de 150 cm do chão, priorizando os locais onde repousavam animais domésticos e se fazia plantio de árvores frutíferas. As armadilhas foram ligadas às 18:00 h e retiradas às 06:00 h do dia seguinte.

Além da colocação das armadilhas, foram aplicados questionários aos proprietários para obtenção de informações sobre as características das residências (Apêndice 2).



Figura 5: Armadilha luminosa tipo Falcão

4.3.2 Identificação dos flebotomíneos

O trabalho de triagem dos flebotomíneos capturados foi realizado na Secretaria Municipal de Saúde de Timóteo, com ajuda dos funcionários do Centro de Controle de Zoonoses. Todos os insetos capturados foram sacrificados em câmara refrigerada. As fêmeas de flebotomíneos capturadas foram separadas em microtubos de polipropileno de 0,5ml em solução de DMSO a 6% e

congeladas a -20°C para posterior identificação e extração de DNA para análise de infecção. A identificação das fêmeas foram realizadas através da visualização da espermateca, utilizando-se para isto, o último segmento do abdômen. Também foi utilizada como caracter taxonômico na identificação específica, a visualização do cibário das fêmeas, mantendo a parte ventral da cabeça voltada para cima.

Os machos foram separados e conservados em álcool 70% e, posteriormente, foram montados em lâminas e lamínulas e identificados. A identificação dos flebotomíneos foi realizada de acordo com a classificação de Galati (2003) e a abreviação do nome das espécies neste estudo segue a proposta de Marcondes (2007).

4.4 Ensaios moleculares para detecção de *Leishmania* spp. em fêmeas de flebotomíneos

As fêmeas de flebotomíneos que não apresentaram sinais de repasto sanguíneo em seu abdômen foram utilizadas como fonte de DNA em ensaios moleculares para a pesquisa de infecção natural por *Leishmania* spp. Após a dissecação e identificação, os insetos foram acondicionados em microtubos, individualmente ou em pools contendo de 2 a 10 insetos, de acordo com a espécie e data de captura, e estocados no freezer a -20°C até sua utilização para extração de DNA.

A extração do DNA procedeu-se utilizando o kit comercial de extração Gentra Puregene® (QIAGEN), as concentrações dos reagentes não foram especificadas pelo fabricante. Durante toda a extração, foi utilizado a mesma metodologia, porém com quantidades de reagentes diferentes, de acordo com as amostras. Para amostras individuais e amostras de pools de 2 a 5 indivíduos, foi adotado a mesma quantidade de reagentes (denominado amostra I) e para amostras de pools de 6 a 10 insetos foram utilizados outra quantidade de reagente (denominado amostra II).

Os microtubos contendo os insetos foram retirados do freezer -20°C e, após o descongelamento, os insetos foram ressuspensos em 100µl (amostra I) ou 200µl (amostra II) de solução de lise celular, contendo 1µl (amostra I) ou 1,5µl

(amostra II) de proteinase K. Em seguida, os microtubos foram incubados em banho-maria a 55°C *overnight*. Após esse período, foi adicionado 1µl (amostra I) ou 1,5µl (amostra II) de RNase, os microtubos foram homogeneizados e incubados em banho-maria a 37°C por 1 hora. Em seguida, os microtubos foram centrifugados por 3 minutos a 14.000rpm e o sobrenadante foi transferido para um novo microtubo, contendo 300µl (amostra I e amostra II) de isopropanol (100%). Os microtubos foram homogeneizados e, novamente, centrifugados por 5 minutos a 14.000rpm. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e foram adicionados 300µl de etanol (70%) e 30µl de acetado de sódio (10%) em cada amostra. Os tubos foram incubados em freezer -80°C por 1 hora e, posteriormente foram centrifugados por 5 minutos a 14.000rpm. Ao término da centrifugação, descartou-se novamente o sobrenadante e os microtubos foram invertidos em papel absorvente para a evaporação do etanol.

O DNA extraído foi ressuspenso em 15µl (amostra I) ou 40µl (amostra II) de solução de reidratação e os microtubos foram incubados a 65°C por 1 hora para a reidratação do DNA. Em seguida, o DNA foi incubado em temperatura ambiente *overnight*, e posteriormente, foram estocados em freezer -20°C até a utilização.

O DNA extraído foi submetido à técnica de PCR para amplificação de uma região alvo do DNA de *Leishmania* spp., o ITS-1 (internal transcribed spacer 1). O ITS-1 é uma região intergênica entre os genes SSU e 5.8S (Figura 6), podendo distinguir as seguintes espécies de *Leishmania*: *L. donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi*, *L. aethiopica*, *L. tropica*, *L. major*, *L. mexicana*, *L. amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. guyanensis* e *L. panamanensis* (Cupolillo *et al.*, 2009).

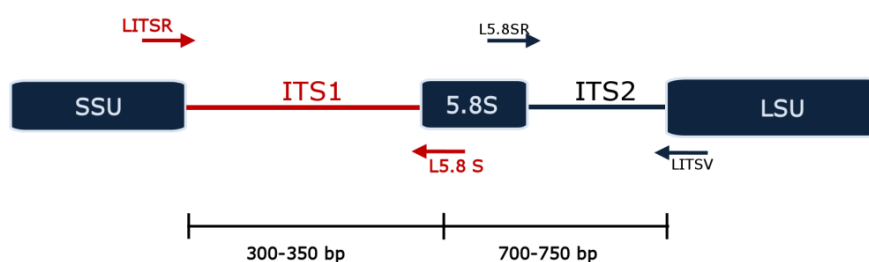


Figura 6: Região intergênica do ITS-1.

O iniciadores LITSR 5' CTGGATCATTTTCCGATG 3' e L5.8S 5' TGATACCACTTATCGCACTT 3' (Schonian *et al.*, 2003) amplificam um fragmento de 300-350pb por meio da seguinte reação: solução tampão 1x (200 mM Tris-HCl pH8,4, 500 mM KCl), 1,5mM de MgCl₂, 0,2mM de mistura de dNTPs, 0,5 pmol do iniciador LITSR, 0,5 pmol do iniciador L5.8S, 1 U de Taq DNA polimerase platinum® (Invitrogen) e 5 µl de DNA molde, em um volume final de 25µL. A amplificação foi realizada alternando-se 33 ciclos de desnaturação a 95°C por 30seg, anelamento a 53°C por 1min e extensão a 72°C por 1min em equipamento termociclador automático de DNA (ependorff). As amostras que apresentaram a banda específica de 359pb foram submetidas à digestão endoenzimática utilizando-se a enzima *HaeIII*, para análise dos polimorfismos de tamanho dos fragmentos de restrição, pela técnica de Restriction fragment length polymorphism (RFLP). A reação de RFLP foi preparada para um volume final de 15µl, contendo 1µl de *HaeIII* (10U/µl), 1,5µl de tampão da enzima e 12,5µl de produto de PCR. A mistura foi incubada a 37°C por 2 horas e os perfis de restrição foram analisados em gel de agarose 2% corado por brometo de etídeo (10 mg/ml), e comparados com o padrão obtido pela digestão do produto de PCR de cepas referência de *Leishmania amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8), *L. braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903), *L. chagasi* (cunha; Chagas 1937) (MHOM/BR/74/PP75) e *L. guyanensis* (MHOM/BR/75/M4147).

Para a obtenção do DNA das cepas de referências foram adotado os seguintes procedimentos: as alíquotas de culturas de cepas referência de *Leishmania* foram adicionados a tubos contendo meio de cultura NNN (Novy e Mc Nel, 1903; Nicolle, 1908) enriquecidos com Schneider, mantidos à 25° C ± 1°C por aproximadamente 30 dias. Quando o número de células promastigotas alcançou 1x10⁸, foi realizada a lavagem da massa de parasitos e posterior extração do DNA. A massa de promastigotas foi obtida centrifugando um volume de 30mL de cultura a 3000 rpm por 10 minutos. Em seguida, despejou-se o sobrenadante e recolheu-se o pellet, o qual foi lavado três vezes com PBS 1x pH 7,2 estéril. O pellet contendo as promastigotas foi submetido à extração utilizando também o kit comercial de extração Gentra Puregene® (QIAGEN),

como procedeu para as amostras I. A concentração de DNA de Leishmania empregada como controle positivo nos experimentos de PCR foi de 100ng/ μ L.

4.5 Análises dos dados

4.5.1 Análises descritivas e de correlação

Os casos de LTA notificados no período janeiro de 2002 a dezembro de 2010 foram trabalhados segundo o ano de notificação e a partir do cálculo do coeficiente de detecção de casos humanos de LTA para avaliação da evolução da notificação no município de Timóteo-MG.

A análise das variáveis referentes aos casos de LTA considerou apenas os pacientes classificados como autóctones da área urbana do município de Timóteo. Para isso, tomaram-se como critérios: residir na área urbana do município há, no mínimo, dois anos antes da data do diagnóstico e não ter realizado viagem nos 12 meses anteriores à data do diagnóstico.

Os casos autóctones foram descritos segundo as variáveis: sexo, faixa etária, ocupação, frequência à área rural, renda familiar e escolaridade utilizando tabela de frequência.

As características das residências utilizadas para instalação de armadilhas para captura de flebotomíneos foram agregadas em três grupos de variáveis:

- estruturais: número de pessoas por residência (> 4 e ≤ 4), número de cômodos utilizados para dormir (≤ 2 e > 2), tipo de construção (tijolo, material aproveitado, abobe, madeira ou pau a pique/taipa), revestimento das paredes (sim ou não), piso (cimento ou cerâmica), cobertura (telha ou laje) e energia elétrica (sim ou não);

- de saneamento: abastecimento de água (público, poço/cisterna, poço artesiano, fonte/mina/nascente, água mineral ou ribeirão/rio/córrego), acondicionamento da água (caixa d'água tampada, caixa d'água não tampada, latão tampado ou latão não tampado), canalização interna de água (sim ou não), destino do esgoto (fossa, córrego/rio/ribeirão ou rede pública) e coleta de lixo (sim ou não);

- ambientais: residência próximo de mata (sim ou não), distância aproximada de área de mata (metros), residência próximo de plantações (sim ou não), distância aproximada de plantações (metros), presença de animais na residência (sim ou não) e presença de plantas na residência (sim ou não).

A categorização das variáveis 'número de pessoas por residência' e 'número de cômodos utilizados para dormir' foi realizada utilizando como ponto de corte a mediana dos valores (igual a quatro pessoas por residência e a dois cômodos utilizados para dormir). Para a variável 'cobertura', a categoria 'telha' foi considerada quando a residência era coberta ou com telha de amianto ou telha colonial e a categoria 'laje', quando a residência era coberta com laje de concreto, independente se a laje da residência possuía outro tipo de cobertura.

Para classificar a proximidade das residências às áreas de mata, foram consideradas como próximo da mata, as residências que estavam localizadas até 500 m de distância da mata, tendo como parâmetro o estudo realizado por Forattini (1973) na região sul do Brasil, sugerindo como sendo de até cerca de 500 m o alcance de vôo de algumas espécies de flebotomíneos.

Os dados foram trabalhados através da construção de tabelas de frequência e as comparações entre tipos de residências (com e sem casos) foram realizadas através do cálculo do χ^2 (teste de qui-quadrado), da razão de chances e de seu respectivo intervalo de confiança com 5% de significância.

Os dados referentes ao inquérito entomológico do vetor de LTA na área urbana do município de Timóteo foram trabalhados por meio de tabelas, a partir do cálculo de proporções de flebotomíneos segundo espécie e o sexo. Os dados obtidos a partir da pesquisa da infecção natural por *Leishmania* spp. das fêmeas dos flebotomíneos capturados foram descritos segundo setor censitário e espécie de flebotomíneos capturado. Foi realizado a inferência da taxa de infecção natural, considerando o agrupamento de espécimes, dada a impossibilidade de se saber a real taxa de infecção natural para cada um, por estarem em sua maioria acondicionados em pool. O cálculo da taxa de infecção dos flebotomíneos, foi utilizado a seguinte fórmula: taxa de infecção (TI) = número de grupos positivos x 100/ número total de insetos (Paiva *et al.*, 2007).

A existência de comportamento sazonal para a ocorrência de flebotomíneos foi analisada considerando o percentual de flebotomíneos capturados nas residências (total e segundo o sexo) e a época de captura agregada em trimestre. As comparações entre as frequências foram realizadas por meio do teste do χ^2 (teste de qui-quadrado). Também foram realizadas análises descritivas e de correlação (Pearson) entre o as frequências de flebotomíneos capturados e variáveis climáticas: temperatura ($^{\circ}\text{C}$), pluviosidade (%) e umidade (mm). Os dados referentes às variáveis climáticas foram obtidos na página eletrônica do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET)⁴ e corresponderam ao período da coleta dos flebotomíneos (novembro de 2009 a outubro de 2010). Na análise descritiva, os dados das variáveis climáticas foram trabalhados por meio de estatística descritiva (média, mediana e desvio padrão) segundo o trimestre de coleta de flebotomíneos. Análises de correlação foram realizadas empregando modelos linear, exponencial, logarítmico e geométrico, o arranjo dos dados das variáveis climáticas levou em consideração diferentes 'momentos' em relação à data de coleta dos flebotomíneos: durante a coleta, 24 horas antes, uma semana antes, duas semanas antes e 30 dias antes. Para as variáveis temperatura e umidade, os valores foram trabalhados em termos de média e mediana; para a variável pluviosidade foram trabalhados apenas os valores médios, uma vez que os dados de pluviosidade resultaram sistematicamente valores nulos.

As análises foram realizadas utilizando-se os programas: Epi Info™ versão 3.5.3 (CDC, 2011); Microsoft® Office Excel 2007, BioStat versão 2.0 (AYRES et al., 2000) e XLSTAT versão 1.02 (ADDINSOFT, 2009). As interpretações foram feitas adotando-se o nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$).

4.5.2 Análise espacial segundo método de varredura de Kulldorff

O método de varredura de Kulldorff ou estatística scan (KULLDORFF, 1997) foi empregado com o objetivo de identificar a existência de conglomerados de casos humanos notificados de LTA, número de flebotomíneos capturados e

⁴<http://www.inmet.gov.br/>

número de flebotomíneos com presença de *Leishmania* spp. segundo setores censitários do município de Timóteo-MG.

Os dados utilizados para a realização da análise espacial foram: bases cartográficas - mapas no formato *shape*, com os limites dos setores censitários; número de casos de LTA notificados entre o período de janeiro de 2002 a agosto de 2010, pela Secretaria Municipal de Saúde de Timóteo-MG, disponibilizados pelo Setor de Vigilância Epidemiológica do município; e população dos setores censitários segundo Censo 2000 e 2007 (IBGE, 2009). Os softwares utilizados foram Excel, GPS Track Macker, e SATSCAN 9.1.1. Antes da utilização do software SATSCAN, foi necessário preparar arquivos textos de casos, população e coordenadas.

A variável resposta utilizada para busca de conglomerados foi a prevalência de casos de LTA notificados no município de Timóteo, segundo ano de ocorrência e população. Para a base populacional, foi utilizada como referência, a população dos setores censitários segundo o censo de 2000 (base para os anos de 2002 a 2006) e censo 2007 (para os anos de 2007 a 2010), onde foram realizadas proporções de acordo com a população estimada para os anos de estudo, os dados foram utilizados na construção do arquivos 'casos.txt' e 'populacao.txt'.

Para a construção do arquivo 'coordenadas.txt', foram calculados os centróides de cada setor censitário, utilizando para isso o softwares GPS Track Macker.

O modelo utilizado para a detecção de conglomerado foi o Modelo de Poisson, pois as bases de dados eram compostas pelo número de casos de LTA e a população em risco dos setores censitários.

Como trabalhou-se com variação espaço-temporal, foi definido como intervalo máximo de busca, o valor de 1 ano, tendo em vista que os dados utilizados na construção dos arquivos de texto foram anuais. Na análise, optou-se por utilizar um percentual mais restritivo, de 20% da população em risco, seguindo recomendação de Assunção (2001).

Foi utilizada uma análise retrospectiva para detectar os conglomerados de LTA ativos e históricos, existentes até o final do estudo. Essa análise é importante

para a adoção de medidas preventivas e/ou corretivas pela vigilância epidemiológica.

O teste de hipótese é baseado na razão de verossimilhança. O conglomerado mais provável, chamado de primário, foi aquele que apresentou maior valor na razão de verossimilhança.

O teste estatístico realizado pelo mecanismo de varredura espacial, para testar a significância dos conglomerados, adota as seguintes hipóteses: H0 - que assume a não existência de conglomerados de casos; H1- que assume a existência de conglomerados de casos.

Para testar a hipótese com relação aos conglomerados, foi adotado o procedimento de Monte Carlo, que consiste em simular 999 permutações, ao acaso, do número de casos em relação à área e ao tempo de avaliação. Para cada uma dessas permutações, foi obtido o valor da razão de verossimilhança para todos os candidatos a conglomerados, sendo que, em cada uma dessas simulações, o valor máximo foi identificado e utilizado para obter uma distribuição ordenada desses valores.

Os conglomerados, detectados na base de dados que apresentaram valores da razão de verossimilhança menores do que o conglomerado identificado como primário, foram identificados como secundários. A significância dos conglomerados secundários foi similar à realizada para o conglomerado primário.

As interpretações foram feitas adotando-se o nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$).

4.6 Aspectos éticos

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, da Universidade Federal de Viçosa, para avaliação dos procedimentos envolvendo a participação de pessoas nas coletas de dados e aprovado em 18 de julho de 2009, protocolo número 062/2009 (Apêndice 3). O projeto também foi autorizado pelo Ministério do Meio Ambiente, para a

instalação e captura dos flebotomíneos nas residências da área urbana do município de Timóteo-MG (Apêndice 4).

Antes da aplicação dos questionários e das instalações das armadilhas nas residências, foi lido e explicado aos pacientes e/ou responsáveis o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice 5), sendo, então, solicitado que os mesmos o assinassem.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Evolução dos casos notificados

Segundo os registros da SMS-Timóteo, foram notificados 164 casos de LTA entre o período de janeiro de 2002 a dezembro de 2010, sendo 131 casos (80%) registrados como autóctones residentes em área urbana. Observando a tendência histórica dos casos e do coeficiente de detecção de LTA no município, ao longo do período de estudo, foi verificado que, nos anos de 2003 e 2007, o número de casos notificados e o coeficiente de detecção foram maiores (Tabela 1 e Figura 7).

Tabela 1: Distribuição anual dos casos humanos notificados, população e coeficiente de detecção para LTA, município de Timóteo-MG, 2002 a 2010

ANOS	CASOS HUMANOS	POPULAÇÃO ⁽¹⁾	COEFICIENTE DE DETECÇÃO (x100.000 hab.)
2002	4	74.251	5,39
2003	20	75.538	26,48
2004	6	78.240	7,67
2005	7	79.735	8,78
2006	12	81.219	14,77
2007	36	76.092	47,31
2008	20	79.100	25,28
2009	10	79.813	12,53
2010	16	81.119	19,72
TOTAL	131	-	-

Nota: (1) Dados referentes à estimativa da população para o município de Timóteo, segundo IBGE⁵.

⁵<http://www.ibge.gov.br>

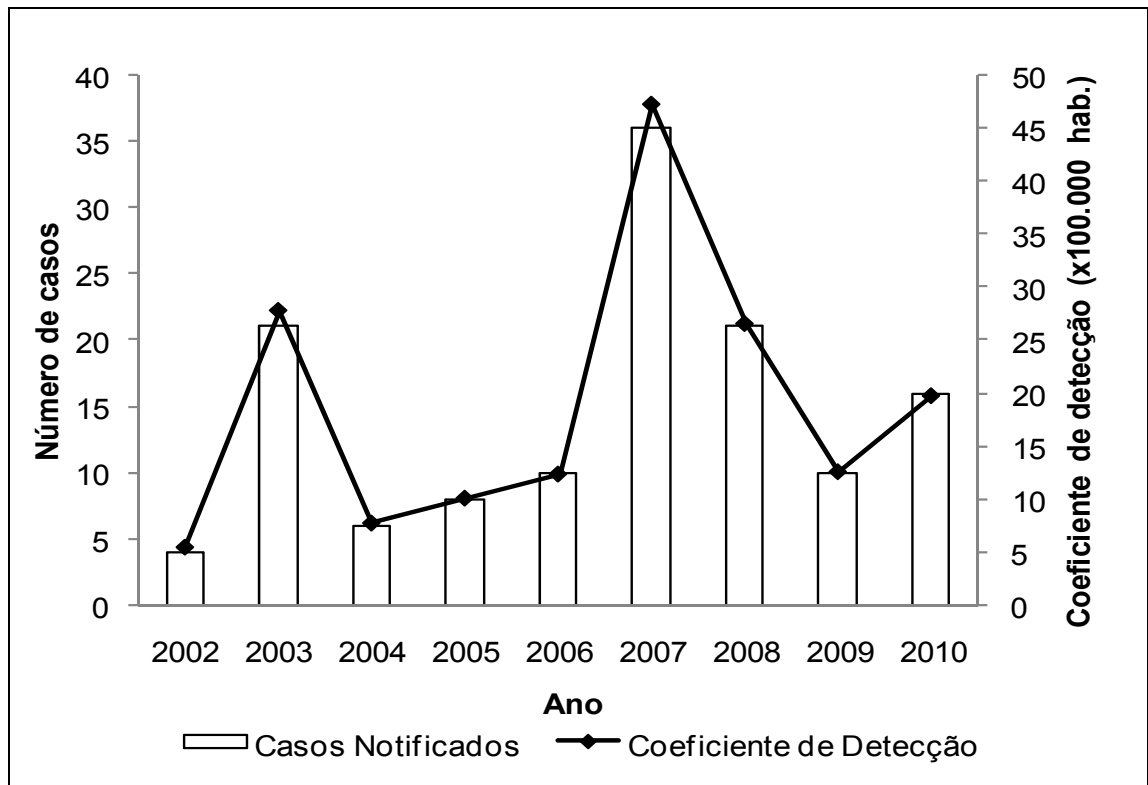


Figura 7: Distribuição anual dos casos humanos notificados e dos coeficientes de detecção para LTA, município de Timóteo-MG, 2002 a 2010.

O aumento de casos notificados em 2003, de acordo com informações dos funcionários da SMS-Timóteo, ocorreu devido a melhorias na ação de investigação dos casos, resultando na produção de banco de dados secundário de melhor qualidade, ou seja, maior e mais confiável. A maioria dos estudos publicados sobre LTA, utiliza como fonte de informação o SINAN. Sendo assim, sub-notificação de casos, mau preenchimento das fichas de investigação e inexatidão de informações comprometem as análises e a produção de informação de qualidade que venha a subsidiar ações de controle e combate às leishmanioses.

Em 2007, conforme informação da SMS-Timóteo e de pessoas entrevistadas durante a aplicação do questionário sobre casos humanos, ocorreu um surto de LTA, cuja investigação o relacionou ao desmatamento de uma área de mata localizada no bairro Recanto Verde e próxima às residências dos casos. O desmatamento foi realizado para a construção de um centro de convenções pela Igreja Batista Maanaim Renovada de Timóteo-MG.

O desmatamento de áreas florestais é uma atividade já relatada em outros municípios do estado de Minas Gerais, como uma das principais causas do crescimento dos casos de LTA. Ribeiro *et al.* (2007), em estudo descritivo realizado no município de Teófilo Otoni, observou que o aumento dos casos de LTA estava relacionado com o desequilíbrio ecológico produzido pelo desmatamento e ocupação desordenados do solo. O desmatamento de áreas florestais acarreta a migração de reservatórios naturais (animais silvestres) de *Leishmania* spp para outras áreas em busca de novos abrigos ou mesmo a sua extinção. Conseqüentemente, os flebotomíneos, que antes supriam suas necessidades se alimentando desses animais, passam a procurar outras fontes de alimentos, incluindo o ser humano que já habita as proximidades dessas áreas recém desmatadas ou que migra para esse locais (MARTINS *et al.*, 1956; FURTADO *et al.*, 1966).

Excluindo-se os anos epidêmicos (2003 e 2007) da análise, percebe-se tendência crescente do coeficiente de detecção (Figura 8).

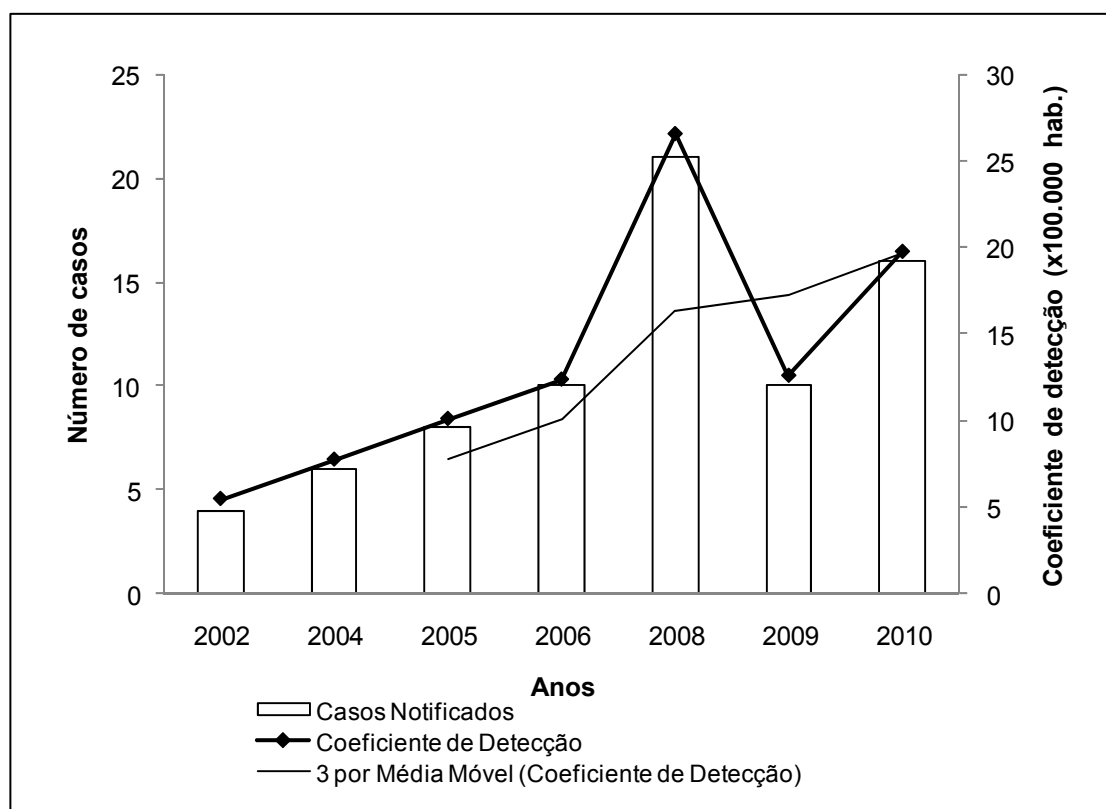


Figura 8: Distribuição anual dos casos humanos notificados, coeficientes de detecção para LTA e linha de tendência, município de Timóteo-MG, 2002, 2004-2006 e 2008-2010.

5.2 Descrição dos casos humanos de LTA notificados segundo variáveis do paciente

No período de janeiro de 2002 a agosto de 2010, foram notificados e confirmados por critério laboratorial 117 casos humanos de LTA, todos residentes na área urbana do município de Timóteo. Desses, 105 (90%) pacientes puderam ser contactados e concordaram em responder ao questionário. Os demais, por motivos de mudança do município, óbito, ou se recusarem a participar, não foram incluídos no estudo.

Considerando o tempo de residência no município antes do diagnóstico da doença, cem pacientes (95,2%) relataram residir em Timóteo há mais de três anos. Dos casos entrevistados, 79 (75,2%) relataram não ter realizado alguma viagem até um ano antes do diagnóstico da LTA (Tabela 2). Das 26 pessoas (24,8%) com relato prévio de viagem, nove (34,6%) estiveram em áreas rurais de municípios distantes de Timóteo e 17 (65,4%) relataram viagens a outros municípios (área urbana), sendo o mais citado Belo Horizonte.

Segundo o Ministério da Saúde (BRASIL, 2007), o período máximo de incubação da doença no ser humano é de dois anos. Nesse sentido, a existência de pacientes residindo no município há mais de três anos antes do diagnóstico da doença e de relatos de pacientes indicando não terem viajado no ano anterior ao diagnóstico sugerem que a transmissão tenha se dado no próprio município de Timóteo, caracterizando esses casos como autóctones.

Para os pacientes considerados como casos autóctones, a partir dos critérios acima assumidos, a distribuição dos casos segundo as variáveis sexo e idade demonstrou que 65,8% dos pacientes eram homens, a média de idade foi igual a 40 anos (desvio padrão igual a 21 anos), sendo que a maioria tinha idade acima de 20 anos (82,4%). Por outro lado, observa-se que foram notificados seis (7,6%) casos de crianças menores de nove anos (Tabela 2).

Com relação à ocupação desenvolvida na época de diagnóstico da doença, as atividades que mais agregaram casos foram: aposentado (20,3%), estudante (16,5%), dona de casa (16,5%), pedreiro (3,8%) e agricultor (3,8%).

Questionados sobre se frequentavam área rural⁶ na época do diagnóstico da LTA, 36 casos (45,6%) responderam positivamente (Tabela 2), sendo o motivo mais frequentemente citado o lazer (91,7%). As atividades de lazer mais mencionadas foram 'visitas a sítios' (60,6%) e 'pescar em lagoas' (36,4%). Por outro lado, 43 pessoas (54,4%) responderam não frequentar área rural à época do diagnóstico, sendo que todas as crianças menores de nove anos estavam incluídas nesse grupo.

Os dados apresentados sinalizam para uma provável transmissão da doença na área urbana do município. Essa afirmativa se baseia na ocorrência de casos em menores de 9 anos; no fato de pessoas terem relatado não frequentarem a área rural do município na época do diagnóstico da doença; de não terem realizado viagens a outras localidades até um ano antes do diagnóstico da doença e de residirem no município de Timóteo há mais de três anos antes do diagnóstico.

Diferentes autores sugerem que a ocorrência de casos em crianças indica que a infecção ocorreu em ambiente domiciliar ou peridomiciliar, devido à menor mobilidade desse grupo etário (OLIVEIRA-NETO *et al.*, 1988; PASSOS *et al.*, 1993, FOLLADOR *et al.*, 1999; NUNES *et al.*, 2006; SAMPAIO *et al.*, 2009). Contudo, há de se avaliar cuidadosamente essa sugestão, uma vez que os estudos foram realizados em áreas com características diversas, sendo alguns casos áreas rurais, como Follador *et al.*(1999) e Nunes *et al.*, (2006). Contudo, de fato, a menor mobilidade de crianças sugere que a infecção ocorra nas proximidades do domicílio, podendo esse estar localizado em área urbana.

A transmissão da LTA associada a ambientes rurais, mesmo que em situações pontuais e isoladas, é bem reconhecida e estudada, contudo, os relatos de pacientes não frequentarem área rural do município de Timóteo à época do diagnóstico da doença é indicativo de que a transmissão possa ter ocorrido no ambiente urbano. Some-se a isso, o fato de que entre os que não frequentavam área rural, 11,4% eram donas de casa, sendo esse grupo relatado como possivelmente exposto ao ambiente domiciliar ou peridomiciliar

⁶ Áreas rurais mencionadas pelos/as entrevistados/as incluem áreas localizadas no município de Timóteo e em municípios vizinhos, tais como: Ipatinga, Jaguarçu, Marliéria, Coronel Fabriciano, dentre outros.

em função de sua ocupação estar mais restrita ao espaço doméstico e ao entorno do domicílio (OLIVEIRA-NETO *et al.*, 1988; CORTE *et al.*, 1996; SILVA-NUNES *et al.*, 2008). De forma semelhante, nesse mesmo grupo de pacientes, 15,2% eram estudantes, ocupação não relacionada à exposição a áreas rurais, reforçando a provável infecção na área urbana do município.

Interessante notar que, 73,4% dos pacientes considerados casos autóctones relataram alguma localidade ou lugar quando questionados sobre o provável local de infecção. Os locais mais citados foram a própria casa (37,9%) e o bairro (27,6%), sendo que a maioria associava o local ao fato de outros casos terem ocorrido em pessoas moradoras nas vizinhanças e à forma de transmissão, indicando a presença de mosquitos na residência e dessa estar próxima a matas, nesse caso, referenciando o Parque Estadual do Rio Doce.

A análise das variáveis citadas anteriormente indicam a provável ocorrência de dois ciclos de transmissão envolvendo a LTA: um rural, verificado quando aproximadamente metade dos casos (45,6%) relatou ter frequentado áreas rurais, principalmente para lazer; e um urbano, demonstrado pela ocorrência de casos de LTA em crianças menores de 9 anos, estudantes e donas de casa que não frequentavam área rural, não tinham realizado viagens a outras localidades até um ano antes do diagnóstico da doença e residirem no município de Timóteo há mais de três anos antes do diagnóstico.

Os pacientes também foram questionados sobre o uso de proteção contra mosquito, sendo que 63,3% relataram utilizar algum tipo. Desses, 80% relataram o uso de repelentes químicos (repelentes líquidos ou cremes de uso pessoal; repelentes elétricos ou inseticidas espirais combustíveis) e 20% relataram repelentes físicos, como ventilador, mosquiteiros e telas em janelas.

A concentração de casos de LTA em homens é bem conhecida, conforme resultados de estudos descritivos realizados em diferentes municípios/localidade brasileiras (OLIVEIRA-NETO *et al.*, 1988; LIMA *et al.*, 2002; VIEIRA *et al.*, 2007; SAMPAIO *et al.*, 2009; CASAVECHIA *et al.*, 2009). De forma geral, os autores justificam a ocorrência de maior número de casos em pessoas do sexo masculino relacionando esse achado ao desempenho de atividades em áreas rurais, como trabalho e lazer, sendo essas, por sua vez,

desenvolvidas em sua maioria por pessoas do sexo masculino. Contudo, são poucos os estudos analíticos que investigam a associação entre sexo e ocupação e que possam, assim, identificar maior risco relacionado aos homens em função das atividades desempenhadas.

A ocupação de agricultor está diretamente relacionada à área rural, dentre os três casos diagnosticados com LTA que desenvolviam essa atividade, dois eram mulheres. A ocupação de dona de casa era desenvolvida em sua totalidade por mulheres. Esses dados demonstram a necessidade de realização de estudos epidemiológicos analíticos para uma melhor definição dos fatores de risco associados a LTA, envolvendo sexo e ocupação do indivíduo.

Com relação ao lazer desenvolvido em áreas rurais como variável explicativa da maior concentração de casos no sexo masculino, aparentemente, no município de Timóteo, tem-se o mesmo padrão de ocorrência, uma vez que maior número de homens (75,8%) relatou frequentar área rural com esse objetivo, citando mais frequentemente 'visitas a sítios' (75,0%) e 'pescar em lagoas' (75,0%). Entretanto, ainda que menor percentual de mulheres relatar frequentar área rural com o objetivo de lazer (24,2%), os motivos citados são os mesmos e apareceram em frequências não desprezíveis, ou seja, 'visitas a sítios' (25,0%) e 'pescar em lagoas' (25,0%). Tais resultados demonstram que a frequência a áreas rurais tendo como objetivo o lazer, tradicionalmente relacionada a um comportamento masculino e, dessa forma, expondo esse sexo à infecção, pode ter seu perfil alterado, uma vez que observamos mulheres relatando esse tipo de comportamento. De fato, o tipo de lazer mencionado, 'visitas a sítio', é uma atividade normalmente exercida por homens e mulheres.

As variáveis 'escolaridade' e 'renda familiar' tiveram como referência o momento da entrevista, assim, não refletem a situação do paciente na época do diagnóstico. Entretanto, comparando os dados de ocupação obtidos com a entrevista (questionário) e aqueles referidos na ficha de notificação, observa-se que não houve mudanças significativas entre esses momentos. Dentre os casos considerados autóctones, 84,8% (67 pacientes) tiveram o campo

'ocupação' preenchido na ficha de notificação, desses, 23,9% (16 pacientes) eram aposentados no momento da notificação e continuaram com essa ocupação na época da entrevista. Dentre os 76,1%(51 pacientes) que referiram alguma atividade profissional, 53,0% referiram a mesma ocupação, 13,7% estavam aposentados e 33,3% referiram outra ocupação quando entrevistados. Nesse último grupo, observamos que a mudança de ocupação provavelmente não impactou significativamente a renda familiar.

Essa descrição permite assumir que a caracterização da renda familiar do paciente a partir dos dados obtidos com o questionário, reflete de forma adequada o perfil de renda dos pacientes no momento da notificação. Nesse caso, os casos apresentaram renda familiar média igual a 2,8 salários mínimos (desvio padrão igual a 1,6 salários mínimos), sendo que 60,7% dos casos relataram renda-média familiar de até 3 salários mínimos.

Quanto à escolaridade, tanto as informações presentes na ficha de investigação, preenchidas no momento do diagnóstico, quanto as informações obtidas durante a aplicação do questionário, demonstraram que os pacientes possuíam, em sua maioria, baixa instrução. Considerando os dados do questionário, 49,4% dos pacientes eram analfabetos ou possuíam, no máximo, 4 anos de estudo (até 4ª série completa) (Tabela 2). Estudos descritivos relatam que um grande número de pacientes com escolaridade e renda familiar baixas sugere que a LTA atinge, principalmente, populações pobres, quadro típico da maioria das doenças infecto-parasitárias (PASSOS *et al.*, 2001; GONTIJO *et al.*, 2002). A renda familiar baixa determina que os indivíduos, nesse caso com menor poder aquisitivo, habitem locais com infraestrutura urbana precária, muitas vezes associada a um maior risco de transmissão da LTA. No município de Timóteo, os locais com esse perfil se encontram justamente na periferia da cidade, onde vive a grande maioria dos casos de LTA.

Tabela 2: Distribuição dos casos humanos notificados de LTA segundo variáveis do paciente, município de Timóteo-MG, 2002 a 2010

VARIÁVEIS	CASOS	(%)
TEMPO DE RESIDÊNCIA NO MUNICÍPIO ANTES DO DIAGNÓSTICO		
Mais de três anos	100	95,2
Menos de três anos	5	4,8
RELATO DE VIAGEM ANTES DO DIAGNÓSTICO⁽¹⁾		
Sim	26	24,8
Não	79	75,2
SEXO		
Masculino	52	65,8
Feminino	27	34,2
FAIXA ETÁRIA		
0 – 9	6	7,6
10 – 19	8	10,1
20 – 29	13	16,5
30 – 39	10	12,7
40 – 49	12	15,2
50 – 59	12	15,2
60 e mais	18	22,8
OCUPAÇÃO		
Aposentado	16	20,3
Estudante	13	16,5
Dona de Casa	13	16,5
Pedreiro	3	3,8
Agricultor	3	3,8
Outros	19	23,9
Não informado	12	15,2
FREQUENTOU ÁREA RURAL		
Sim	36	45,6
Não	43	54,4
RENDA FAMILIAR⁽²⁾		
< 1 salário	5	6,3
De 1 a 3 salários	43	54,4
De 3 a 5 salários	21	26,6
De 5 a 10 salários	8	10,1
Desempregado	1	1,3
Não Informado	1	1,3
GRAU DE ESCOLARIDADE		
1ª à 4ª Série	32	40,5
5ª à 8ª Série	17	21,5
2º grau	17	21,5
3º grau	3	3,8
Técnico	3	3,8
Analfabeto	6	7,6
Não se aplica	1	1,3

Nota: (1) Relato de viagem se refere a deslocamentos para municípios distantes de Timóteo e até um ano antes do diagnóstico da doença. (2) valor do salário: R\$ 510,00 (quinhentos e dez reais).

Quando questionados se tinham conhecimento sobre como a LTA é transmitida, 72,2% dos entrevistados responderam que era por meio da picada do inseto, referindo que souberam da informação depois que tiveram a doença. Quando questionados se já viram um flebotômíneo, 88,6% informaram que

nunca viram o inseto transmissor, os demais (11,4%) informaram que viram o inseto em atividades promovidas⁷ pela prefeitura e/ou a partir da observação de ilustrações e/ou fotografias disponibilizadas em diferentes meios de comunicação (internet e televisão).

Percebeu-se que apesar da baixa escolaridade, a experiência da enfermidade e o acesso à informação são importantes para o conhecimento de características sobre a doença (epidemiológicas, por exemplo). Destacou-se as atividades de informação da população como aliadas poderosas na prevenção e controle de doenças, sendo práticas importantes a serem adotadas e privilegiadas em ações de saúde pública.

Considerando os casos entrevistados (105 casos), classificados como autóctones ou não, todos se submeteram ao tratamento, contudo, três pessoas não o concluíram, alegando que o tratamento era doloroso e que os medicamentos usados produziam vários efeitos colaterais. À época da entrevista, nenhum caso relatou apresentar lesão, sendo que 94,3% apresentavam cicatrizes.

5.3 Descrição das residências utilizadas como locais de coletas de flebotomíneos

De forma geral, as residências com e sem casos foram bastante semelhantes em relação às variáveis analisada, sejam as estruturais, de saneamento ou ambientais, o que provavelmente pode ter ocorrido devido ao pequeno número de residências (com e sem casos) amostrado no presente estudo. Apesar de não terem sido identificadas diferenças estatisticamente significativas entre as frequências observadas, as residências com casos apresentaram características de infraestrutura e saneamento piores que as residências sem casos. Destaca-se as variáveis: revestimento das paredes (6,75% das residências com casos não tinham revestimento e 100% das residências sem casos tinham revestimento); cobertura (40% das residências com casos e 20%

⁷ Segundo informações da SMS-Timóteo, em diferentes momentos foram promovidas atividades de informação sobre a doença, sendo que uma das estratégias adotadas foi a exposição de exemplares do vetor para visualização por meio de lupas e microscópios.

das residências sem casos tinham cobertura de telha sem laje); abastecimento público de água (36,7% das residências com casos e 13,3% das residências sem casos não tinham acesso ao serviço); destino do esgoto (33,3% das residências com casos e 6,7% das residências sem casos não estavam ligadas à rede pública de coleta de esgoto) e coleta de lixo (13,3% das residências com casos e nenhuma das residências sem casos não tinham acesso ao serviço).

O fato das residências com casos apresentarem características de infraestrutura e saneamento piores que as residências sem casos concorda com a caracterização anterior sobre os pacientes de LTA. Esses pacientes foram caracterizados como, em sua maioria, pessoas de baixa renda familiar e escolaridade, habitando, provavelmente, áreas com infraestrutura urbana precária.

Características de infraestrutura da residência e de saneamento já foram exploradas como variáveis associadas ao risco de transmissão da LTA. No estudo de caso-controle realizado por Armijos *et al.* (1997), no Equador, indivíduos residentes em casas construídas com material vegetal ou barro apresentaram maior risco de contrair a LTA do que aqueles que moravam em casas construídas com tijolos (OR=1,77, 95% CI =1,38-2,53, $p=0,02$). Segundo os autores, esses riscos possivelmente estariam relacionados à presença de frestas e buracos nesse tipo de material, que facilitariam a entrada do vetor na residência, servindo, ainda, como abrigo para o mesmo.

Em estudo descritivo realizado por Machado-Coelho *et al.* (1999), no município de Caratinga-MG comparando área urbana e rural, os autores observaram que em residências rurais, onde a falta de saneamento básico e o acúmulo do lixo eram maiores ocorriam mais de casos de LTA, e sugeriram que a falta de saneamento e o lixo podem atrair hospedeiros de LTA para os ambientes domésticos, onde encontram abrigo e alimento.

Tabela 3: Caracterização das residências utilizadas para coletas de flebotomíneos, segundo variáveis estruturais, de saneamento e ambientais, município de Timóteo-MG, 2009 a 2010

VARIÁVEIS	RESIDÊNCIAS				Valor de p	X ²⁽¹⁾	RC ⁽²⁾	IC95% ⁽³⁾
	COM CASOS		SEM CASOS					
	N	%	N	%				
Nº de pessoas por residência								
>4	7	23,3	3	20,0	0,56 ⁽⁴⁾	-	1,22	0,22-8,55
≤4	23	76,7	12	80,0				
Nº de cômodos utilizados para dormir								
≤2	17	56,7	8	53,3	0,43		1,14	0,28-4,74
>2	13	43,3	7	46,7				
Revestimento das paredes								
Não	2	6,7	0	0,0	0,3	1,05	Indefinido	-
Sim	28	93,3	15	100,0				
Tipo de piso								
Cimento	5	16,7	2	13,3	0,77	0,08	1,30	0,18-15,35
Cerâmica	25	83,3	13	86,7				
Tipo de cobertura								
Telha	12	40,0	3	20,0	0,18	1,80	2,67	0,54-17,47
Laje	18	60,0	12	80,0				
Abastecimento público de água								
Não	11	36,7	2	13,3	0,1	2,65	3,76	0,63-39,46
Sim	19	63,3	13	86,7				
Destino do esgoto								
Fossa/Córrego	10	33,3	1	6,7	0,05 ⁽⁴⁾	-	7,00	0,79-325,07
Rede pública	20	66,7	14	93,3				
Coleta de lixo								
Não	4	13,3	0	0,0	0,18 ⁽⁴⁾	-	Indefinido	-
Sim	26	86,7	15	100,0				
Residência próximo de mata								
Sim	23	76,7	7	46,7	0,04	4,05	3,63	0,84-17,60
Não	7	23,3	8	53,3				
Presença de animais na residência								
Sim	19	63,3	8	53,3	0,52	0,42	1,15	0,36-6,39
Não	11	36,7	7	46,7				
Presença de plantas na residência								
Sim	20	66,7	10	66,7	1,00	0,00	1,00	0,21-4,39
Não	10	33,3	5	33,3				

Nota: (1) Qui-quadrado McNemar Corrigido. (2) RC: Razão de Chances. (3) Intervalo de confiança para 95%. (4) Valor de p para Teste exato de Fischer.

A variável 'proximidade das residências às áreas de matas', embora apresentando $p < 0,05$, não pode ser considerada como associada ao risco de ocorrência de casos de LTA na residência, pois o intervalo de confiança da medida de intensidade de associação não foi estatisticamente significativo ($IR_{95\%} = 0,84-17,6$) (Tabela 3). Contudo maior número de residências que apresentaram casos (76,7%) estavam localizadas em áreas próximas de matas quando comparadas às residências sem casos (46,7%) (Tabela 3). Considerando a distância mediana entre as residências e as áreas de mata, observa-se que metade das residências com casos estavam localizadas a menos de 70 metros de áreas de mata, enquanto que para as residências sem casos, essa distância foi igual a 100 metros.

Segundo Forattini (1973), os flebotomíneos apresentam capacidade de dispersão que pode variar entre 200 a 500 metros. Assim, apesar de ambas as distâncias medianas identificadas (para residências com e sem casos) estarem incluídas na capacidade de dispersão do vetor, as residências com casos estavam localizadas mais próximas a áreas de mata.

A proximidade a áreas de mata como sendo de maior risco para transmissão da LTA também leva em consideração a possível presença de reservatórios silvestres, que podem se deslocar até as residências em busca de alimento e, assim, expor o ser humano. Apesar de não ter sido investigada a presença de reservatórios silvestres nas proximidades das residências na área urbana do município de Timóteo, essa possibilidade não pode ser descartada.

5.4 Inquérito entomológico do vetor de LTA na área urbana do município

Durante as capturas realizadas nas residências localizadas na área urbana, foram coletados 1.958 espécimes de flebotomíneos, pertencentes a 17 espécies: *Brumptomyia avellari* (Costa Lima, 1932), *Brumptomyia cunhai* (Mangabeira, 1942), *Brumptomyia nitzulescui* (Costa Lima, 1932); *Micropygomyia quinquefer* (Dyar, 1929), *Micropygomyia capixaba* (Dias;

Falcão; Silva; Martins, 1987), *Micropygomyia oswaldoi* (Mangabeira, 1942); *Evandromyia sallesi* (Galvão; Coutinho, 1939); *Pintomyia pessoai* (Coutinho; Barreto, 1940); *Pintomyia fischeri* (Pinto, 1926), *Pressatia choti* (Floch; Abonnenc, 1941), *Trichopygomyia longispina* (Mangabeira, 1942), *Evandromyia lenti* (Mangabeira, 1938), *Evandromyia edwardsi* (Mangabeira, 1941), *Migonemyia migonei*; *Nyssomyia whitmani*, *Psathyromyia aragai* (Costa Lima, 1932), *Nyssomyia intermedia* (Tabela 4).

Tabela 4: Frequência de flebotomíneos capturados, segundo espécie e sexo, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010

ESPÉCIE	FÊMEA	(%)	MACHO	(%)	TOTAL	(%)
<i>Brumptomyia</i> spp.	2	0,2	-	-	2	0,1
<i>Br. avellari</i>	-	-	6	0,7	6	0,3
<i>Br. cunhai</i>	-	-	2	0,2	2	0,1
<i>Br. nitzulescu</i>	-	-	1	0,1	1	0,1
<i>Ev. edwardsi</i>	2	0,2	-	-	2	0,1
<i>Ev. lenti</i>	-	-	2	0,2	2	0,1
<i>Ev. sallesi</i>	5	0,5	2	0,2	7	0,4
<i>Mi. capixaba</i>	2	0,2	-	-	2	0,1
<i>Mi. oswaldoi</i>	1	0,1	-	-	1	0,1
<i>Mi. quinquefer</i>	251	23,2	51	5,8	302	15,4
<i>Mg. migonei</i>	6	0,6	12	1,4	18	0,9
<i>Ny. whitmani</i>	653	60,2	650	74,4	1.303	66,5
<i>Ny. intermedia</i>	139	12,8	124	14,2	263	13,4
<i>Pi. fischeri</i>	8	0,7	13	1,5	21	1,1
<i>Pi. pessoai</i>	12	1,1	6	0,7	18	0,9
<i>Pr. choti</i>	1	0,1	4	0,5	5	0,3
<i>Pa. aragai</i>	2	0,2	-	-	2	0,1
<i>Ty. longispina</i>	-	-	1	0,1	1	0,1
Total	1.084	100,0	874	100,0	1.958	100,0

Na fauna de flebotomíneos encontrada no município, proporcionalmente se encontrou maior número de fêmeas (55,4%) do que de machos (44,6%), sendo a diferença estatisticamente significativa ($X^2 = 45,05$; $p < 0,0001$).

A espécie predominante foi *Ny. whitmani* (66,5%), seguida por *Mi. quinquefer* (15,4%) e *Ny. intermedia* (13,4%). Dessas, apenas *Mi. quinquefer* não é suspeita de ser vetor ou de ter papel vetorial comprovado. Destaca-se que 80,9% dos flebotomíneos capturados consistiam de espécies já reconhecidas como vetoras de *Leishmania* spp., *Ny. whitmani*, *Ny. intermedia*, *Mg. migonei* e 2,0% se referiam a espécies suspeitas de participarem do ciclo de transmissão da *Leishmania* spp., *Pi. pessoai* e *Pi. fischeri*. Essas espécies, vetores confirmados ou suspeitos, são relatadas como predominantes em ambientes antrópicos onde há ocorrência de casos autóctones de LTA, como

demonstrado nos estudos de levantamento entomológico realizados por Teodoro e Kühn (1997), no município de São Jorge do Ivaí-PR e, mais recentemente, por Saraiva *et al.* (2011), em estudo realizado no município de Belo Horizonte-MG.

Segundo Andrade Filho *et al.* (2007), as espécies *Ny. whitmani* e *Ny. intermedia* passam por um processo de adaptação domiciliar rápido e com grande importância epidemiológica, pois são citadas como as principais envolvidas na transmissão de *Leishmania* spp. em várias localidades do Brasil, especialmente na região sudeste do país. Especificamente em relação à espécie *Ny. whitmani*, Queiroz *et al.* (1994) e Luz *et al.* (2000) relatam seu papel como vetora de *L. braziliensis* no estado do Paraná e Ceará, respectivamente. Estudos desenvolvidos por Mayrink *et al.* (1979), no Vale do Rio Doce, em localidades próximas ao município de Caratinga-MG, indicam que *Ny. whitmani* foi a espécie predominante entre os períodos de 1973-1974 e 1976-1976.

No município de Timóteo, *Ny. whitmani* foi a espécie predominante, sugerindo que esse flebotômíneo esteja envolvido na transmissão da *Leishmania* spp. nesse local e, conseqüentemente, que os casos humanos identificados na área urbana do município possam ser realmente autóctones.

Apesar de *Ny. whitmani* ser considerada o principal vetor, não se pode menosprezar a presença de outros possíveis vetores como: *Ny. intermedia*, *Mg. migonei*, *Pi. fischeri*, *Pi. pessoai*, *Ev. sallesi*, *Ev. lenti*. Todas essas espécies já foram encontradas com infecção natural por *Leishmania* spp. e/ou com relatos de serem espécies antropofílicas, conforme descrito a seguir.

Rangel *et al.* (1986), em estudo realizado no estado do Rio de Janeiro, relatam que *Ny. intermedia* foi a espécie predominante e apresentou grande antropofilia, provavelmente devido ao elevado grau de modificação antrópica característico da região do estudo. No estado de Minas Gerais, essa espécie é bastante abundante em áreas de ocorrência de casos humanos de leishmaniose tegumentar. Gontijo *et al.* (2002), em trabalho realizado no Vale do Jequitinhonha-MG, descreveram a prevalência de *N. intermedia* na região,

bem como sua preferência por ambientes com maior grau de modificação antrópica.

Rangel e Lainson (2003) apontam *Mg. migonei* como espécie vetora de *Leishmania*. Estudos realizados no estado do Rio Grande do Sul (SILVA e GRUNEWALD, 1999) e no norte do estado do Paraná (TEODORO *et al.*, 1993), indicam que essa espécie é predominante nessas regiões sendo apontada como uma possível espécie vetora.

Tem sido sugerido que as espécies *Pi. pessoai* e *Pi. fischeri* participam do ciclo de transmissão de *Leishmania* na região sudeste do Brasil, devido à alta antropofilia, alta densidade e invasão de domicílios em regiões endêmicas de LTA (RANGEL; LAINSON 2003). Em estudos recentes, Margonari *et al.* (2010) registraram a presença de *Pi. pessoai* e *Pi. fischeri* com infecção natural por *Leishmania* em Divinópolis-MG, contudo, como a taxa de infecção dessas espécies é muito pequena, pode não ser identificada.

As espécies *Ev. lenti* e *Ev. sallesi* também têm sido sugeridas como possíveis vetoras de *Leishmania* spp. Margonari *et al.* (2010), em estudos realizados na cidade de Divinópolis-MG, identificaram *Ev. lenti* com infecção natural por *L. braziliensis* e Saraiva *et al.* (2009) observaram a presença de infecção natural de *L. chagasi* em *Ev. sallesi* em estudo realizado nas cidades de Corinto-MG e Lassance-MG.

Esses relatos chamam a atenção para a possibilidade de novos vetores no ciclo de transmissão das leishmanioses. Nesse sentido, caso essa hipótese venha a ser confirmada, essas espécies também podem estar atuando como vetores no município de Timóteo.

5.5 Detecção da infecção natural por *Leishmania* spp. nas fêmeas de flebotomíneos

A pesquisa de infecção natural por *Leishmania* spp. foi realizada a partir de 1.084 fêmeas não alimentadas de flebotomíneos capturados, identificadas e distribuídas em 303 amostras (individuais ou pools). Através da reação de PCR (utilizando o fragmento de 359pb do ITS1), foram detectados 69 amostras

(22,8%) positivas para infecção por *Leishmania* spp. A Figura 9 ilustra algumas das amostras analisadas.

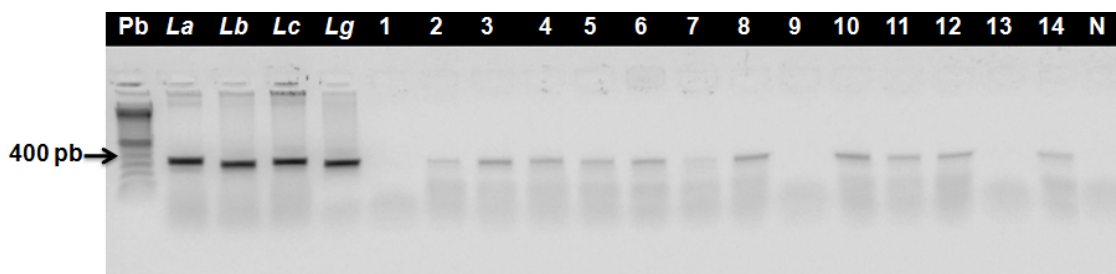


Figura 9: Detecção de infecção natural por *Leishmania* spp, através de PCR da região ITS 1. Gel de agarose 2% corado com brometo de etídeo. Pb: marcador de pares de base (100pb); La - controle positivo de *L. amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8); Lb – controle positivo de *L. braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903); Lc – controle positivo de *L. chagasi* (MHOM/BR/74/PP75); Lg – controle positivo de *L. guyanensis* (MHOM/BR/75/M4147); N – controle negativo; Amostras negativas 01 (*Ny. whitmani*), 09 (*Mi. quinquefer*) e 13 (*Ny. whitmani*); Amostras positivas 02 (*Ny. whitmani*), 03 (*Ny. whitmani*), 04 (*Ny. whitmani*), 05 (*Ny. whitmani*), 06 (*Ny. intermedia*), 07 (*Mi. quinquefer*), 08 (*Pi. pessoai*), 10 (*Ny. intermedia*), 11 (*Ny. intermedia*), 12 (*Mi. quinquefer*), 14 (*Ny. whitmani*).

As amostras positivas foram provenientes de 16 setores censitários do município de Timóteo, representando 39,0% dos 41 setores amostrados no estudo. Dentre esses setores, apenas quatro (26,7%) não apresentaram casos humanos de LTA notificados no período estudado (12, 24, 92 e 95).

Outro aspecto importante, diz respeito ao fato de que, dentre os setores com fêmeas de flebotomíneos positivas para *Leishmania* spp., sete (43,8%) correspondiam a setores localizados próximos a área do Parque Estadual do Rio Doce, sendo: 66, 68, 70, 71, 73, 82 e 84 (Tabela 5). Esses setores totalizaram 78,3% das amostras de flebotomíneos positivas. O setor 70 apresentou o maior número de amostras positivas para *Leishmania* spp., ou seja, 37 amostras (53,6%) seguido pelo setor 19, com seis (8,7%) amostras positivas (Tabela 5). O setor censitário 70 registrou o maior número de casos de LTA notificados 32,9% (26) e o setor censitário 19, dois casos (2,5%).

Dentre as 69 amostras de fêmeas de flebotomíneos positivas, em 22 (31,9%) foi possível a identificação da espécie de *Leishmania* spp. empregando a PCR-RFLP do ITS1. Em 20 amostras (90,9%), a espécie identificada se tratava de *L. braziliensis* e em duas (9,1%), *L. chagasi* (Tabela 5, Figura 10).

Não foi possível identificar as espécies de *Leishmania* spp. presentes nas demais amostras (47), possivelmente, devido à quantidade insuficiente de cópias de DNA de *Leishmania* presente nessas amostras. A baixa carga parasitária dificulta a visualização do perfil de restrição produzido após a digestão enzimática na técnica RFLP. Assim, idealmente, essas amostras devem ser submetidas a outras metodologias para a identificação do parasito, como, por exemplo, a utilização de outros alvos para a PCR-RFLP, hibridização ou sequenciamento.

Tabela 5: Frequência de amostras de flebotomíneos capturados e com infecção natural por *Leishmania* spp., segundo setor censitário, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010

SETOR CENSITÁRIO	ESPÉCIES DE FLEBOTOMÍNEO	AMOSTRAS POSITIVAS	<i>Leishmania</i> spp.	
			<i>L. braziliensis</i>	<i>L. chagasi</i>
10	<i>Ny. whitmani</i>	1	-	-
12	<i>Ny. whitmani</i>	1	1	-
15	<i>Mi. quinquefer</i>	1	1	-
19	<i>Mi. quinquefer</i>	5	1	-
19	<i>Ny. whitmani</i>	1	-	-
22	<i>Mg. migonei</i>	1	-	-
22	<i>Ny. whitmani</i>	1	1	-
24	<i>Ny. whitmani</i>	1	-	-
62	<i>Ny. whitmani</i>	1	-	-
66	<i>Mi. quinquefer</i>	3	2	-
68	<i>Ny. intermedia</i>	1	-	-
68	<i>Pi. pessoai</i>	1	-	-
68	<i>Mi. quinquefer</i>	2	-	-
70	<i>Ny. intermedia</i>	8	4	-
70	<i>Pi. pessoai</i>	2	-	-
70	<i>Mi. quinquefer</i>	8	2	-
70	<i>Ev. sallesi</i>	1	-	-
70	<i>Ny. whitmani</i>	18	3	2
71	<i>Mi. quinquefer</i>	1	1	-
73	<i>Ny. intermedia</i>	1	-	-
73	<i>Ny. whitmani</i>	1	-	-
82	<i>Mi. quinquefer</i>	1	-	-
82	<i>Ny. whitmani</i>	2	-	-
84	<i>Ny. intermedia</i>	2	1	-
84	<i>Mi. quinquefer</i>	1	-	-
84	<i>Ny. whitmani</i>	1	1	-
92	<i>Ny. whitmani</i>	1	1	-
95	<i>Mi. quinquefer</i>	1	1	-
Total		69	20	2

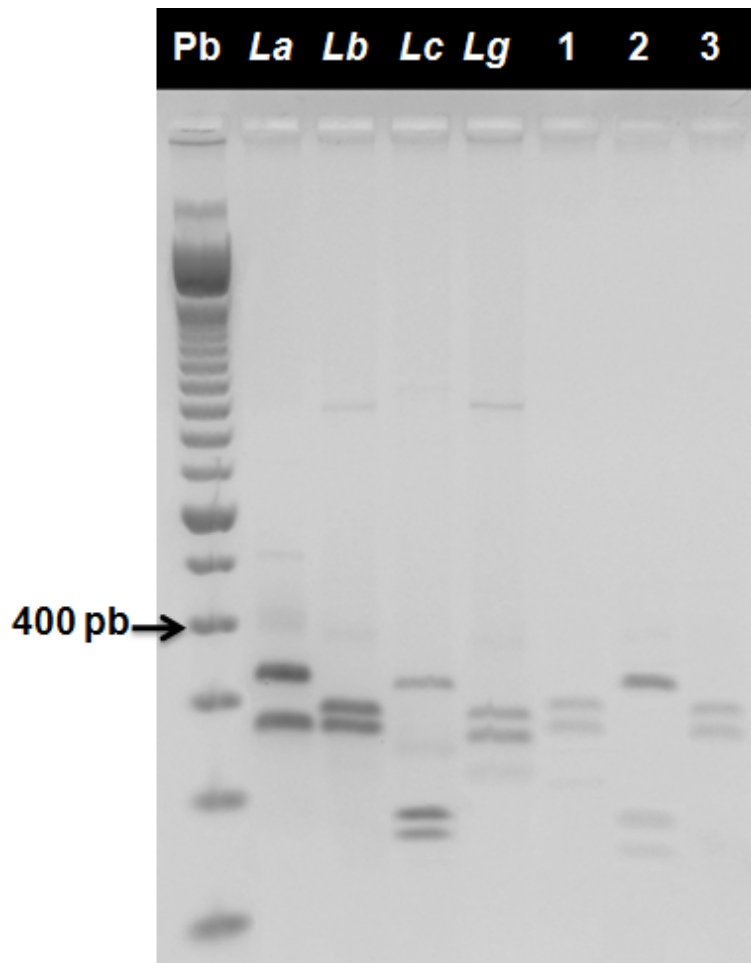


Figura 10: Análise de espécies de *Leishmania* spp. por RFLP dos produtos de amplificação da região do ITS1. Gel de agarose 2% corado com brometo de etídeo (10mg/ml). PM: padrão de peso molecular 100pb; La - controle positivo de *L. amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8); Lb - controle positivo de *L. braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903); Lc - controle positivo de *L. chagasi* (MHOM/BR/74/PP75); Lg - controle positivo de *L. guyanensis* (MHOM/BR/75/M4147); 01 (*Mi. quinquefer*), e 03 (*Ny. whitmani*) - amostras positivas para *L. braziliensis* e 02 (*Ny. whitmani*) - amostras positivas para *L. chagasi*.

Analisando a taxa de infecção natural das espécies de fêmeas de flebotomíneos positivas para *Leishmania braziliensis*, foi observado que *Ny. whitmani*, espécie com maior número de fêmeas capturadas, apresentou menor taxa de infecção (1,1%). Já *Mi. quinquefer*, com menor número de fêmeas capturadas, foi a espécie com maior taxa de infecção (5,8%). A taxa de infecção natural para *Ny. intermedia* foi igual a 2,0% (Tabela 6). É importante mencionar que a taxa de infecção foi calculada a partir de pools de insetos e não de indivíduos. Assim, uma amostra positiva (que poderia ser constituída por um ou até dez insetos) foi considerada como apresentando apenas uma

fêmea positiva, dessa forma, os valores das taxas de infecção calculadas podem estar subestimados.

Ny. whitmani e *Ny. intermedia* são espécies já incriminadas como vetores de *Leishmania* e identificadas com infecção natural por *L. braziliensis* (RANGEL *et al.*, 1992; PAIVA *et al.*, 2010). Sabendo-se do papel das espécies *Ny. whitmani* e *Ny. intermedia* na transmissão da LTA é possível sugerir que o principal vetor envolvido na transmissão de *Leishmania* no município de Timóteo é *Ny. whitmani*, devido ao grande número de insetos capturados dessa espécie (Tabela 2), seguido de *Ny. intermedia*, incriminado como vetor, principalmente, no estado do Rio de Janeiro (PITA PEREIRA *et al.*, 2005).

Tabela 6: Taxa de infecção natural de *Leishmania braziliensis* por espécie de flebotomíneos capturados, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010

ESPÉCIES DE FLEBOTOMÍNEO	NÚMERO DE FÊMEAS CAPTURADAS	AMOSTRAS POSITIVAS ⁽¹⁾	TAXA DE INFECÇÃO NATURAL (%)
<i>Ny. whitmani</i>	653	7	1,1
<i>Ny. intermedia</i>	251	5	2,0
<i>Mi. quinquefer</i>	139	8	5,8
Total	1.043	20	1,9

Nota: (1) As amostras se referem a pools, podendo compreender entre uma a 10 fêmeas de flebotomíneos.

Considerando a taxa de infecção natural por *L. braziliensis* identificada em fêmeas de *Mi. quinquefer*, segundo a literatura consultada, apenas o estudo de Paiva *et al.* (2010), realizado no estado do Mato Grosso do Sul, relata a identificação dessa espécie de flebotomíneo infectada por *L. braziliensis*. Esse achado tem especial significado epidemiológico, uma vez que *Mi. quinquefer* pertence a um grupo de flebotomíneos em que as fêmeas se alimentam de animais de sangue frio (DEANE; DEANE, 1957). Na medida em que *L. braziliensis* é espécie que infecta mamíferos, tais resultados sugerem que *Mi. quinquefer*, por oportunismo, possa se alimentar de animais de sangue quente. Ainda que não se possa estabelecer essa espécie como vetora de *L. braziliensis*, não se pode desconsiderar que a mesma foi a segunda mais capturada na área de estudo (Tabela 4), representando 15,4% do total de insetos e 23,2% das fêmeas coletadas, e que apresentou a maior taxa de infecção (5,8%).

Por outro lado, poder-se-ia sugerir como explicação para a identificação de *Mi. quinquefer* infectado com *L. braziliensis* a possibilidade de ocorrência de amplificação do alvo ITS1 na PCR-RFLP na presença de material genético de outros tripanossomatídeos presentes nas amostras de *Mi. quinquefer* ou de contaminação da amostra com outro DNA, o que pode ocorrer durante diferentes etapas da análise (pipetagem dos reagentes, diluição dos primers, manuseio dos equipamentos, dentre outras). Contudo, no primeiro caso, não há relatos na literatura sobre a amplificação de DNA envolvendo o fragmento ITS1 em outros tripanossomatídeos, conforme Cupolillo *et al.* (2009), as espécies de *Leishmania* que podem ser amplificadas na reação de PCR do ITS1 são : *L. donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi*, *L. aethiopica*, *L. tropica*, *L. major*, *L. mexicana*, *L. amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. guyanensis* e *L. panamanensis*. Corroborando essa informação, Schonian *et al.* (2003) consideram que a técnica molecular do PCR-RFLP do ITS1 é bastante sensível e específica para o gênero *Leishmania*.

No segundo caso, o fato de mais de uma amostras (oito) ter resultado positiva e das análises não terem sido feitas simultaneamente, diminuindo a possibilidade de contaminação, fragiliza essa hipótese explicativa. Ainda, foram identificadas amostras negativas, sendo esse mais um argumento para descartar a ocorrência de contaminação.

Ressalta-se que no estudo de Paiva *et al.* (2010) nenhuma dessas hipóteses foi aventada.

Ainda assim, seria importante a realização de outros estudos e utilização de outras técnicas para caracterização do parasito (como sequenciamento genético, outros alvos para PCR-RFLP, sondas de DNA) para investigar melhor a possível infecção natural de *Mi. quinquefer* por alguma espécie de *Leishmania* spp.

A espécie *Mg. Migonei* foi encontrada infectada com *Leishmania* spp., porém não foi possível identificar a espécie do parasito. Essa espécie de flebotomíneo, entretanto, já foi incriminada como vetora de *Leishmania*, conforme discutido no item 5.4. No município de Timóteo, essa espécie não foi

muito abundante (Tabela 4) sugerindo não ser o principal vetor na área de estudo.

Ev. sallesi e *Pi. pessoai* foram identificadas com infecção natural por *Leishmania* spp., contudo também não foi possível identificar qual espécie do parasito. Recentemente, esses flebotomíneos têm recebido atenção, em decorrência de relatos envolvendo infecção natural dessas espécies por *Leishmania*, conforme estudos realizados por Saraiva *et al.* (2009), no estado de Minas Gerais, e Margonari *et al.* (2010), no município de Divinópolis-MG. No primeiro caso, os autores identificaram, por métodos de biologia molecular, a presença de *L. braziliensis* em *Ev. sallesi*, e, no segundo, também por métodos de biologia molecular, foi identificado *Pi. pessoai* infectado com *L. braziliensis*.

Também foram identificadas amostras (2) da espécie *Ny. whitmani* infectados com *L. chagasi*. Essa espécie de *Leishmania* é o agente etiológico da leishmaniose visceral, sendo que o vetor normalmente associado à transmissão desse parasito é *Lu. longipalpis*. Saraiva *et al.* (2010) relata, em estudo no município de Belo Horizonte, o primeiro registro de *Ny. whitmani* infectado por *L. chagasi*. Entretanto, apesar de ter sido identificada infecção, não se pode afirmar que *Ny. whitmani* é vetor de *L. chagasi*, participando, assim, da epidemiologia da leishmaniose visceral, sendo necessários mais estudos que comprovem o papel dessa espécie de flebotomíneo no ciclo desse parasito.

As informações apresentadas acima, corroboram com a hipótese do trabalho de ocorrência de casos autóctones de LTA no município de Timóteo, uma vez que todos os elementos biológicos necessários à transmissão do parasito estão presentes: vetor (infectado), agente etiológico e hospedeiro susceptível. Com relação aos achados referentes à infecção de fêmeas de flebotomíneos por *L. chagasi*., apesar das ressalvas feitas anteriormente e do fato de não existir notificação de casos humanos de leishmaniose visceral no município de Timóteo, Souza e Borges (2008) observou a presença de *Lu. longipalpis* no município, sugerindo a possibilidade de circulação de *L. chagasi* nessa área.

5.6 Correlação entre a presença de vetores e sazonalidade

Como parte desse estudo, também se objetivou analisar a existência de comportamento sazonal na ocorrência das espécies de flebotomíneos capturadas no município. Essa temática tem sido explorada em diferentes estudos, sendo que as variáveis climáticas frequentemente correlacionadas à ocorrência de flebotomíneos são temperatura (ANDRADE-FILHO *et al.*, 1998; MAYO *et al.*, 1998; GOMES *et al.*, 1980; SALOMÓN *et al.*, 2002; SARAIVA *et al.*, 2006; DIAS *et al.*, 2007), pluviosidade (SALOMÓN *et al.*, 2002; DIAS *et al.*, 2007) e umidade relativa do ar (ANDRADE-FILHO *et al.*, 1998; GOMES *et al.*, 1980; SARAIVA *et al.*, 2006; DIAS *et al.*, 2007). Essas variáveis têm sido utilizadas para explicar o comportamento das populações de flebotomíneos e, conseqüentemente, a variação na ocorrência de casos humanos.

Outras variáveis, tais como velocidade do vento (AGUIAR; SOUCASAUX, 1984), precipitação (MAYO *et al.*, 1998) e fase lunar (AGUIAR; SOUCASAUX, 1984) têm sido estudadas e consideradas como determinantes do sucesso ou insucesso da coleta de exemplares. Resultados desses estudos são importantes para orientar o planejamento e a seleção de períodos mais adequados para coleta de flebotomíneos.

Na busca de se explicar o eventual comportamento sazonal dos flebotomíneos durante o período de coleta, foram consideradas como variáveis climáticas a umidade relativa do ar, temperatura e pluviosidade.

Na Tabela 7, observa-se a distribuição do total de insetos coletados segundo a estação do ano (período de colocação das armadilhas). Observa-se que houve diferença estatística ($p < 0,0001$) entre os percentuais de flebotomíneos capturados, sendo que o período 'janeiro a março' apresentou o maior valor (42,1%), seguido do período 'outubro a dezembro' (25,5%). Esses períodos corresponderam ao verão e à primavera, respectivamente. Ainda que o tenha ocorrido diferença estatística entre esses períodos ($p = 0,042$), esses meses, juntos, concentraram 67,7% dos flebotomíneos capturados. Por outro lado, os períodos 'abril a junho' e 'julho a setembro' concentraram, respectivamente, 13,7% e 18,6% dos flebotomíneos capturados, demonstrando queda significativa da presença de vetores nos meses de outono e inverno.

Tabela 7: Frequência e percentual de flebotomíneos capturados, segundo o período de coleta, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010

PERÍODO	FLEBOTOMÍNEOS CAPTURADOS		FÊMEAS		MACHOS	
	Total	% ⁽¹⁾⁽²⁾	Total	% ⁽²⁾⁽³⁾⁽⁵⁾	Total	% ⁽²⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾
JAN-MAR	858	42,1 ^a	503	46,4 ^{a#}	322	36,8 ^{a*}
ABR-JUN	208	13,7 ^b	185	17,1 ^{b#}	83	9,5 ^{b*}
JUL-SET	267	18,6 ^c	132	12,2 ^{c#}	233	26,7 ^{c*}
OUT-DEZ	625	25,5 ^d	264	24,4 ^{d#}	236	27,0 ^{c#}
TOTAL	1.958	100,0	1.084	100,0	874	100,0

Nota: (1) $X^2 = 482,8$; GL = 3; $p < 0,0001$. (2) Letras diferentes na mesma coluna indicam que houve diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% ($\alpha = 0,05$). (3) $X^2 = 396,5$; GL = 3; $p < 0,0001$. (4) $X^2 = 180,6$; GL = 3; $p < 0,0001$. (5) Símbolos diferentes na mesma linha indicam que houve diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% ($\alpha = 0,05$).

Segundo Aguiar e Soucasaux (1984), a densidade de flebotomíneos tende a aumentar nos meses quentes e úmidos e a diminuir nos meses mais frios e secos do ano. Já Zeledon et al. (1984), em estudo realizado na Costa Rica, correlacionou a ocorrência de *Lu. longipalpis* com meses mais secos. Dias et al. (2007) citam que, em condições naturais, variações na temperatura e umidade podem interferir na presença desses insetos, já que os mesmos são muito sensíveis à dessecação. Uma pequena variação desses fatores nos microhabitats é suficiente para alterar a dinâmica das populações de flebotomíneos.

Conforme Brazil e Brazil (2003), a duração das diferentes etapas do ciclo biológico dos flebotomíneos depende das condições de temperatura, umidade e disponibilidade de alimento. Em condições de laboratório, a temperatura ótima para o desenvolvimento da maioria das espécies neotropicais é 25°-27°, sendo que condições térmicas ligeiramente acima dessa faixa implicam em um ciclo mais rápido. Esses mesmos autores, citam a umidade como fator determinante da longevidade dos insetos adultos; sendo que a maioria das espécies neotropicais não sobrevive muito tempo em condições de umidade abaixo de 50%.

Por outro lado, no estudo de Rutledge e Ellenwood (1975), realizado em condições naturais, na estação chuvosa, a pluviosidade (chuva) moderada beneficiaria os flebotomíneos, contudo, os prejudicaria quando em grande intensidade pelo fato de inundar o solo e destruir os criadouros e fases do ciclo de vida (ovo, pupa e larvas).

Os períodos de ‘janeiro a março’ e ‘outubro a dezembro’ são os períodos mais quentes do ano, no município de Timóteo (Tabela 8), o que pode ter favorecido a captura de maior número de flebotomíneos nesses períodos (Figura 11). As maiores amplitudes térmicas (médias ou medianas) verificadas foram de, aproximadamente, 4,0°C (Tabela 8), concordando com a informação de que mesmo pequenas variações de temperatura podem impactar a ocorrência de flebotomíneos.

Em relação aos parâmetros pluviosidade e umidade, correlações com as populações de flebotomíneos foram menos nítidas. Valores de pluviosidade média ou mediana foram extremamente baixos em todos os períodos analisados. Entretanto, os períodos de maiores pluviosidades, ‘janeiro a março’ (0,22 mm) e ‘outubro a dezembro’ (0,28 mm) foram os de maiores ocorrências de flebotomíneos (Tabelas 7 e Figura 12). Já para umidade, os valores para os períodos estudados não apresentaram diferenças evidentes, contudo, ressalta-se que a pluviosidade média e mediana estiveram sempre acima de 50%.

Tabela 8: Estatística descritiva para dados climáticos, segundo o período de coleta, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010

PERÍODO	TEMPERATURA (°C)				PLUVIOSIDADE (mm)				UMIDADE (%)			
	μ	DP	Med	CV (%)	μ	DP	Med	CV (%)	μ	DP	Med	CV (%)
JAN-MAR	25,4	3,4	24,9	7,4	0,22	1,7	0,0	0,13	68,6	14,8	69,0	4,6
ABR-JUN	21,3	3,5	21,3	6,1	0,13	1,5	0,0	0,09	75,7	10,9	78,0	6,9
JUL-SET	20,7	3,4	20,3	6,0	0,00	0,0	0,0	0,06	63,7	14,1	65,0	4,5
OUT-DEZ	23,2	3,4	22,6	6,7	0,28	1,9	0,0	0,15	72,5	13,8	74,0	5,3

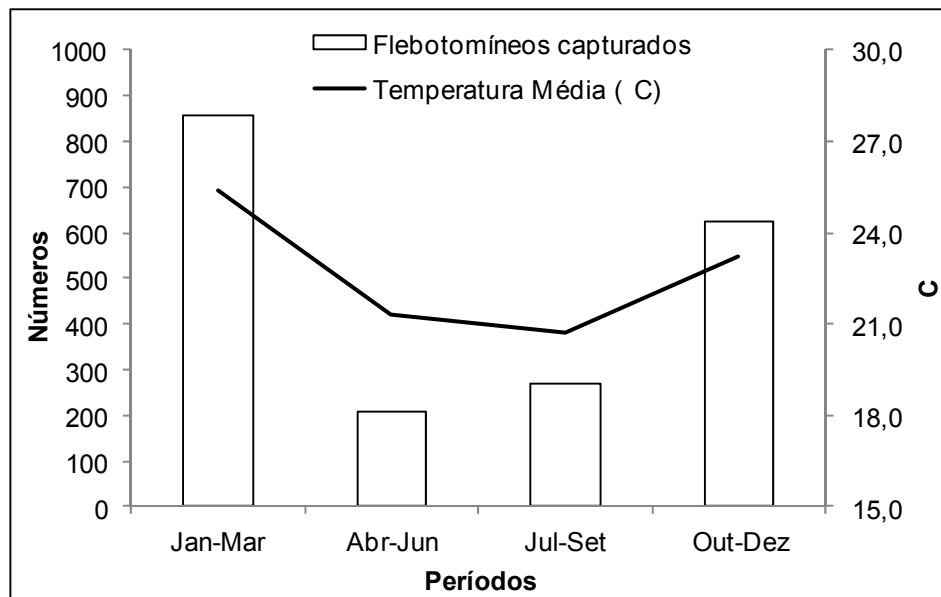


Figura 11: Distribuição dos flebotomíneos capturados e da temperatura média, segundo o período de coleta, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010.

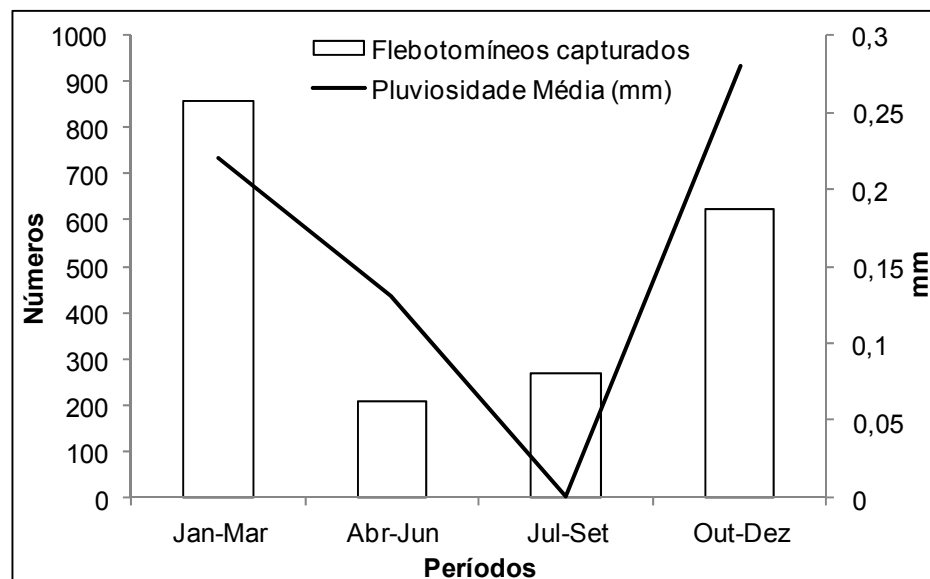


Figura 12: Distribuição dos flebotomíneos capturados e da pluviosidade média, segundo o período de coleta, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010.

As análises realizadas não revelaram importantes diferenças entre os modelos testados, assim, optou-se por apresentar apenas os resultados da correlação linear (Tabela 9). A variável temperatura foi a que apresentou os melhores

ajustes de correlação, seja para os valores médios ou medianos, sendo que a ocorrência de flebotomíneos aumentou com o aumento da temperatura (média ou mediana) (Tabela 9 e Figura 13). De forma geral, observou-se que a medida que período utilizado para o cálculo da temperatura média ou mediana se aproximou do momento da coleta o ajuste da correlação melhorou. Entretanto, apenas para os dados referentes ao momento da coleta foi identificada significância estatística para o coeficiente de regressão linear (temperatura média: $b = 31,5$ e $p = 0,032$; temperatura mediana: $b = 33,3$ e $p = 0,009$). Correlação positiva entre a temperatura média do mês de coleta e o número de flebotomíneos também foi identificada por Saraiva et al. (2006), contudo, os autores não explicitam a correlação utilizada na análise.

Tais resultados demonstram que a variável climática temperatura foi a que melhor informou sobre uma eventual ocorrência sazonal de flebotomíneos, o que pode contribuir na definição de estratégia de controle desses insetos na área urbana do município.

Tabela 9: Análise de correlação linear entre número de flebotomíneos capturados e dados climáticos médios e medianos em diferentes momentos, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010

VARIÁVEIS	MOMENTO EM RELAÇÃO À COLETA ⁽¹⁾ /PARÂMETROS DOS MODELOS														
	Durante			24 horas antes			uma semana antes			duas semanas antes			30 dias antes		
	b	p	R ²	b	p	R ²	B	p	R ²	b	p	R ²	b	p	R ²
Temperatura média	31,5	0,032	47,93	21,8	0,052	32,7	24,3	0,053	32,53	28,6	0,063	30,39	22,4	0,203	15,65
Temperatura mediana	33,2	0,009	50,25	21,1	0,057	31,57	25,2	0,049	33,31	30,9	0,056	31,75	27,0	0,151	19,46
Umidade média%	-2,3	0,667	1,93	-0,4	0,935	0,07	-7,5	0,175	17,56	-5,8	0,265	12,25	-6,8	0,255	12,75
Umidade mediana	-1,0	0,825	0,51	-0,5	0,887	0,21	4,7	0,354	8,63	-5,2	0,266	12,19	-6,0	0,252	12,90
Pluviosidade média	271,8	0,300	10,67	-50,1	0,568	3,37	-183,6	0,346	8,91	-167,1	0,422	6,56	-176,9	0,44	6,00

Nota: (1) b = coeficiente de regressão ; p = valor de p; R² = coeficiente de determinação.

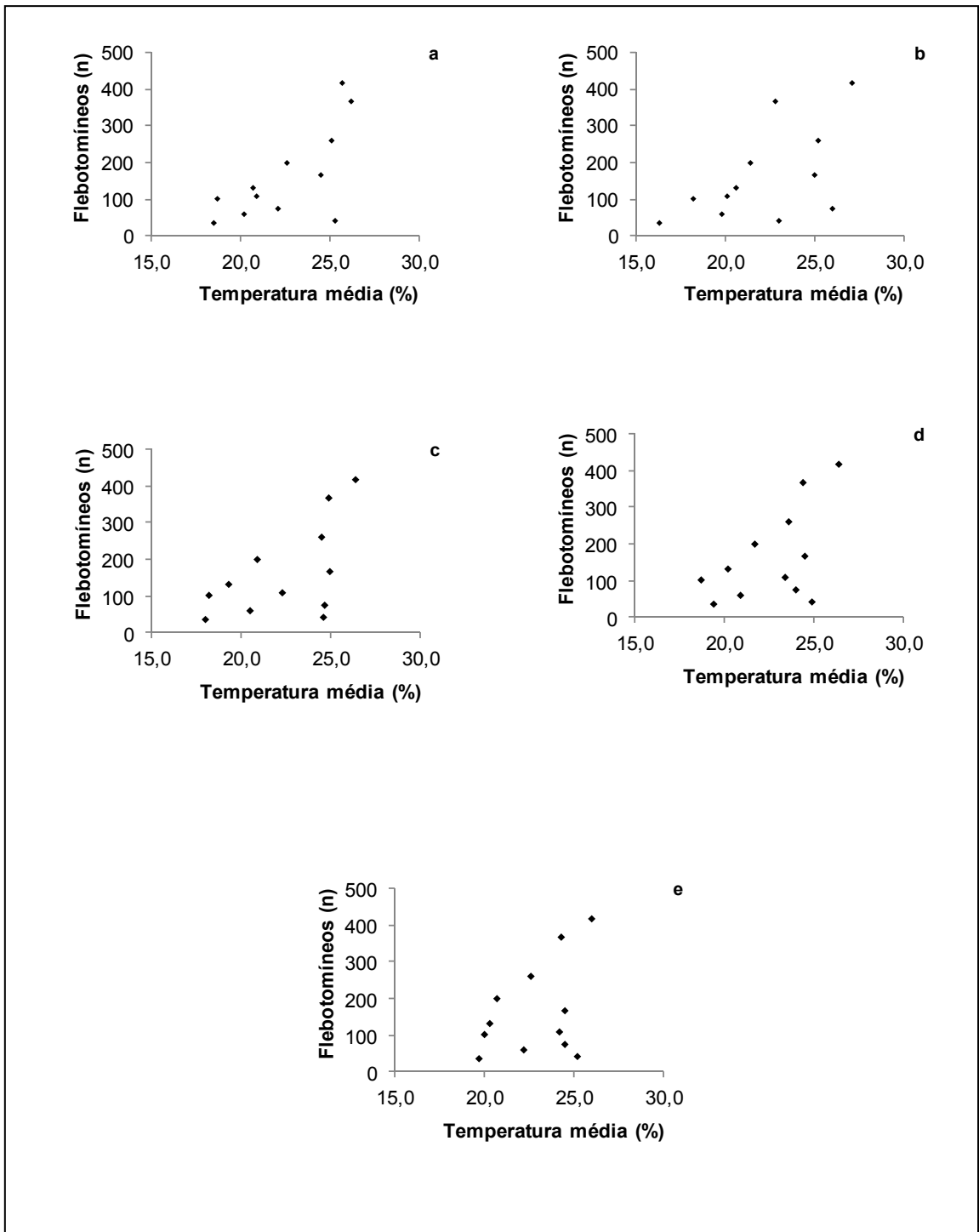


Figura 13: Gráficos de dispersão entre número de flebotomíneos capturados e temperatura média em diferentes momentos: (a) durante a coleta; (b) 24 horas antes da coleta; (c) uma semana antes da coleta; (d) duas semanas antes da coleta e (e) 30 dias antes da coleta, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010.

A distribuição das frequências de machos e fêmeas de flebotomíneos segundo o período de captura revelou que para fêmeas as proporções de animais

capturados ao longo dos períodos seguiu o mesmo padrão verificado para o total de vetores. Ou seja, maiores proporções nos meses 'janeiro a março' e 'outubro a dezembro', 46,4% e 24,4% e menores nos meses 'abril a junho' e 'julho a setembro' 17,1% e 12,2%, sendo que as diferenças verificadas entre todos os períodos foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$) (Tabela 7). Para machos, o período 'janeiro a março' apresentou a maior proporção (36,8%) e 'abril a junho', a menor (9,5%) ($p < 0,05$); os períodos 'outubro a dezembro' e 'julho a setembro' apresentaram proporções semelhantes ($p > 0,05$), 27,0% e 26,7%, respectivamente. Contudo, considerando a amplitude de variação entre os períodos de maior e menor captura, observou-se que a mesma foi semelhante para fêmeas (73,7%) e machos (74,2%).

O maior número de fêmeas e machos capturados nos períodos de 'janeiro a março' e 'outubro a dezembro' esteve, provavelmente, relacionado ao fato de corresponderem aos períodos mais quentes no município de Timóteo (25,4°C e 23,2°C, respectivamente) (Tabela 8).

As análises de correlação realizadas considerando individualmente populações de machos e fêmeas não revelaram bons ajustes para nenhum modelo testado. Esse resultado pode ser devido ao fato dos dados se referirem a apenas um ano de coleta.

Analisando a distribuição proporcional entre machos e fêmeas para um mesmo período, observou-se que as fêmeas foram mais prevalentes em 'janeiro-março' ($p < 0,0001$) e 'abril-junho' ($p < 0,0001$). Nos períodos, 'julho a setembro' e 'outubro a dezembro', a relação se inverte e os machos foram identificados como mais prevalentes, sendo que nesse último período a diferença entre as proporções não foi estatisticamente significativa ($p = 0,198$) (Tabela 7).

Não foram identificados trabalhos que comparam a ocorrência de machos e fêmeas entre períodos do ano. Sendo assim, são necessários mais estudos para que se possa avaliar melhor se a prevalência de insetos machos ou fêmeas segue algum padrão diferenciado de ocorrência em relação à época do ano.

5.7 Identificação de conglomerados de casos de LTA

As análises espaciais foram realizadas utilizando informações de 79 casos humanos de LTA classificados como autóctones do município de Timóteo e distribuídos em 95 setores censitários. Foram identificados três conglomerados de casos de LTA, sendo que apenas um com significância estatística, conglomerado primário ($p < 0,05$). Todos os conglomerados foram classificados como históricos, não tendo sido identificados, portanto, conglomerados ativos, ou seja, que incluíssem o ano de 2010 (Tabela 10).

O conglomerado primário incluiu os setores 68, 69, 70, 71, 72, 73, 82, 83, 84, 85, com raio de 3.280m (Figura 14), esteve ativo durante o período de janeiro de 2007 a dezembro de 2007. Nesse conglomerado, a probabilidade dos casos de LTA agrupados em torno do centróide e em um raio de 3.280m ser devida ao acaso foi menor que 0,01, indicando que o agrupamento de casos nesses setores censitário não foi aleatória.

Tabela 10: Estatística scan para 79 casos autóctones de LTA utilizando o modelo de Poisson, município de Timóteo-MG, 2002 a 2010

CONGLOMERADO	ANO	SETOR CENSITÁRIO	CASOS DE LTA		RAZÃO DE VEROSSIMILHANÇA ⁽¹⁾	VALOR DE P ⁽¹⁾
			NOTIFICADOS	ESPERADOS		
Primário	2007	68, 69, 70, 71, 72, 73, 82, 83, 84 e 85	15	0,90	29,55	< 0,01
Secundário 1	2007	6, 7 e 11	3	0,27	4,59	0,85
Secundário 2	2008	19	2	0,12	3,80	1,00

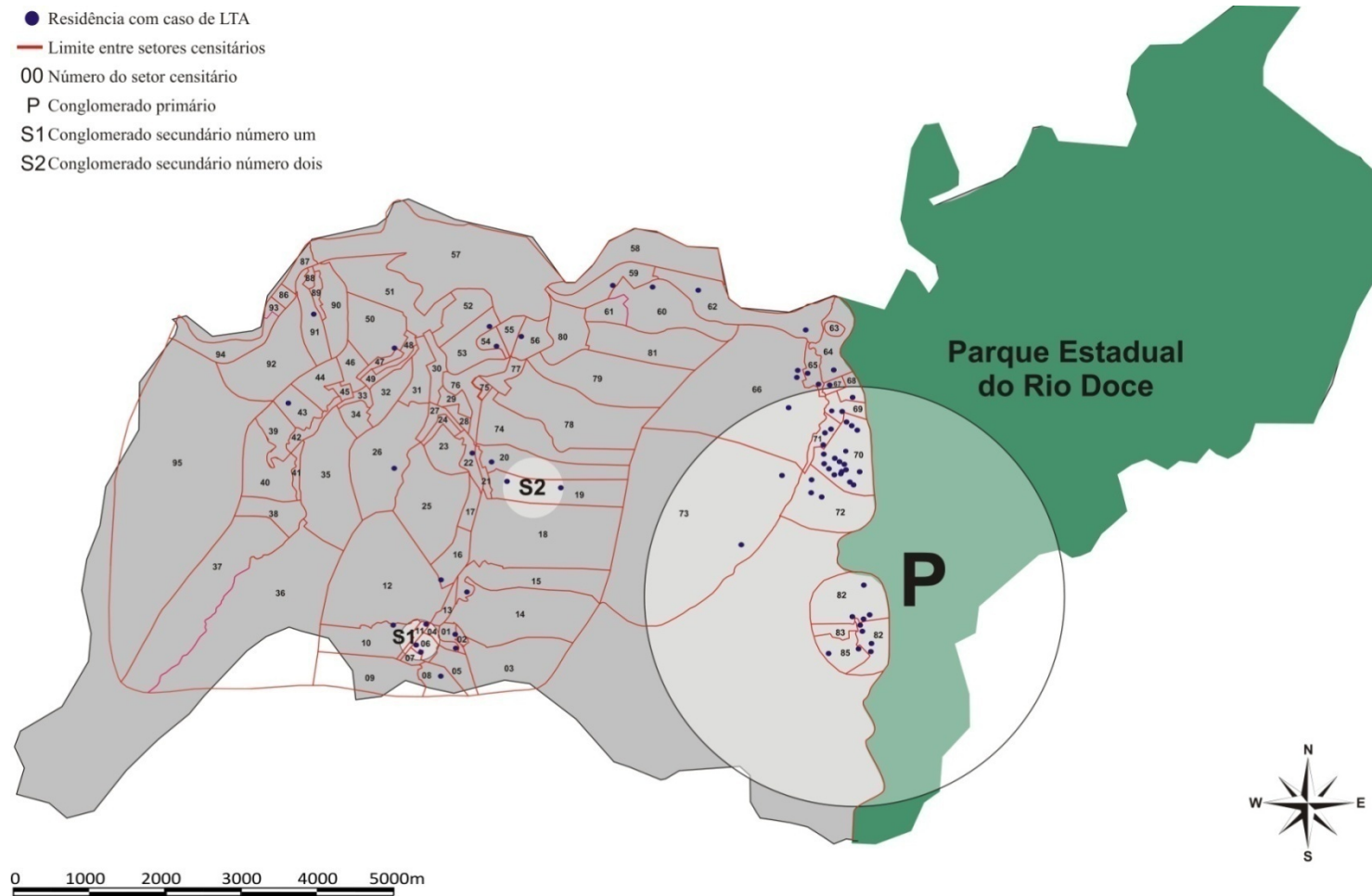


Figura 14: Distribuição espacial dos casos autóctones de LTA e dos conglomerados primário e secundários identificados, município de Timóteo-MG, 2002 a 2010.

Os setores incluídos no conglomerado primário corresponderam aqueles onde foi capturado o maior número de flebotomíneos, totalizando 1.681 (85,9%) espécimes, sendo as espécies predominantes *Ny. whitmani* (69,8%) seguida de *Ny. intermedia* (14,4%), sendo ambas vetores de LTA (Tabela 11).

Tabela 10: Número e frequência de flebotomíneos capturados, segundo setor censitário, município de Timóteo-MG, novembro de 2009 a outubro de 2010

SETOR CENSITÁRIO	FLEBOTOMÍNEOS CAPTURADOS							
	<i>Ny. whitmani</i>	(%)	<i>Ny. intermedia</i>	(%)	<i>Mi. quinquefer</i>	(%)	Outras espécies	(%)
8	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
4	3	0,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0
6	1	0,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0
10	0	0,0	0	0,0	2	0,7	0	0,0
11	0	0,0	0	0,0	1	0,3	0	0,0
12	1	0,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0
13	3	0,2	2	0,8	1	0,3	0	0,0
15	2	0,2	0	0,0	3	1,0	0	0,0
18	4	0,3	3	1,1	0	0,0	0	0,0
19	66	5,1	2	0,8	69	22,8	7	7,8
22	1	0,1	0	0,0	1	0,3	1	1,1
23	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
24	1	0,1	1	0,4	0	0,0	0	0,0
26	12	0,9	0	0,0	0	0,0	1	1,1
40	0	0,0	0	0,0	3	1,0	0	0,0
43	0	0,0	1	0,4	3	1,0	0	0,0
45	1	0,1	0	0,0	1	0,3	0	0,0
51	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
54	2	0,2	0	0,0	2	0,7	0	0,0
58	1	0,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0
59	1	0,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0
60	1	0,1	1	0,4	0	0,0	0	0,0
62	3	0,2	3	1,1	0	0,0	1	1,1
65	0	0,0	0	0,0	1	0,3	0	0,0
66	2	0,2	1	0,4	7	2,3	0	0,0
67	2	0,2	0	0,0	1	0,3	0	0,0
68	12	0,9	13	4,9	34	11,3	8	8,9
70	1.022	78,4	169	64,3	138	45,7	60	66,7
71	0	0,0	1	0,4	1	0,3	0	0,0
72	0	0,0	1	0,4	0	0,0	0	0,0
73	8	0,6	18	6,8	4	1,3	1	1,1
78	1	0,1	0	0,0	1	0,3	0	0,0
82	129	9,9	34	12,9	12	4,0	10	11,1
84	1	0,1	2	0,8	4	1,3	0	0,0
85	1	0,1	4	1,5	0	0,0	0	0,0
88	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
91	11	0,8	1	0,4	3	1,0	0	0,0
92	2	0,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0
95	9	0,7	6	2,3	10	3,3	1	1,1
Total	1.303	100,0	263	100,0	302	100,0	90	100,0

Dentre as amostras de fêmeas de flebotomíneo submetidas à detecção da presença de *Leishmania* spp., foi observado que, do total de 69 amostras

positivas, 51 (73,9%) haviam sido coletadas nos setores que compõem o conglomerado primário, sendo que a espécie de *Leishmania* predominante foi *L. braziliensis* (Tabela 5).

A presença de *Ny. whitmani* e *Ny. intermedia* infectados com *L. braziliensis* nos setores do conglomerado primário confirma a manutenção do ciclo da LTA nessas áreas. Um fator que nitidamente contribui para a ocorrência de elevado número de insetos nesses setores é proximidade com Parque Estadual de Rio Doce. Na Figura 13, pode-se observar que os setores incluídos no conglomerado primário margeiam as bordas do Parque. Essa proximidade permite a dispersão dos vetores e de possíveis reservatórios, que por sua vez, podem encontrar abrigo e alimento nas áreas urbanas.

De fato, na análise envolvendo as características das residências com e sem casos autóctones de LTA (item 5.8), a variável 'residência próximo de mata' foi a que apresentou o menor valor de p (0,04) demonstrando possível associação com a ocorrência de casos de LTA. Contudo, o intervalo de confiança da medida de intensidade de associação (razão de chances) não foi estatisticamente significativo ($IR_{95\%} = 0,84-17,6$) (Tabela 3).

A Tabela 12 mostra a distribuição dos flebotomíneos capturados e infectados com *Leishmania* spp, segundo os setores censitários com casos e sem casos humano de LTA. Em 96,0% das armadilhas instaladas nas residências com casos humanos de LTA ocorreram capturas de flebotomíneos, e nas residências sem casos de LTA foram coletados em 73,3% das armadilhas. Amostras de flebotomíneos infectados com *Leishmania* spp estiveram presentes em 50% e 36% das armadilhas instaladas nas residências com casos e sem casos de LTA respectivamente, onde a presença de *Leishmania braziliensis* foi predominante, sendo encontrada em sete setores censitários com casos de LTA e em 3 dos setores censitários sem casos de LTA.

Apesar do número de armadilhas instaladas nos setores censitários sem casos humanos de LTA serem menores que a quantidade de armadilhas instaladas nas residências com casos humanos de LTA, o número de flebotomíneos capturados nas residências com casos de LTA (97,3%) é proporcionalmente

superior ao número de flebotomíneos capturados em residências sem casos de LTA (2,7%).

Esses dados demonstram que os setores onde foram notificados os casos humanos de LTA no município de Timóteo são prováveis locais de infecção de LTA, tendo em vista, o grande número de flebotomíneos capturados, sobretudo as espécies *Ny. whitmani* e *Ny. intermedia*, vetores de LTA, encontrados nesses setores e principalmente a identificação infecção natural por *Leishmania braziliensis*, em amostras de fêmeas dos flebotomíneos capturados

Tabela 11: Presença de Flebotomíneos infectados segundo setores censitários, Timóteo, 2009 a 2010.

FLEBOTOMÍNEOS	SETOR CENSITÁRIO COM CASOS DE LTA		SETOR CENSITÁRIO SEM CASOS DE LTA	
	N	%	n	%
Presença de flebotomíneo				
Sim	24/25	96,0	11/15	73,3
Não	1/25	4,0	4/15	26,7
Presença de flebotomíneo com <i>Leishmania</i> spp	12/24	50,0	4/11	36,4
Presença de flebotomíneo com <i>Leishmania braziliensis</i>	7/12	58,3	3/4	75,0
Número de flebotomíneos				
Fêmeas	1.059	55,6	25	47,2
Machos	846	44,4	28	52,8
Total	1.905	100,0	53	100,0

6 CONCLUSÕES

A realização desse estudo permitiu indicar que a LTA tem condições de ocorrer de forma autóctone na área urbana do município de Timóteo-MG. Tal constatação está baseada na ocorrência de casos humanos (79 casos foram considerado autóctones), na presença de espécies de flebotomíneos (*Ny. whitmani*) reconhecidamente vetoras e na identificação de fêmeas de flebotomíneos com infecção natural por *L. braziliensis*. Vale ressaltar que o levantamento da fauna de flebotomíneos indicou grande número de espécimes de flebotomíneos na área urbana do município. Tais condições são favoráveis à instalação e manutenção do ciclo do parasita em populações humanas.

A análise descritiva dos casos evidenciou maior ocorrência da doença em homens (65,8%), com idade média de 40 anos; contudo a ocorrência de casos em mulheres não foi desprezível (34,2%). A caracterização dos casos indicou a provável transmissão do agente no ambiente domiciliar ou peridomiciliar, com ocorrência de casos em donas de casa e crianças menores de nove anos que não frequentavam a área rural do município. As áreas que mais concentraram casos corresponderam aos setores censitários localizados próximos ao Parque Estadual do Rio Doce, indicando a influência que os ambientes silvestres exercem sobre a ocorrência da doença.

Por outro lado, também foi evidenciada a ocorrência de um provável ciclo rural da doença, uma vez que, aproximadamente, metade dos casos humanos de LTA (45,6%) relatou ter frequentado áreas rurais. Entretanto, aparentemente, as típicas características de ruralidade da doença (associada ao trabalho) também têm se alterado, uma vez que os casos relataram a frequência à área rural, principalmente para realizar atividades de lazer.

As análises sobre o comportamento sazonal do vetor não revelaram padrão evidente, sendo que apenas a variável temperatura apresentou correlação com a ocorrência de flebotomíneos. Tais resultados podem estar associados ao relativo pequeno período de captura (um ano), fica aqui a sugestão de outros estudos que permitam detalhar melhor as relações entre a presença de flebotomíneos e as variáveis climáticas, em um período maior de tempo, permitindo melhor compreensão do comportamento desses insetos.

Vale evidenciar a necessidade de estudos envolvendo a compreensão da participação de espécies de flebotomíneos não consideradas vetores, como a exemplo de *Mi. quinquefer*, registrada no presente trabalho com infecção por *L. braziliensis*. Estudos esses, permitiram conhecer melhor a ecologia dessas espécies e os seus possíveis papéis no ciclo de transmissão da leishmaniose. Outro aspecto importante, diz respeito à caracterização da preferência alimentar dos flebotomíneos, uma vez que tal informação contribuiria para a identificação dos possíveis reservatórios que participam da manutenção do ciclo da doença em áreas urbanas.

Enfim, os resultados do presente estudo permitem subsidiar a atuação do serviço de vigilância epidemiológica do município de Timóteo na adoção de medidas mais específicas para a prevenção e o controle da LTA no município, como por exemplo, a priorização dos setores censitários que margeiam o Parque Estadual do Rio Doce.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDINSOFT. XLSTAT. *Perform data analysis and statistics calculations*. Version 1.02. New York: Addinsoft, 2009.

AGUIAR, G.M.; SOUCASAUX, T. Aspectos da ecologia dos flebótomos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro. I- Frequência mensal em isca humana (Díptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.79, n. 2, p. 197-209,1984.

AGUIAR, G.M.; VILELA, M.L.; LIMA, R.B. Ecology of the sandflies of Itaguaí, an area of cutaneous leishmaniasis in the State of Rio de Janeiro. Food preferences (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 82, n.4, p. 583-584. 1987.

AGUIAR,. G.M.; MEDEIROS, W.M. Distribuição regional e habitats das espécies de flebotomíneos do Brasil. *In: RANGEL, E.F.; LAINSON, R. (Org.). Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p.207-256, 2003

AGUILAR, C.M.; RANGEL, E.F.; DEANE, L.M. Cutaneous leishmaniasis in frequent in equines from an endemic area in Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 81, n.4, p. 471-472. 1986.

ALCAIS, A.; ABEL, L.; DAVID, C.; TORREZ, M.E.; FLANDRE, P.; DEDET, J.P. Risk factors for onset of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis in , Bolivia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 57, n. , p. 79-84, 1997.

ANDRADE FILHO, J.D.; CARNEIRO, A.P.S.; LIMA, M.L.N.; SANTIAGO, R.M.; GAMA, M.A.; SANTOS, C.A.; FALCÃO, A.L.; BRAZIL, R.P. Flebotomíneos de

Timóteo, Estado de Minas Gerais, Brasil (Diptera: Psychodidae). *Cadernos de Saúde Pública*, v.13, n.4, p.767-770, 1997.

ANDRADE FILHO, J.D.; GALATI, E.A.B.; FALCÃO, A.L. *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) and *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) geographical distribution and epidemiological importance. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 102, n. 4, p. 481–487, 2007.

ANDRADE FILHO, J.D.; LIMA, M.L.N.; FALCÃO, A.L.; BRAZIL, R.P. Sazonalidade dos flebotomíneos (Díptera, Psychodidae) dos arredores da Gruta da Lapinha, município de Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 42, n.3/4 , p.93-95, 1998.

APARICIO, C.; BITENCOURT, M. D. Modelagem espacial de zonas de risco da leishmaniose tegumentar americana. *Revista de Saúde Pública*, v. 38, n. 4, p. 511-516, 2004.

ARMIJOS, R.X.; WEIGEL, M.M.; IZURIETA, R.; RACINES, J.; ZURITA, C.; HERRERA, W.; VEJA, M. The epidemiology of cutaneous leishmaniasis in subtropical Ecuador. *Tropical Medicine and International Health*, v. 2, n. 2, p. 140-152, 1997.

ASHFORD, R.W. The Leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *International Journal for Parasitology* , v. 30, n. 12/13, p 1269-1281. 2000

ASSUNÇÃO, R.M. Estatística espacial com aplicação em epidemiologia. economia e sociologia. São Carlos. SP. *Universidade Federal de São Carlos*. 2001. Disponível em <<http://www.est.ufmg.br/~asuncao>> Acesso em 18 de março de 2011.

AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. *BioEstat 2.0:aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas*, Belém/Brasília: Sociedade Civil Mamirauá/CNPq,. 2000, 272p.

BALIEIRO, A.A.S. *Detecção de conglomerados dos alertas de desmatamentos no Estado do Amazonas usando estatística de varredura espaço-temporal*. 2008. 87 f. Dissertação (Mestrado em Estatística Aplicada e Biometria) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 2008.

BARRETO, A.C.; CUBA, C.A.C.; VEXENAT, J.A.; ROSA, A.C.; MARSDEN, P.D.; MAGALHÃES, A.V. Características epidemiológicas da leishmaniose tegumentar americana em uma região endêmica do Estado da Bahia, II - Leishmaniose canina. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 17, n. 2, p. 59-65, 1984.

BESAG, J.; NEWELL, J. The detection of clusters in rare diseases. *Journal of the Royal Statistical Society. Series A*, v. 154, n. 3, p.143-155. 1991.

BRANDÃO-FILHO, S.P.; BRITO, M.E.; CARVALHO, F.G.; ISHIKAWA, E.A.; CUPOLILLO, E.; FLOETER WINTER, L.; SHAW, J.J. Wild and synanthropic hosts of *Leishmania* (Viannia) *braziliensis* in the endemic cutaneous *Leishmaniasis* locality of Amaraji, Pernambuco State, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 97, n. 3, p. 291-296, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Leishmaniose tegumentar americana*. Disponível <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1560> Acesso em: 10 fev de 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral*, 1ª ed. Brasília-DF, 2006, 120p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana*, 2ª. ed. Brasília, 2007, 182p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Guia de vigilância epidemiológica*, 7ªed. Brasília. 2009. 816p.

BRAZIL, R.P.; BRAZIL, B.G. Biologia de flebotomíneos neotropicais. In: RANGEL, E.F.; LAINSON, R. (Org.). *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p.257-274, 2003.

BRAZIL, R.P.; NASCIMENTO, M.D.S.B.; MACAU, R.P. Infecção natural do porco (*Sus scrofa*) por *Leishmania* em foco recente de leishmaniose

tegumentar na Ilha de São Luís, Maranhão. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 82, n. 1, p. 145, 1987.

CABRERA, M.A.A.; PAULA, A.A.; CAMACHO, L.A.B.; MARZOCHI, M.C.A.; XAVIER, S.C.; SILVA, A.V.M.; JANSEN, A.M.; Canine visceral *Leishmaniasis* in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: Assessment of risk factors. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 45, n. 2, p. 79-83, 2003.

CÂMARA, G.; MONTEIRO, A.M.; FUCKS, S.D.; CARVALHO, M.S. Análise espacial e geoprocessamento. In: DRUCK, S.; CARVALHO, M.S.; CÂMARA, G.; MONTEIRO, A.V.M. (eds). *Análise Espacial de Dados Geográficos*. Brasília. Embrapa. 2004. 209 p.

CARMO, R.F. *Água para consumo humano e doença diarreica aguda em viçosa-mg: distribuição espaço temporal e representação social*. 2009. 141 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 2009.

CARVALHO, G.M.L.; GONTIJO, C.M.F.; FALCÃO, A.L.; ANDRADE FILHO, J.D. Study of Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae) Collected in a *Leishmania*-Endemic Área of the Metropolitan Region of Belo Horizonte, Brazil. *Journal of Medical Entomology*, v. 47, n. 6, p. 972-976, 2010.

CASAVECHIA, M.T.G.; SILVEIRA, T.G.V.; TEODORO, U.; JANEIRO, V.; UDO, M.; LONARDONI, M.V.C. Variables associated with the post-treatment healing of lesions in patients with American cutaneous *Leishmaniasis* in Paraná State, Brazil. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 45, n. 4, p. 841-847, 2009.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. *Parasites – Leishmaniasis*. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/parasites/Leishmaniasis/index.html>>. Acesso em 10 de jan. 2011.

CLARKE, K.C.; MCLAFFERTY, S.L.; TEMPALSKI, B.J. On Epidemiology and Geographic Information Systems: A Review and Discussion of future Directions. *Emerging Infectious Diseases*, v. 2, n. 2, p. 85-92, 1996.

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. *Caderno de Saúde Pública*, v.12. n.4, p. 465-472, 1996.

COSTA, A.I.P. Estudo de fatores ambientais associados à transmissão da leishmaniose tegumentar americana através do sensoriamento remoto orbital e sistema de informação geográfica. 2001. 82 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia). Universidade de São Paulo, São Paulo; 2001.

CROSS, E.R.; NEWCOMB, W.W.; TUCKER, C.J. Use of weather data and remote sensing to predict the geographic and seasonal distribution of phlebotomus papatasi in Southwest Asia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.*, v. 54, n. 5, p. 530-536, 1996.

CUPOLILLO, E.; SCHOENIAN, G.; KUHL, K.; AUWERA, G.V.; MAURICIO, I.; CRUZ, I. Manual Molecular Procedures: Training course, molecular epidemiology and leishmaniasis. *Leishmaniasis Epidemiology Network South America*, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil, 2009.

DEANE, L.M.; DEANE, M.P. Observações sobre abrigos e criadouros de flebotomos no Noroeste do estado do Ceará. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, v. 9, n. 2, p. 225-246, 1957.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v. 27, n. 5, p. 305-318, 2004.

DIAS, E.S.; FRANÇA-SILVA, J.C.; SILVA, J.C.; MONTEIRO, É.M.; PAULA, K.M.; GONÇALVES, C.M.; BARATA, R.A. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de um foco de leishmaniose tegumentar no Estado de Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 40, n. 1, p. 49-52, 2007.

FALCÃO, L.R. Um novo modelo de armadilha luminosa de sucção para pequenos insetos. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 76, n. 3, p. 303-305, 1981.

FERRO, C.; PRADO, R.; TORRES, M.E.; MORRISON, A.C. Larval microhabitats of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in an endemic focus of visceral *Leishmaniasis* in Colombia. *Journal of Medical Entomology*, v. 34, n. 6, p. 719-728, 1997.

FOLLADOR, 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. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 32, n. 5, p. 497-503, 1999.

FORATTINI, O.P. *Entomologia Médica*. São Paulo: Edgard Blucher, v. 4, 1973. 658p.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). *Evolução temporal das doenças de notificação compulsória no Brasil de 1980 a 1998*. Boletim Epidemiológico; Ed. Especial, 1999.

FURTADO, I.; ALEIXO, J.; LOPES, C.F. Surto de Leishmaniose tegumentar americana em Minas Gerais. *O Hospital*; v. 70, p. 259-266, 1966.

GALATI, E.A.B Morfologia e taxonomia. In: RANGEL, E.F.; LAINSON, R. (Org.). *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p. 23-206, 2003.

GARCIA, F.C.B.; SANTOS, S.S.R.; CHOCIAY, M.F.; MEDEIROS, A.C.R.; ROSELINO, A.M.F. Métodos subsidiários para o diagnóstico da leishmaniose tegumentar americana (LTA): comparação dos resultados do sequenciamento de DNA e da PCR-RFLP para determinação da espécie de *Leishmania* em amostras cutâneo-mucosas. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 80, n. 3, p.340-345, 2005.

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*. *Revista de Saúde Pública*, v.14, n.4, p. 540-556, 1980.

GONTIJO, C.M.F.; SILVA, E.S.; FUCCIO, M.B.; SOUSA, M.C.A.; PACHECO, R.S.; DIAS, E.S.; ANDRADE FILHO, J.D.; BRAZIL, R.P.; MELO, M.N. Epidemiological studies of an outbreak of cutaneous *Leishmaniasis* in the Rio Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, Brazil. *Acta Tropica*, v. 81, n. 2, p. 143-150, 2002.

HERMETO, M.V.; VIEIRA-DIAS, D.; GENARO, O.; ROTONDO-SILVA, A.; DA COSTA, C.A.; TOLEDO, V.P.; MICHALICK, M.S.; WILLIAMS, P.; MAYRINK, W. Outbreak of cutaneous *Leishmaniasis* in the Rio Doce Valley. Minas Gerais. Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 89, n. 4, p. 519-521, 1994.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/>>. Acesso em 14 de mai 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Censo demográfico 2010*. Disponível em: <http://www.censo2010.ibge.gov.br/resultados_do_censo2010.php>. Acesso em 10 de mar 2011.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/sonabra/maps/pg_automaticas.php/>. Acesso em 13 de nov 2009.

KULLDORFF, M. A *spatial scan statistic*. *Communications in Statistics: Theory and Methods*, v. 26, p.1481-1496, 1997.

KULLDORFF, M. Software for the spatial and spacetime Scan statistics. SatScan TM v 9.1.1 march 2011. Disponível em: <<http://www.satscan.org/>>. Acesso 20 de mar 2011.

KULLDORFF, M.; ATHAS, W.F.; FEURER, E.J.; MILLER, B.A.; KEY, C.R. Evaluating cluster alarms: a space-time scan statistic and brain cancer in Los Alamos, New Mexico. *American Journal of Public Health*, v. 88, n.9, p.1377-1380, 1998.

KULLDORFF, M.; NAGARWALLA, N. Spatial disease cluster: detection and inference. *Statistics in Medicine*, v. 14, p. 799-810, 1995.

LAINSON, R.; SHAW, J.J. Evolution. classification and geographical distribution. In: PETERS, W.; KILLICK-KENDRICK, R (Eds). *The Leishmaniasis in biology and medicine*. Academic Press. London, v. 1, p.1-120. 1987.

LAINSON, R.; SHAW, J.J. New world *Leishmaniasis* - The Neotropical *Leishmania* species. In: TOPLEY; WILSON. *Microbiology and Microbial Infections*, (9 a ed). London: Ed. Feg Cox; 9ª ed, 1988.

LAVERAN, A. *Leishmanioses. Kala-Azar, Bouton d'orient, Leishmaniose Américaine*. Masson et Cie., (ed), Paris, 521p. 1917

LIMA, A.P.; MINELLI, L.; COMUNELLO, E.; TEODORO, U. Distribuição da leishmaniose tegumentar por imagens de sensoriamento remoto orbital, no Estado do Paraná, Sul do Brasil. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 77, n. 6, p. 681-692, 2002.

LUZ, E.; MEMBRIVE, N.; CASTRO, E.A.; DEREURE, J.; PRATLONG, F.; DEDET, J.A.; PANDEY, A.; THOMAZ-SOCCOL, V. *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) as vector of *Leishmania* (V.) *brazilienes* in Paraná state. southern Brazil. *Annals of tropical medicine and parasitology*, v. 94, n. 6, p. 623-631, 2000.

MACHADO-COELHO, G.L.; ASSUNCAO, R.; MAYRINK, W.; CAIAFFA, W.T. American cutaneous *Leishmaniasis* in Southeast Brazil: space-time clustering. *International Journal of Epidemiology*, v. 28, p. 982-989, 1999.

MADEIRA, M.F.; UCHOA, C.M.A.; LEAL, C.A.; SILVA, R.M.M.; DUARTE, R.; MAGALHÃES, C.M.; SERRA, C.M.B. *Leishmania* (*viannia*) *braziliensis* em cães naturalmente infectados. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*; v. 36, n. 5, p. 551-555, 2003.

MARCONDES, C.B. A proposal of generic and subgeneric abbreviations of phlebotomines sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the world. *Entomol News*, v. 118, n. 4, p. 351–356, 2007.

MARGONARI, C.; SOARES, R.P.; ANDRADE-FILHO, J.D.; XAVIER, D.C.; SARAIVA, L.; FONSECA, A.L.; SILVA, R.A.; OLIVEIRA, M.E.; BORGES, E.C.; SANGUINETTE, C.C.; MELO, M.N. Phlebotomine Sand Flies (Diptera:

Psychodidae) and Leishmania Infection in Gafanhoto Park, Divinópolis. Brazil. *Journal of Medical Entomology*, v. 47, n. 6, p. 1212-1219, 2010.

MARSHALL, R.J. A review of methods for the statistical analysis of spatial patterns of disease. *Journal of the Royal Statistical Society A*, v. 154, n. 3, p. 421-441, 1991.

MARTINS, A.V.; BARRETTO, M.P.; BRENER, Z.; PELLEGRINO, J. Observações preliminares sobre um foco de leishmaniose tegumentar americana em Minas Gerais. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*; v. 8, n. 4, p. 577-581, 1956.

MAYO, R.C.; CASANOVA, C.; MASCARINI, L.M.; PIGNATTI, M.G.; RANGEL, O.; GALATI, E.A.B.; WANDERLEY, D.M.V.; CORRÊA, F.M.A. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) de área de transmissão de leishmaniose tegumentar americana, no município de Itupeva, região sudeste do Estado de São Paulo, Brasil *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 31, n.4, p. 339-345, 1998.

MAYRINK, W.; WILLIAMS, P.; COELHO, M.V.; DIAS, M.; MARTINS, A.V.; 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. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*; v. 73, n. 2, p. 123-137, 1979.

MEDEIROS, A.C.R.; RODRIGUES, S.S.; ROSELINO, A.M.F. Comparison of the specificity of PCR and the histopathological detection of *Leishmania* for the diagnosis of American cutaneous *Leishmaniasis*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 35, n. 4, p. 421-424, 2002.

MELO, L.A. *Detecção de Leishmania sp. em pequenos mamíferos silvestres e sinantrópicos no município de Belo Horizonte, MG*. 2008. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisas René Rachou. Belo Horizonte, 2008.

MIRANDA, C.; MASSA, J.L.; MARQUES, C.C.A. Análise da ocorrência de leishmaniose tegumentar americana através de imagem obtida por

sensoriamento remoto orbital em localidade urbana da região Sudeste do Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 30, n. 5, p. 433-437, 1996.

MOURA, F.R. Detecção de clusters espaciais via algoritmo Scan multi-objetivo. 2006. 51 f. Dissertação (Mestrado em Estatística) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

NERY-GUIMARÃES, F.; DAMASCENO, R.; AZEVEDO, M. Leishmaniose tegumentar – zoonose de roedores silvestres na Amazônia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 66, n. 2, p.151-168, 1968.

NICOLLE, C. Isolament et culture des corps de Leishman. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, v. 3, p. 55-56, 1908.

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

NOVY, F.G. E MCNEAL, W.J. The cultivation of Trypanosoma brucei: A preliminary note. *The Journal of the American Medical Association*, v. 41, p. 1266-1268. 1903.

NUNES, A.G.; PAULA, E.V.; TEODORO, R.; PRATA, A.; SILVA-VERGARA, M.L. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana em Varzelândia, Minas Gerais, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 22, n. 6, p. 1343-1348, 2006.

OLIVEIRA, F S.; PIRMEZ, C.; PIRES, M. Q.; BRAZIL, R. P.; PACHECO, R. S. PCR-based diagnosis for detection of *Leishmania* in skin and blood of rodents from an endemic area of cutaneous and visceral leishmaniasis in Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.129, n. 3/4, p.219–227, 2005.

OLIVEIRA, F.A.Z.; HEUKELBACH, J.; MOURA, R.C.S.; ARIZA, L.; RAMOS, J.N.A.; GOMIDE, M. Grandes represas e seu impacto em saúde pública: efeitos a montante (Impacto of large dams on Public Health I: upstream effects). *Caderno de Saúde Coletiva*, v. 14, n. 4, p. 575-596, 2006.

OLIVEIRA-NETO, M. P.; PIRMEZ, C.; RANGEL, E.; SCHUBACH, A.; GRIMALDI, J.G. An outbreak of American cutaneous *Leishmaniasis*

(*Leishmania braziliensis*) in a periurban área of Rio de Janeiro city, Brazil: Clinical and epidemiological studies. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 83, n. 4, p. 427-435, 1988

PAIVA, B.R.; SECUNDINO, N.F.C.; PIMENTA, P.F.P.; GALATI, E.A.B.; ANDRADE JUNIOR, H.F.; MALAFRONTA, R.S. Padronização de condições para detecção de DNA de *Leishmania* spp. em flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) pela reação em cadeia da polimerase. *Caderno de Saúde Pública*, v. 23, n 1, p. 87-94, 2007.

PAIVA, B.R.; OLIVEIRA, A.G.; DORVAL, M.E.; GALATI, E.A.; MALAFRONTA, R.S. Species-specific identification of *Leishmania* in naturally infected sand flies captured in Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Acta Tropica*, v. 115, n. 1-2, p. 126-130, 2010.

PASSOS VMA, BARRETO SM, ROMANHA AJ, KRETTLI AV, VOLPINI AC, GONTIJO CMF, FALCÃO AL, LIMA-COSTA MFF. Leishmaniose tegumentar na região metropolitana de Belo Horizonte: aspectos clínicos, laboratoriais, terapêuticos e evolutivos (1989-1995). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.34, n. 1, p. 5-12. 2001.

PASSOS, V.M.A.; FALCÃO, A.L.; MARZOCHI, M.C.A.; GONTIJO, C.M.F.; DIAS, E.S.; SANTOS, E.G.O.B. Epidemiological aspects of american cutaneous leishmaniasis in a periurban area of the metropolitan region of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 88, n. 1, p. 103-110, 1993.

PENNISI, M.G. Case report of *Leishmaniasis* in four cats. *Veterinary Research Communications*, v. 28, n. 1, p. 363-366, 2004.

PESSÔA, S.B.; MARTINS, A. V. *Parasitologia Médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1982, 872p.

PESSOA. S.B. *Endemias parasitárias da zona rural brasileira*. São Paulo, p. 376-433, 1963.

PIMENTA, P.F.P.; SECUNDINO, N.F.C.; BLANCO, E.E.N. Interação *Leishmania* hospedeiro invertebrado. In: RANGEL EF. LAINSON R (Org) *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p.257-274, 2003.

PITA-PEREIRA, D.; ALVES, C.R.; SOUZA, M.B.; BRAZIL, R.P.; BERTHO, A.L.; FIGUEIREDO BARBOSA, A.F.; 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 hybridization assay. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 99, n. 12, p. 905-913, 2005.

PREFEITURA MUNICIPAL DE TIMTEO. Disponível em: <<http://www.timoteo.mg.gov.br/entidades.aspx?cd=27>>. Acesso em 20 jan 2011.

QUARESMA, P.F.; MURTA, S.M.; FERREIRA, E.C.; ROCHA-LIMA, A.C.; XAVIER, A.A.; GONTIJO, C.M. Molecular diagnosis of canine visceral *Leishmaniasis*: Identification of *Leishmania* species by PCR-RFLP and quantification of parasite DNA by real-time PCR. *Acta Trop*, v. 111, n. 3, p. 289-294, 2009.

QUARESMA, P.F.; MURTA, S.M.; FERREIRA, E.C.; ROCHA-LIMA, A.C.; XAVIER, A.A.; GONTIJO, C.M. Wild, synanthropic and domestic hosts of *Leishmania* in an endemic area of cutaneous leishmaniasis in Minas Gerais State, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*; v. 105, p. 579– 585, 2011.

QUEIROZ, R.G.; VASCONCELOS, I.A.B.; VASCONCELOS, A.W.; PESSOA, F.A.C.; SOUZA, R.N.; DAVID, J.R. Cutaneous *Leishmaniasis* in Ceará state in northeastern Brazil: incrimination of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) as a vector of *Leishmania braziliensis* in Baturite municipality. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 50, n. 6, p. 693-698, 1994.

RANGEL EF. LAINSON R. Transmissores de Leishmaniose Tegumentar Americana. In: RANGEL EF. LAINSON R (Org) *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p.257-274, 2003.

RANGEL, E.F.; BARBOSA, A.F.; ANDRADE, C.A.; SOUSA, N.A.; WERMELINGER, E.D. Development of *Leishmania* (Viannia) *braziliensis* Vianna, 1911 in *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) under experimental conditions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 87, n. 2, p. 235-238, 1992.

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. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 81, n. 3, p. 347-349, 1986.

REY, L. *Parasitologia*. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2001. 856 p.

RIBEIRO, L.A.; SANTOS, S.G.; MITTMAN, J. *Leishmaniose tegumentar americana (LTA) em Teófilo Otoni. Minas Gerais: uma visão sócio-econômica*. In: XI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, VII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação. São Jose dos Campos. São Paulo. Universidade do Vale do Paraíba. 2007. Disponível em: <http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2007>. Acesso em: 02 abril 2011.

ROSELINO, A.M. Biologia molecular aplicada às dermatoses tropicais. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 83, n. 3, p. 187-203, 2008 .

ROSS, R. Note on the bodies recently described by Leishman and Donovan. *British Medical Journal*, v. 2, p. 1261-1262, 1903.

ROTUREAU, B.; RAVEL, C.; COUPPIÉ, P.; PRATLONG, F.; NACHER, M.; DEDET, J.P.; CARME, B. Use of PCR-Restriction fragment length polymorphism analysis to identify the main new world *Leishmania* species and analyze their taxonomic properties and polymorphism by application of the assay to clinical samples. *Journal of Clinical Microbiology*, v.44, n. 2 , p. 459-467, 2006.

RUTLEDGE, L.C.; ELLENWOOD, D.A. Production of plebotomine sandflies on the open forest floor in Panama: The Species. *Environmental Entomology*, v. 4, n. , p. 71-77, 1975.

SALOMON, O.D.; ORELLANO, P.W.; LAMFRI, M. Phlebotominae spatial distribution associated with a focus of tegumentary leishmaniasis in Las Lomitas, Formosa, Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.101, n. 3, p. 295-299, 2002.

SAMPAIO, R.N.R.; GONÇALVES, M.C.; LEITE, V.A.; FRANÇA, B.V.; SANTOS, G.; CARVALHO, M.S.L.; TAUIL, P.L. Estudo da transmissão da leishmaniose

tegumentar americana no Distrito Federal. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 42, n. 6, p. 686-690, 2009.

SARAIVA, L.; ANDRADE FILHO, J.D.; FALCÃO, A.L.; CARVALHO, D.A.; SOUZA, C.M.; FREITAS, C.R.; LOPES, C.R.G.; MORENO, E.C.; MELO, M.N. Phlebotominae fauna (Diptera: Psychodidae) in an urban district of Belo Horizonte, Brazil, endemic for visceral Leishmaniasis: characterization of favored locations as determined by spatial analysis. *Acta Tropica*, v. 117, n. 2, p. 137-145, 2011.

SARAIVA, L.; ANDRADE FILHO, J.D.; SILVA, S.O.; ANDRADE A.S.R.; MELO, M.N. The molecular detection of different Leishmania species within sand flies from a cutaneous and visceral leishmaniasis sympatric area in Southeastern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 105, n. 8, p. 1033-1039, 2010.

SARAIVA, L.; CARVALHO, G.M.L.; GONTIJO, C.M.F.; QUARESMA, P.F.; LIMA, A.C.V.M.R.; FALCÃO, A.L.; ANDRADE FILHO, J.D. Natural Infection of Lutzomyia neivai and Lutzomyia sallesi (Diptera: Psychodidae) by Leishmania infantum chagasi in Brazil. *Journal of Medical Entomology*, v. 46, n. 5, p.1159-1163, 2009.

SARAIVA, L.; LOPES, J.S.; OLIVEIRA, G.B.M.; BATISTA, F.A.; FALCÃO, A.L.; ANDRADE FILHO, J.D. Estudo dos flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em área de leishmaniose tegumentar americana nos municípios de Alto Caparaó e Caparaó, Estado de Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 39, n. 1, p. 56-63, 2006.

SCHALLING, H.D.F.H.; OSKAN, L. Molecular biological applications in the diagnosis and control of Leishmaniasis as parasite identification. *Tropical Medicine & International Health*, v. 7, n. 8, p. 641-651, 2002.

SCHÖNIAN, G.; NASEREDDIN, A.; DINSE, N.; SCHWEYNOCH, C.; SCHALLIG, H.D.; PRESBER, W.; JAFFE, C.L. PCR diagnosis and characterization of Leishmania in local and imported clinical samples. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 47, n. 1, p. 349–358, 2003.

SILVA, O.S.; GRUNEWALD, J. Contribution to the sand fly fauna (Diptera: Phlebotominae) of Rio Grande do Sul, Brazil and *Leishmania* (Viannia) infections. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 94, n. 5, p.579-582, 1999.

SILVA-NUNES, M.; CAVASINI, C.E.; SILVA, N.S.; GALATI, E.A.B. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar e descrição das populações de flebotomíneos no município de Acrelândia, Acre, Brasil. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 11, n. 2, p. 241-251, 2008.

SILVEIRA, F.T.; LAINSON, R.; BRITO, A.C.; OLIVEIRA, M.R.F.; PAES, M.G.; SOUZA, A.A.A.; SILVA, B.M. Leishmaniose Tegumentar Americana. In: LEÃO, R.N.Q. *Doenças Infecciosas e Parasitárias: Enfoque Amazônico*. Belém: Editora CEJUP; 1997, 885p.

SMITH, P. G. Spatial and temporal clustering. In: SCHOTTENFELD, D.; FRAUMENI, J. F (Eds). *Cancer Epidemiology and Prevention*. Philadelphia: Saunders, p. 391-407, 1982.

SOARES, M.J.V.; MORAES, J.R.E.; ROSELINO, A.M.F. Polymerase chain reaction in detecting *Leishmania* sp in symptomatic and asymptomatic seropositive dogs. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, v. 11, n. 4, p. 532-539, 2005.

SOLANO-GALLEGO, L.; MORELL, P.; ARBOIX, M.; ALBEROLA, J.; FERRER, L. Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area of canine *Leishmaniasis* endemicity using PCR on several tissues and serology. Spain. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 39, n. 2, p. 560-563, 2001.

SOUZA, A.I. Feline *Leishmaniasis* due to *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* in Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 128, n. 1-2, p. 41-45, 2005.

SOUZA, C.F.; BORGES, M.A.Z. Ocorrência de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae) em Timóteo, Minas Gerais, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v.24, n.6, p.1454-1455, 2008.

SOUZA, C.F.; BORGES, M.A.Z.; ANDRADE, A.J. Contribution to the Knowledge of the Phlebotomine Sand Flies Fauna (Diptera: Psychodidae) of

Timóteo Municipality, Minas Gerais. Brazil. *Neotropical Entomology*, v.38, n. 2, p. 267-271, 2009.

TEODORO U.; LA SALVIA, V. F.; 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. *Revista de Saúde Pública*, v. 27, n. 4, p. 242-249, 1993.

TEODORO, U. Características ecológicas de Flebotomíneos (Diptera Psychodidae) em habitats antrópicos. município de Jussara, Paraná, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.29, p.625-626, 1996.

TEODORO, U.; KÜHL, J.B. Interação flebotomíneos. animais domésticos e dominância de *Lutzomyia (Nyssomyia) intermédia* (Lutz & Neiva, 1912) em área com alto grau de antropia, no Sul do Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 31, n. 5, p. 512-516, 1997.

TEODORO, U.; KÜHL, J.B.; ABBAS, M.; DIAS, A.C. Luz e aves como atrativos de flebotomíneos (Diptera. Psychodidae). no sul do Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 45, n. 3, p. 167-172, 2001.

VIEIRA, M.L.; JACOBINA, R.R.; SOARES, N.M. Casos de leishmanioses em pacientes atendidos nos centros de saúde e hospitais de Jacobina-BA no período de 2000 a 2004. *Revista Baiana de Saúde Pública*, v. 31, n. 1, p. 102-114, 2007.

WEISS JB. DNA probes and PCR for diagnosis of parasitic infections. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 8, n. 1, p. 113-30, 1995.

WERNECK, G.L.; STRUCHINER, C.J. Estudos de agregados de doença no espaço-tempo: conceitos. técnicas e desafios. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 13, n. 4, p. 611-624, 1997.

WILLIAMS, G. W. Time-space clustering of disease. In: CORNELL, R.G. (ed.) *Statistical Methods for Cancer Studies*. New York: Dekker, p. 167-227, 1984.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control of the *Leishmaniasis*: Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of *Leishmaniases*. WHO Technical Report Series, n. 949, p. 22-26, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Leishmaniasis*. Disponível em: <http://www.who.int/leishmaniasis/en/>. Acesso em: 10 de fev. 2011.

YANG, S.; ROTHMAN, R. PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations and future applications in acute-care settings. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 4, n. 6, p. 337-348, 2004.

Young. D.G.. Duncan. M.. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Memoirs of the American Entomological Institute*, v. 54, 2004, 881p.

ZELEDÓN, R.; MURILLO, J.; GUTIERREZ, H. Observaciones sobre la ecología de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) y posibilidades de existência de leishmaniasis visceral en Costa Rica. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 79, n.4, p. 455-459, 1984.

APÊNDICE 1

República Federativa do Brasil
Ministério da Saúde

SINAN
SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO
FICHA DE INVESTIGAÇÃO LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA

Nº

CASO CONFIRMADO:

Leishmaniose cutânea: todo indivíduo com presença de úlcera cutânea, com fundo granuloso e bordas infiltradas em moldura, com confirmação por diagnóstico laboratorial ou clínico epidemiológico.

Leishmaniose mucosa: todo indivíduo com presença de úlcera na mucosa nasal, com ou sem perfuração ou perda do septo nasal, podendo atingir lábios e boca (palato e nasofaringe), com confirmação por diagnóstico laboratorial ou clínico epidemiológico.

Dados Gerais	1 Tipo de Notificação		2 - Individual	
	2 Agravado/doença		Código (CID10)	3 Data da Notificação
	LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA		B 5 5. 1	
	4 UF	5 Município de Notificação	Código (IBGE)	
Notificação Individual	6 Unidade de Saúde (ou outra fonte notificadora)		Código	7 Data do Diagnóstico
	8 Nome do Paciente		9 Data de Nascimento	
	10 (ou) Idade	11 Sexo	12 Gestante	13 Raça/Cor
	14 Escolaridade	15 Número do Cartão SUS		16 Nome da mãe
Dados de Residência	17 UF	18 Município de Residência	Código (IBGE)	19 Distrito
	20 Bairro		21 Logradouro (rua, avenida,...)	
	22 Número		23 Complemento (apto., casa, ...)	
	24 Geo campo 1		25 Geo campo 2	
	26 Ponto de Referência		27 CEP	
	28 (DDD) Telefone		29 Zona	30 País (se residente fora do Brasil)
			1 - Urbana 2 - Rural 3 - Periurbana 9 - Ignorado	
	Dados Complementares do Caso			
Antec. Epidem.	31 Data da Investigação		32 Ocupação	
	33 Presença de Lesão		34 Em Caso de Presença de Lesão Mucosa, Há Presença de Cicatrizes Cutâneas	
Dados Clínicos	1 - Sim 2 - Não <input type="checkbox"/> Cutânea <input type="checkbox"/> Mucosa		1 - Sim 2 - Não <input type="checkbox"/>	
	35 Co-infecção HIV		1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado	
Dados Labor.	36 Parasitológico Direto		37 IRM	
	1 - Positivo 2 - Negativo 3 - Não Realizado <input type="checkbox"/>		1 - Positivo 2 - Negativo 3 - Não Realizado <input type="checkbox"/>	
Clas. Caso	38 Histopatologia		39 Tipo de Entrada	
	1 - Encontro do Parasita 2 - Compatível 3 - Não Compatível 4 - Não Realizado		1 - Caso Novo 2 - Recidiva 3 - Transferência 9 - Ignorado <input type="checkbox"/>	
Tratamento	40 Forma Clínica		41 Data do Início do Tratamento	
	1 - Cutânea 2 - Mucosa 9 - Ignorado <input type="checkbox"/>		42 Droga Inicial Administrada	
	1 - Antimonial Pentavalente 2 - Anfotericina b 3 - Pentamidina 4 - Outras 5 - Não Utilizada		43 Peso	
	44 Dose Prescrita em mg/kg/dia Sb ⁺⁵		45 Nº Total de Ampolas Prescritas	
1 - Menor que 10 2 - Maior ou igual a 10 e menor que 15 3 - Igual a 15 4 - Maior que 15 e menor que 20 5 - Maior ou igual a 20		Ampolas		
46 Outra Droga Utilizada, na Falência do Tratamento Inicial		47		
1 - Anfotericina b 2 - Pentamidina 3 - Outros 4 - Não Se Aplica				

Leishmaniose Tegumentar Americana

Sinan NET

SVS 27/09/2005

APÊNDICE 2

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
DEPARTAMENTO DE VETERINÁRIA
QUESTIONÁRIO DE DADOS SÓCIO-DEMOGRÁFICOS/SANEAMENTO/AMBIENTAIS

Questionário número: _____ Data da aplicação: ____/____/____

A) Dados sobre o paciente (preencher quando o local de coleta caracterizar residência de paciente)

1. Nome: _____

2. Endereço (rua, av...): _____ 3. Nº: _____ 4. Complemento (apto, casa...): _____

5. Bairro: _____ 6. Cep: _____ 7. Telefone: _____

8. Sexo: masculino feminino 9. Data de nascimento: ____/____/____

10. Local de nascimentos: município _____ UF _____ área urbana área rural

11. Escolaridade:

analfabeto (sem escolaridade)

não se aplica (quando for criança fora da idade escolar)

não informado

1ª a 4ª série completa incompleta

5ª a 8ª série completa incompleta

2º grau (ensino médio) completo incompleto

3º grau/nível superior completo incompleto

Técnico completo incompleto

Anos de Estudo: _____

12. Ocupação/Profissão: _____

Não informado

Não se aplica (quando for criança e não ser estudante)

13. Renda familiar:

<1 salário

>1 e <3 salários

>3 e <5 salários

>5 e <10 salários

>10 salários

desempregado

não informou

Renda = _____ reais

14. Tempo de residência no domicílio: _____ anos _____ meses

15. Local de residência anterior:

não se aplica (quando o atual endereço for o único local de residência do caso)

a) Município: _____ UF: _____ área urbana área rural

Tempo de residência: _____ anos _____ meses

b) Município: _____ UF: _____ área urbana área rural

Tempo de residência: _____ anos _____ meses

c) Município: _____ UF: _____ área urbana área rural

Tempo de residência: _____ anos _____ meses

- 16. Registro de viagem no último ano para fora do município:** Sim Não
qual o local:
- a) Município: _____ UF: _____ área urbana área rural
Período: ____/____/____ a ____/____/____
- b) Município: _____ UF: _____ área urbana área rural
Período: ____/____/____ a ____/____/____
- c) Município: _____ UF: _____ área urbana área rural
Período: ____/____/____ a ____/____/____
- 17. Frequenta a área rural do município (Timóteo):** Sim Não
Se sim, qual o local: _____
Se sim, qual a frequência: _____
Se sim, qual o objetivo:
pescaria
passeio/lazer
trabalho
caça
Outro Qual: _____
- 18. Pernoite nos locais anteriores:** Sim Não
- 19. Presença de lesões para leishmaniose:** Sim Não
- 20. Presença de cicatrizes compatíveis com leishmaniose:** Sim Não
- 21. Já foi diagnosticado para LTA alguma vez:** Sim Não
Se sim, data do primeiro diagnóstico positivo para LTA: ____/____/____
Se sim, tipo de diagnóstico:
Não sabe
Parasitológico direto
IDRM
Histopatológica
Outro Qual: _____
- 22. Fez tratamento:** Sim Não
- 23. Concluiu o tratamento:** Sim Não
Se não, porque parou?

- 24. Como acha que ficou doente?** _____

B) Dados sobre o domicílio

25. Número de pessoas que vivem no domicílio: _____

26. Número de cômodos utilizados para dormir (qualquer tipo de cômodo): _____

27. Tipo de construção:

Tijolo

Madeira

Material aproveitado

Adobe

Pau a pique/Taipa

Outros Especificar: _____

28. Revestimento da construção: com revestimento sem revestimento

29. Tipo de Piso/Teto: _____ / _____

30. Abastecimento público de água: Sim Não

Se não for abastecimento público, qual:

poço/cisterna

poço artesiano

fonte/mina/nascente

água mineral

rio/ribeirão/córrego outros: _____

31. Canalização interna: Sim Não

32. Acondicionamento:

Caixa d'água

Latão

Tampada(o)

Não tampada(o)

outros: _____

33. Esgotamento sanitário:

rede pública

fossa

rio/ribeirão/córrego

céu aberto

34. Destino do lixo:

Coletado

Queimado

Céu aberto

Enterrado

Rio/ Ribeirão

Outros Especificar: _____

Frequência da coleta _____

35. Energia elétrica Sim Não

36. Moradia próxima à mata: Sim Não Distância Média: _____

37. Moradia próxima a plantações: Sim Não Distância Média: : _____

Se sim: bananal outros _____

38. Presença de abrigo para animais no peridomicílio: Sim Não

Se sim, qual animal: _____

39. Presença de plantações no peridomicílio: Sim Não

Se sim, qual plantaçoão: _____

C) Dados sobre o vetor

40. Sabe como a doença é transmitida: Sim Não

Se sim, como: _____

41. Conhece o inseto que transmite a leishmaniose: Sim Não

Se sim, qual a fonte de informação:

escola

televisão/rádio (meios de comunicação de massa)

campanhas da prefeitura

outraQual: _____

42. Uso de proteção individual contra mosquito: Sim Não

mosquiteiros repelente Outras Qual: _____

43. Presença de flebotomíneos: Sim Não

44. Espécie de flebotomíneo encontrada: _____

Observações complementares:

APÊNDICE 3



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS

Campus Universitário - Viçosa, MG - 36570-000 - Telefone: (31) 3899-1269

Of. Ref. Nº 062/2009/Comitê de Ética

Viçosa, 08 de julho de 2009.

Prezada Professora:

Cientificamos V. S^a. de que o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos analisou e aprovou, *ad referendum*, sob o aspecto ético, o projeto de pesquisa intitulado *Estudo da urbanização de Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) e aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana no município de Timóteo, Minas Gerais, Brasil.*

Atenciosamente,

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Bnao', written over the printed name of the signatory.

Professor Gilberto Paixão Rosado
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
Presidente

À Professora
Paula Dias Bevilacqua
Departamento de Veterinária

/rhs

APÊNDICE 4



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 20481-1	Data da Emissão: 08/06/2009 11:45	Data de Validade: 08/06/2010
Dados do titular		
Registro no Ibama: 4132812	Nome: Cristian Ferreira de Souza	CPF: 046.141.046-06
Título do Projeto: Estudo da Urbanização de Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) e aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana no município de Timóteo, Minas Gerais, Brasil.		
Nome da Instituição: UFV - UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA		CNPJ: 25.944.455/0001-96

Observações, ressalvas e condicionantes

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passa da, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização não exime o titular e a sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade.
3	Esta autorização não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais, esportivos ou para realização de atividades inerentes ao processo de licenciamento ambiental de empreendimentos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte www.ibama.gov.br/sisbio - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico.
7	Em caso de pesquisa em Unidade de Conservação Federal, o pesquisador titular deverá contactar a administração dessa unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.
8	As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constantes de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexplotadas ou ameaçadas de sobreexplotação.

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	TIMOTEO	MG	Area Urbana (residência) do Município de Timóteo	Fora de UC

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Psychodidae
2	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Psychodidae (*Qtde: 2000)

* Qtde. de indivíduos por espécie/localidade/unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

Material e métodos

1	Método de captura/coleta (Invertebrados Terrestres)	Armadilha luminosa
---	-----------------------------------------------------	--------------------

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UFV - UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA	Banco de Dados e Estudos do Departamento de Medicina Veterinária

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa Ibama nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Ibama/Sisbio na internet (www.ibama.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 68564717



Página 1/2

APÊNDICE 5

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA DEPARTAMENTO DE VETERINÁRIA

Projeto: Leishmaniose tegumentar americana: urbanização de flebotomíneos e análise espacial dos casos humanos notificados no município de Timóteo, Minas Gerais, Brasil.

Professora responsável:

Paula Dias Bevilacqua (DVT): telefone (31) 3899-1467

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Aos ____ dias do mês de _____ de 2010, eu, _____, carteira de identidade nº _____, fui procurado(a) pelo(a) Sr(a) _____, carteira de identidade nº _____, pesquisador do presente estudo, no endereço _____, meu local de residência. Na ocasião, fui convidado(a) para participar do projeto acima referido, permitindo a instalação de armadilhas para captura de flebotomíneos (mosquito vetor da leishmaniose) na área no entorno da minha residência e também a realização de entrevista para preenchimento de questionário para coleta de dados sócio-demográficos, de saneamento e ambientais relacionados à Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA). O objetivo do estudo é avaliar o processo de urbanização dessa doença no município de Timóteo-MG, identificando possíveis fatores explicativos desse processo. De acordo com o que foi esclarecido, as armadilhas serão instaladas na área externa da residência às 18:00 e recolhidas no dia seguinte às 06:00 horas, no momento da instalação ou do recolhimento das armadilhas será realizada entrevista para preenchimento do questionário. Se o dia e horário definidos para coleta das informações não forem adequados para mim, poderei sugerir outros de acordo com a minha disponibilidade. A participação no estudo é voluntária, portanto não existe remuneração ou vínculo empregatício, e poderei me recusar a participar ou me retirar do estudo a qualquer momento, sem prejuízo ou justificativa. Fui informado(a) de que terminado o trabalho de coleta dos dados, e tendo garantido o material necessário ao desenvolvimento do projeto, toda e qualquer referência que permita a identificação nominal da minha participação, bem como a de outros participantes, será destruída, garantindo assim sigilo absoluto das informações. Os resultados da pesquisa serão analisados e foi-me assegurada total privacidade. Em contrapartida, cedo ao(à) pesquisador(a) o direito de utilizar as informações prestadas para a realização do trabalho e publicação de seus resultados, direito limitado única e exclusivamente para este fim, não sendo permitido qualquer outro tipo de uso das mesmas.

Timóteo, aos ____ dias de _____ de 2009.

Assinatura do(a) entrevistado(a)

Responsável pela entrevista