

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

ESTUDOS DA FAUNA FLEBOTOMÍNICA (DIPTERA:  
PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE), SUA INFECÇÃO  
NATURAL POR *Leishmania* spp. E ASPECTOS  
BIOGEOGRÁFICOS DA LEISHMANIOSE VISCERAL,  
NA REGIONAL NORDESTE DO MUNICÍPIO DE BELO  
HORIZONTE, MINAS GERAIS - BRASIL.

LARA SARAIVA

Belo Horizonte  
2008

LARA SARAIVA

ESTUDOS DA FAUNA FLEBOTOMÍNICA (DIPTERA:  
PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE), SUA INFECÇÃO  
NATURAL POR *Leishmania* spp. E ASPECTOS  
BIOGEOGRÁFICOS DA LEISHMANIOSE VISCERAL, NA  
REGIONAL NORDESTE DO MUNICÍPIO DE BELO  
HORIZONTE, MINAS GERAIS - BRASIL.

Dissertação apresentada ao Programa  
de Pós-Graduação em Parasitologia  
do Instituto de Ciências Biológicas da  
Universidade Federal de Minas Gerais  
como requisito parcial para obtenção  
do título de Mestre em Parasitologia.

Área de Concentração: Protozoologia

ORIENTADORA  
Dra. Maria Norma Melo

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
2008

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Biologia de *Leishmania* do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, em parceria com Centro Nacional e Internacional para Flebotomíneos e o Laboratório de Leishmanioses do Instituto de Pesquisas René Rachou e com financiamento da Comunidade Econômica Européia pelo projeto LeishEpiNetSA.

*Dedico este trabalho a todos aqueles que, belamente, se encontram citados nas justificativas de artigos de impacto na área da parasitologia, e tão raramente são beneficiados pelos mesmos.*

## Colaboradores

Alda Lima Falcão  
José Dilermando Andrade Filho  
Deborah Aparecida Alves de Carvalho (Estudante de Iniciação Científica)  
**Estudo da Fauna Flebotomínica**  
**Centro de Referência Nacional e Internacional para Flebotomíneos**  
**Instituto de Pesquisas René Rachou**

Célia Maria Ferreira Gontijo  
**Estudo de Infecção Natural**  
**Laboratório de Leishmanioses**  
**Instituto de Pesquisas René Rachou**

Carina Margonari de Souza  
Christian Rezende de Freitas  
**Análises de Geoprocessamento**

Elizabeth de Castro Moreno  
Camila Ragonezi Gomes (Estudante de Iniciação Científica)  
**Caracterização ambiental**  
**Departamento de Parasitologia**  
**Instituto de Ciências Biológicas**  
**Universidade Federal de Minas Gerais**

## Financiamento e suporte

Comunidade Econômica Européia. Projeto: Control Strategies for Visceral Leishmaniasis (VL) and Mucocutaneous Leishmaniasis (MCL) in South America: Application of molecular Epidemiology – LeishEpinetSA. Contrato nº 015407;

Fundação Oswaldo Cruz – Instituto de Pesquisas René Rachou;

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior;

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico;

Departamento de Parasitologia – Instituto de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Minas Gerais.

## *Agradecimentos*

Agradeço às instituições que permitiram a realização deste trabalho, tanto pela minha formação acadêmica, quanto pelo apoio e financiamento: Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Pesquisas René Rachou, Comunidade Econômica Européia e Prefeitura Municipal de Belo Horizonte;

É com muita felicidade que vejo que tenho muitas pessoas para agradecer, para não esquecer de ninguém vou citá-las por blocos:

### *IRR - CRNIF*

Agradeço,  *muito especialmente*, a Alda Lima Falcão, que me iniciou de forma tão carinhosa nos estudos dos flebotomíneos, por todo carinho e dedicação, pelo exemplo de paixão pelo trabalho. A senhora sempre será a minha “mãe preta”.

Ao José Dilermando, Leco, que apenas por motivos burocráticos não receberá o merecido título de coorientador. Obrigada por todos os ensinamentos, confiança, paciência e incentivos. Por me salvar em todas as situações e por ler e corrigir tão rápido.

A Regina, Regis, pela amizade e carinho que sempre teve comigo, pelo exemplo de calma e fineza. E pela organização do material referente aos flebotomíneos.

A Deborah por toda alegria e empenho como estudante de iniciação, pelo esforço e iniciativa. Por todos os momentos engraçados dos quais nunca vou me esquecer (huuuuuuu).

A Cristiani e ao Gustavo pela ajuda em diversos momentos do trabalho.

### *IRR - LALEI*

Agradeço a Célia, Celinha, por todas as dicas, ensinamentos e conversas esclarecedoras e acalmadoras. E por todo o auxílio neste trabalho, por me ceder espaço para trabalhar no LALEI.

A minha querida Tina, doidinha, você sabe que tenho por você um sentimento todo especial !!!!!!! Te adoro, obrigada por toda ajuda e paciência, e por ser tão especial e engraçada e tornar a nossa vida muito mais legal.

A Kenya pela amizade e conversas de sonhos. Obrigada por tudo, por me ouvir rir e chorar !!!!!

A Lutiana, Lut, pela amizade e por compartilhar comigo algumas angústias do processo e os dados também.

A Patrícia, Paty, simplesmente uma grande amiga!!!! Muito obrigada por me ouvir sempre, me entender. Me desculpe se assim que te via já queria falar dos meus problemas, mas era inevitável. Para mim você é um exemplo de fé e confiança na vida, obrigada!!!! Agradeço também ao Igor (noivo da Paty - casal ultra legal) pelas oportunidades e palavras de apoio.

A Cíntia pela amizade e por todos os momentos de alegria, infelizmente nos afastamos um pouco mas, serei sempre sua amiga. Ao Rafael, Felipe e Eduardo pela colaboração em todos os momentos em que precisei e pelos momentos de risos !!!!

A Dani e a Carla, pela amizade e por sempre lembrarem de minha na hora das festas do LALEI.

A todos os demais colegas do LALEI e do IRR, pela convivência e colaboração !!!!!!!!!!!!!

Meu agradecimento especial aos motoristas do IRR: Toninho, Cláudio, Ronaldo, Augusto, Cleber e

Gilvan pela colaboração nos trabalhos de campo, pela alegria, e excelente atuação profissional.

### *ICB*

Aos meus amigos da graduação: Ana Flávia (você aparece de novo), Ariane, Daniele, Fabiana, Izaque, Lucas e Rafael. Pela amizade e momentos de descontração. Aris e Dani obrigada pelo apoio e por sempre se preocuparem comigo.

### *ICB - Parasitologia*

Aos funcionários do Departamento de Parasitologia: Sumara, Vandro, Reginaldo, Sr. Edson, Sr. Néri, Maria pelo carinho, apoio e paciência.

A todos os professores do Curso de Mestrado pelo apoio em minha formação acadêmica, pessoal e profissional.

A minha ótima turma de mestrado, sem a qual teria desistido, nela cada um à sua maneira me ensinou coisas muito importantes. Agradeço a todos!!! Gente, eu terei de fazer agradecimentos especiais a alguns, não fiquem com ciúmes.

Minha querida amiga e companheira Ju, obrigada por tudo. Por compartilharmos tantas angústias parecidas acho que nos identificamos muito. Sua companhia e amizade foram fundamentais para mim, especialmente na etapa final. Obrigada por me compreender e apoiar, sempre.

Minha amiga Fátima, obrigada pelo carinho e compreensão de mãe, pelo apoio e exemplo de calma e princípios.

A doce Érika, pelo conversar tão bom...., por me deixar participar de forma tão especial de sua vida. Para mim você é um exemplo de serenidade diante das mudanças da vida. Obrigada!!!!!!!

A incrível "Show me the parasite" Lílian, obrigada pelo exemplo de retidão de caráter e de princípios que você sempre foi e será para mim, te admiro muito.

A turma Família Mexicana, pela adoção parcial, por todas as festas e momentos de alegria. Agradeço especialmente a Ceres Luciana, querida Ceres muito obrigada por todo carinho e amizade. Te admiro demais, amo seu bom humor!!!

### *ICB – Parasitologia – L4*

Aos amigos do corredor, muito obrigada pela ótima convivência e agradeço especialmente a:

Ana Flávia, muito obrigada pela amizade, aceitação e bom humor. Com você aprendi na prática a importância da assertividade na vida. Obrigada por me desculpar nos deslizes de birutice que às vezes cometo. Você é minha amiga várias vezes !!!!

A Sílvia pelo carinho e amizade, a Helen pela doçura e por nos fazer rir tanto, pena que te conheci só nos últimos meses.

Aos colegas de laboratório pela convivência.

A Rosângela e a Soraia, por todo apoio e ensinamentos técnicos. E lógico, por me aturarem, apesar de todo estresse que causei.

A Camila pela colaboração na parte de caracterização ambiental e geoprocessamento.

A Ângela e a Janaína pela convivência, conversas e conselhos valiosos.

Ao meu trio favorito de jovens parasitologistas, que me escolheu na arte do cafezinho e de como sobreviver ao estresse da dissertação: Cíntia, Belinha e Sidney.

Cíntia, sem palavras!!!!!!! Muito obrigada por toda atenção e carinho, por me entender e não me achar exagerada. Você foi fundamental para mim neste processo, te desejo todo sucesso do mundo,

obrigada!!!

Belinha, obrigada pelo exemplo de princípios, como gostaria de ter um norte forte como o seu, te admito muito. Obrigada por todas as conversas e momentos de brincadeiras.

Sidney obrigada pelo excelente e diferente bom humor, por ter me ajudado todas as vezes em que precisei, pode até ser que o departamento não pare se você sair mas com certeza vai ficar bem campenga!!!

A todos do Laboratório de Sorologia pela boa convivência e especialmente a professora Marilene pelo exemplo profissional e pelas festas de natal (ótimas!!!!) e a Eloísa pela colaboração no campo e pelo exemplo de amor aos cães.

Todos os amigos do gole da parasito (butecos de sexta) e especialmente a Vânia, exemplo de aluna e de pessoa, muito obrigada por seu engajamento nas nossas causas e pela amizade e alegria.

Ao Professor Evaldo por me permiti utilizar o freezer -70°C.

Aos professores Pezzy e Cidinha por cederem espaço em seus laboratórios para a capela de PCR.

A Elizabeth pela colaboração na parte de caracterização ambiental.

Ao Daniel pelo auxílio com a técnica de dissecação a professora Daniela pelas dicas com as PCR's.

Ao Professor Nelder pela relatoria deste manuscrito.

Aos Professores Reginaldo Peçanha Brazil e Álvaro Eduardo Eiras por formarem, de forma tão atenciosa, a banca avaliadora da dissertação.

#### *PBH*

A Gerente de Controle de Zoonoses da Regional Nordeste Neide e a Sofia por todo empenho para que este trabalho fosse realizado. A Fernanda e a Vanessa do nível central do Controle de Zoonoses da PBH, por toda a colaboração e explicações importantes.

Ao Felipe da PRODABEL, por toda a colaboração e apoio na aquisição e manipulação das coordenadas, a Palmira pela ajuda com o banco de dados humano, ao Jota do Comitê de Ética da PBH, pela paciência.

Aos meus amigos de trabalho em Venda Nova: Daniela pela maravilhosa e espontânea amizade, estímulo e apoio. Ao Aluísio pelos sábios conselhos e momentos divertidíssimos e a Ana pela compreensão e sinceridade.

#### *Demais pessoas que comigo colaboraram*

A Carina pelo entusiasmo em ajudar tanto na etapa de infecção natural como de geoprocessamento, pela disponibilidade e por sempre me animar e ter falas de apoio nos momentos em que mais precisei. Você para mim é um grande exemplo, obrigada!!!

Ao Christian pelas análises em geoprocessamento, mas principalmente pela boa vontade com que participou deste processo e pelas correções e sugestões.

Ao Antero pela colaboração na técnica de dot-blot.

A minha querida professora de inglês Rosa, pelo apoio desde a época da preparação para os exames até a etapa final com a revisão dos textos. Obrigada por todo apoio e pelas aulas mais alegres do mundo.

Aos moradores da Regional Nordeste que por mais de 25 vezes abriram a porta de suas casas para nós pudéssemos realizar este trabalho. Obrigada pela confiança e paciência, espero que os resultados sejam benéfico de algum modo.

*Aos que mais amo*

As minhas amigas Cíntia e Débora por todo apoio, por sempre estarem presentes em minha vida, mesmo que às vezes espacialmente distante. Obrigada pelos momentos de extrema descontração e alegria!

Ao meu grande amigo Rodrigo. Muito obrigada, para mim, você é mais que o corpo de bombeiros pois: é o amigo certo nas horas incertas e nas horas certas também. Obrigada pelo apoio, por sempre me ouvir e lógico pelos churrascos e conversas. Te adoro!!!

A minha MÃE, a você com lágrimas nos olhos agradeço por TUDO. Te amo. Nossa história não tem preço, obrigada por estar sempre comigo, me aceitar do jeito que sou e me ajudar a enfrentar o mundo. E é claro por cuidar tão bem de mim!!

A minha amada irmã Adda por toda a nossa história, pela inabalável amizade e por todos os momentos de cumplicidade, carinho e humor. Ao meu cunhado, César, pela amizade e por cuidar da minha irmã muito bem.

Ao meu amado sobrinho Lucas, que tão pequenino me ensina tanto. Você mudou minha forma de ver a vida e sempre que recebo um sorriso seu volto a acreditar que ainda vale a pena lutar por um mundo melhor.

Ao meu Leo, pelo amor a mim dedicado durante todo tempo, pelo companheirismo, amizade e carinho. Por me mostrar que valia a pena acreditar em meus sonhos, pelo apoio computacional e automotivo, e por sempre ser tão presente na minha vida, mesmo estando a muitos, muitos quilômetros de distância. Te amo, ti ati ut.

A minha sogra-mãe Rose e a minha vô emprestada Dona Inízia por todo carinho, apoio e compreensão.

Aos meus cães pela convivência e momentos engraçados e pela alegria com que me recebem, sempre, todos os dias.

Aos meus guias invisíveis e a grande força que de alguma forma rege este universo, por não me deixarem desesperar, mesmo nos momentos de maior revolta. Meu agradecimento especial a Iemanjá por todos os momentos de rara inspiração!!!

#### *Agradecimento especial*

Agradeço muito especialmente a minha Orientadora Maria Norma, por ter me aceitado no laboratório, pelo exemplo profissional e pessoal. Pela extrema empolgação e alegria para trabalhar. Mas, principalmente por ter entendido as diversas crises pelas quais passei durante este processo e por aceitar, mesmo um pouquinho, contrariada, nossas diferenças. Sei que causei um pouco de tumulto, mas juro que não foi por mal, obrigada por relevar meu jeito meu estranho e ter tanta atenção comigo. Serei eternamente grata por esses dois anos de importantes aprendizados.

Não ficou do jeito que eu queria, pois estava muito cansada ao escrever, mas ao ver as amizades que criei, os laços que fortaleci, os problemas que superei e os fracassos que tive de aceitar vejo que absolutamente valeu a pena. As experiências afetam cada pessoa de forma muito singular, por isso só seu significado de cada desafio para mim, mas também só eu sei a importância de cada pessoa que comigo colaborou. Assim agradeço também a todos aqueles que por ventura não estão citados aqui, mas, que de alguma forma me apoiaram, mesmo que com um único sorriso ou gesto gentil: OBRIGADA!!!!

*“(...) não importa o tanto que você pode bater, mas sim o quanto consegue apanhar e continuar (...)”*

Sylvester Stallone  
(Rock IV)

## Resumo

Nos últimos vinte anos, ocorreu um aumento no número de casos humanos de todas as formas de leishmaniose no mundo, sendo estas emergentes em algumas áreas, e reemergentes em outras. No Brasil, as ações de controle da leishmaniose visceral (LV) mostram-se ineficazes, mesmo em municípios com um ofensivo programa de eliminação de cães sorologicamente positivos e borrifação de inseticidas. Belo Horizonte é hoje o município brasileiro com alta densidade populacional, que mais sofre com a ocorrência de LV. De 1994 a 2007 foram registrados 891 casos humanos, com 22 óbitos, nos três últimos anos e altas taxas de prevalência canina. Neste município, a Regional Nordeste é prioritária para estudos de leishmanioses, por apresentar a maior média histórica de casos humanos de LV. Nosso trabalho teve os seguintes objetivos: estudar o padrão de flutuação sazonal das espécies de flebotomíneos; caracterizar as espécies de *Leishmania* presentes nos mesmos; descrever as situações ambientais de ocorrência de LV, utilizando análise por geoprocessamento e caracterização ambiental.

Coletas quinzenais sistematizadas foram realizadas com armadilhas luminosas HP, em 15 pontos da Regional, seguindo a localização de casos humanos de LV em 2005. O período de coletas compreendeu o intervalo entre julho de 2006 a junho de 2007. Coletas não sistematizadas foram feitas com armadilha luminosa de Shannon em locais onde foram encontrados flebotomíneos infectados. As fêmeas foram submetidas à extração de DNA e a reações de PCR para averiguar a infecção natural por *Leishmania* sp., e identificação das espécies do parasito. Foi efetuada a caracterização ambiental de todos os locais de estudo através de uma ficha e fotografias. Além disso, foi executada a análise por geoprocessamento quando os mapas temáticos da Regional Nordeste – representativos das áreas de vegetação, de vilas e aglomerados urbanos, altitude e áreas de influência dos cursos de água a céu aberto – foram analisados conjuntamente com os mapas de distribuição dos vetores de *Leishmania*, dos casos humanos de LV e casos caninos de leishmaniose.

Foram coletados 633 espécimes de flebotomíneos pertencentes a nove espécies – todas do gênero *Lutzomyia*. As espécies mais prevalentes foram *L. whitmani* (75%) e *L. longipalpis* (11%), perfazendo juntas 85% do total de espécimes coletados. As taxas de infecção natural encontradas foram: *L. longipalpis* 19%, *L. whitmani* 3,8% e *L. termitophila* 33,3% – todas para a espécie *L. chagasi*. Para fêmeas do complexo *cortellezzi* as taxas foram de 3,2% para *L. braziliensis* e 3,2% *Leishmania* sp.. *L. intermedia* apresentou 14,3% de positividade para *Leishmania* sp. A maioria dos lotes estudados apresentou cuidado inadequado, sendo que esses mantinham condições propícias ao desenvolvimento de flebotomíneos. Nenhum dos fatores biogeográficos analisados apresentou forte influência na ocorrência de casos humanos e caninos de leishmaniose na Regional Nordeste. Quanto aos flebotomíneos, apenas a vegetação mostrou influência na sua distribuição, especialmente, nos locais de maior média de ocorrências desses insetos. Tanto os casos humanos como os caninos de leishmaniose concentram-se em áreas de médias baixas de ocorrência de flebotomíneos. Nossos dados confirmam a urbanização de *L. longipalpis* e apontam para a urbanização de *L. whitmani*. Além disso, podemos afirmar que há importante circulação de *L. chagasi* na Regional, visto que mesmo espécies que nunca foram encontradas infectadas apresentaram infecção natural por *L. chagasi*. As análises biogeográficas mostram que os quintais podem ter grande importância na manutenção dos flebotomíneos em áreas urbanas e também apontam para um novo perfil de ocorrência da LV, uma vez que os fatores classicamente relacionados a ela, não apresentaram influência sobre a LV no período e locais de estudo.

## Abstract

Over the last 20 years, an increase of the number of human cases from all clinical forms of leishmaniasis occurred in the world. They are considered emergent in some areas and reemergent in others. This group of tropical diseases does not have effective control measures. The control of visceral leishmaniasis (VL) in Brazil is inefficient even in municipalities with a huge program of euthanasia of serological positive dogs and insecticide spraying in areas with high incidence rates of human and canine cases.

At the present time, Belo Horizonte is the Brazilian city with high population which suffers more with the occurrence of VL. From 1994 to 2007, 891 human cases were notified, 22 deaths in the last three years and high rates of canine prevalence. Regional Nordeste presents the highest historical average of human cases of VL. Therefore the leishmaniasis studies are prior. In this work, we established these goals: to study the seasonal variation of sand flies fauna, to characterize the *Leishmania* species infecting them, and to describe the environmental situations through geoprocessing analyses and the peridomestic characterization.

We carried out fortnightly entomological captures during one year using HP light traps, in 15 places following the location of human cases of VL in 2005. Captures using Shannon light trap were performed out in places where infected sand flies were found. The females were submitted to DNA extraction and PCR and PCR-RFLP reactions to verify the natural infection rate by *Leishmania* sp., and the identification of the parasite species. The environmental characterization from all places was carried out through a form and photographs. The geoprocessing analyzed the influence of vegetation, hydrograph, altitude and poverty pockets in the occurrence of human cases of LV, canine cases of leishmaniasis and sand flies vectors.

A total of 633 sand flies belonging to the genera *Lutzomyia* were captured, *L. whitmani* accounted for 75% and *L. longipalpis* 11%, together responding to 85% of the total. The natural infection rates were: *L. longipalpis* 19%, *L. whitmani* 3,8% e *L. termitophila* 33,3% these ones with *L. chagasi*. The females of the complex *cortellezzi* present 3,2% with *L. braziliensis* and 3,2% *Leishmania* sp. *L. intermedia* presents 14,3% with *Leishmania* sp.

The majority of the peridomestic places have shown inadequate hygienic care conditions allowing the development of sand flies. The geoprocessing analyses reveal no relevant correlation between biogeographical aspects and human and canine cases of leishmaniasis and the presence of sand flies. Apart from the vegetation and the insect presence the high average class of sand flies took place in wooded areas.

Both human and canine cases occurred in the areas with low average of sand flies occurrence. This study confirms the urbanization of the *L. longipalpis* and suggests the same pattern to *L. whitmani*, furthermore we show the important circulation of *L. chagasi* in that Regional, even species that have never been infected with *Leishmania* presented infection with *L. chagasi*. The biogeographical analyses suggested that the peridomestic places are important to keep the sand flies populations in urban areas, and pointed out a new profile of occurrence not related to classic factors.

**Lista de Figuras**

<b>FIGURA 1:</b> Divisão administrativa do Município de Belo Horizonte e sua localização no Estado de Minas Gerais e no Brasil.	<b>45</b>
<b>FIGURA 2:</b> Aspecto geral da Regional Nordeste, área urbanizada.	<b>46</b>
<b>FIGURA 3:</b> Aspecto geral de um bairro da Regional Nordeste, área verde.	<b>46</b>
<b>FIGURA 4:</b> Armadilha luminosa HP.	<b>48</b>
<b>FIGURA 5:</b> Armadilha luminosa de Shannon.	<b>48</b>
<b>FIGURA 6:</b> Capturador Manual de Castro.	<b>48</b>
<b>FIGURA 7:</b> Localização da Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, e locais de coletas de flebotomíneos, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>50</b>
<b>FIGURA 8:</b> Diagrama resumo do processamento realizado com os espécimes fêmeas	<b>52</b>
<b>FIGURA 9:</b> Georreferenciamento de casos humanos de leishmaniose visceral, notificados pela Gerência de Epidemiologia e Informação da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, na Regional Nordeste, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>66</b>
<b>FIGURA 10:</b> Georreferenciamento de casos de leishmaniose canina na Regional Nordeste, cães soropositivos, pelos métodos de RIFI e ELISA realizados pelo Laboratório do Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>67</b>
<b>FIGURA 11:</b> Mapa das áreas verdes da Regional Nordeste, PRODABEL 2007.	<b>68</b>
<b>FIGURA 12:</b> Mapa dos cursos d'água a céu aberto da Regional Nordeste, PRODABEL 1995.	<b>69</b>
<b>FIGURA 13:</b> Mapa das vilas e aglomerados urbanos da Regional Nordeste, PRODABEL 2006.	<b>70</b>
<b>FIGURA 14:</b> Mapa hipsométrico da Regional Nordeste, PRODABEL 1989.	<b>71</b>
<b>FIGURAS 15 E 16:</b> Formas flageladas visualizadas em intestino de fêmeas <i>L. longipalpis</i> . Aumento 1000X. Coloração de Giemsa.	<b>87</b>
<b>FIGURA 17:</b> Gel de agarose 10%, corado pelo brometo de etídio, mostrando os produtos da reação de PCR com iniciadores para o fragmento do gene da cacofonia do gênero <i>Lutzomyia</i> . Canaletas: 1) PM: Padrão de massa molecular 120 pb, 2) C+: Controle positivo (DNA extraído de <i>L. longipalpis</i> de colônia), 3 a 12) amostras de DNA de <i>Lutzomyia</i> spp.estudo, 13) Controle negativo (todos os componentes da reação sem o acréscimo de DNA).	<b>88</b>
<b>FIGURA 18:</b> Gel de poliacrilamida 6%, corado pela prata, mostrando os produtos da PCR com os iniciadores para a região conservada do minicírculo do K-DNA de <i>Leishmania</i> sp. em amostras de DNA extraídas de fêmeas de flebotomíneos. Canaletas: 1 e 18: Padrão de massa molecular 100 pb, 2: Controle positivo (DNA de promastigotas de <i>L. chagasi</i> (MHOM/BR/1967/BH46); 3: Controle negativo sem DNA. Canaletas 4 a 17 amostras 1 a 14 referentes a coletas do mês de julho de 2007.	<b>89</b>
<b>FIGURA 19 :</b> Gel de poliacrilamida 10%, corado pela prata, mostrando os produtos da reação de PCR-RFLP. Canaleta: 1) Padrão de massa molecular 50pb 2) cepa PH8 de <i>L. amazonensis</i> , 3) cepa M2903 de <i>L. braziliensis</i> , 4) cepa PP75 de <i>L. chagasi</i> . Canaletas 5 a 9 amostras: positivas para <i>Leishmania chagasi</i> .	<b>90</b>
<b>FIGURA 20:</b> Autoradiografias de produto de PCR hibridizado com sonda específica de kDNA de <i>L. chagasi</i> . Amostras: 1,6,17,19,22,47,48,51,52,70,62,64,84,79,82,88. Cepas controles: PH8 de <i>L. amazonensis</i> , M2903 de <i>L. braziliensis</i> , PP75 de <i>L. chagasi</i> .	<b>90</b>
<b>FIGURA 21:</b> Lote 1, A: Imediações do lote. B: Aspecto de uma das casas, notar parede sem reboco. C: Cães criados no lote. D: Aspecto geral do quintal, notar locais sombreados e	<b>97</b>

restos vegetais (galhos e folhas) e entulho (pneu) espalhados.

- FIGURA 22:** Lote 2, A: Vista geral do quintal, notar grande área cimentada. B: Vista geral de duas das casas. C: Detalhe do quintal, notar armazenamento de lenha. D: Detalhe do quintal, notar acúmulo de entulhos. **97**
- FIGURA 23:** Lote 3, A: Localização da residência, notar mato alto e arborização. B: Aspecto geral do quintal, notar grande acúmulo de entulhos. C: Área em frente a casa, notar lixo descartado inadequadamente. D: Criação de cães, cadela com filhotes. **98**
- FIGURA 24:** Lote 4, A: Detalhe do quintal, notar: acúmulo de entulhos. B: Aspecto geral do quintal, notar locais sombreados, folhas no chão e acúmulo de entulhos. C: Detalhe do quintal, notar acúmulo de entulhos. **98**
- FIGURA 25:** Lote 5, A: Aspecto geral do quintal, com casa ao fundo. Notar presença de árvores e locais sombreados. B: Grande quantidade de vasos de plantas. C: Grande variedade e quantidade de materiais acumulados. D: Criação de galinhas. **99**
- FIGURA 26:** Lote 6, A: Imediações do lote. B: Parte interna, notar área cimentada. C: Parte interna, notar pequeno canteiro. D: Parte interna, notar área cimentada. **99**
- FIGURA 27:** Lote 7, A: Árvore de grande porte, que propicia sombra em parte do quintal e criação de pássaros. B: Cão criado no lote. C: Pequeno canteiro. D: Galinheiro, notar limpeza do mesmo. **100**
- FIGURA 28:** Lote 8, A: Lote e imediações B: Aspecto da residência, notar estrutura da mesma. C e D: Aspecto geral do quintal, notar variedade de espécies vegetais, materiais acumulados e locais sombreados. **100**
- FIGURA 29:** Lote 10, A: Aspecto externo do lote, notar casa ao fundo, árvores e locais sombreados. B: Horta, notar lenha empilhada. C: Variedade de materiais acumulados. D: Cão criado no lote. **101**
- FIGURA 30:** Fazenda SL (Lote 11), A: Um dos currais e cães. B: Criação de pavões e galinhas. C: Área de mata. D: Rio das Velhas. **101**
- FIGURA 31:** Lote 13, A: Aspecto externo. B: Cão, notar piso de ardósia. C: Madeira empilhada. D: Vasos de plantas. **102**
- FIGURA 32:** Lote 15, A: Cão criado no lote. B: Pequena mata no entorno. C: Plantas em local sombreado. D: Aspecto geral do quintal, notar grande acúmulo de materiais. **102**
- FIGURA 33:** Lote 16, A: Aspecto geral do lote. B: Criação de galinhas e outras aves. C: Pinguela sobre o córrego (esgoto a céu aberto). D: Cão. **103**
- FIGURA 34:** Médias de ocorrência de casos caninos de leishmaniose na Regional Nordeste, notificados pela Gerência de Controle de Zoonoses da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007. **109**
- FIGURA 35:** Média de ocorrência de flebotomíneos vetores, a partir de coletas quinzenais realizadas com armadilhas HP na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007. **113**
- FIGURA 36:** Sobreposição dos casos humanos de leishmaniose visceral e casos caninos de leishmaniose na Regional Nordeste, notificados pela Gerência de Epidemiologia e Informação da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007. **115**

**Lista de Gráficos**

<b>GRÁFICO 1:</b> Porcentagem de flebotomíneos, por espécie, coletados na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007	<b>75</b>
<b>GRÁFICO 2:</b> Média de Flebotomíneos coletados, por localidade de estudo, na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007	<b>78</b>
<b>GRÁFICO 3:</b> Proporções de <i>L. longipalpis</i> e <i>L. whitmani</i> coletados nos ambientes de áreas verdes e urbano da Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007 ( $p$ valor $< 0,0001$ )	<b>80</b>
<b>GRÁFICO 4:</b> Porcentagem de flebotomíneos coletados mensalmente na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>81</b>
<b>GRÁFICO 5:</b> Média de Flebotomíneos coletados mensalmente na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, em comparação com os parâmetros climáticos: temperatura média, pluviosidade total e média da umidade relativa do ar, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>84</b>
<b>GRÁFICO 6:</b> Média de Flebotomíneos coletados mensalmente na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, em comparação com o parâmetro climático: temperatura média, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>85</b>
<b>GRÁFICO 7:</b> Características presentes nos quintais dos lotes de estudo, que possivelmente favorecem a ocorrência de flebotomíneos.	<b>96</b>
<b>GRÁFICO 8:</b> Ocorrência de Casos de LV humana por faixa hipsométrica na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007	<b>106</b>
<b>GRÁFICO 9:</b> Ocorrência de Casos de LVA considerando os parâmetros: vegetação, vilas e aglomerados e cursos d'água a céu aberto, na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007. A/AI: área/área de influência FA/FAI: fora da área/fora da área de influência	<b>106</b>
<b>GRÁFICO 10:</b> Ocorrência de Casos de leishmaniose canina, por faixa hipsométrica na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>107</b>
<b>GRÁFICO 11:</b> Ocorrência de Casos de leishmaniose canina considerando os parâmetros: vegetação, vilas e aglomerados e cursos d'água a céu aberto, na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007. A/AI: área/área de influência FA/FAI: fora da área/fora da área de influência	<b>107</b>
<b>GRÁFICO 12:</b> Ocorrência média de flebotomíneos vetores de leishmanioses, por faixa hipsométrica na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>110</b>
<b>GRÁFICO 13:</b> Ocorrência média de flebotomíneos vetores de leishmanioses considerando as áreas de vegetação, na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>110</b>
<b>GRÁFICO 14:</b> Ocorrência média de flebotomíneos vetores de leishmanioses considerando os parâmetros: áreas de vilas e aglomerados urbanos e cursos d'água a céu aberto, Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007. A/AI: área/área de influência FA/FAI: fora da área/fora da área de influência	<b>111</b>
<b>GRÁFICO 15:</b> Ocorrência de casos de LV humana em relação às classes de ocorrência média de flebotomíneos vetores de leishmanioses na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>114</b>
<b>GRÁFICO 16:</b> Ocorrência de casos de LV humana em relação às classes de ocorrência média de casos de leishmaniose canina na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>114</b>

**GRÁFICO 17:** Ocorrência média de casos de leishmaniose canina em relação às classes de ocorrência média de flebotomíneos vetores de leishmanioses na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007. **116**

**Lista de Quadros**

QUADRO 1: Espécies de flebotomíneos já relatadas para as regionais do Município de Belo Horizonte	33
QUADRO 2: Relação dos locais de coleta e número de armadilhas utilizadas em cada um deles	51
QUADRO 3: Ciclos da PCR para amplificação de fragmento do gene da cacofonia de flebotomíneos	55
QUADRO 4: Ciclos da PCR para amplificação de fragmentos da região conservada do k-DNA de <i>Leishmania</i> sp	56
QUADRO 5: Características que foram pesquisadas nos peridomicílios e que podem estar relacionadas com a ocorrência de flebotomíneos	59
QUADRO 6: Resultado do teste de correlação entre o total de flebotomíneos coletados e as variáveis climáticas, na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007	83
QUADRO 7: Quantidade de amostras de flebotomíneos analisadas, de acordo com o número de exemplares presentes	88
QUADRO 8: Amostras de flebotomíneos positivas para infecção por <i>Leishmania</i> sp., segundo local e data de coleta, tipo de amostra e técnicas utilizadas para estudo da infecção natural	91
QUADRO 9: Taxas de Positividade para <i>Leishmania</i> sp. por espécie de flebotomíneo e tipo de amostra	92
QUADRO 10: Distribuição de freqüências das características das residências presentes nos lotes trabalhados, Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007	94
QUADRO 11: Distribuição de freqüências das características das peridomicílios dos lotes trabalhados na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007	95
QUADRO 12: Animais domésticos presentes nos lotes estudados na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007	95
QUADRO 13: Características dos anexos presentes nos lotes estudados na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007	104

**Lista de Tabelas**

TABELA 1: Total de espécies de flebotomíneos coletadas na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>74</b>
TABELA 2: Freqüência relativa das espécies de flebotomíneos coletadas na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>75</b>
TABELA 3: Média de Flebotomíneos coletados, por localidade de estudo, na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>77</b>
TABELA 4: Comparação dos números de flebotomíneos por espécie, coletados nos ambientes urbanos e áreas verdes da Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>79</b>
TABELA 5: Ocorrência de flebotomíneos, por número de espécimes, coletadas mensalmente por ambiente de estudo, na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>80</b>
TABELA 6: Flebotomíneos coletados mensalmente por espécie, na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>82</b>
TABELA 7: Resultados das coletas com armadilha luminosa de Shannon, na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007.	<b>86</b>
TABELA 8: Ocorrência mensal de flebotomíneos, considerando o total de espécimes, em lotes de área urbana da Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de junho de 2006 a junho de 2007.	<b>105</b>

**Abreviaturas**

DNA – Ácido desoxirribonucléico

dNTP – Desoxirribonucleotídeos 5´fosfato

ELISA – Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Ensaio Imunoenzimático)

kDNA – DNA do cinetoplasto

LIT – Liver infusion tryptose (Infusão de fígado triptose)

LTA – Leishmaniose tegumentar americana

LV – Leishmaniose visceral

MG – Minas Gerais

PBH – Prefeitura Municipal de Belo Horizonte

PCR – Polymerase Chain Reaction – (Reação em cadeia da polimerase)

PM – Padrão de massa molecular

pmol – pico mol

RFLP – Restriction Fragment Length Polimorfism – (Polimorfismo de tamanho dos fragmentos de restrição)

RIFI – Reação de Imunofluorescência Indireta

RNA – Ácido ribonucléico

U – Unidades

---



---

**Sumário**

1. Introdução	20
1.1. Revisão de Literatura	24
1.1.1. Importância das Leishmanioses	24
1.1.2. Flebotomíneos – Estado da Arte	28
1.1.3. Técnicas moleculares no estudo da infecção natural de flebotomíneos por <i>Leishmania</i> spp.	29
1.1.4. Leishmanioses no município de Belo Horizonte	31
1.1.5. Leishmanioses na Regional Nordeste	34
1.1.6. Comunidade e os processos da doença	34
1.1.7. Estudos por Geoprocessamento	36
2. Justificativa	38
3. Objetivos	42
4. Metodologia	44
4.1. Área de Estudo	44
4.2. Coletas de Flebotomíneos	47
4.2.1. Métodos de Coleta	49
4.2.2. Metodologia das Coletas	49
4.3. Processamento e acondicionamento dos Flebotomíneos coletados	51
4.3.1. Machos	51
4.3.1.1. Preparação e Montagem dos espécimes	51
4.3.2. Fêmeas	52
4.4. Identificação específica	52
4.5. Pesquisa da infecção natural por <i>Leishmania</i> sp. nas fêmeas de flebotomíneos	53
4.5.1. Dissecção	53
4.5.2. Extração de DNA	54
4.5.3. Reação de PCR para avaliar a presença de DNA de flebotomíneos após a extração	54
4.5.4. Reação de PCR para identificação do gênero <i>Leishmania</i>	55
4.5.5. PCR-RFLP (polimorfismos de comprimento dos fragmentos de restrição) para a identificação específica de <i>Leishmania</i>	56
4.5.6. Hibridização de produtos de PCR (DOT-BLOT)	57
4.6. Inferência da taxa de infecção natural	57
4.7. Caracterização ambiental das residências	57
4.8. Análise por Geoprocessamento	60
4.8.1. Banco de dados humano	60
4.8.2. Banco de dados caninos	61
4.8.3. Banco de dados entomológicos para análises das espécies vetoras	61
4.8.4. Georreferenciamento	62
4.8.5. Tratamento prévio dos mapas	62
4.8.6. Análises dos mapas - Assinaturas	64
4.9. Análise de Resultados	72
4.10. Aprovação por Comitês de Ética	73
4.11. Aproveitamento dos resultados pelo setor público	73
5. Resultados	74
5.1. Estudo da Fauna Flebotomínica	74
5.1.1. Coletas com armadilhas luminosas HP	74
5.1.2. Coletas com armadilha de Shannon e Capturador de Castro	86
5.2. Estudos da Infecção Natural	87
5.2.1. Inferência das taxas de infecção natural por <i>Leishmania</i>	92
5.3. Caracterização ambiental dos locais de estudo	93
5.3.1. Caracterização fotográfica	96
5.3.2. Análise por geoprocessamento	106
6. Discussão	117
7. Considerações finais	146
8. Conclusões	147
9. Referências bibliográficas	150
10. Adendos	165
11. Anexos	171

## Introdução

## **1. Introdução**

Os flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) dos gêneros *Lutzomyia* França, 1924 no Novo Mundo e *Phlebotomus* Rondani & Berté, 1840 no Velho Mundo são os hospedeiros invertebrados das espécies do gênero *Leishmania* Ross, 1903, que causam as leishmanioses em humanos e outros mamíferos.

As leishmanioses são as mais complexas e diversas de todas as doenças transmitidas por vetores, em sua ecologia e epidemiologia, englobando cerca de 21 espécies de parasitos, capazes de infectar o homem e diversas espécies de reservatórios e flebotomíneos vetores. Cerca de 30 espécies de flebotomíneos são vetores comprovados de *Leishmania*. Estes agravos apresentam uma ampla variação topogeográfica em sua ocorrência, apresentando uma distribuição, geralmente, focal. Em relação ao seu envolvimento com humanos ocorrem em mais de 100 países do mundo, de clima subtropical ou tropical, em ciclos antroponóticos e zoonóticos (ASHFORD, 2000; CATTAND *et al.*, 2006; LAINSON & SHAW, 1987).

O gênero *Leishmania* pertence à ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, e está dividido em dois sub-gêneros, *Viannia* e *Leishmania*, de acordo com o tipo de desenvolvimento no trato intestinal dos flebotomíneos (LAINSON *et al.*, 1979).

- *Leishmania*: com desenvolvimento predominante nos intestinos médio e anterior – desenvolvimento suprapilário;
- *Viannia*: cujo processo de desenvolvimento apresenta uma fase que se passa no intestino posterior – desenvolvimento peripilário;

Esses protozoários são unicelulares, digenéticos, e todas as espécies são morfologicamente muito similares e vivem no sistema mononuclear fagocitário de seus hospedeiros mamíferos e no trato intestinal dos flebotomíneos. Existem dois estágios principais no ciclo de vida destes parasitos: as formas amastigotas e promastigotas. As amastigotas são encontradas principalmente em células do sistema mononuclear fagocitário dos hospedeiros mamíferos, dividem-se

repetidamente por divisão binária longitudinal e infectam novas células quando a célula hospedeira inicial se rompe (ASHFORD, 2000; SHAW, 2003).

No intestino dos flebotomíneos, as amastigotas presentes no conteúdo do repasto sanguíneo sofrem divisões binárias e se transformam em promastigotas. Estas se dividem por divisão binária longitudinal passando por mudanças morfológicas e fisiológicas, cuja biologia ainda não está completamente esclarecida.

Inicialmente, ainda no interior da matriz peritrófica, as amastigotas diferenciam-se em promastigotas procíclicas que são formas com baixa motilidade e que se replicam. Alguns dias após o repasto, os parasitos diferenciam-se em formas alongadas, com alta motilidade, chamadas nectomonas. Estas são formas migratórias que se dirigem para o exterior da matriz peritrófica e aderem-se ao epitélio intestinal. As nectomonas se diferenciam em leptomonas que são formas curtas que continuam o processo de replicação. Alguns parasitos nesta forma podem se diferenciar em haptomonas. As promastigotas metacíclicas também se originam a partir das leptomonas.

Estas formas são capazes de infectar um novo hospedeiro vertebrado, apresentam alta motilidade, flagelo livre e longo, não mais se dividem e nem se aderem à superfície intestinal dos insetos vetores (ASHFORD, 2000; BATES, 2007; KILLICK-KENDRICK & RIOUX, 1991).

Uma grande variedade de mamíferos pode atuar como hospedeiros. Embora os mais comuns sejam os roedores e os canídeos, outros grupos podem albergar a infecção tais como: edentados, marsupiais, procionídeos, ungulados e primatas (SHAW, 2003).

Os flebotomíneos são insetos pequenos que, em geral, medem de dois a quatro milímetros de comprimento, têm o corpo revestido de cerdas finas e longas. As asas grandes e hialinas permanecem divergentes em posição semi-ereta quando vivos e em repouso, o que lhes confere um aspecto peculiar. Os olhos são proeminentes e arredondados e bem separados em ambos os sexos. As antenas são compostas de um escapo basal e pedicelo, ambos globosos com 14 a 16 flagelômeros cilíndricos. As peças bucais são do tipo sugador picador pungitivo,

constituídas de labro, um par de mandíbulas, hipofaringe, um par de maxilas e lábio. Os machos têm mandíbulas rudimentares. As pernas são longas e esbeltas, e a extremidade posterior do abdome é bem diferenciada nos dois sexos: nos machos é diferenciada em órgão copulador formado por cinco estruturas pares e nas fêmeas é formada por estruturas pares ligeiramente arredondada, os cercos (FORATTINI, 1973).

Em comparação com outras famílias de Nematocera de importância médica e veterinária, muito pouco é conhecido sobre os sítios onde os flebotomíneos se desenvolvem. A maior parte das informações sobre os estágios imaturos resultam de observações de espécies criadas em laboratório. O ciclo biológico é dividido nas seguintes fases: ovo (período de incubação de aproximadamente de seis a sete dias); quatro estádios larvais (durando cerca de 20 a 25 dias); pupa (duração de oito a doze dias) e adulto (vive cerca de um mês), períodos referentes às condições de criação em laboratório (FORATTINI, 1973).

As larvas dos flebotomíneos são ativas, terrestres e saprófagas, se deslocando com rapidez em busca de alimento, sendo essa uma das razões pela quais os criadouros naturais dos flebotomíneos são difíceis de serem encontrados. Estes fatos contribuem para a dificuldade no controle das leishmanioses, ao se considerar ações direcionadas ao vetor (SHERLOCK, 2003).

Os flebotomíneos machos não são hematófagos, mas as fêmeas necessitam de se alimentarem de sangue, o qual é fonte de aminoácidos e proteínas necessários para o desenvolvimento dos ovos.

A maior ocorrência destes vetores é nos meses quentes e chuvosos para algumas espécies, e nos meses quentes e secos para outras (FORATTINI, 1973).

As leishmanioses humanas apresentam duas formas clínicas básicas:

- Visceral
- Cutânea

A grande importância delas reside não apenas em sua ampla distribuição geográfica, como também nas altas taxas de mortalidade e morbidade, relacionadas à forma visceral e à alta morbidade relacionada às formas cutânea e mucosa (CATTAND *et al.*, 2006, TAVARES *et al.*, 2003).

## **1.1. Revisão de Literatura**

### **1.1.1. Importância das Leishmanioses**

Conforme classificação da Organização Mundial de Saúde (TDR-WHO, 2006), as leishmanioses estão entre as doenças de grande importância epidemiológica, que necessitam de medidas de controle efetivas, e que apresentam o potencial de surtos epidêmicos, dada a sua transmissão por insetos vetores (CATTAND *et al.*, 2006).

São endêmicas em 88 países, e estima-se que 500 mil casos novos de Leishmaniose Visceral (LV) e 1,5 milhões de casos de Leishmaniose Tegumentar (formas cutâneas e mucosas) ocorram a cada ano em todo mundo.

As Leishmanioses encontram-se entre as seis doenças infecto-parasitárias de maior importância no mundo, 90% dos casos de Leishmaniose Visceral (LV) ocorrem em Bangladesh, Brasil, Índia e Sudão e a maioria dos casos de leishmaniose cutânea ocorre no Afeganistão, Brasil, Irã, Peru, Arábia Saudita e Síria, com 90% dos casos de leishmaniose mucosa ocorrendo na Bolívia, Brasil e Peru (WHO, 2006).

#### *Leishmaniose Visceral*

A LV é endêmica em 65 países, e nas Américas cerca de 90% dos casos humanos são registrados no Brasil (DESJEUX, 2004). No continente americano este agravo é, tradicionalmente, considerado uma zoonose de canídeos e roedores, transmitida ao homem em ambientes silvestres e localidades rurais. Mas, atualmente, também apresenta distribuição peri-urbana e urbana em diversas cidades da América Latina (LAINSON & RANGEL, 2005; MORENO, 2002, MORENO *et al.*, 2005).

O mapeamento da LV é um empreendimento complexo, uma vez que a

distribuição da doença é multifocal, com grandes variações de incidência e prevalência. Muitos casos clínicos não são nem tratados, nem registrados, existindo um importante problema de subnotificação. E é grande o número de infecções subclínicas e assintomáticas (HAILU *et al.*, 2005).

Atualmente, a LV apresenta um novo caráter reemergente, além da urbanização e da periurbanização. Com o advento da Síndrome da Imunodeficiência Humana (AIDS/SIDA), a LV tornou-se uma doença oportunista. Em determinadas regiões ocorreu uma mudança importante no padrão epidemiológico da LV, onde pacientes HIV positivos podem atuar como reservatórios da doença (ASHFORD, 2000; DESJEUX, 1999; HAILU *et al.*, 2005).

O agente etiológico da leishmaniose visceral nas Américas é a *Leishmania (Leishmania) chagasi* Cunha e Chagas, 1937 e a principal espécie vetora é a *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* Lutz & Neiva, 1912. Um dos fatores determinantes da ampla urbanização da LV, nas Américas, é a grande adaptabilidade desta espécie ao ambiente antropicamente modificado (LAINSON, 1989; LAINSON & RANGEL, 2005; SHAW, 2003).

Diversos grupos de mamíferos silvestres atuam como hospedeiros, dentre eles: canídeos, marsupiais e roedores (LAINSON, 1989; SHAW, 2003).

No Brasil, os cães domésticos são considerados os principais reservatórios do parasito nas regiões periurbanas e urbanas. No país ocorre uma alta prevalência da doença canina e aumento da infecção humana. Processos migratórios e hábitos das populações, especialmente nas periferias, como a criação de galinhas, são importantes na cadeia epidemiológica da LV (LAINSON, 1989).

Apesar de galináceos não possuírem capacidade de albergar *Leishmania*, estes animais representam importante elo na cadeia epidemiológica da LV por se constituírem em uma fonte de alimentação e atração para as fêmeas de *L. longipalpis* (ALEXANDER *et al.*, 2002).

A susceptibilidade humana para a *L. chagasi* é considerada baixa, e infecções assintomáticas são comuns em populações saudáveis (MORENO *et al.*, 2005). Em geral, quadros de doença clínica são associados: à idade, crianças

abaixo dos dois anos são as mais acometidas, à desnutrição e imunossupressão dos indivíduos. Casos não tratados, invariavelmente, podem culminar com o óbito do paciente (GRAMACCIA & GRADONI, 2005; HAILU *et al.*, 2005).

Atualmente, em focos urbanos da doença, observa-se uma tendência de modificação na distribuição dos casos por faixas etárias, com ocorrência de altas taxas também em adultos e jovens (SILVA *et al.*, 2001).

No Brasil, a LV encontra-se distribuída em 20 dos 27 Estados e Territórios, atingindo quatro das cinco regiões do país. Sua maior incidência encontra-se no Nordeste, com aproximadamente 70% do total de casos, seguido pelas regiões Sudeste, Norte, e, finalmente, a região Centro-Oeste. Tem-se registrado em média 3.500 casos da doença por ano (BRASIL, 2006<sup>A</sup>).

Até 1980, em nosso país, a LV era considerada uma endemia zoonótica restrita a áreas rurais, mas, atualmente, em diversas cidades a doença já apresenta padrões de ocorrência periurbanos e urbanos, como em Belo Horizonte, Campo Grande, São Luís, Natal, Aracaju, dentre outras (ANTONIALLI *et al.*, 2006; BRASIL, 2006<sup>A</sup>; MORENO, 2002; SOUZA, 2005).

### Leishmaniose Tegumentar Americana

Nas Américas Central e do Sul, a leishmaniose tegumentar causada pelas espécies *Leishmania (Viannia) braziliensis* Vianna, 1911 *emend* Matta, 1916, *Leishmania (Leishmania) amazonensis* Lainson & Shaw, 1972 e *Leishmania (Leishmania) mexicana* Biagi 1953 *emend* Garnham, 1962, *L. (Viannia) guyanensis* Floch, 1954 encontram-se amplamente distribuídas, sempre com o padrão zoonótico de ocorrência (ASHFORD, 2000).

A LTA era considerada uma doença ocupacional, de incidência limitada aos que se expunham aos focos silvestres da doença, mas hoje passou a incidir em ambientes periurbanos e mesmo urbanos, podendo-se observar a adaptabilidade de algumas espécies vetoras a estes ambientes (SABROZA *et al.*, 1992; TEODORO *et al.*, 2003<sup>B</sup>).

O processo de urbanização tem sido relatado para *L. braziliensis*, e para

algumas espécies de flebotomíneos vetores desta espécie de *Leishmania*, tais como: *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) e *Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia* (Lutz e Neiva, 1912) (SOUZA *et al.*, 2004; YOUNG & LAWER, 1987).

Considerando-se as diversas formas clínicas da LTA, enquanto entidade mórbida têm-se diversos agentes etiológicos e, para estes, diferentes espécies de flebotomíneos vetores e reservatórios mamíferos (SHAW, 2003; YOUNG & LAWER, 1987).

Apesar da baixa mortalidade da LTA, mesmo lesões auto limitantes podem ocasionar desfiguração e são associadas a processos estigmatizantes, ocorrendo casos mais graves em formas com múltiplas lesões ou recidivas, que são de difícil tratamento (CATTAND *et al.*, 2006).

No Brasil, a doença apresenta-se como importante problema de saúde pública nas periferias de diversas cidades brasileiras, tais como Belo Horizonte, Rio de Janeiro e Manaus (MARZOCHI, 1992; MARZOCHI & MARZOCHI, 1994).

No período de 1980 a 2004, a LTA no Brasil apresentou coeficientes de detecção que oscilaram entre 3,8 a 22,9 por 100.000 habitantes. Ao longo desse período observou-se uma tendência ao crescimento do número de casos, com o registro de coeficientes mais elevados nos anos de 1994/1995, quando atingiram níveis de 22,83 e 22,94 por 100.000 habitantes, respectivamente.

Ao analisar a evolução da LTA no Brasil, observa-se uma expansão geográfica. No início da década de 80 foram registrados casos em 20 unidades federadas (UF) e a partir de 2001 todas as UF registraram casos autóctones da doença. No ano de 1994 houve um registro de casos autóctones em 1.861 municípios, o que representa 36,9% dos municípios do País; em 2002 houve uma expansão da doença para 2.302 municípios (41,1%) (BRASIL, 2006).

### **1.1.2 Flebotomíneos – Estado da Arte**

Os flebotomíneos são hospedeiros invertebrados de diversos grupos de patógenos, tais como bactérias (*Bartonella bacilliformes*), vírus (*Phlebovirus*, *Orbivirus*, *Vesiculovirus*) e protozoários (como os pertencentes aos gêneros *Leishmania* e *Endotripanum*), sendo que os últimos são os responsáveis pelas variadas formas clínicas das leishmanioses humanas (KILLICK-KENDRICK, 1979; YOUNG & DUNCAN, 1994).

A epidemiologia das leishmanioses somente pode ser compreendida através da ecologia dos flebotomíneos, e tais estudos baseiam-se, principalmente, na cuidadosa identificação da fauna flebotomínica em focos da doença. Assim, o fator primordial que impulsiona os estudos dos flebotomíneos é a sua capacidade vetorial para *Leishmania*.

Atualmente, já foram descritas mais de 800 espécies de flebotomíneos e estima-se que 81 delas sejam capazes de transmitir *Leishmania*. Tal capacidade já foi evidenciada em 19 espécies, das quais 11 pertencem ao gênero *Phlebotomus* e oito ao gênero *Lutzomyia*. Há também fortes evidências de que outras 14 espécies, nove do gênero *Phlebotomus* e cinco do gênero *Lutzomyia*, também sejam vetoras de leishmanioses (KILLICK-KENDRICK, 1990).

Segundo MARCONDES *et al.*, (2001) o estudo da variação sazonal em populações de flebotomíneos é muito importante para a compreensão da biologia, e da possível importância epidemiológica dos mesmos. Estudos destas variações têm originado dados sobre os riscos de transmissão de parasitos ao homem, através dos flebotomíneos.

Estudos de fauna flebotomínica, além de sua importância ecológica ao determinar a diversidade e riqueza de parte da entomofauna de uma região, auxiliam na determinação das principais espécies vetoras, e mesmo a elucidar a participação de espécies secundárias, na transmissão de leishmanioses.

Um aspecto interessante e de grande importância é a participação da saliva dos flebotomíneos injetada nos hospedeiros mamíferos, não só durante a realização de repasto sanguíneo, mas também no momento da sondagem que o

precede, no processo de infecção por *Leishmania*. A saliva destes insetos apresenta diversas proteínas imunomodulatórias que têm papel fundamental no processo de infecção (KAMHAWI, 2000).

A descrição morfológica das espécies é ainda o método primário de identificação dos flebotomíneos. A proposta do GRUPO CIPA (1991), para padronizar as descrições de flebotomíneos americanos, indica que a morfologia permanecerá, ainda, por muitos anos como o principal método no reconhecimento das espécies destes dípteros. A necessidade de diferenciar espécies dentro de grupos e complexos de espécies estimulou a introdução de novos métodos genéticos, bioquímicos e de biologia molecular para a identificação específica dos flebotomíneos.

Estudos de diversidade genética são fundamentais e auxiliam na compreensão da diversidade de padrões clínicos, que as leishmanioses podem assumir. Por exemplo, o fato de *L. longipalpis* ser, atualmente, considerada um complexo de espécies, ajudaria a explicar as diferentes manifestações clínicas da LV nas Américas (BOTTECHIA *et al.*, 2004; LAINSON & RANGEL, 2005, WARD *et al.*, 1983).

### **1.1.3. Técnicas moleculares no estudo da infecção natural de flebotomíneos por *Leishmania* sp.**

Atualmente, diversos autores têm utilizado técnicas de biologia molecular em estudos sobre as leishmanioses. Especialmente em trabalhos que visam a correta detecção, identificação e caracterização dos parasitos, em infecções humanas, caninas e em reservatórios (CARVALHO, 2006; CORTES *et al.*, 2004; GONTIJO, 2000; VOLPINI *et al.*, 2004,).

Considerando-se os vetores, as técnicas de biologia molecular podem aumentar a sensibilidade de detecção de infecção natural por *Leishmania* sp.. A determinação da capacidade e da competência vetorial de uma espécie de flebotomíneo é de fundamental importância, e esses estudos podem ajudar na compreensão do papel vetorial destas espécies.

Fatores como a baixa sensibilidade dos métodos usuais, como a dissecação seguida de análise microscópica, e do isolamento em meio de cultura, bem como a dificuldade de se processar um grande número de amostras, desfavoreciam estes estudos, antes do advento de técnicas mais modernas. Nos últimos anos, métodos moleculares têm sido empregados, com sucesso, na determinação das taxas de infecção natural de flebotomíneos (ARANSAY *et al.*, 2000, PERRUOLO *et al.*, 2006).

Para a detecção e identificação de *Leishmania* através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR/RCP), diversas regiões do DNA desses parasitos têm sido utilizadas como alvo, tais como: o gene do RNA ribossômico (rRNA), o gene do minixon derivado de RNA, seqüências repetidas no genoma e o minicírculo do kDNA (ARANSAY *et al.*, 2000; PAIVA *et al.*, 2006).

O minicírculo do kDNA é um alvo ideal para a detecção de *Leishmania* através de PCR. Ele apresenta 10.000 cópias por célula, e estas estão distribuídas em cerca de dez classes diferentes de seqüências. Além disso, a seqüência do minicírculo já é conhecida para maioria das espécies de *Leishmania* e apresenta variações que possibilitam a diferenciação dos diversos grupos ou complexos de espécies (ARANSAY *et al.*, 2000).

Conforme descrito por PITA-PEREIRA *et al.*, (2005) devem ser utilizados controles, nas reações de PCR, para se evitar resultados falso negativos. Tais autores utilizam um par de iniciadores que amplificam uma região de 220 pares de bases de um gene constitutivo do gênero *Lutzomyia*, o gene da cacofonia. Dessa forma tem-se um controle interno dos resultados das PCR's realizadas.

Para a identificação dos complexos de espécies de *Leishmania* nos flebotomíneos, diversas técnicas podem ser utilizadas tais como: reações de PCR específicas, utilização de enzimas de restrição - RFLP-PCR e hibridização com sondas específicas (CARVALHO, 2006; PITA-PEREIRA *et al.*, 2005; VOLPINI *et al.*, 2004).

As principais vantagens dos métodos moleculares são a sensibilidade e especificidade, independente do número, estágio e localização dos parasitos no

tubo digestivo dos flebotomíneos (PEREZ *et al.*, 1994). Teoricamente, a presença de apenas um parasito é suficiente para que seu DNA seja detectado por uma PCR, mesmo em situações em que o DNA do inseto esteja em excesso (DE BRUIJN & BARKER, 1992).

As técnicas de biologia molecular apresentam algumas peculiaridades que podem dificultar sua utilização e representar dificuldades em sua execução tais como: a necessidade de, muitas vezes, se trabalhar em ambientes separados, ocorrência de contaminações que dificultam a análise de resultados e levam a repetição de experimentos e a necessidade de técnicas bem padronizadas. Além disso, os reagentes e equipamentos apresentam custo relativamente elevado.

No Brasil, foram realizados poucos estudos que avaliam as taxas de infecção natural de flebotomíneos, principalmente utilizando métodos moleculares (PITA-PEREIRA *et al.*, 2005).

#### **1.1.4. Leishmanioses no Município de Belo Horizonte**

Nos últimos anos a incidência de casos de LV aumentou na região Sudeste do Brasil, sendo a doença registrada em diversas cidades, incluindo a capital do Estado de Minas Gerais, Belo Horizonte (LUZ *et al.*, 2001).

Belo Horizonte é hoje o município com alta densidade populacional que mais sofre com a ocorrência de LV. Os primeiros casos humanos ocorreram no ano de 1994, na Regional Leste. Desde então, a doença atingiu Regionais limítrofes como Nordeste, Norte, Venda Nova e, mais recentemente, Noroeste. No período de 1994 a 2004, foram confirmados 637 casos humanos da doença, sendo que 63% destes concentram-se nas últimas quatro Regionais citadas acima. A partir da ocorrência do primeiro caso, a doença apresentou processo de expansão territorial no município, com aumento significativo de casos humanos nos últimos anos. As taxas de letalidade são altas (a média dos últimos 11 anos é de 13%) e passou de 9,9%, em 2003, para 18,1% em 2004 (PBH, 2006).

A leishmaniose visceral canina também apresentou aumento no número de casos e expansão territorial (PBH, 2006). Em Belo Horizonte a leishmaniose visceral é uma doença de padrão emergente e encontra-se, majoritariamente, concentrada em áreas desprivilegiadas, tendo uma série de fatores que contribuem para a sua ocorrência (CAIAFFA, 2005).

No ano de 2006 foram registrados 61 casos de LV, com a ocorrência de oito óbitos. Também foi registrada alta soroprevalência canina com um total de 7.682 cães positivos (PBH, 2006).

Com relação à LTA, esta é considerada endêmica na região metropolitana do Município de Belo Horizonte. Em estudo realizado por PASSOS *et al.*, (2001) há descrição da doença em pacientes de todas as idades e em ambos os sexos. Assim, acredita-se que ocorram no município ciclos de transmissão tanto extradomiciliar como intra e/ou peridomiciliar. Considerando-se apenas o Município de Belo Horizonte, no ano de 2006, foram registrados 23 casos de LTA (SINAN, 2007).

Trabalhos sobre a fauna flebotômica no Município de Belo Horizonte demonstram a presença de espécies vetoras de LV e LTA. (RESENDE *et al.*, 2004; SOUZA *et al.*, 2004). Em estudo realizado entre os anos de 2001 e 2003, cobrindo todas as Regionais da capital, SOUZA (2005) relata a presença de 15 espécies do gênero *Lutzomyia* com a predominância de *L. longipalpis*, principal espécie vetora de *L. chagasi*. Há também o registro de espécies vetoras de *L. braziliensis*, tais como: *L. whitmani* e *L. intermedia*. As espécies de flebotômíneos já relatadas no município de Belo Horizonte encontram-se listadas no quadro 1.

Assim, a adaptabilidade de flebotômíneos vetores ao ambiente antropicamente modificado é um dos fatores ligados ao crescimento das leishmanioses em Belo Horizonte, mas outros, não menos importantes, estão relacionados aos novos hábitos e meios de ocupação pela população do espaço urbano, os quais terminam por propiciar contato entre o homem, reservatórios e vetores (LAINSON, 1989; MORENO *et al.*, 2005; SOUZA, 2005).

QUADRO 1

Espécies de flebotomíneos já relatadas para as regionais do Município de Belo Horizonte

REGIONAIS DO MUNICÍPIO DE BELO HORIZONTE	ESPÉCIES DE FLEBOTOMÍNEOS JÁ RELATADAS	AUTORES, ANO
Barreiro	<i>Brumptomyia sp.</i> , <i>L. firmatoi</i> , <i>L. lenti</i> , <i>L. longipalpis</i> , <i>L. migonei</i> , <i>L. misionensis</i> , <i>L. monticola</i> , <i>L. pessoai</i> , <i>L. quinquefer</i> , <i>L. sallesi</i> , <i>L. termitophila</i> , <i>L. whitmani</i>	SOUZA <i>et al.</i> , 2004, RESENDE <i>et al.</i> , 2004
Centro Sul	<i>L. longipalpis</i> , <i>L. monticola</i> , <i>L. pessoai</i> , <i>L. sallesi</i>	SOUZA <i>et al.</i> , 2004
Leste	<i>L. firmatoi</i> , <i>L. intermedia</i> , <i>L. lenti</i> , <i>L. longipalpis</i> , <i>L. monticola</i> , <i>L. quinquefer</i> , <i>L. termitophila</i> , <i>L. whitmani</i>	SOUZA <i>et al.</i> , 2004, RESENDE <i>et al.</i> , 2004
Nordeste	<i>L. firmatoi</i> , <i>L. intermedia</i> , <i>L. lenti</i> , <i>L. longipalpis</i> , <i>L. termitophila</i> , <i>L. sallesi</i> , <i>L. whitmani</i>	SOUZA <i>et al.</i> , 2004, RESENDE <i>et al.</i> , 2004
Noroeste	<i>L. longipalpis</i> , <i>L. sallesi</i> , <i>L. whitmani</i>	SOUZA <i>et al.</i> , 2004
Norte	<i>L. intermedia</i> , <i>L. lenti</i> , <i>L. longipalpis</i> , <i>L. longipennis</i> , <i>L. monticola</i> , <i>L. pessoai</i> , <i>L. quinquefer</i> , <i>L. termitophila</i> , <i>L. sallesi</i> , <i>L. whitmani</i>	SOUZA <i>et al.</i> , 2004
Oeste	<i>L. intermedia</i> , <i>L. longipalpis</i> , <i>L. termitophila</i> , <i>L. sallesi</i> , <i>L. whitmani</i>	SOUZA <i>et al.</i> , 2004
Pampulha	<i>L. lenti</i> , <i>L. longipalpis</i> , <i>L. sallesi</i> , <i>L. whitmani</i>	SOUZA <i>et al.</i> , 2004
Venda Nova	<i>Brumptomyia sp.</i> , <i>L. aragaoi</i> , <i>L. intermedia</i> , <i>L. lenti</i> , <i>L. longipalpis</i> , <i>L. sallesi</i> , <i>L. whitmani</i>	SOUZA <i>et al.</i> , 2004
<p>* As espécies <i>L. evandroi</i>, <i>L. edwardsi</i>, <i>L. intermedia</i>, <i>L. lenti</i>, <i>L. longipalpis</i>, <i>L. lloyd</i>, <i>L. longipennis</i>, <i>L. monticola</i>, <i>L. mogonie</i>, <i>L. pessoai</i>, <i>L. quinquefer</i>, <i>L. termitophila</i>, <i>L. sallesi</i>, <i>L. whitmani</i> foram coletas por RESENDE <i>et al</i> 2006, mas estes não relatam quem quais das três regionais trabalhadas cada uma delas foi coletada.</p>		

### **1.1.5. Leishmanioses na Regional Nordeste**

Segundo a Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte (PBH, 2006) foram registrados na Regional Nordeste, 50 casos humanos de LV e 18 casos de LTA no período de 2003 a 2005, ficando esta em segundo lugar no número de casos de LV registrados no município, neste período. Os casos ocorreram em diferentes bairros da Regional, não ficando constatada uma área de maior concentração. No ano de 2006 ocorreram nesta Regional 14 casos de LV humana, e um óbito devido a esta enfermidade.

A Regional acumula o maior número de casos humanos de LV, por Regional, em Belo Horizonte, considerando o período entre 1994 e 2007. Com relação à ocorrência da doença em cães domésticos, as prevalências para testes sorológicos nos anos de 2002, 2003 e 2004 foram respectivamente: 6,3%, 10,0% e 8,5% (PBH, 2006).

Em levantamento entomológico realizado no município de Belo Horizonte, por SOUZA (2005), a Regional Nordeste apresentou a maior taxa de coleta de flebotomíneos, sendo responsável por 28,8% do total de espécimes coletados. A espécie predominante na Regional foi a *L. longipalpis*, mas outras com importância vetorial para leishmanioses foram capturadas como: *L. whitmani* e *L. intermedia*.

### **1.1.6. Comunidade e os processos da doença**

O comportamento das comunidades tem sido pouco considerado no estudo dos processos endêmicos, tanto para as leishmanioses como para outros agravos da saúde (GAMA *et al.*, 1998). Alguns autores mostram que as populações de zonas rurais e periferias são carentes de informações acerca das doenças que as afligem (NETO *et al.*, 1985; VÁZQUES *et al.*, 1991).

É necessário que, para o controle de determinadas endemias, além do

conhecimento de sua epidemiologia, se compreenda os conceitos, atitudes e credences da população acerca da mesma (NETO *et al.*, 1985). Apenas conhecendo as atitudes da população, pode-se orientá-la da melhor forma possível para a profilaxia de determinadas enfermidades (ESTESO, 1984).

Além disso, conforme citado por DIAS (1998), o êxito das estratégias contra as doenças endêmicas que, em geral, ocorrem em áreas de pobreza e subdesenvolvimento, depende da disponibilidade de recursos econômicos, e necessariamente, do conhecimento das competências e atitudes da população diante do problema. Deve-se sempre considerar que a participação comunitária ativa e permanente é fator fundamental para a execução, consolidação e vigilância das ações de controle de endemias e demais agravos à saúde.

COSTA *et al.*, (1994) enfatizam que a relativa conscientização dos indivíduos, frente a morbidade de uma doença, no caso referindo-se a LTA em Corte de Pedra na Bahia, é capaz de mobilizar a comunidade em ações sanitárias e na implantação de projetos de controle com a participação da população.

A organização espacial que a sociedade adquire, historicamente, viabiliza a circulação de agentes patogênicos, ao estabelecer conexões entre grupos populacionais com características sociais que podem magnificar efeitos adversos, e fontes de contaminação, locais de proliferação de vetores, dentre outros (BARCELLOS & MACHADO, 1998).

A urbanização extensiva avança para além das fronteiras do ambiente urbano, ocupando todo o espaço social. Tal ocupação pode determinar a reemergência, em áreas urbanas do Brasil, de doenças tradicionalmente entendidas como rurais, como a leishmaniose visceral (PROIETTI & CAIAFFA, 2005).

Conforme relatado por BARCELOS & QUITÉRIO (2006) no campo da vigilância ambiental em saúde, deve-se priorizar a exposição, ou seja, deve-se deslocar o foco tradicional da vigilância dos agravos para a vigilância dos fatores de risco coletivos.

Assim, uma das tarefas principais para o estudo da relação ambiente e saúde é a seleção de indicadores para esses níveis de manifestação de

problemas ambientais.

A vigilância ambiental, considerando-se o uso de atributos vetoriais, deve centrar-se no resgate de processos ecológicos, epidemiológicos, climáticos e sociais envolvidos na domiciliação e urbanização dos insetos (GOMES, 2002).

A incidência das leishmanioses está ligada a diversos processos de ausência de saúde ambiental. KAWA & SABROZA (2002) relatam que o aumento da incidência de LTA no Rio de Janeiro é conseqüência de diversos fatores envolvendo a degradação ambiental, como: desmatamento, queimadas, invasões de terras e especulação imobiliária.

Para o Município de Belo Horizonte existe uma correlação entre a área de residência, o perfil socioeconômico da população, e a carga de agravos à saúde a que tal área está sujeita. Esta carga pode ser determinada pela pobreza e ausência de políticas públicas efetivas em saúde, (CAIAFFA *et al.*, 2005).

#### **1.1.7. Estudos por Geoprocessamento**

Uma vez que o processo saúde-doença sempre teve uma dimensão espaço-temporal, a Geografia representa um importante papel na pesquisa em saúde (SOUZA, 2005).

A Geografia Médica compreende o estudo das variações geográficas na distribuição das doenças e na provisão de cuidados de saúde. Isto inclui o estudo das relações entre saúde e ambiente, dentro do objetivo do entendimento das relações entre a distribuição e difusão das doenças e o ambiente (clima, vegetação, água e qualidade do ar) (COSTA & TEIXEIRA, 1999; MEDRONHO, 1995).

Os primeiros registros sobre a relação entre a doença, e o local e o ambiente onde ela ocorre, são atribuídos a Hipócrates (480 A.C.), em seu livro *Ares, Águas e Lugares*, onde ele enfatiza a importância do modo de vida dos indivíduos e a influência dos ventos, água, solo e localização das cidades, na ocorrência da doença (PESSOA, 1978 *apud* COSTA & TEIXEIRA, 1999).

Já o mapeamento geográfico de eventos relacionados a doenças data de

1859, quando Dr. John Snow traçou a origem de um surto de cólera em Londres, identificando o veículo de transmissão da doença antes mesmo da descoberta dos micróbios, desde então mapas são utilizados para seguir a dispersão de agravos, identificar origens, determinar áreas alvo e avaliar epidemias (WHO, 2008).

A análise de dados distribuídos pelo espaço geográfico é cada vez mais valorizada na gestão da saúde. Ela aponta subsídios para o planejamento e avaliação de ações baseadas na análise da distribuição de doenças, localização dos serviços de saúde e dos riscos ambientais (BARCELLOS & BASTOS, 1996).

A Geografia Médica tem se desenvolvido: na análise dos padrões de distribuição espacial e temporal das doenças; no mapeamento das doenças; ecologia das doenças, usando conceitos da análise sistêmica e aplicação de conceitos geográficos ao planejamento para a localização e administração de serviços de saúde.

Este quadro de evolução da ciência geográfica apresenta uma tecnologia de grande significado para as pesquisas na área da saúde: o Geoprocessamento (SOUZA, 2005).

Geoprocessamento é um termo amplo, que engloba diversas tecnologias de tratamento e manipulação de dados geográficos, através de programas computacionais. Dentre essas tecnologias, destacam-se: a utilização de Sistemas de Posicionamento Global – GPS e os Sistemas de Informações Geográficas – SIG.

Uma das maneiras de se conhecer mais detalhadamente, as condições de saúde da população, é através de mapas que, permitem observar a distribuição espacial de situações de risco e dos problemas de saúde. A abordagem espacial permite a integração de dados demográficos, socioeconômicos e ambientais, promovendo o interrelacionamento das informações de diversos bancos de dados (BARCELLOS *et al.*, 1998; BARCELLOS & BASTOS, 1996; SUSSER, 1994)

Desde 1993, a Organização Mundial de Saúde e o UNICEF (Fundo das Nações Unidas para a Infância) utilizam o sistema de informações geográficas no projeto de erradicação da dracunculose. Os sistemas de computação utilizados permitem a visualização de focos da doença, o monitoramento de casos novos e a

efetividade das intervenções realizadas. Projetos para o controle de outras doenças também são desenvolvidos, como oncocercose, tracoma, tripanossomíase africana, filariose, poliomielite e malária (WHO, 2008).

No Brasil, o departamento de processamento de imagens do INPE (Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais), em colaboração com outras instituições, também desenvolve projetos como o GeoSchisto que realiza desenvolvimento de modelos de análise, representação e construção de cenários espaciais que permitam a caracterização de fenômenos relacionados à distribuição da esquistossomose em Minas Gerais.

E o projeto SAUDAVEL (Sistema de Apoio Unificado para a Detecção e Acompanhamento em Vigilância Epidemiológica), que busca produzir instrumentos de Tecnologia da Informação Espacial, métodos, algoritmos e produtos de software, para dotar os sistemas de vigilância epidemiológica e de controle de endemias, de capacidade de antecipação, a partir da possibilidade de tratar grandes bases de dados espaço-temporais, com dados dos SIS (Sistema de Informação em Saúde) e com dados caracterizadores da população e de seu lugar (BRASIL, 2008).

Outra iniciativa é o programa de Monitoramento Inteligente do Mosquito da Dengue (M.I. Dengue) desenvolvimento por empresa mineira em colaboração com a Universidade Federal de Minas Gerais (M.I.DENGUE, 2008). Que permite a melhora no monitoramento deste vetor, auxiliando significativamente em seu controle.

As leishmanioses, por sua vez, têm sido estudadas utilizando-se técnicas de Geoprocessamento por vários pesquisadores, como SOUZA *et al.*, (2006) que relacionou a ocorrência das leishmanioses e seus vetores aos parâmetros geográficos do Município de Belo Horizonte, e ANTONIALLI *et al.*, (2006) que, através da análise espacial da ocorrência de LV no Mato Grosso, determinou a rota de dispersão da doença, bem como os fatores a ela relacionados.

*Justificativa*

## 2. Justificativa

A Regional Nordeste foi escolhida para a realização deste trabalho juntamente com as autoridades municipais de saúde de Belo Horizonte (Gerência de Controle de Zoonoses), por apresentar nos últimos cinco anos número significativo de casos humanos de LV (maior média histórica de casos humanos entre as Regionais) e casos de LTA, aliados à alta soroprevalência canina para leishmanioses. Concomitantemente, ao estudo sobre flebotomíneos foi realizado um estudo sobre reservatórios silvestres: Detecção de *Leishmania* sp. em mamíferos domésticos e sinantrópicos, e em seus ectoparasitos na mesma Regional do Município de Belo Horizonte, Minas Gerais/Brasil. Os mamíferos foram coletados nas mesmas áreas em que as armadilhas para coleta de flebotomíneos foram expostas. Ambos estudos foram financiados pela Comunidade Econômica Européia, e fazem parte de um projeto mais amplo que inclui outras Universidades e Centros de Pesquisas da Europa e América Latina: Control Strategies for visceral leishmaniasis (VL) and mucocutaneous leishmaniasis (MCL) in South America: Application of molecular epidemiology.

Segundo ANDRADE FILHO *et al.*, (2001), a enorme adaptabilidade dos flebotomíneos ao ambiente antrópico propicia o aumento do número de casos de leishmanioses. Dessa forma, estudos sobre esses insetos, considerando seus diversos aspectos, são de extrema importância em um país como o Brasil onde as leishmanioses estão em expansão e constituem um sério problema de saúde pública. O estudo detalhado da fauna flebotomínica na Regional Nordeste, bem como a determinação das espécies de *Leishmania* que infectam as mesmas, propiciará um entendimento mais completo da epidemiologia das leishmanioses nesta área.

A Regional Nordeste é prioritária para a vigilância epidemiológica com relação às leishmanioses (SOUZA, 2005). Os resultados do presente estudo poderão ser utilizados para o monitoramento da fauna flebotomínica, e o conhecimento de sua distribuição sazonal permitirá estabelecer medidas de controle mais eficazes e objetivas para controle dos vetores.

Para o controle das leishmanioses é necessário o conhecimento de sua ecologia e epidemiologia, e para a compreensão dessas é fundamental o conhecimento das espécies de *Leishmania* que se encontram nos vetores e reservatórios, que associados às características do ambiente podem permitir a definição de fatores de risco ambiental para a ocorrência da doença. A utilização de técnicas de biologia molecular nesses estudos aumenta sua acurácia (ARANSAY *et al.*, 2000, PITA-PEREIRA *et al.*, 2005).

Os métodos da biologia molecular, apesar de pouco utilizados em estudos de infecção natural em flebotomíneos, são importantes, pela sua maior sensibilidade, quando comparados aos métodos tradicionais de estudo de dessa infecção, podendo melhorar a compreensão das relações existentes entre os vetores e os parasitos, na natureza (PITA-PEREIRA *et al.*, 2005).

Uma vez que as leishmanioses apresentam padrão de distribuição focal, as características dos domicílios e peridomicílios podem propiciar a ocorrência de flebotomíneos, sendo o manejo ambiental preconizado como medida de controle (BRASIL, 2006<sup>B</sup>). A associação das informações sobre a distribuição da fauna e das condições ambientais pode indicar novos caminhos para a profilaxia das leishmanioses.

Como a abordagem espacial permite a integração de dados demográficos, socioeconômicos e ambientais, promovendo o interrelacionamento das informações de diversos bancos de dados (SOUZA *et al.*, 1996), a análise por geoprocessamento dos fatores relacionados à ocorrência das leishmanioses poderá contribuir para a compreensão deste agravo, em uma perspectiva mais ampla.

Dessa forma, é necessário não só conhecer as características do ambiente, caracterizar detalhadamente a fauna flebotomínica, identificar as espécies de *Leishmania* que infectam os vetores, mas também buscar desenhar o perfil geográfico de ocorrência destas variáveis em conjunto com os casos humanos e caninos de leishmanioses.

Uma vez que nenhum campo do saber, ou qualquer categoria de estudo isolada, tem dado conta da pluralidade de fatores implicados no processo

saúde/doença, há a necessidade de esforço conceitual e metodológico para a identificação de recortes mais adequados e de métodos mais sensíveis para apreendê-los concretamente na prática investigativa. Sendo necessárias práticas inter ou trans disciplinares (COSTA & TEIXEIRA 1999).

## OBJETIVOS

### **3. Objetivos**

➤ Objetivo Geral

Caracterizar a fauna flebotomínica e as taxas de infecção por *Leishmania* na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte, Minas Gerais, caracterizando sua infecção natural por *Leishmania* sp. e os aspectos biogeográficos relacionados a mesma.

➤ 'Objetivos específicos

Estudar o padrão de flutuação sazonal das espécies de flebotomíneos na Regional Nordeste;

Isolar e caracterizar as espécies de *Leishmania* presentes nos flebotomíneos da área;

Caracterizar as situações ambientais para a ocorrência de leishmanioses na Regional Nordeste, utilizando análise por geoprocessamento e caracterização dos domicílios onde ocorreram casos de LV.

*Metodologia*

## **4. Metodologia:**

### **4.1. Área de Estudo**

Fundada em 12 de dezembro de 1897, Belo Horizonte foi a primeira cidade planejada do país e tornou-se capital do Estado de Minas Gerais na recém criada República Federativa do Brasil. Nasceu de uma invenção política, com um traçado urbano feito aos moldes de Paris e Washington, onde viveriam 250 mil habitantes. Hoje com 1,4 % do PIB nacional e 2,3 milhões de habitantes, a cidade é o centro de uma região metropolitana de 4,5 milhões de habitantes. O principal pólo de serviços, conhecimento e tecnologia do Estado de Minas Gerais. A cidade é dividida em nove Distritos Sanitários os quais têm definido: espaço geográfico, populacional e administrativo (PBH, 2008) (Figura 1).

Belo Horizonte localiza-se entre as coordenadas 19 55' Sul e 43 57' Oeste, apresenta clima tropical de altitude, com temperatura média anual em torno de 21°C.

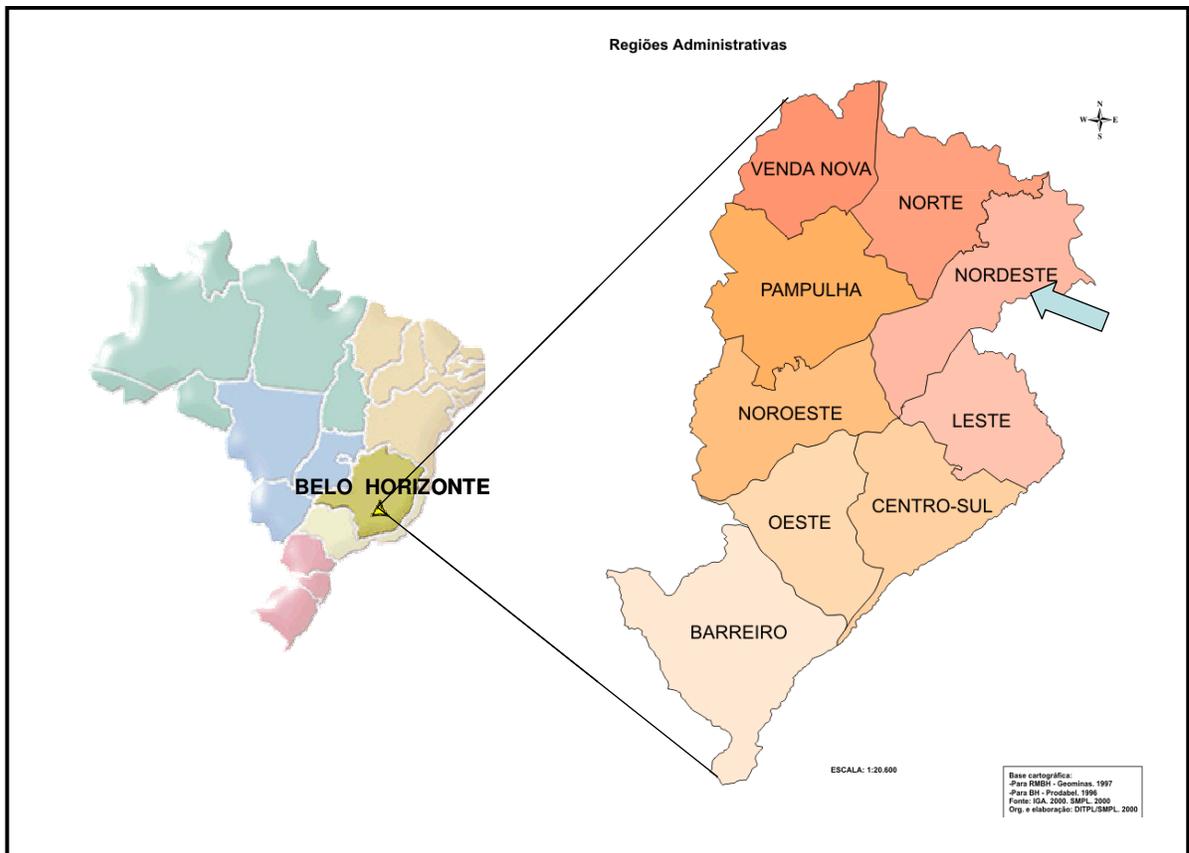
A Regional Nordeste possui uma população de 274.060 habitantes, distribuídos em 69 bairros. Sua extensão territorial é de 39,60 km<sup>2</sup>, sendo 19,46 km<sup>2</sup> de áreas verdes, parte destas localizadas em 17 parques ecológicos. Localiza-se entre as Regionais Leste, Noroeste, Pampulha, Norte e o Município de Sabará (PBH, 2008).

A história da Regional está intimamente ligada à história do antigo Arraial de Belo Horizonte, que possuía extensa área rural. Ocupada por bairros populares a partir da década de 20, a Regional começou a passar pelo processo de industrialização no final dos anos 30 (Figura 2) (PBH, 2008).

Caracteriza-se por grandes diferenças sócio-econômicas em sua população e na sua infra-estrutura sanitária. Cumpre ressaltar que "bolsões de miséria" são encontrados em todos os bairros, existindo áreas com esgoto a céu aberto, lixo acumulado, e aglomerados residenciais do tipo vilas ou invasão dos "sem casa" (PBH, 2008).

A Regional, apesar de localizada em uma grande metrópole, apresenta áreas que podem ser consideradas como rurais, que mantêm

extensas áreas verdes e propriedades com criação de animais. Tais localidades estão majoritariamente no Bairro Ribeiro de Abreu, Capitão Eduardo, Gorduras e Belmonte, que perfazem juntos uma área de 12,75 km<sup>2</sup> de áreas verdes (Figura 3) (PBH 2006).



**FIGURA 1:** Divisão administrativa do Município de Belo Horizonte e sua localização no Estado de Minas Gerais e no Brasil



**FIGURA 2:** Aspecto geral da Regional Nordeste, área urbanizada



**FIGURA 3:** Aspecto geral de um bairro da Regional Nordeste, área verde. Notar armadilha luminosa HP no centro da figura.

## **4.2. Coletas de Flebotomíneos**

### **4.2.1. Métodos de Coleta**

Os flebotomíneos foram coletados utilizando-se os seguintes métodos de coleta:

#### Armadilha luminosa HP

A armadilha luminosa automática HP (PUGEDO *et al.*, 2005) utilizada para coletas noturnas de 12 horas. Trata-se de tecnologia nacional, o modelo da armadilha baseia-se no modelo já consagrado de armadilha CDC (desenvolvida pelo Centers for Disease Control – USA – CDC, 2008). A armadilha HP já foi testada em campo para a captura de flebotomíneos, conforme descrito por PUGEDO *et al.* (2005) (Figura 4).

#### *Armadilha de Shannon*

A armadilha de Shannon (SHANNON, 1939) (Figura 5) utiliza fonte luminosa e/ou isca animal, para atrair os insetos, sendo estes coletados com o capturador manual de Castro. Em nosso estudo utilizamos isca luminosa.

#### Capturador manual de Castro

O Capturador manual de Castro (CASTRO, 1937) é feito utilizando-se um tubo de vidro de cerca de 20 cm de comprimento e um cm de diâmetro, em uma de suas extremidades acopla-se uma tela de cobre com a malha muito fina e um tubo de borracha, por onde se aspira de modo a sugar os insetos para dentro do tubo de vidro (Figura 6).



**FIGURA 4:** Armadilha luminosa HP



**FIGURA 5:** Armadilha luminosa de Shannon



**FIGURA 6:** Capturador Manual de Castro

#### **4.2.2. Metodologia das Coletas**

##### Coletas sistematizadas

As coletas de flebotomíneos com armadilhas luminosas HP foram realizadas em residências onde foram notificados casos humanos de LV, no ano de 2005, e em ambientes de áreas verdes. Os pontos de 1 a 10 e de 14 a 16 mostrados no mapa da figura 7 representam estes locais. Os pontos 11 e 12 representam as áreas verdes.

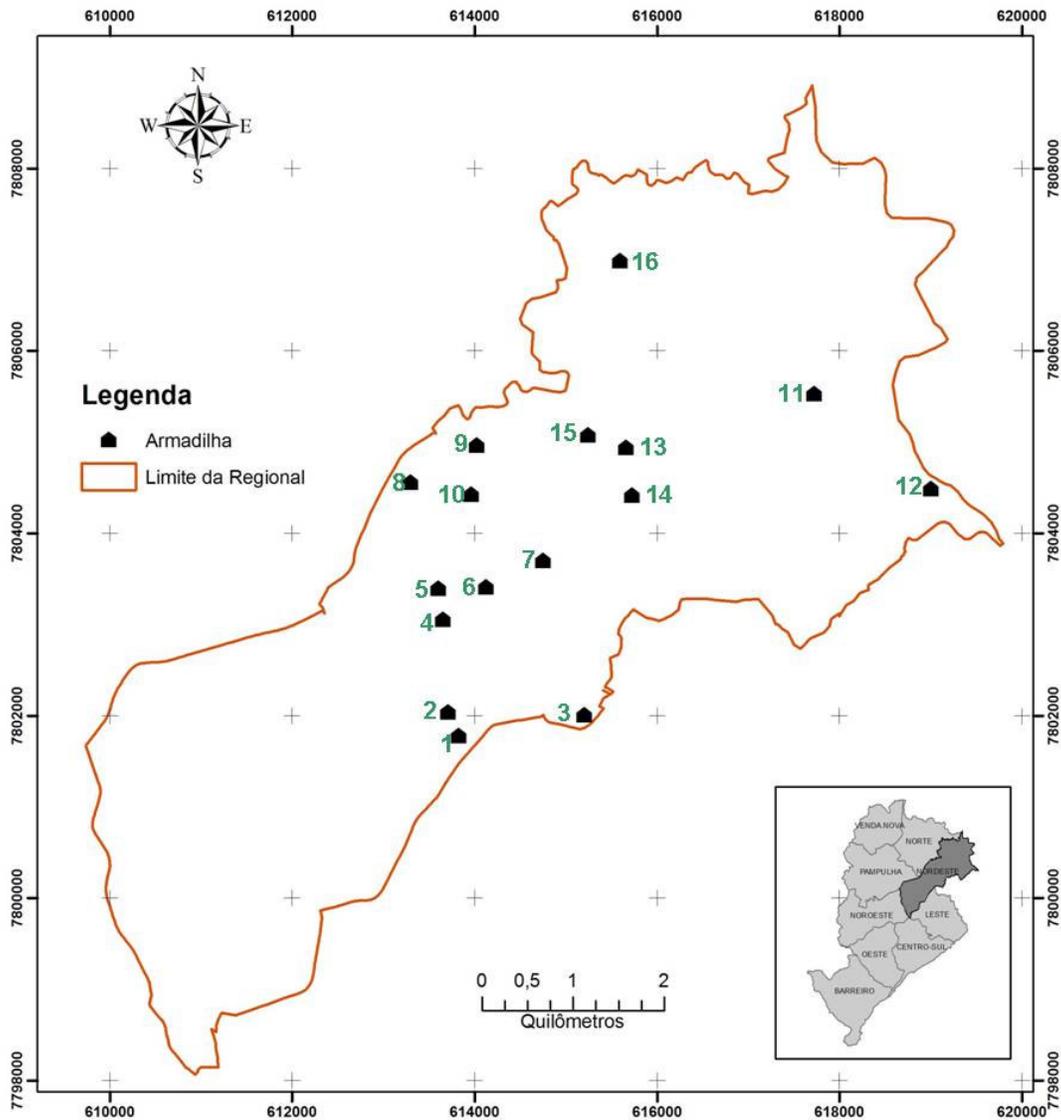
A maioria dos locais de coleta coincidiram com os locais das coletas de roedores silvestres e locais de coleta de material biológico de cães domésticos.

Foram realizadas coletas quinzenais no período de Julho de 2006 a Junho de 2007. Foram expostas 14 armadilhas em ambiente peridomiciliar, e 10 armadilhas em dois fragmentos de áreas verdes (fazendas), sendo cinco por área, totalizando 24 armadilhas luminosas HP (Figura 7). As armadilhas eram expostas de entre 18:00 horas da tarde do primeiro dia e 06:00 horas da manhã do dia seguinte. O esforço amostral para este tipo de coleta foi de 288 horas por armadilha e 6.912 horas no total.

##### Coletas não sistematizadas

Foram realizadas coletas com armadilha de Shannon ao longo do período amostral, sendo feita uma coleta por estação do ano. A escolha dos locais de coleta foi avaliada de acordo com os resultados obtidos com armadilhas luminosas HP, que antecederam as coletas com armadilha de Shannon.

Foram priorizados os locais onde houve coleta de fêmeas positivas para *Leishmania*, bem como as áreas verdes, uma vez que as coletas sistematizadas precederam as com armadilha de Shannon. A coleta realizada na primavera ocorreu no bairro Nazaré e as demais, verão, outono e inverno, ocorreram na Fazenda SL. O esforço amostral para este tipo de coleta foi de 16 horas, sendo quatro horas por coleta, das 18:00 às 22:00 horas. O horário de verão não foi considerado neste estudo.



**FIGURA 7:** Localização da Regional Nordeste no Município de Belo Horizonte, e locais de capturas de flebotomíneos, nessa Regional, no período de julho de 2006 a junho de 2007 – Coletas com armadilha luminosa HP: 1 ao 16. Coletas com armadilha de Shannon: 11 e 13.

Como o número de armadilhas expostas em cada local foi diferente, para a comparação faunística entre eles, foi utilizada a média aritmética do número de flebotomíneos coletados (Quadro 2).

QUADRO 2

Relação dos locais de coleta e número de armadilhas expostas em cada um deles

<b>Localidade de Estudo</b>	<b>Lotes da Localidade, de acordo com numeração da figura 7</b>	<b>Número de armadilhas utilizadas</b>
Bairro Fernão Dias	1, 2	2
Bairro Goiânia	3, 4	2
Bairro Maria Goreti	5	1
Bairro Eymard	6	1
Bairro Pirajá	7	1
Bairro São Gabriel	8, 9,10	3
Fazenda CA*	12	5
Fazenda SL*	11	5
Bairro Nazaré	13, 14	2
Bairro Paulo VI	15	1
Conjunto Ribeiro de Abreu	16	1

\* Códigos de identificação das Fazendas, o nome das mesmas foi mantido em sigilo, por questões éticas.

### **4.3. Processamento e acondicionamento dos flebotomíneos coletados**

#### **4.3.1. Machos**

Todos os espécimes machos coletados foram acondicionados em tubos de hemólise contendo álcool a 70%, e armazenados para posterior preparação, montagem e identificação.

##### **4.3.1.1. Preparação e Montagem dos espécimes**

Os espécimes machos foram preparados e montados de acordo com as técnicas de rotina do Centro de Referência Nacional e Internacional para Flebotomíneos do Instituto René Rachou (CRNIF-IRR).

Resumidamente, as técnicas consistiram em: imersão dos insetos em solução de hidróxido de potássio a 10% por 24 horas, três lavagens de 15 minutos cada, em água destilada, uma passagem de 20 minutos em álcool a 70%, uma passagem de 15 minutos em álcool a 90% e uma passagem, também de 15 minutos, em álcool absoluto. Após estes procedimentos, os

insetos foram imersos por 24 horas, no mínimo, em Creosoto de Faia.

Em seguida, os insetos foram montados entre lâmina e lamínula em Bálsamo do Canadá, com a cabeça voltada para a direita, com a face dorsal voltada para cima, o tórax e o abdômen montados lateralmente, com as pernas e asas distendidas.

#### 4.3.2. Fêmeas

As fêmeas coletadas foram submetidas aos seguintes procedimentos: dissecação, identificação e extração de DNA, para posterior realização de reações em cadeia da polimerase (PCR) e reações de PCR-RFLP (cortes com enzimas de restrição), para pesquisa e identificação de *Leishmania*. O quadro 3, resume o esquema de processamento dos espécimes fêmeas.

#### 4.4. Identificação específica dos flebotomíneos

A identificação específica dos flebotomíneos seguiu a classificação proposta por YOUNG & DUNCAN (1994).

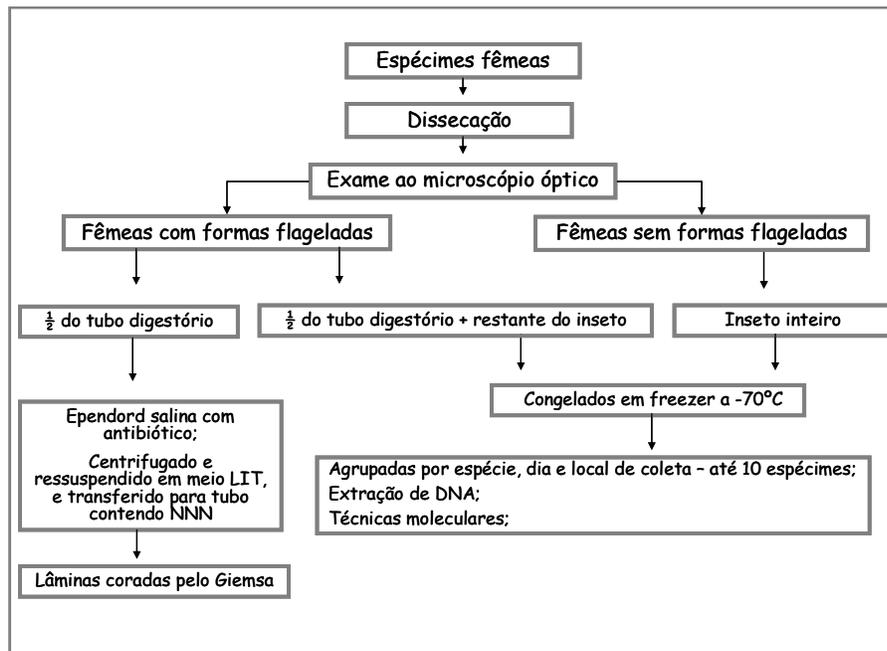


FIGURA 8: Diagrama resumo do processamento realizado com os espécimes fêmeas

#### **4.5. Pesquisa da infecção natural por *Leishmania* sp. nas fêmeas de flebotomíneos**

##### **4.5.1. Dissecação**

A dissecação foi realizada para a pesquisa visual de parasitos e tentativa de isolamento de *Leishmania* spp. em meio de cultura. Neste momento, as fêmeas eram identificadas pelo exame das espermatecas, situadas no último segmento abdominal. Também foram utilizadas as características do cibário, mantendo no momento da dissecação a parte ventral da cabeça voltada para cima.

O tubo digestório dos insetos foi retirado em solução salina estéril com o auxílio de duas seringas de insulina, que eram utilizadas penas uma vez. Tal procedimento foi realizado a partir da cabeça até o final do abdômen, sobre uma lâmina de vidro para microscopia. O material foi recoberto com lamínula para pesquisa de parasitos ao microscópio óptico (GONTIJO, 1989).

Antes da dissecação, para aumentar a probabilidade de isolamento de parasitos em cultura, as fêmeas foram submetidas ao seguinte protocolo (CARVALHO, 1973), com modificações:

Em um tubo Eppendorf as fêmeas foram imersas em solução de micostatin (Squibb) a 100.000 U/ ml por 15 minutos. A seguir, foram imersas em solução aquosa a 1:1000 de cloreto de benzalcônio (Zephiran, Winthrop) durante dois minutos. Após estes procedimentos foram lavadas duas vezes em água destilada estéril. Todos os instrumentos, vidrarias e soluções foram esterilizados e as etapas de emersão e lavagem foram executadas em ambiente asséptico (capela de fluxo laminar). A dissecação foi realizada em salina com antibiótico (50 U/ml de sulfato de amicina).

Metade dos tubos digestivos das fêmeas que se mostraram positivas foi transferida para tubo Eppendorf contendo salina com antibiótico (50 U/ml de sulfato de amicina). Os tubos foram centrifugados a 500xg (microcentrífuga Eppendorf 5415) por cinco minutos e o sobrenadante era

descartado. O material restante foi ressuspenso em cerca de 300  $\mu$ L de meio LIT (Liver Infusion Tryptose) (CAMARGO 1964) e transferido para tubo de ensaio contendo NNN (Meio de Novy, MacNeal e Nicolle 1908), acrescido de meio de LIT. O restante do material foi guardado em eppendorfs e congelado em freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$ , para posterior realização dos métodos moleculares.

As lâminas em que as fêmeas que apresentaram formas flageladas no intestino eram dissecadas, foram coradas pelo Giemsa DOLES conforme técnica do fabricante.

Todas as fêmeas foram congeladas em freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$ , para posterior realização dos métodos de extração de DNA e reações de PCR genérica para *Leishmania* e PCR-RFLP (polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição) para a identificação das espécies: *L. chagasi*, *L. braziliensis* e *L. amazonensis*.

#### **4.5.2. Extração de DNA**

As fêmeas da mesma espécie, provenientes do mesmo dia e ponto de coleta foram processadas individualmente ou em grupos de até dez espécimes, de acordo com o número de espécimes coletados. As fêmeas com presença de sangue no intestino, bem como aquelas com formas flageladas, ao exame microscópico, foram processadas individualmente.

Para a extração do DNA foi utilizado o Kit da Puregene/Gentra – DNA Purification System – Genomic DNA Purification KIT (D-7000A), conforme protocolo do fabricante.

#### **4.5.3. Reação de PCR para avaliar a presença de DNA de flebotomíneos após a extração**

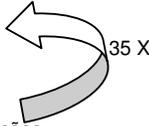
Para avaliar a presença de DNA de flebotomíneos foi realizada uma PCR com os iniciadores [5´-GTGGCCGAACATAATGTTAG-3´ e 5´-CCACGAACAAGTTCAACATC-3´] que amplificam a região IVS6 do gene da cacofonia, constitutivo do gênero *Lutzomyia* (LINS *et al.*, 2002).

As reações foram realizadas com Kit para PCR da Promega – GoTaq Green Master Mix (M1722), utilizando-se 2µL da solução de DNA hidratado de cada amostra, com o seguinte esquema de ciclos de amplificação, o protocolo utilizado foi baseado em PITA –PEREIRA *et al.*, (2005).

QUADRO 3

Ciclos de amplificação da PCR para amplificação de fragmento do gene da cacofonia

Ciclos de Amplificação	
12' – 94°C	desnaturação e ativação enzimática
30" – 94°C	desnaturação
30" – 55°C	anelamento
30" – 72°C	extensão
10' – 72°C	extensão final
4°C –	para finalizar as reações



Dez microlitos de produto amplificado foram corridos em gel de agarose a 2%, corado pelo brometo de etídeo, e visualizados sob luz U.V, em transluminador, e fotografados com câmera Polaroid (SAMBROOK *et al.*, 1989). Em todas as reações foram utilizados controles positivos (DNA de *L. longipalpis* obtidos em colônia cedidos pelo LALEI-IRR) e negativos (reação sem DNA).

#### 4.5.4. Reação de PCR para identificação do gênero *Leishmania*

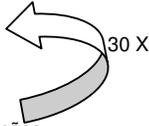
Foram utilizados iniciadores para a região conservada do kDNA de *Leishmania* spp. [5'CCG CCC CTA TTT TAC ACC AAC CCC3', 5'GGC CCA CTA TAT TAC ACC AAC CCC3' e 5'GGG GAG GGG GGT TCT GCG AA3'] (Degrave 1994). O protocolo foi adaptado de PITA –PEREIRA *et al.*, (2005).

Para um volume final de 10µL foram utilizados: 1µL dNTP's, 1µL de tampão da enzima (Applied Biosystem - Roche), 0,6µL de Cloreto de Magnésio (Applied Biosystem - Roche), 0,2 µL de Taq Gold (Applied Biosystem - Roche), 1 µL (5 pmoles) de iniciadores, 5,2µL de água (bidestilada e deionizada) e 1µL de DNA da amostra. O esquema de ciclos de amplificação utilizado foi:

QUADRO 4

Ciclos de amplificação da PCR para amplificação de fragmentos da região conservada do k DNA de *Leishmania* sp.

Ciclos de Amplificação	
4' – 94°C	desnaturação e ativação enzimática
30" – 94°C	desnaturação
30" – 60°C	anelamento
30" – 72°C	extensão
10' – 72°C	extensão final
4°C –	para finalizar as reações



Quatro microlitos de produto amplificado foram corridos em gel de poliacrilamida a 5%, corado pela prata, para visualização dos resultados (SANTOS *et al.*, 1993).

#### 4.5.5. PCR-RFLP (polimorfismos de comprimento dos fragmentos de restrição) para a identificação específica de *Leishmania*

Para a identificação das espécies de *Leishmania* infectando as fêmeas de flebotomíneos foi utilizada uma reação de PCR-RFLP.

O kDNA das espécies *L. amazonensis*, *L. braziliensis* e *L. chagasi* apresentam seqüências suficientemente distintas para serem utilizadas na separação entre essas espécies. Segundo VOLPINI (2003), a digestão com a endonuclease Hae III distingue entre essas três espécies de *Leishmania*. As demais espécies foram identificadas apenas ao nível de gênero.

Utilizamos protocolo de acordo com os descritos por VOLPINI (2003) e ANDRADE *et al.* (2006) resumidamente: para um volume final de 10µL de reação foram utilizados 5µL de produto amplificado da reação de PCR descrita acima, 0,1 µL de endonuclease Hae III (1U/µL), 1µL de tampão da enzima e 3,9 µL de água (bidestilada e deionizada).

Os tubos com os reagentes foram incubados por três horas a 37°C, em banho maria. Os resultados das reações foram visualizados em gel de poliacrilamida a 10% corado pela prata (SANTOS *et al.*, 1993).

#### **4.5.6. Hibridização de produtos de PCR (DOT-BLOT)**

A maioria das amostras foi caracterizada como *L.chagasi* utilizando as análises de PCR-RFLP, para a confirmação destes resultados foi realizada a técnica de hibridização de produtos de PCR. Os protocolos foram baseados em ANDRADE *et al.*, (2001).

Resumidamente a técnica consiste na desnaturação de 10µL de produto amplificado do fragmento de interesse (no caso o fragmento de 120 pb de *Leishmania* sp.). Para tal, as amostras foram acrescidas de 90µ L de água destilada e mantidas por três minutos a 100°C e transferidas para o gelo. Após este processo foram acrescidos 11µ L de solução de 4N NaOH por amostra. Após este processo, as amostras foram aplicadas em uma membrana de nylon (Amersham: Hybond N plus; NEN, Gene Screen Plus, Gelman, biotrace), através do processo de dot-blot. A membrana foi hibridizada com o minicírculo clonado de *L. chagasi*, utilizado como sonda, marcada com fósforo radioativo  $^{32}\text{P}\{\alpha\}$ DCTP através do sistema: Random Primer DNA Labeling System (Gibco BRL). As membranas foram secadas e expostas a autoradiografia a -70°C, segundo os autores acima.

#### **4.6. Inferência da taxa de infecção natural**

Considerando-se os agrupamentos de espécimes, dada a impossibilidade de se saber a real taxa de infecção natural para cada um, foi considerado que pelo menos um dos exemplares estava infectado. As taxas de infecção natural foram calculadas com base neste critério.

#### **4.7. Caracterização ambiental das residências**

Para a caracterização dos locais de estudo, foi utilizada uma ficha (Apêndice 1) baseada no estudo de MORENO (2002). O preenchimento das fichas foi realizado por uma dupla de profissionais previamente treinados, com um morador adulto das residências dos locais em que as armadilhas

foram instaladas.

As fichas de caracterização apresentavam questões tanto sobre as casas como sobre os peridomicílios. A avaliação dos parâmetros considerados foi restrita à presença/ausência dos mesmos, sendo as análises descritivas. Em relação à estrutura das casas, alguns indicadores da condição sócio econômica foram avaliados: tipo de parede, tipo de piso, tipo de teto, condição do banheiro e instalação sanitária da casa.

Estes indicadores foram relacionados à ocorrência de flebotomíneos, pois as condições das paredes, pisos e tetos das casas podem criar abrigos para este grupo de insetos, uma vez que paredes sem reboco, rachaduras, buracos, infiltração, tetos apenas de telha ou apenas de laje, e piso de terra batida aumentam a umidade no interior das casas e favorecem a existência de abrigos. A ocorrência de mofo foi considerada fator indicativo de alta umidade.

Quanto aos peridomicílios, foi realizada uma classificação avaliando os aspectos referentes à limpeza e cuidado, inferidos a partir da caracterização. Além de condições que conhecidamente podem favorecer a ocorrência de flebotomíneos, foram avaliadas condições que também podem facilitar a ocorrência de outros agravos urbanos.

Os indicadores utilizados foram os presentes nos itens 12,13 e 14 da ficha de caracterização e estão resumidos no quadro 4 tais definições são embasadas pelos Manuais de Controle das Leishmanioses (BRASIL 2006, BRASIL 2002<sup>A</sup>, BRASIL 2002<sup>B</sup>).

## QUADRO 5

Características que foram pesquisadas nos peridomicílios e que podem estar relacionadas com a ocorrência de flebotomíneos

Características dos peridomicílios que podem relacionar-se à ocorrência de flebotomíneos	Condição que tais características podem propiciar
Árvores	Abrigo e Criadouros
Plantas e hortas	Criadouros
Madeira empilhada	Criadouros
Entulho	Abrigo e Criadouros
Lixo não acondicionado	Criadouros
Montes de folhas e troncos podres	Criadouros
Esterco	Criadouros
Esgoto a céu aberto	Criadouros
Canais de águas pluviais	Criadouros
Animais domésticos	Fontes de alimento

Para avaliar o cuidado e limpeza consideramos: a presença de madeira e entulho empilhados, de lixo doméstico não acondicionado e montes de folhas.

A análise dos dados foi descritiva e restrita a este pequeno grupo, sem a realização de inferências para a população da Regional como um todo. Todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice 2) atestando a sua vontade de participar da pesquisa, podendo se retirar do projeto a qualquer momento que quisesse.

Também foi realizado o registro fotográfico dos ambientes, e a análise do entorno de cada local estudado, através do GoogleMaps. Foram verificadas as imagens em escala de 50 metros, a uma altura de 200 pés (60,96 metros) de altura, os pontos de estudo foram centralizados em cada visualização. Esta análise buscou identificar áreas verdes e lotes arborizados no entorno dos pontos de estudo.

Para diferenciação entre lotes e áreas verdes foram considerados os limites das áreas dos locais e as áreas que ultrapassavam os limites de lotes foram consideradas áreas verdes. As imagens utilizadas não são mostradas em respeito aos termos de uso do GoogleMaps, que não autoriza a exibição pública delas, bem como sua manipulação em outros softwares (GOOGLE, 2008).

#### **4.8. Análise por Geoprocessamento**

Para a análise por Geoprocessamento utilizamos metodologia semelhante à utilizada por SOUZA (2005), em estudo entomológico e biogeográfico no Município de Belo Horizonte.

Através das seguintes etapas:

- Georreferenciamento dos casos humanos e caninos de leishmaniose ocorridos no período de julho de 2006 a junho de 2007 no município de Belo Horizonte. Dados que foram fornecidos pela Secretaria de Saúde do Município de Belo Horizonte (Figuras 7 e 8).
- Georreferenciamento dos domicílios participantes da pesquisa e organização do banco de dados referentes à pesquisa entomológica (Figura 6).
- Análise conjunta utilizando mapas temáticos relacionados à biogeografia de Belo Horizonte.

Os mapas utilizados foram: das áreas de vegetação, da área de influência dos cursos d'água a céu aberto, áreas de vilas e aglomerados urbanos e de hipsometria. Estes foram cedidos pela Empresa de Informática e Informação do Município de Belo Horizonte S.A. (PRODABEL) (Figuras 9 a 12).

- Análise conjunta dos dados utilizando softwares compatíveis.

##### **4.8.1. Banco de dados humano**

Este banco refere-se a todos casos notificados de LV e LTA no Município de Belo Horizonte pelo setor de Epidemiologia e Informação.

Não houve notificação de casos de LTA na Regional Nordeste no período de estudo. Foram notificados 23 casos de LV nos anos de 2006 e 2007, mas no período de estudo (de julho de 2006 a junho de 2007) 10 casos foram notificados e georreferenciados.

#### **4.8.2. Banco de dados caninos**

Este banco refere-se a todos os cães sorologicamente positivos para a infecção por *Leishmania*, com exames realizados pelo Laboratório do Centro de Controle de Zoonoses da PBH. As técnicas utilizadas são a RIFI (Reação de Imunofluorescência Indireta) e ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), sendo a primeira o padrão ouro e a segunda a técnica de triagem.

Cada cão examinado pela prefeitura possui um boletim epidemiológico que foi preenchido e digitado nas Regionais, o qual possui informações tais como: data de ocorrência do caso, endereço da residência, número de nome e número do logradouro, entre outros. Através dos dados dos logradouros foram feitos os georreferenciamentos dos casos caninos nas bases de dados de endereços da PBH.

Em nosso período de estudo foram registrados na Regional Nordeste 2041 cães sorologicamente positivos e 1736 foram georreferenciados. Esta perda deve-se a diversos tipos de falhas existentes no sistema da PBH como: endereço não georreferenciados e nome ou número de logradouros digitados incorretamente.

#### **4.8.3. Banco de dados entomológicos para análise das espécies vetoras**

Foi criado um banco de dados de todas as espécies vetoras, com os respectivos locais de coleta. Este banco foi composto por um código para cada local, as coordenadas do mesmo e o total de espécies vetoras coletadas.

As espécies implicadas na transmissão de *Leishmania* coletadas em nosso estudo (*L. longipalpis*, *L. whitmani* e *L. intermedia*) foram analisadas conjuntamente para a realização de uma análise mais robusta, uma vez que foram coletados poucos exemplares de cada espécie.

#### **4.8.4. Georreferenciamento**

O georreferenciamento de todas as bases tanto cartográficas, como as referentes à ocorrência dos vetores e casos de leishmaniose visceral foi realizado através da associação ao sistema de coordenadas planas UTM D (South American Datum) 69, que permitiu a associação de mapas distintos. O sistema SAD 69 foi adotado em 1979, como o de referência para trabalhos geodésicos e cartográficos no Brasil.

As coordenadas dos pontos de coleta entomológica foram colhidas com o aparelho de Sistema de Posicionamento Global (GPS - Garmin-eTrex), durante as visitas de campo.

As bases tabuladas cedidas pela Secretaria Municipal de Saúde apresentavam os nomes e os códigos de logradouros, a geocodificação foi realizada pela PRODABEL para obtenção das coordenadas dos pontos de casos humanos e caninos de Leishmaniose. Quando a base não possuía as coordenadas do endereço do caso foram utilizadas as coordenadas dos vizinhos.

Houve perda de registros de casos caninos de leishmaniose (305), mas este fator foge de nossa governabilidade e é um problema do sistema de informação da PBH, que ainda se encontra em construção e passa por processos de correção diariamente.

O mapeamento de todas as bases de dados foi realizado através do Software MapInfo 8.5 para Windows (Figuras 8 e 9).

#### **4.8.5. Tratamento prévio dos mapas temáticos da Regional Nordeste**

Para que as análises fossem possíveis, todos os componentes vetoriais dos mapas foram convertidos em componentes de formato do tipo *Raster* (pixels, imagem) que possibilitam maior interação entre as variáveis geográficas. Este processo foi realizado no ArcGis 9.2, o qual permitiu a geração de relatórios que estabeleceram correlações entre os dados analisados.

*Mapa de Vegetação*

O mapa foi cedido pela PRODABEL, do ano de 2007, em extensão .TAB do MapInfo. Foi realizada uma classificação no ArcGis 9.2 com o seguinte parâmetro:

0: ausência de vegetação, branco;

1: presença de vegetação, verde.

Este mapa apresenta as áreas verdes de maior extensão e os parques da Regional, sem considerar a vegetação presente em quintais (Figura 10).

*Mapa de Cursos d'água a céu aberto*

O mapa cedido pela PRODABEL, do ano de 1995, em extensão .TAB do MapInfo e representa apenas os cursos d'água a céu aberto.

Foi criada, no Software ArcGis 9.2 uma área de influência de 50 metros de cada lado dos cursos d'água. A classificação teve o seguinte parâmetro:

0: fora da área de influência do curso d'água, branco;

1: curso d'água ou área de influência do curso d'água, azul;

(Figura 11).

*Mapa de Vilas e aglomerados urbanos*

O mapa cedido pela PRODABEL, do ano de 2006, em extensão .TAB do MapInfo e representa as áreas de vilas e aglomerados da Regional, segundo critério da própria PBH. Foi realizada uma classificação no ArcGis 9.2 com o seguinte parâmetro:

0: fora de áreas de vilas e aglomerados, branco;

1: área de vilas e aglomerados, laranja;

(Figura 12).

*Mapa de Hipsometria*

O mapa cedido pela PRODABEL, do ano de 1989, em extensão .TAB do MapInfo, e representava as curvas de nível da Regional. Através do ArcGis 9.2 foi feita a classificação das faixas altimétricas: abaixo de 700m,

entre 701m e 750m, entre 751m e 800m, entre 801m e 850m, entre 851m e 900, e acima de 901m, representadas no mapa por um “dégradé” de tons de marrom (Figura 13).

#### **4.9. Análises dos mapas - Assinaturas**

Os mapas foram comparados conjuntamente através da sobreposição deles, procedimento chamado assinatura. Os mapas de casos caninos, casos humanos e fauna flebotomínica foram confrontados com todos os mapas temáticos da Regional e entre si.

Em todos os mapas foi realizado um gradeamento de 20mX20m; o tamanho desta célula foi estipulado de acordo com o tamanho de um lote grande no Município de Belo Horizonte, 400m<sup>2</sup>.

Essa metodologia possibilitou a análise vertical do conteúdo das células em todos os mapas sobrepostos.

O gradeamento foi realizado no MapInfo (8.5) e a análise de sobreposição no ArcGis 9.2.

Além dos mapas comparativos, foram gerados mapas de densidade de casos caninos e de ocorrência de flebotomíneos vetores. O pequeno número de casos humanos de LV inviabilizou a construção deste tipo de mapa para esta variável.

#### **Mapa de casos caninos de Leishmaniose**

O mapa de ocorrência de casos caninos, já em formato *Raster*, foi submetido a uma metodologia de filtro de média, do software ArcGis, que gera uma média móvel de 3x3 *pixels*. Este quadrado de *pixels* percorre todo mapa gerando médias a cada *pixel* de acordo com o valor dos *pixels* do entorno, assim são atribuídos valores aos *pixels*, que representam a variável estudada.

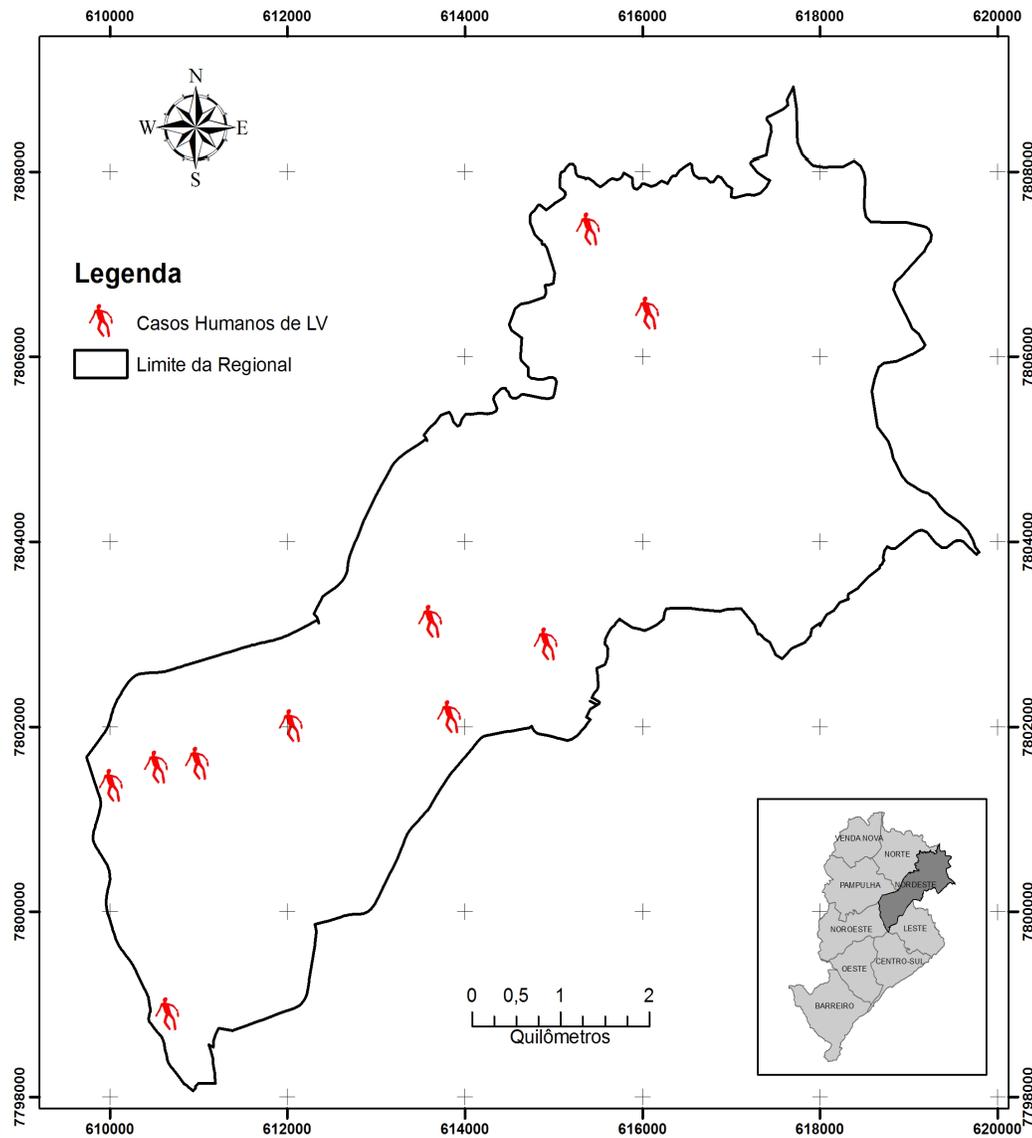
A classificação das médias de ocorrências de casos na regional seguiu o seguinte parâmetro: até 1: média de ocorrência de 0 a 1 caso em cada *pixel*, de 1 a 2: média de ocorrência de 1 a 2 casos em cada *pixel*, e 2 a 3: média de ocorrência de 2 a 3 casos em cada *pixel*.

### **Mapa de ocorrência de flebotomíneos vetores**

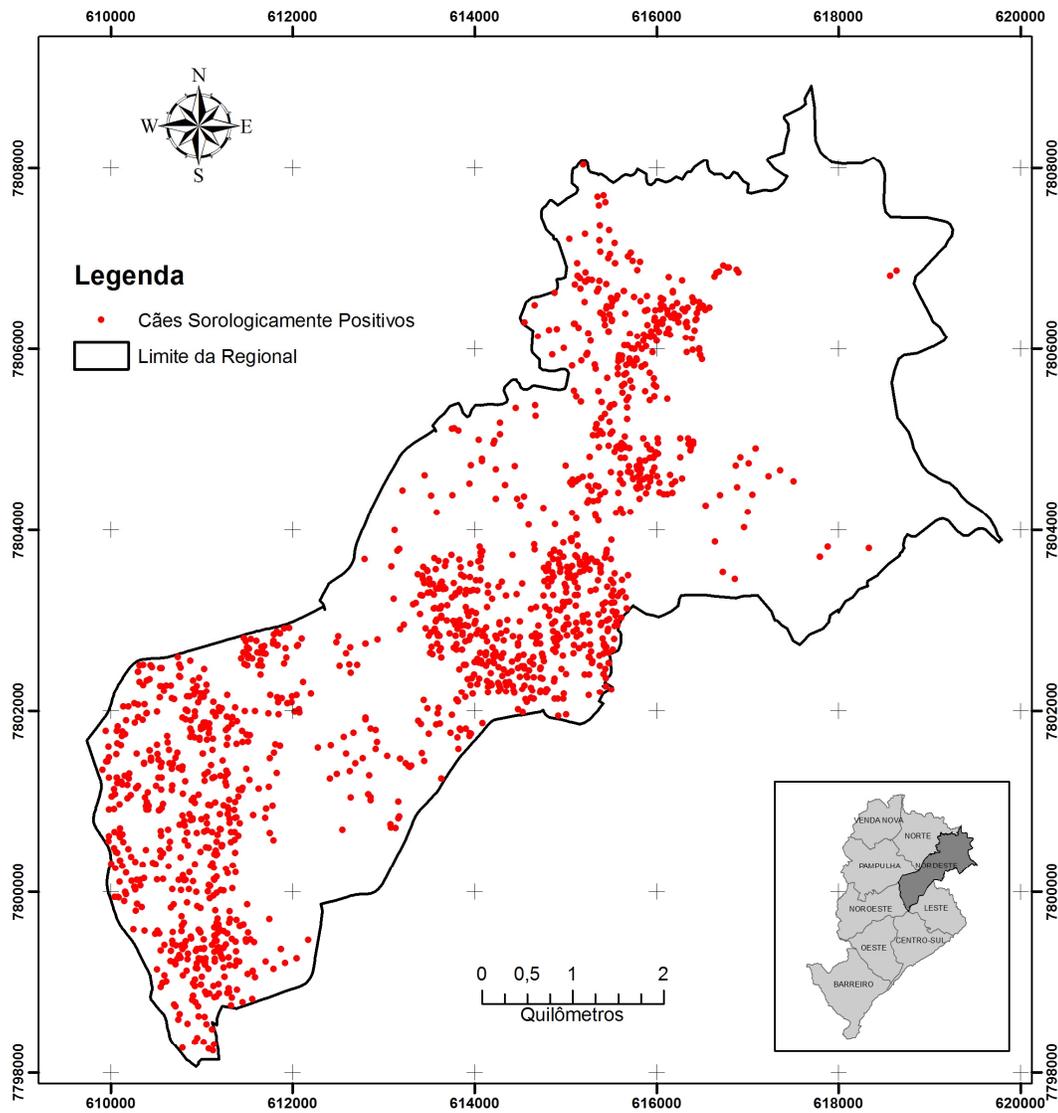
O mapa de distribuição de vetores foi montado a partir dos pontos de coleta entomológica, considerando-se o total de espécies vetoras capturadas em cada ponto durante o período de estudo. Para as fazendas, onde eram expostas cinco armadilhas, foi utilizada a média do número de flebotomíneos coletados em todas as armadilhas.

Usou-se o modelo de interpolação com peso inverso à distância no software ArcGIS 9.2. Este método calcula a área de influência de um evento de forma proporcionalmente inversa à distância do ponto de ocorrência dele.

Como a escolha dos pontos de coleta não foi aleatória e não cobriu toda a área da Regional, pois se baseou nos locais de ocorrência de casos humanos de leishmaniose visceral no ano de 2005, esta metodologia não pode considerar a distribuição da fauna de vetores da regional como um todo, trata-se de uma análise exploratória que descreve um evento referente a local e tempo determinados.



**FIGURA 9:** Georreferenciamento de casos humanos de leishmaniose visceral, notificados pela Gerência de Epidemiologia e Informação da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, na Regional Nordeste, no período de julho de 2006 a junho de 2007



**FIGURA 10:** Georreferenciamento de casos de leishmaniose canina na Regional Nordeste, soropositivos pelos métodos de RIFI e ELISA realizados pelo Laboratório do Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

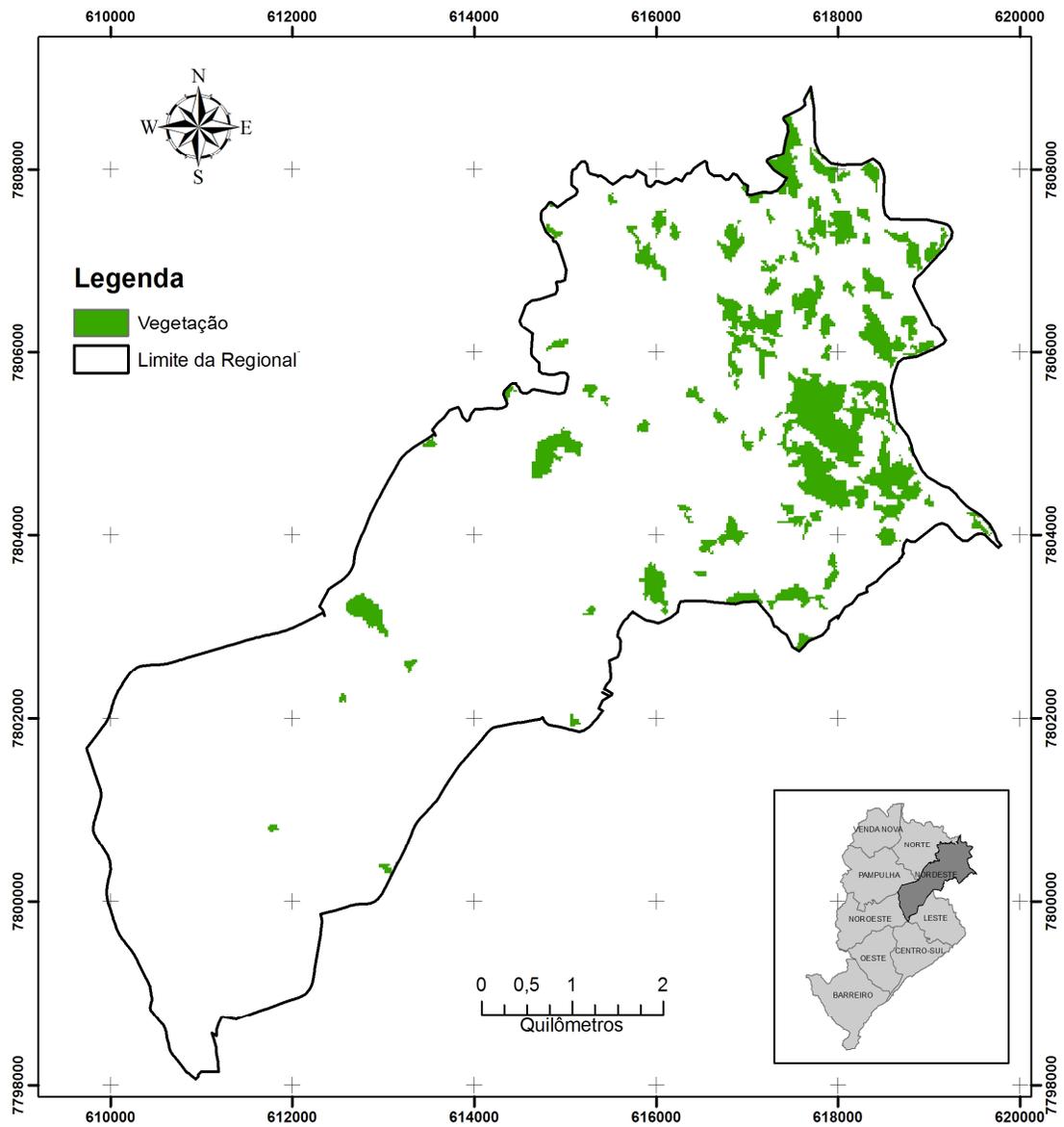
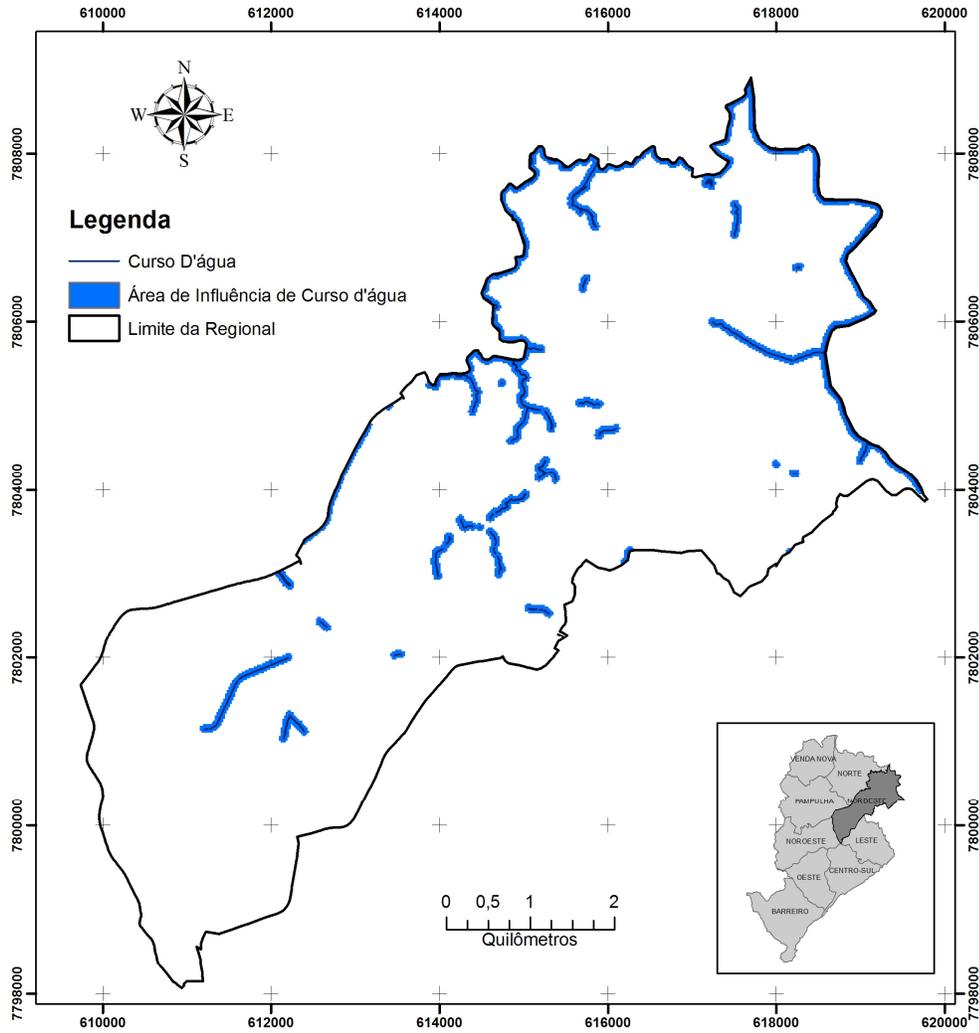


FIGURA 11: Mapa das áreas verdes da Regional Nordeste, PRODABEL 2007.



**FIGURA 12:** Mapa dos Cursos d'água a céu aberto da Regional Nordeste, PRODABEL 1995.

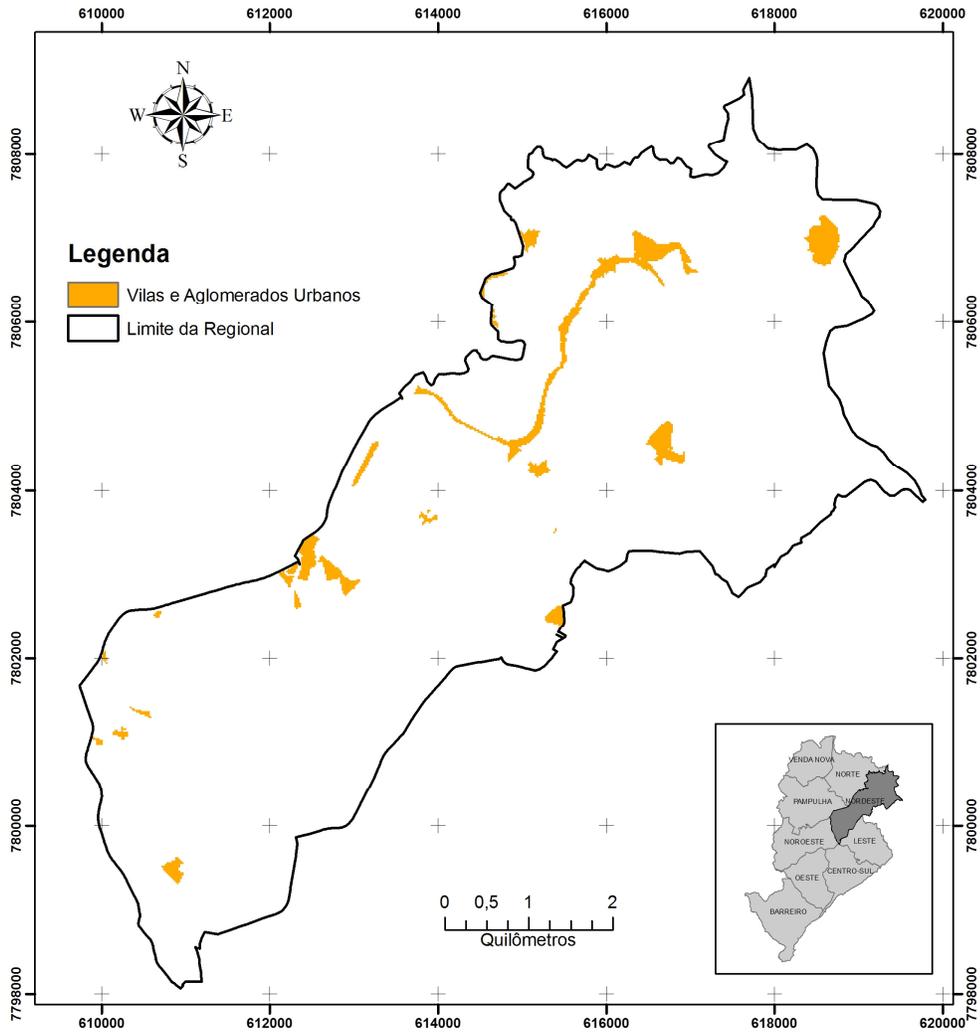


FIGURA 13: Mapa das Vilas e aglomerados urbanos da Regional Nordeste, PRODABEL 2006

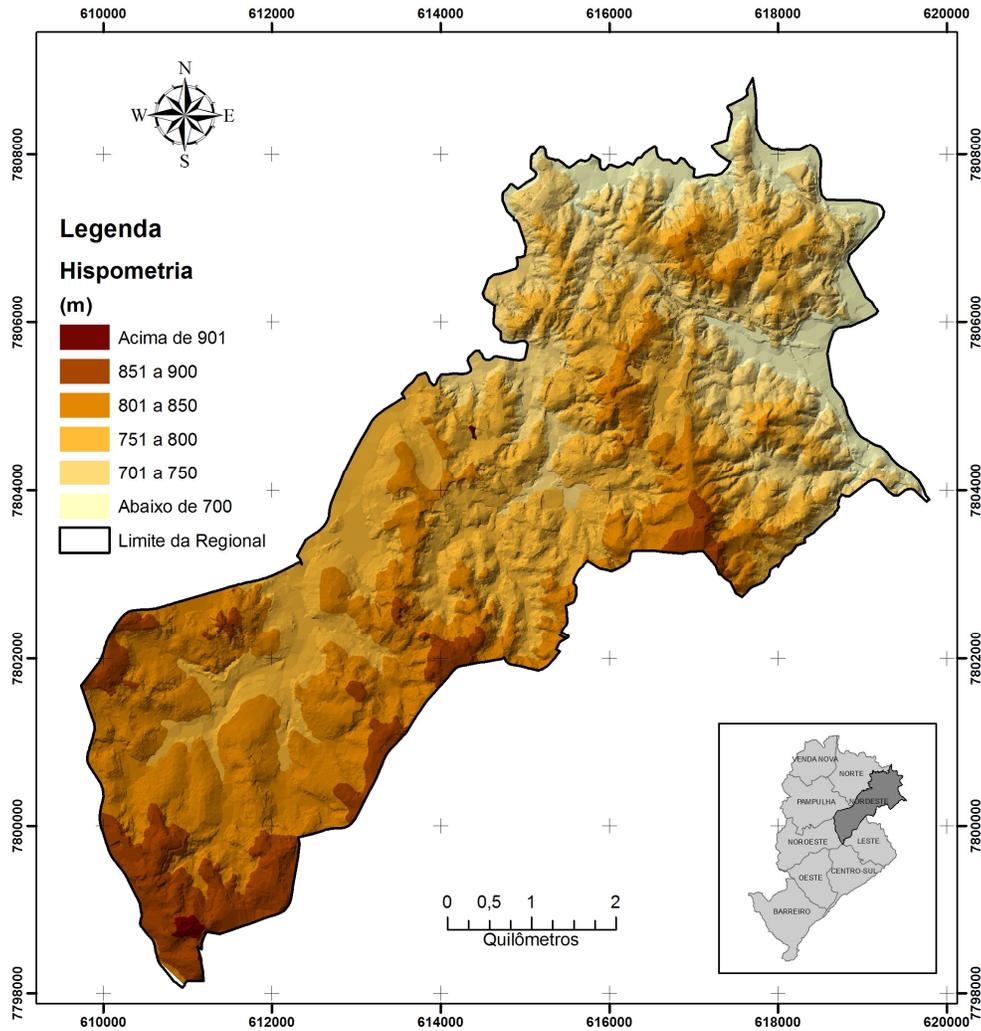


FIGURA 14: Mapa hipsométrico da Regional Nordeste, PRODABEL 1989.

#### **4.9. Análise de Resultados**

Os dados foram organizados em planilhas e as análises descritivas foram registradas no programa Microsoft Excel (Office 2003).

Para as análises estatísticas, utilizou-se os programas Graph Pad Prisma 4.0 e GraphPad Instat. Como as variáveis não apresentaram distribuição normal foram utilizados apenas testes não paramétricos tanto para a comparação entre as localidades e lotes de coleta como para a avaliar a correlação entre a curva sazonal de flebotomíneos e os parâmetros climáticos. Os testes utilizados foram:

- Kruskal-Wallis seguido pelo teste Dunn para a comparação entre mais de dois grupos,
- Mann-Whitney para a comparação entre dois grupos,
- Coeficiente de Pearson para avaliar a correlação entre os parâmetros climáticos e a curva sazonal de flebotomíneos;
- Qui-quadrado para a comparação de proporções.

Para as análises das fichas de caracterização foram empregados os programas Epidata 3.1 e EpiInfo 3.4.1 e para as análises de Geoprocessamento os programas: MapInfo 8.5, e ArcGis 9.2.

Os dados climatológicos avaliados neste estudo foram obtidos junto ao Ministério da Agricultura e Abastecimento, Instituto Nacional de Meteorológica, 5º Distrito de Meteorologia (DISNE) – Belo Horizonte, MG.

#### **4.10. Aprovação por Comitês de Ética**

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Minas Gerais, parecer nº: **ETIC 154/07** e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, parecer n.º: **072/2007**. Nos anexos 1 e 2.

#### **4.11. Aproveitamento dos resultados pelo setor público – Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, Regional Nordeste.**

Após a defesa da dissertação será entregue um relatório detalhado à Secretaria da Regional Nordeste. Provavelmente, as informações deste trabalho poderão subsidiar melhores estratégias de controle das leishmanioses na Regional.

## Resultados

*“E se o conhecer do mundo pelo homem é verdadeiro ou falso, disse ele. Pouco importa sejam verdadeiros ou falsos as hipóteses, a fé, o cálculo, desde que descrevam e reproduzam o que tem existência, que eu não temesse as contradições...”*

Ana Miranda

## 5. Resultados

### 5.1. Estudo da Fauna Flebotomínica

#### 5.1.1. Coletas com armadilhas luminosas HP

Foram coletadas nove espécies de flebotomíneos, todas pertencentes ao gênero *Lutzomyia*. Sendo elas: *Lutzomyia cortellezzi* (Brèthes, 1923), *Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia* (Lutz & Neiva, 1912), *Lutzomyia lenti* (Mangabeira, 1938), *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912), *Lutzomyia (Psathyromyia) lutziana* (Costa Lima, 1932), *Lutzomyia (Psychodopygus) lloydii*, (Antunes, 1937) *Lutzomyia sallesi* (Galvão & Coutinho, 1939), *Lutzomyia termitophila* (Martins, Falcão & Silva, 1964) e *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) (Tabela 1).

As fêmeas das espécies *L. sallesi* e *L. cortellezzi* foram identificadas como pertencentes ao complexo *cortellezzi*. Tal procedimento foi adotado, porque essas são indistinguíveis ao estudo morfológico, a identificação é possível apenas em associação com os machos (ANDRADE FILHO comunicação pessoal).

Como em nosso estudo foram coletados machos das duas espécies optamos pela denominação acima referida.

TABELA 1  
Total de espécies de flebotomíneos coletados na Regional Nordeste, Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007

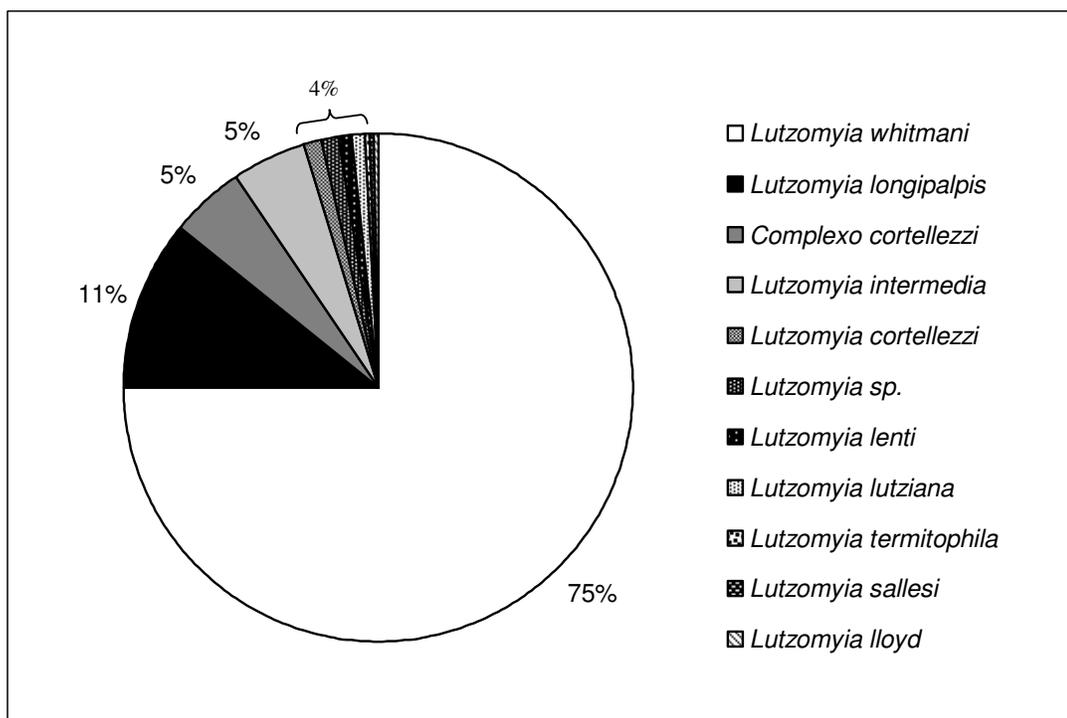
Espécies Coletadas	Números absolutos		
	Machos	Fêmeas	Total
Complexo <i>cortellezzi</i>	0	31	31
<i>Lutzomyia cortellezzi</i>	7	0	7
<i>Lutzomyia intermedia</i>	22	7	29
<i>Lutzomyia lenti</i>	5	1	6
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	47	21	68
<i>Luzomyia lloydii</i>	1	0	1
<i>Lutzomyia lutziana</i>	2	2	4
<i>Lutzomyia sallesi</i>	2	0	2
<i>Lutzomyia termitophila</i>	0	3	3
<i>Lutzomyia whitmani</i>	294	181	475
<i>Lutzomyia sp.</i>	7	0	7
<b>Total</b>	<b>387</b>	<b>246</b>	<b>633</b>

A tabela 2 e o gráfico 1 mostram a composição percentual da fauna flebotomínica da Regional Nordeste, durante o ano de estudo.

TABELA 2

Freqüência relativa das espécies de flebotomíneos coletadas na Regional Nordeste Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

Espécies Coletadas	Freqüência Relativa por espécie e sexo (%)		
	Machos	Fêmeas	Total
<i>Lutzomyia whitmani</i>	46,40	28,60	<b>75,00</b>
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	7,40	3,30	<b>10,70</b>
Complexo <i>cortellezzi</i>	0,00	4,90	<b>4,90</b>
<i>Lutzomyia intermedia</i>	3,50	1,100	<b>4,60</b>
<i>Lutzomyia lenti</i>	0,80	0,15	<b>0,95</b>
<i>Lutzomyia cortellezzi</i>	1,10	0,00	<b>1,10</b>
<i>Lutzomyia sp.</i>	1,10	0,00	<b>1,10</b>
<i>Lutzomyia lutziana</i>	0,32	0,30	<b>0,62</b>
<i>Lutzomyia termitophila</i>	0,00	0,50	<b>0,50</b>
<i>Lutzomyia sallesi</i>	0,32	0,00	<b>0,32</b>
<i>Lutzomyia lloyd</i>	0,16	0,00	<b>0,16</b>
Total	<b>61,00</b>	<b>39,00</b>	<b>100,00</b>



**GRÁFICO 1:** Porcentagem de flebotomíneos, por espécie, coletados na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte-MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

Conforme apresentado na tabela 2 e no gráfico 1, a espécie *L. whitmani* correspondeu a 75% do total de espécimes coletados, *L. longipalpis* correspondeu a 11 %, as fêmeas do complexo *cortelezzi* a 4,9%, *L. intermedia* a 4,6% e as demais espécies juntas a 4,5%.

Considerando-se a relação entre espécimes machos e fêmeas 61% dos espécimes coletados eram machos e 39% fêmeas.

Conforme apresentado na tabela 3 e no gráfico 2, nenhuma das espécies foi encontrada em todas as localidades de estudo. As espécies *L. whitmani* e *L. longipalpis* foram encontradas em 10 das 11 localidades. As espécies *L. lenti* e *L. lloydii* foram encontradas em apenas uma das localidades (Tabela 3, Gráfico 2).

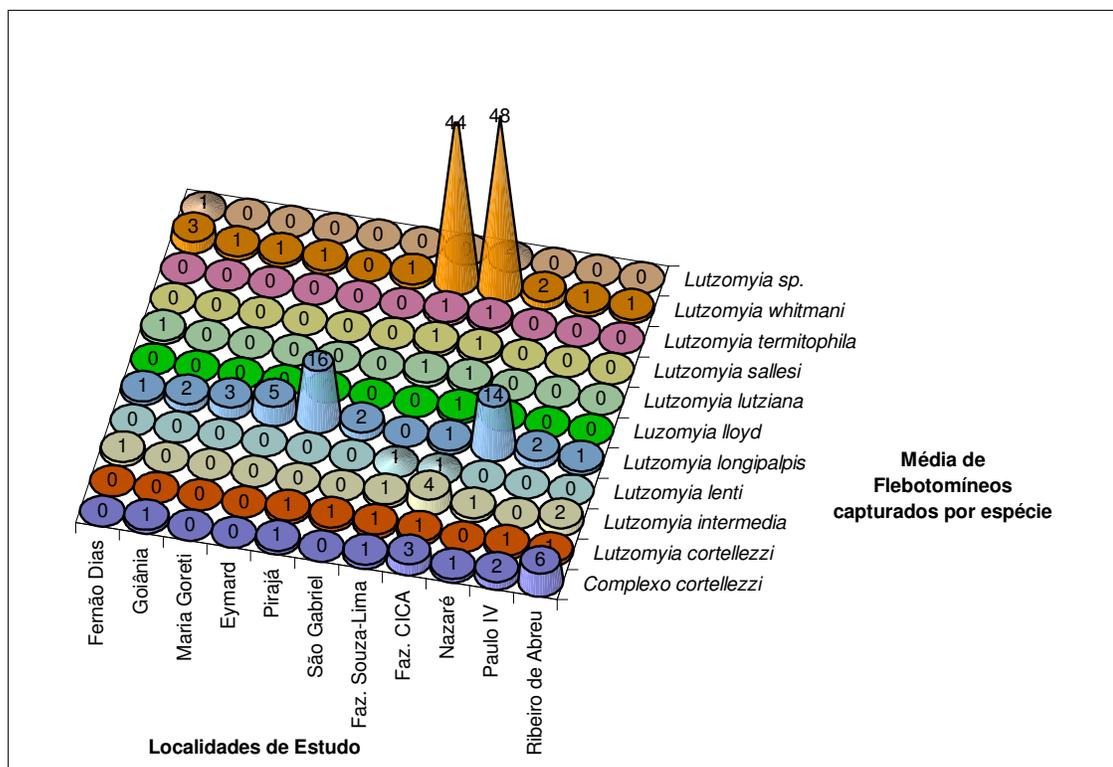
As fazendas apresentaram maior riqueza específica do que as localidades de área urbana. Na fazenda SL foram coletadas sete diferentes espécies e na CA nove espécies, este foi o único local de estudo para o qual todas as espécies relatadas foram coletadas.

As localidades urbanas apresentaram riqueza de no máximo quatro espécies e *L. longipalpis* foi registrada em todas elas, pelo menos uma vez.

TABELA 3

Média de Flebotomíneos coletados, por localidade de estudo, na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte/MG, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

Espécies Coletadas	Localidades de Estudo										
	Fernão Dias	Goiânia	Maria Goreti	Eymard	Pirajá	São Gabriel	Faz. SL	Faz. CA	Nazaré	Paulo IV	Ribeiro de Abreu
<b>Complexo <i>cortellezzi</i></b>	0	1	0	0	1	0	1	3	1	2	6
<i>Lutzomyia cortellezzi</i>	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1
<i>Lutzomyia intermedia</i>	1	0	0	0	0	0	1	4	1	0	2
<i>Lutzomyia lenti</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	1	2	3	5	16	2	0	1	14	2	1
<i>Lutzomyia lloydii</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Lutzomyia lutziana</i>	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
<i>Lutzomyia sallesi</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
<i>Lutzomyia termitophila</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
<i>Lutzomyia whitmani</i>	3	1	1	1	0	1	44	48	2	1	1
<i>Lutzomyia sp.</i>	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0



**GRÁFICO 2:** Média de Flebotomíneos coletados, por localidade de estudo, na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte/MG, no período de julho de 2006 a junho de 2007

A tabela 4 compara as localidades de estudo agrupadas por áreas verdes e urbanas. Dos 633 espécimes coletados apenas 16% foram coletados em ambiente urbano e 84% em ambiente rural.

TABELA 4

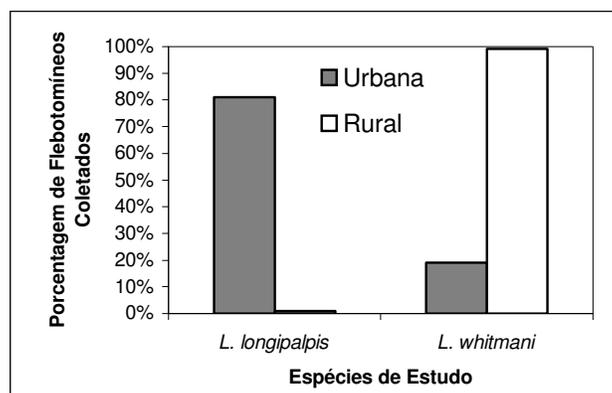
Comparação dos números de flebotomíneos por espécie, coletados nos ambientes urbanos e áreas verdes da Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

Espécies Coletadas	Ambiente de Estudo			
	Urbano		Área Verde	
	Nº absoluto	Nº relativo (%)	Nº absoluto	Nº relativo (%)
Complexo <i>cortellezzi</i>	13	12,75	18	3,39
<i>Lutzomyia cortellezzi</i>	4	3,92	3	0,56
<i>Lutzomyia intermedia</i>	4	3,92	25	4,71
<i>Lutzomyia lenti</i>	0	0	6	1,13
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	64	62,75	4	0,75
<i>Lutzomyia lloydii</i>	0	0	1	0,19
<i>Lutzomyia lutziana</i>	1	0,98	3	0,56
<i>Lutzomyia sallesi</i>	0	0	2	0,38
<i>Lutzomyia termitophila</i>	0	0	3	0,56
<i>Lutzomyia whitmani</i>	15	14,71	460	86,63
<i>Lutzomyia sp.</i>	1	0,98	6	1,13
Total	102	16	531	84

Com relação à espécie *L. whitmani* 75% dos espécimes (460) foram coletados em áreas verdes e 15% (3) em ambiente urbano. Para *L. longipalpis* ocorreu o contrário, com 94 % (64) dos espécimes coletados em ambiente urbano e apenas 6% (4) dos espécimes coletados em áreas verdes. Esta diferença nas proporções de ocorrências para os ambientes de áreas verdes e urbanas das espécies citadas, é estatisticamente significativa ( $p$ -valor  $<0,0001$ , gráfico 3).

A espécie *L. intermedia* apresentou padrão semelhante ao de *L. whitmani* com 14% (4) dos espécimes coletados em ambiente urbano e 86% (25) em áreas verdes.

As espécies *L. lenti*, *L. lloydii*, *L. sallesi*, e *L. termitophila* foram coletadas apenas em áreas verdes e as demais em ambos os ambientes.



**GRÁFICO 3:** Proporções de *L. longipalpis* e *L. whitmani* coletados nos ambientes rural e urbano da Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte. No Período de julho de 2006 a junho de 2007 (Qui-quadrado -  $p < 0,0001$ ).

A diferença de ocorrência de flebotomíneos ao longo do período de estudo nestes dois ambientes também foi estatisticamente significativa ( $p$ -valor= 0,0073, tabela 5).

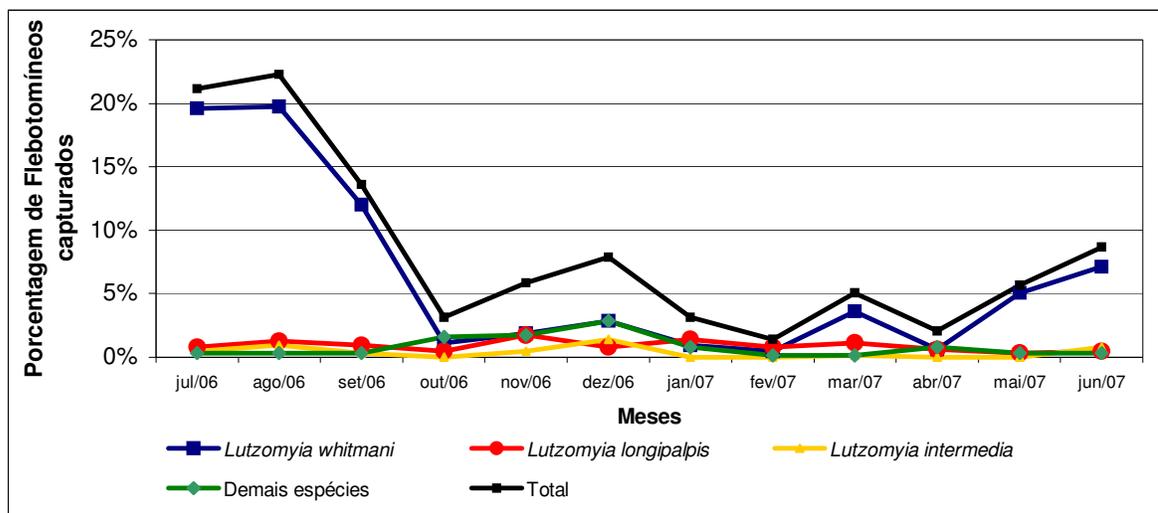
**TABELA 5**

Ocorrência de flebotomíneos, por número de espécimes, coletadas mensalmente por ambiente de estudo, na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte - MG/Brasil, no período de julho a junho de 2007.

(Mann-Whitney -  $p$ -valor: 0,0073)

Meses de Estudo	Ocorrência de Flebotomíneos por Ambientes de Estudo	
	Urbano	Área Verde
Julho	6	128
Agosto	11	131
Setembro	9	77
Outubro	6	14
Novembro	17	20
Dezembro	15	35
Janeiro	11	9
Fevereiro	5	4
Março	8	23
Abril	7	6
Mai	3	33
Junho	4	51
Totais	102	531

O gráfico 4 apresenta a porcentagem de flebotomíneos capturados mensalmente na regional Nordeste.



**GRÁFICO 4:** Porcentagem de flebotomíneos coletadas mensalmente na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte - MG/Brasil, no período de julho de 2006 a dezembro de 2007.

Considerando-se a sazonalidade dos flebotomíneos, observamos três picos de captura que ocorreram nos meses de dezembro, março e junho e julho. O padrão da curva sazonal é delineado, majoritariamente, pela espécie *L. whitmani*.

Analisando-se o padrão apresentado pelas espécies *L. intermedia* e *L. longipalpis*, vemos que a primeira registrou um pico de ocorrência no mês de dezembro e a segunda apresentou picos nos meses de novembro e janeiro.

As espécies *L. whitmani* e *L. longipalpis* foram as únicas coletadas em todos os meses de estudo, as demais não foram coletadas em pelo menos um dos meses. As espécies *L. lenti* e *L. lloydii* foram coletadas apenas no mês de dezembro (Tabela 6).

TABELA 6

Flebotomíneos capturados mensalmente por espécie, na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte - MG/Brasil, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

Espécies Coletadas	Total de espécies capturadas por mês e porcentagem com relação ao total coletado (N/%)												
	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho	Total
Complexo cortellezzi	0 (0)	1 (0,16)	1 (0,16)	3 (0,5)	8 (1,3)	7 (1,1)	4 (0,6)	0 (0)	1 (0,16)	3 (0,5)	2 (0,3)	1 (0,16)	<b>31 (4,9)</b>
<i>Lutzomyia cortellezzi</i>	0 (0)	0 (0)	1 (0,16)	0 (0)	2 (0,31)	4 (0,6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>7 (1,07)</b>
<i>Lutzomyia intermedia</i>	3 (0,5)	6 (0,95)	2 (0,32)	0 (0)	3 (0,5)	9 (1,4)	0 (0,16)	0 (0)	1 (0,16)	0 (0)	0 (0)	5 (0,8)	<b>29 (4,57)</b>
<i>Lutzomyia lenti</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>6 (1,0)</b>
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	5 (0,78)	8 (1,26)	6 (0,95)	3 (0,5)	11 (1,7)	5 (0,8)	9 (1,4)	5 (0,8)	7 (1,1)	4 (0,6)	2 (0,3)	3 (0,5)	<b>68 (10,63)</b>
<i>Lutzomyia lloydii</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,16)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>1 (0,16)</b>
<i>Lutzomyia lutziana</i>	2 (0,32)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,16)	0 (0)	1 (0,16)	0 (0)	0 (0)	<b>4 (0,64)</b>
<i>Lutzomyia sallesi</i>	0 (0)	1 (0,16)	0 (0)	0 (0)	1 (0,16)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>2 (0,32)</b>
<i>Lutzomyia termitophila</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1,6)	0 (0)	0 (0)	1 (0,16)	0 (0)	1 (0,16)	<b>3 (0,5)</b>
<i>Lutzomyia whitmani</i>	124 (19,5)	125 (19,7)	76 (12)	7 (1,1)	12 (1,9)	18 (2,8)	6 (1)	3 (0,5)	23 (3,6)	4 (0,6)	32 (5,0)	45 (7,0)	<b>475 (75)</b>
<i>Lutzomyia sp.</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (1,1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>7 (1,1)</b>
<b>Total</b>	<b>134 (21,1)</b>	<b>141 (22,23)</b>	<b>86 (13,58)</b>	<b>20 (3,14)</b>	<b>37 (5,84)</b>	<b>50 (7,86)</b>	<b>20 (3,16)</b>	<b>9 (1,43)</b>	<b>32 (5,02)</b>	<b>13 (1,99)</b>	<b>36 (5,6)</b>	<b>55 (8,59)</b>	<b>633 (100,0)</b>

O gráficos 5 e 6 apresentam a variação mensal das espécies de flebotomíneos em comparação aos parâmetros climáticos: temperatura média, pluviosidade total e a média da umidade relativa do ar.

As temperaturas médias durante o período de estudo variaram entre 19,3°C e 24,6°C. Este foi o único parâmetro que apresentou correlação estaticamente significativa com a variação mensal de espécimes de flebotomíneos capturados (Quadro 6).

Os valores médios de precipitação variaram entre 0,0mm<sup>3</sup> e 350,9mm<sup>3</sup> e a umidade relativa do ar variou entre 53% e 74%. Ao nível de significância de 5% estes valores não apresentaram correlação significativa com o número de flebotomíneos coletados (Quadro 6).

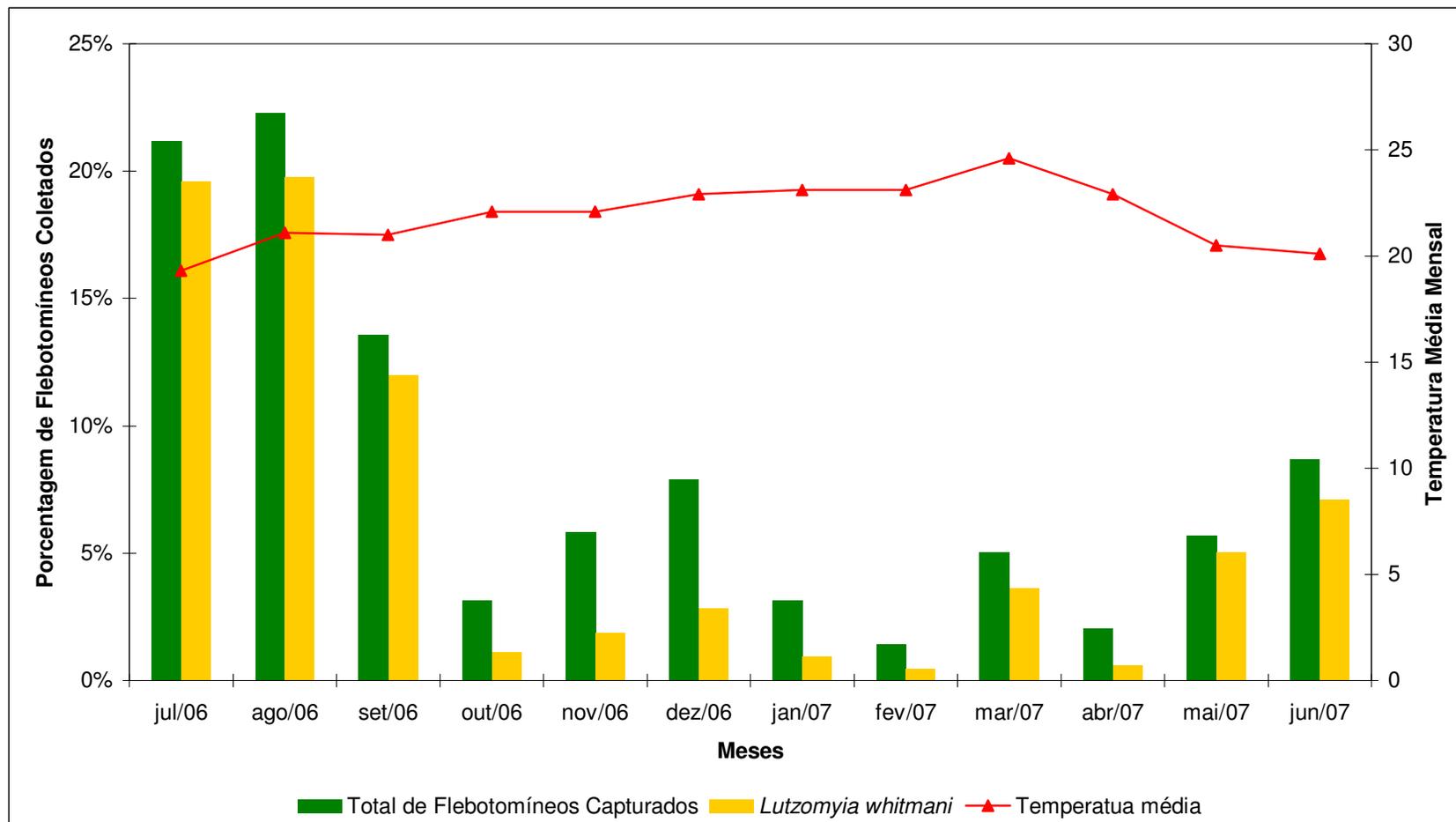
QUADRO 6

Resultado do teste de correlação entre o total de flebotomíneos coletados e as variáveis climáticas, na Regional Nordeste do município de Belo Horizonte – MG/Brasil. No período de julho de 2006 a junho de 2007

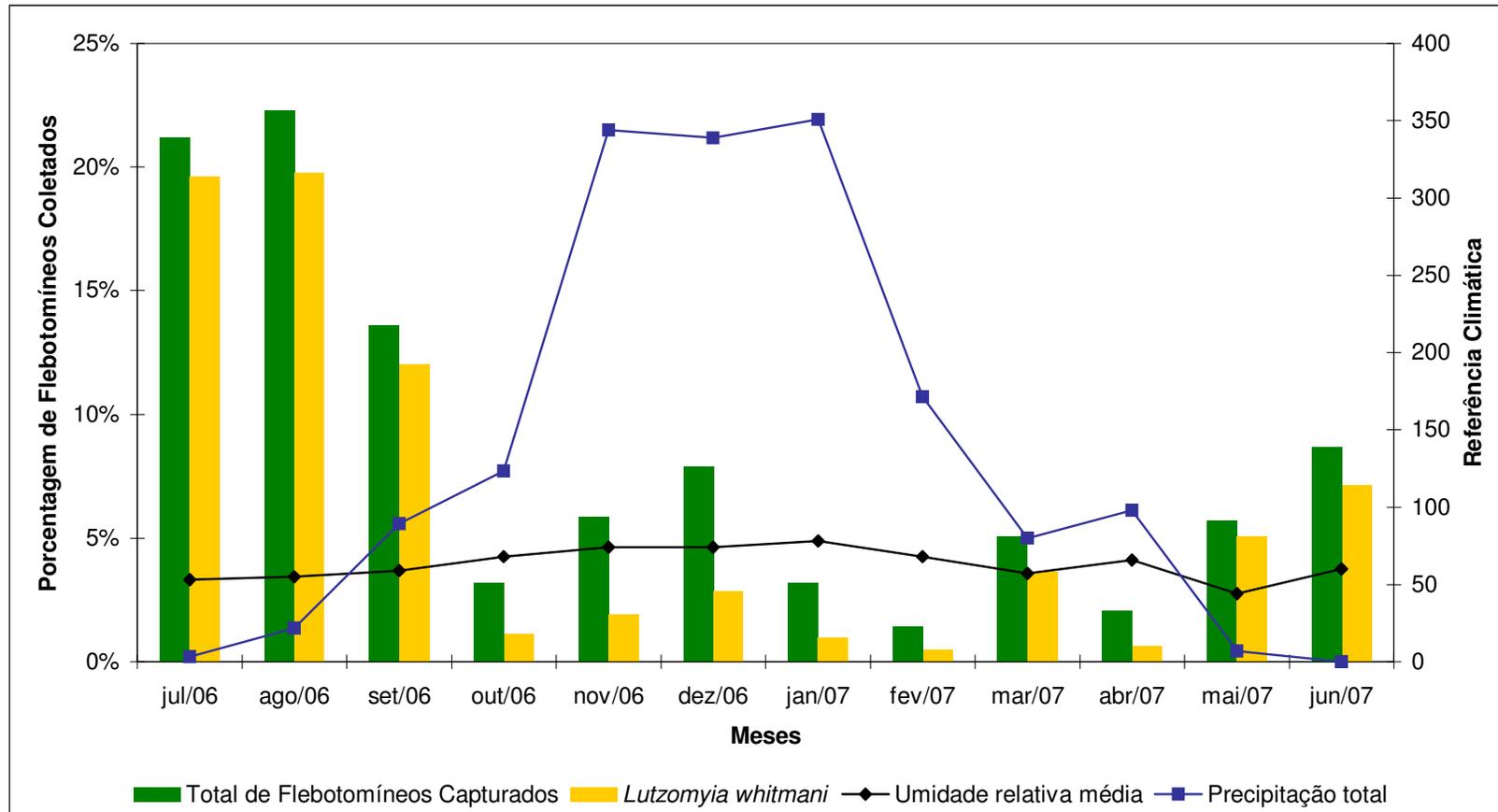
Total de Flebotomíneos Coletados	Temperatura	Pluviosidade	Umidade relativa do ar	
	- 0,65	- 0,45	- 0,49	Coefficiente de Pearson
	0,02	0,15	0,11	Valor de P

Observa-se que a ocorrência de maior número de flebotomíneos coincidiu com os períodos antes e após as chuvas, com umidade relativa do ar mais baixa e as temperaturas mais amenas (variando entre 19,3°C a 20,5°C). Estes períodos ocorreram entre julho e setembro de 2006 e maio e junho de 2007.

No período de outubro de 2006 a maio de 2007, ocorreram intensas chuvas no Município de Belo Horizonte, com médias pluviométricas mensais que variaram entre (98,0mm<sup>3</sup> e 350,9mm<sup>3</sup>) e, apesar de discretos picos de ocorrência de flebotomíneos (outubro e novembro de 2006 e março de 2007), a média de coleta neste período foi baixa. A variação da umidade relativa do ar acompanha a da pluviosidade e neste período esteve entre 57% e 78%.



**GRÁFICO 5:** Média de Flebotomíneos capturados mensalmente na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte – MG/Basil, em comparação com os parâmetros climáticos temperatura média, no período de julho de 2006 a junho de 2007.



**GRÁFICO 6:** Média de Flebotomíneos capturados mensalmente na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte – MG/Basil, em comparação com os parâmetros climáticos: pluviosidade total e da umidade relativa do ar média, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

### 5.1.2. Capturas com armadilha de Shannon e Capturador de Castro

Apenas as espécies *L. longipalpis* e *L. whitmani* foram coletadas com a armadilha luminosa de Shannon. O resultado total destas capturas encontra-se na Tabela 7.

A coleta da primavera (Dezembro 2006) foi responsável pela quase totalidade dos exemplares coletados, 19 espécimes de *L. longipalpis* e dois de *L. whitmani*. Nas demais coletas (Abril 2007, Maio 2007, Junho 2007) apenas oito espécimes destas mesmas espécies foram coletados.

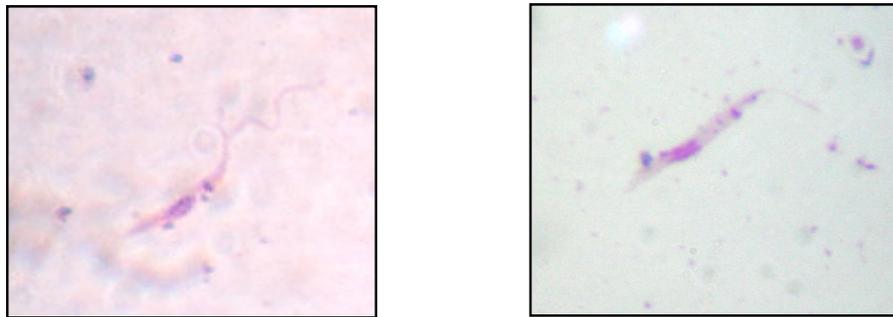
TABELA 7  
Resultados das coletas com armadilha luminosa de Shannon, na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte/MG, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

Espécies Coletadas	Número de espécimes capturados por sexo		
	Machos	Fêmeas	Totais
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	16	3	19
<i>Lutzomyia whitmani</i>	3	5	8
Totais	19	8	27

### 5.2.1. Estudos da infecção natural

Das 246 fêmeas coletadas, 245 foram dissecadas, apenas uma foi preparada e montada, conforme protocolo descrito para os espécimes machos, por falha no momento da triagem. Das 245 fêmeas dissecadas 19 apresentam sangue no intestino, destas três apresentaram infecção natural por *Leishmania*.

Considerando as análises ao microscópico óptico, apenas três espécimes apresentaram formas flageladas no intestino. Nos três achados, os flagelados apresentaram-se livres e em movimento na porção mediana do intestino (Figuras: 15 e 16). As fêmeas pertenciam à espécie *L. longipalpis* e foram provenientes do mesmo ponto de coleta no bairro Nazaré (Quadro 8). Não foi possível o isolamento dos flagelados em meio de cultura, devido à contaminação por fungos filamentosos nas três amostras.



**FIGURAS 15 E 16:** Formas flageladas visualizadas em intestino de fêmeas *L. longipalpis*. Aumento 400X. Coloração de Giemsa.

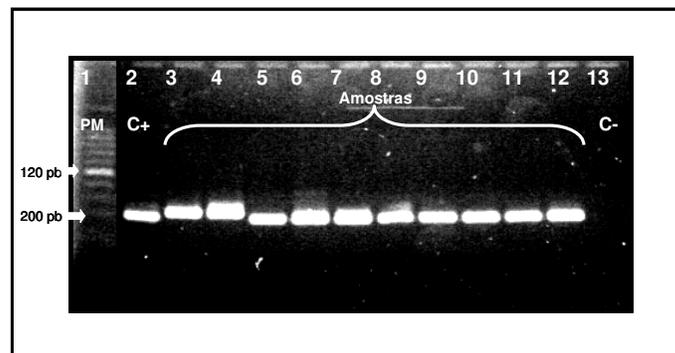
No tocante às análises utilizando técnicas de biologia molecular, os 246 espécimes fêmeas foram agrupados em 120 amostras como observado no Quadro 7.

QUADRO 7

Quantidade de amostras de flebotomíneos analisadas, de acordo com o número de exemplares presentes

Tipo de amostra	Quantidade de amostras
Um espécime	85
Grupo de 2 espécimes	13
Grupo de 3 espécimes	4
Grupo de 4 espécimes	3
Grupo de 5 espécimes	3
Grupo de 6 espécimes	4
Grupo de 9 espécimes	2
Grupo de 10 espécimes	6
Total de amostras	120

Considerando os resultados obtidos na reação de PCR para o fragmento do gene de cacofonia, podemos afirmar que todas as extrações de DNA foram realizadas com sucesso, dado que para todas as amostras houve amplificação do fragmento esperado de 200 pb. A figura 16 ilustra um exemplo de algumas amostras.

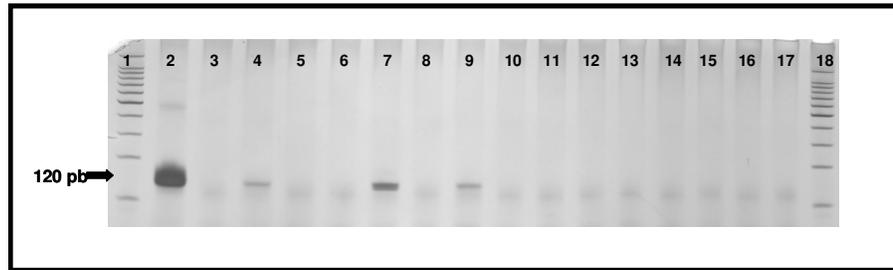


**FIGURA 17:** Gel de agarose 10%, corado pelo brometo de etídio, mostrando os produtos da reação de PCR com iniciadores para o fragmento do gene da cacofonia do gênero *Lutzomyia*. Canaletas: 1) PM: Padrão de massa molecular 120 pb, 2) C+: Controle positivo (DNA extraído de *L. longipalpis* de colônia), 3 a 12) amostras de DNA de *Lutzomyia* sp.estudo, 13) Controle negativo (todos os componentes da reação sem o acréscimo de DNA).

Considerando a positividade das fêmeas de flebotomíneos para a presença de *Leishmania* sp., 15 amostras de DNA apresentaram positividade para *Leishmania*, utilizando os iniciadores descritos por DEGRAVE (1994),

para a região conservada do minicírculo do K-DNA do gênero *Leishmania*.

A figura 18 ilustra alguns dos resultados obtidos.



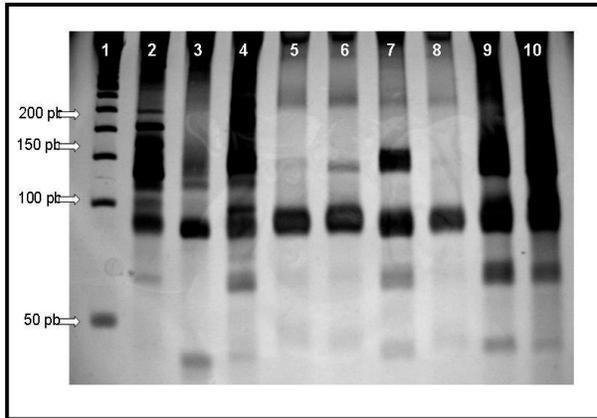
**FIGURA 18:** Gel de poliacrilamida 6%, corado pela prata, mostrando os produtos da PCR com os iniciadores para a região conservada do minicírculo do K-DNA de *Leishmania* sp. em amostras de DNA extraídas de fêmeas de flebotomíneos. Canaletas 1 e 18: Padrão de massa molecular 100 pb, 2: Controle positivo (DNA de promastigotas de *L. chagasi* (MOHOM/BR/1967/BH46)); 3: Controle negativo sem DNA. Canaletas 4 a 17: amostras referentes a coletas do mês de julho de 2007.

Das 15 amostras positivas para o gênero *Leishmania*, 13 puderam ser caracterizadas ao nível específico pelo corte com enzima de restrição.

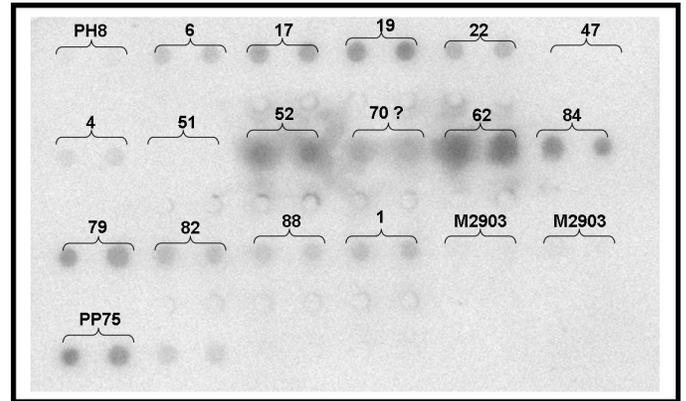
Em 13 das 15 amostras positivas para *Leishmania* sp., realizou-se a identificação específica dos parasitos, utilizando o corte com a enzima de restrição HaeIII, que permitiu diferenciar *L. chagasi* e *L. braziliensis*. Em duas amostras, este resultado não foi alcançado. Provavelmente, a pequena quantidade de DNA presente nestas amostras, e conseqüentemente a pequena quantidade de produto amplificado obtido, pode ter inviabilizado a técnica de PCR-RFLP, ou as espécies presentes em tais flebotomíneos não puderam ser identificadas pelas técnicas empregadas (Quadro 8). Alguns resultados encontram-se ilustrados na figura 19.

A positividade das amostras contendo *L. chagasi* foi confirmada através da técnica de hibridização utilizando sondas radioativas de minicírculo total para o Complexo *L. donovani*. Conforme mostrado na Figura 20.

A amostra 70 apresentou resultado conflitante uma vez que a digestão pela Hae III não apresentou perfil claro para realizar a caracterização, mas a hibridização foi positiva para *L. chagasi*.



**FIGURA 19:** Gel de poliacrilamida 10%, corado pela prata, mostrando os produtos da reação de PCR-RFLP. Canaleta 1: Padrão de massa molecular 50pb 2: cepa PH8 de *L. amazonensis*, 3: cepa M2903 de *L. braziliensis*, 4: cepa PP75 de *L. chagasi*. Canaletas 5 a 9 amostras: amostras positivas para *Leishmania chagasi*.



**FIGURA 20:** Autorradiografias de produto de PCR hibridizado com sonda específica de kDNA de *L. chagasi*. Amostras: 1,6,17,19,22,47,48,51,52,70,62,64,84,79,82,88 . Cepas controles: PH8 de *L. amazonensis*, M2903 de *L. braziliensis*, P75 de *L. chagasi*.

O quadro 8 apresenta os resultados para as amostras positivas, indicando o local e a data de captura dos insetos.

QUADRO 8

Amostras de flebotomíneos positivas para infecção por *Leishmania* sp, segundo local e data de captura, tipo de amostra e técnicas utilizadas para estudo da infecção natural

Nº da amostras	Data da Coleta	Local	Espécie	Exemplares	PCR-RFLP	Hibridização	Flagelados no Intestino
1	10/7/2206	Faz. CICA	<i>L.whitmani</i>	3	<i>L. chagasi</i>	<i>L. chagasi</i>	
4	10/7/2206	Bairro Nazaré	<i>L.whitmani</i>	1	<i>L. chagasi</i>	<i>L. chagasi</i>	
6	24/7/2006	Faz. CICA	<i>L.whitmani</i>	1	<i>L. chagasi</i>	<i>L. chagasi</i>	
17	10/8/2006	Faz. CICA	<i>L.whitmani</i>	2	<i>L. chagasi</i>	<i>L. chagasi</i>	
19	10/8/2006	Bairro Nazaré	<i>L.longipalpis</i>	1	<i>L. chagasi</i>	<i>L. chagasi</i>	+
22	10/8/2006	Faz. CICA	<i>L.whitmani</i>	1	<i>L. chagasi</i>	<i>L. chagasi</i>	
47	23/10/2006	Faz. Souza Lima	Complexo <i>cortellezzi</i>	1	<i>Leishmania</i> sp.	Não pertence ao complexo <i>L. donovani</i>	
51	6/11/2006	Faz. Souza Lima	Complexo <i>cortellezzi</i>	2	<i>L.braziliensis</i>		
52	6/11/2006	Bairro Nazaré	<i>L.longipalpis</i>	1	<i>L. chagasi</i>	<i>L. chagasi</i>	+
62	Shannon (6/12/2006)	Bairro Nazaré	<i>L.longipalpis</i>	1	<i>L. chagasi</i>	<i>L. chagasi</i>	+
70	18/12/2006	Bairro Nazaré	<i>L.intermedia</i>	1	<i>Leishmania</i> sp.	?	
79	22/1/2007	Faz. Souza Lima	<i>L.termitophila</i>	1	<i>L. chagasi</i>	<i>L. chagasi</i>	
82	22/1/2007	Bairro Nazaré	<i>L.longipalpis</i>	1	<i>L. chagasi</i>	<i>L. chagasi</i>	
84	26/2/2007	Faz. Souza Lima	<i>L.whitmani</i>	1	<i>L. chagasi</i>	<i>L. chagasi</i>	
88	Shannon (10/3/2007)	Faz. Souza Lima	<i>L.whitmani</i>	1	<i>L. chagasi</i>	<i>L. chagasi</i>	

A ocorrência de flebotomíneos infectados concentrou-se em três locais de coleta: o Bairro Nazaré que apresentou três amostras de *L. longipalpis* e uma de *L. whitmani* positivas para *L. chagasi*, e uma amostra de *L. intermedia* positiva para *Leishmania* sp.. A Fazenda CA apresentou quatro amostras de *L. whitmani* positivas para *L. chagasi*. A Fazenda SL apresentou duas amostras de *L. whitmani* e uma de *L. termitophila* positivas para *L. chagasi*, e duas amostras do complexo *cortellezzi*, uma positiva para *L. braziliensis* e outra positiva para *Leishmania* sp.

### 5.2.1. Inferência das taxas de infecção natural para *Leishmania* nos flebotomíneos coletados

A maior parte das infecções naturais encontradas foi por *L. chagasi*. Para *L. longipalpis*, a principal vetora desta espécie, a taxa de positividade foi de 19%. A infecção por *L. chagasi* também foi encontrada em espécies de flebotomíneos que não são consideradas vetoras da mesma: *L. whitmani* apresentou de 3,8% de positividade e *L. termitophila* 33,3%. Para essa espécie de flebotomíneo foram coletados apenas três espécimes sendo um deles positivo para *L. chagasi*.

Para o Complexo *cortellezzi* as taxas foram de 3,2% para *L. braziliensis* e 3,2% *Leishmania* sp. A espécie *L. intermedia* foi capturada em pequeno número, sete, apresentado 14,3% de positividade para *Leishmania* sp. O quadro 9 apresenta estes resultados em detalhes.

QUADRO 9  
Taxas de Positividade para *Leishmania* por espécie de flebotomíneo e tipo de amostra.

Espécies	Número de espécimes coletados	Número de espécimes/grupos infectados	Espécie de <i>Leishmania</i>	Taxa de Infecção Natural
<i>L. whitmani</i>	181	7	<i>L. chagasi</i>	3,8%
<i>L. longipalpis</i>	21	4	<i>L. chagasi</i>	19%
Complexo <i>cortellezzi</i>	31	1	<i>L. braziliensis</i>	3,2%
Complexo <i>cortellezzi</i>	31	1	<i>Leishmania</i> sp.	3,2%
<i>L. intermedia</i>	7	1	<i>Leishmania</i> sp.	14,3%
<i>L. termitophila</i>	3	1	<i>L. chagasi</i>	33,3%

### **5.3. Caracterização ambiental dos locais de estudo**

Dos 16 locais relatados para a pesquisa entomológica, 13 participaram do estudo de caracterização ambiental de forma completa, em dois, os moradores se recusaram a participar e em um os moradores não permitiram que a caracterização fotográfica fosse realizada. Seguindo o protocolo ético da pesquisa tais atitudes foram aceitas naturalmente.

Desta forma foram caracterizados 14 lotes, 25 residências e uma fazenda, sendo esta o único local representante da área verde.

As características dos locais encontram-se resumidas nos quadros 10,11 e 12. Apenas quatro lotes (28,6%) apresentaram residências com paredes sem reboco. A cobertura e piso das casas foram, em geral, adequados. Em apenas três lotes (21,4%), foram observadas casas com cobertura de telha e sem laje. O piso das casas era de cerâmica ou misto de cerâmica ou outro material similar, e cimento queimado. Não foram observadas casas com piso de terra batida.

A presença de umidade no interior das casas foi avaliada pela existência de mofo e marcas de infiltração. A presença de casas com mofo foi observada em cinco lotes (35,7%), e a presença de infiltrações, em quatro (28,6%), sendo que, em três dos lotes estudados foram encontradas ambas as características.

Quanto às rachaduras, metade dos lotes estudados apresentou paredes com essa característica. A maioria dos lotes (64,3%) analisados possuía casas com paredes sem presença de buracos. Quatro lotes apresentaram casas com rachaduras e buracos.

Apenas um lote não possuía rede de esgoto, sendo este a céu aberto. Dentre os que possuíam rede de esgoto, 72,7% eram ligados à rede da prefeitura. O restante era ligado à fossa ou ligado diretamente ao córrego. Todos os lotes apresentaram casas com banheiro completo (vaso, chuveiro e lavabo).

QUADRO 10

Distribuição de freqüências das características das residências presentes nos lotes trabalhados na Regional Nordeste de Belo Horizonte/MG, no período de julho de 2006 a junho de 2007

Característica das casas	Nº de lotes (n=14)	Porcentagem de lotes que apresentou a característica
<b>Tipo de parede</b>		
Tijolo sem reboco	4	28,6%
Tijolo com reboco	10	71,4%
<b>Tipo de teto</b>		
Laje	5	35,7%
Telha	3	21,4%
Laje e telha	6	42,9%
<b>Tipo de piso</b>		
Cerâmica, ardósia, porcelanato, ladrilho	3	20,0%
Cimento queimado	3	24,0%
Misto	8	56,0%
<b>Presença de mofo</b>		
Sim	5	35,7%
Não	9	64,3%
<b>Presença de infiltração</b>		
Sim	4	28,6%
Não	10	71,4%
<b>Presença de rachaduras</b>		
Sim	7	50,0%
Não	7	50,0%
<b>Presença de buracos</b>		
Sim	5	35,7%
Não	9	64,3%
<b>Rede de esgoto</b>		
Sim	13	92,9%
Não (esgoto a céu aberto)	1	7,1%
<b>Tipo de esgoto <sup>(1)</sup></b>		
Ligado à rede da prefeitura	8	72,7%
Ligado à fossa	2	18,2%
Ligado ao córrego-	1	9,1%
<b>Presença de banheiro nas casas</b>		
Sim	14	100,00%
Não	0	100,00%
<b>Tipo de Banheiro das casas</b>		
Completo	14	100,00%
Incompleto	0	100,00%

Considerando-se os peridomicílios dos lotes estudados, constataram-se características predominantes tais como: presença de árvores em 12 (85,7%), plantas em vasos em 11 (78,6%), madeira empilhada em 13 (92,9%), presença de montes de folhas em oito (57,1%). É interessante apontar que tais características podem criar ecótopos favoráveis ao desenvolvimento de diversos animais, entre eles os insetos vetores.

Outras características tais como criação de galinhas (5 - 35,7%), cultivo de hortas (5 - 35,7%), utilização de esterco (5 - 35,7%), acúmulo de entulho (12 - 85,7%) e lixo não acondicionado adequadamente (3 - 21,4%) apesar de serem menos freqüentes são importantes de serem indicadas.

QUADRO 11

Distribuição de freqüências das características dos peridomicílios dos lotes trabalhados na Regional Nordeste de Belo Horizonte/MG, no período de julho de 2006 a junho de 2007

<b>Características do peridomicílio dos lotes estudados</b>	<b>Nº de lotes que apresentaram a característica</b>	<b>% de lotes que apresentaram a característica</b>
<b>Presença de árvores</b>		
Sim	12	85,7%
Não	2	14,3%
<b>Presença de plantas em vasos</b>		
Sim	11	78,6%
Não	3	21,4%
<b>Presença de Horta</b>		
Sim	5	35,7%
Não	9	64,3%
<b>Presença de madeira empilhada</b>		
Sim	13	92,9%
Não	1	7,1%
<b>Presença de entulhos</b>		
Sim	12	85,7%
Não	2	14,3%
<b>Presença de lixo doméstico não acondicionado</b>		
Sim	3	21,4%
Não	11	78,6%
<b>Presença de montes de folhas</b>		
Sim	8	57,1%
Não	6	42,9%
<b>Presença de esterco</b>		
Sim	5	35,7%
Não	9	64,3%
<b>Presença de esgoto a céu aberto</b>		
Sim	1	7,1%
Não	13	92,9%
<b>Presença de águas pluviais</b>		
Sim	3	21,4%
Não	11	78,6%
<b>Presença de gaiolas de passarinho</b>		
Sim	6	42,9%
Não	8	57,1%
<b>Destino do lixo</b>		
Recolhido pelo serviço municipal	13	92,9%
Colocam na caçamba	1	7,1%
<b>Localização da casa</b>		
Urbana	13	92,90%
Área Verde	1	7,10%

Quanto à presença de animais de criação, os cães foram os animais predominantes nos locais de estudo, com uma média de dois por lote, sendo que em 11 (78,57%) dos 14 locais estudados os mesmos estavam presentes.

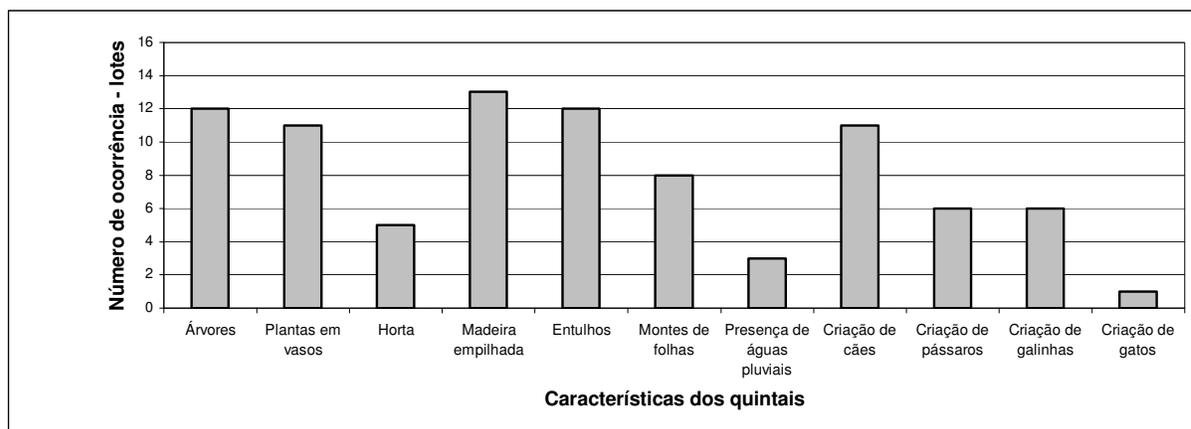
QUADRO 12

Animais domésticos presentes nos lotes estudados na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007

<b>Animais de criação/estimação</b>	<b>Nº de lotes que apresentam a característica</b>	<b>Porcentagem de lotes que apresentaram a característica</b>	<b>Quantidade média de animais por lote</b>
Cão	11	78,57%	2,0
Gato	1	7,14%	0,21
Pássaros	6	42,85%	1,92
Galinhas	6	42,85%	10,0

O gráfico 7 mostra as características presentes nos quintais dos lotes que

poderiam favorecer a ocorrência de flebotomíneos.



**GRÁFICO 7:** Características presentes nos quintais dos lotes de estudo que possivelmente favorecem a ocorrência de flebotomíneos.

### 5.3.1. Caracterização fotográfica

A caracterização fotográfica revelou-se um método eficiente para uma análise pormenorizada e individualizada de cada local, e esta foi enriquecida pela análise do entorno das residências via imagens de satélite do GoogleMaps.

Este pode ser considerado um método de estudo caso a caso para locais de ocorrência de leishmaniose visceral.

Foram caracterizados fotograficamente os peridomicílios de 14 locais de estudo. Os lotes 9, 12 e 14 não participaram desta etapa da pesquisa.

Os lotes que apresentaram condições que podem propiciar o desenvolvimento e permanência de flebotomíneos foram: 1, 3, 4, 5, 7, 8, 10, 11, 13, 15 e 16. As principais características encontradas foram: matéria orgânica em decomposição espalhada pelo quintal, locais sombreados e úmidos, com a presença de espécies vegetais, tanto arbóreas como arbustivas, criação de cães e de galinhas.

Os lotes 2 e 6 não apresentaram condições que poderiam favorecer o desenvolvimento dos flebotomíneos; não havia nenhuma das condições acima citadas. O resumo dos resultados da caracterização fotográfica estão expostos nas figuras 20 a 30.



**FIGURA 21:** Lote1, A: Imedições do lote. B: Aspecto de uma das casas, notar parede sem reboco. C: Cães criados no lote. D: Aspecto geral do quintal, notar locais sombreados, restos vegetais (galhos e folhas) e entulho (p.ex: pneu) espalhados.



**FIGURA 22:** Lote 2, A: Vista geral do quintal, notar grande área cimentada. B: Vista geral de duas das casas. C: Detalhe do quintal, notar armazenamento de lenha. D: Detalhe do quintal, notar acúmulo de entulhos.



**FIGURA 23:** Lote 3, A: Localização da residência, notar mato alto e arborização. B: Aspecto geral do quintal, notar grande acúmulo de entulhos. C: Área em frente a casa, notar lixo descartado inadequadamente. D: Criação de cães, cadela com filhotes.



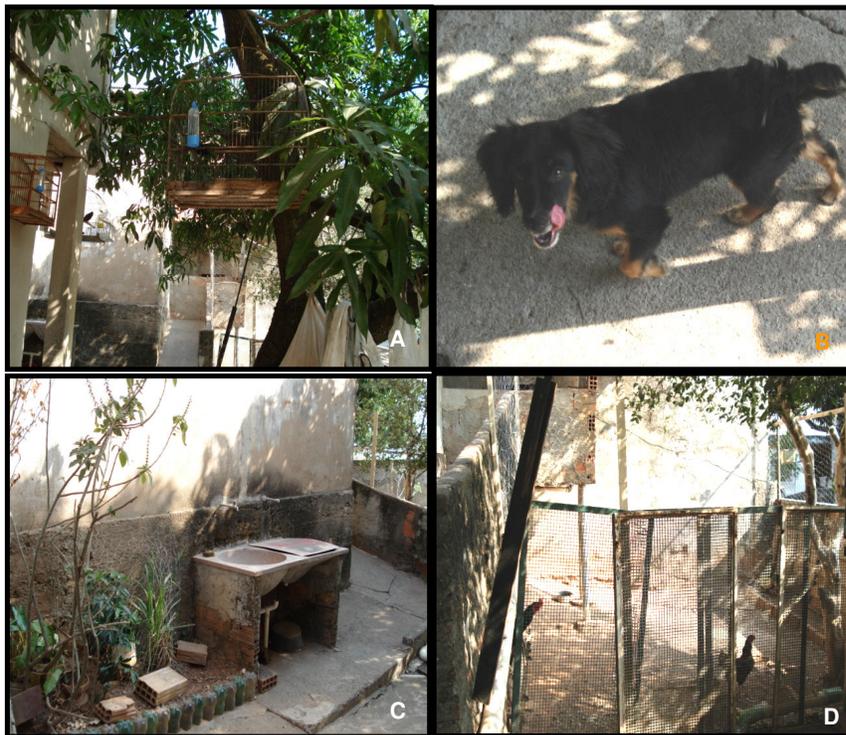
**FIGURA 24:** Lote 4, A: Detalhe do quintal, notar: acúmulo de entulhos. B: Aspecto geral do quintal, notar locais sombreados, folhas no chão e acúmulo de entulhos. C: Detalhe do quintal, notar acúmulo de entulhos.



**FIGURA 25:** Lote 5, A: Aspecto geral do quintal, com casa ao fundo. Notar presença de árvores e locais sombreados. B: Grande quantidade de vasos de plantas. C: Grande variedade e quantidade de materiais acumulados. D: Criação de galinhas.



**FIGURA 26:** Lote 6, A: Imediações do lote. B: Parte interna, notar área cimentada. C: Parte interna, notar pequeno canteiro. D: Parte interna, notar área cimentada.



**FIGURA 27:** Lote 7, A: Árvore de grande porte, que propicia sombra em parte do quintal e criação de pássaros. B: Cão criado no lote. C: Pequeno canteiro. D: Galinheiro, notar limpeza do mesmo.



**FIGURA 28:** Lote 8, A: Lote e imediações B: Aspecto da residência, notar estrutura da mesma. C e D: Aspecto geral do quintal, notar variedade de espécies vegetais, materiais acumulados e locais sombreados.



**FIGURA 29:** Lote 9, A: Aspecto externo do lote, notar casa ao fundo, árvores e locais sombreados. B: Horta, notar lenha empilhada. C: Variedade de materiais acumulados. D: Cão criado no lote.



**FIGURA 30:** Fazenda SL (lote 11), A: Um dos currais e cães. B: Criação de pavões e galinhas. C: Área de mata. D: Rio das Velhas.



**FIGURA 31:** Lote 13, A: Aspecto externo. B: Cão, notar piso de ardósia. C: Madeira empilhada. D: Vasos de plantas.



**FIGURA 32:** Lote 15, A: Cão criado no lote. B: Pequena mata no entorno. C: Plantas em local sombreado. D: Aspecto geral do quintal, notar grande acúmulo de materiais.



**FIGURA 33:** Lote 16, A: Aspecto geral do lote. B: Criação de galinhas e outras aves. C: Pinguela sobre o córrego (esgoto a céu aberto). D: Cão.

Os resultados da análise fotográfica, bem como os da análise do entorno via imagens de satélite estão sintetizados no quadro 12.

QUADO 13

Características dos lotes do estudo e do entorno analisado via imagens de satélite

Número do lote	Higiene dos quintais	Condições propícias ao desenvolvimento de flebotomíneos	Condições propícias a outros problemas urbanos	Análise de imagens via satélite – GoogleMaps pontos e áreas verdes (retângulo de 110.000 m2 com o ponto de estudo ao centro)
1	Inadequado	Sim	Sim	Lotes arborizados no entorno.
2	Regular	Não	Sim	Lotes arborizados no entorno.
3	Inadequado	Sim	Sim	Área verde no entorno.
4	Inadequado	Sim	Sim	Lotes arborizados no entorno.
5	Inadequado	Sim	Sim	Lotes arborizados no entorno.
6	Adequado	Não	Não	Lotes arborizados no entorno.
7	Adequado	Sim	Não	Lotes arborizados no entorno.
8	Regular	Sim	Não	Lotes arborizados no entorno e pequena área verde.
9	Não foi realizada pesquisa de caracterização			Lotes arborizados no entorno e pequena área verde.
10	Regular	Sim	Sim	Lotes arborizados no entorno.
11	Regular	Sim	-	Entorno de áreas verdes, com áreas descampadas próximas.
12	Não foi realizada pesquisa de caracterização	-	-	Entorno de áreas verdes, com áreas descampadas próximas.
13	Apenas o preenchimento da ficha foi realizado	Sim	-	Lotes arborizados no entorno.
14	Adequado	Não	Sim	Lotes arborizados no entorno e extensa área verde.
15	Inadequado	Sim	Sim	Lotes arborizados no entorno e extensa área verde.
16	Inadequado	Sim	Sim	Lotes arborizados no entorno.

Através do quadro 12, fica claro que na maioria dos lotes estudados registraram-se condições de cuidado sanitário inadequadas com os quintais.

Apenas três lotes estavam em condições sanitárias adequadas, ou seja, não foram identificadas situações que favorecem a ocorrência de flebotomíneos, ou outros problemas urbanos relacionados à saúde humana ou ambiental. Para todos os lotes foram averiguados espaços arborizados ou áreas verdes no entorno. Tal fato explica a ocorrência destes insetos mesmo em locais onde aparentemente não há condições para seu desenvolvimento.

Considerando-se a ocorrência de flebotomíneos durante o período de estudo, foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os ambientes de áreas verdes e o urbano, conforme já apresentado (tabela 5). Considerando-se os lotes da área urbana, apenas para o lote 14 verificou-se diferença estatisticamente significativa em relação a alguns dos demais (tabela 8). Infelizmente os proprietários da fazenda CA não quiseram participar desta etapa da pesquisa e os moradores do lote 14 não autorizaram a caracterização

fotográfica. Assim as considerações sobre o ambiente de áreas levaram em conta apenas a fazenda SL e as considerações sobre o lote 14 foram baseadas apenas nas informações das fichas de caracterização.

TABELA 8

Ocorrência mensal de flebotomíneos, considerando o total de espécimes, em lotes de área urbana da regional Nordeste do município de Belo Horizonte, no período de junho de 2006 a julho de 2007

Meses de estudo	Total de espécimes de flebotomíneos capturados, mensalmente, por lotes na área urbana													
	Lote 1*	Lote 2*	Lote 3*	Lote 4*	Lote 5*	Lote 6	Lote 7	Lote 8*	Lote 9*	Lote 10*	Lote 13*	Lote 14**	Lote 15	Lote 16*
<b>Julho</b>	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	3	0	0
<b>Agosto</b>	6	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	3	0	0
<b>Setembro</b>	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	4	2	0	0
<b>Outubro</b>	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
<b>Novembro</b>	0	0	2	0	0	0	7	0	0	0	0	3	1	4
<b>Dezembro</b>	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	6	2	5
<b>Janeiro</b>	0	0	0	1	0	1	3	1	1	0	1	2	1	0
<b>Fevereiro</b>	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	2	0	0
<b>Março</b>	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	3	1	0
<b>Abril</b>	1	1	0	0	0	1	2	0	0	0	0	1	0	1
<b>Mai</b>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<b>Junho</b>	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	1	0	0

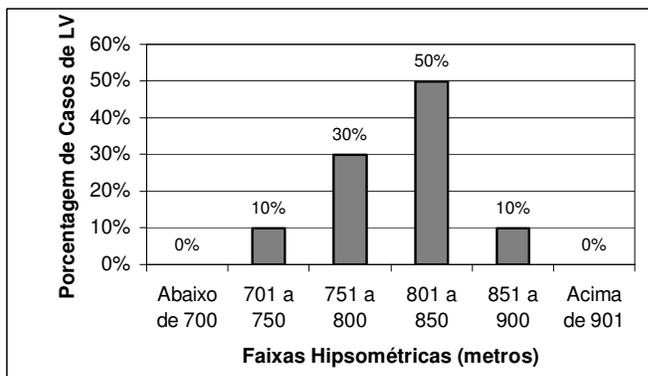
\*\*apresentou diferença estatisticamente significativa em relação aos lotes marcados com\* (p-valor<0,05).

### 5.3.2. Análise por geoprocessamento

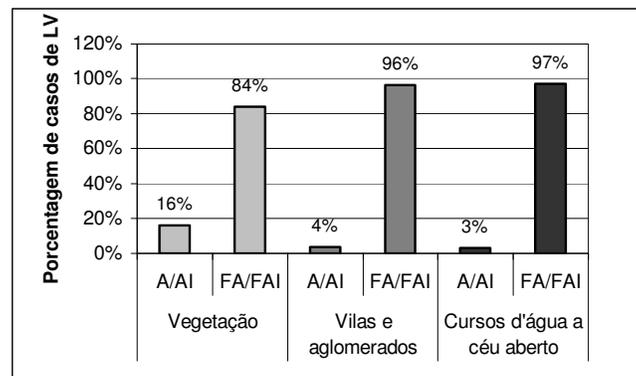
Todos os resultados apresentados referem-se ao período entre julho de 2006 e junho de 2007. As médias de ocorrência dos eventos foram calculadas com base nos registros deste período.

As assinaturas realizadas entre os mapas temáticos da Regional e os mapas de ocorrência de casos LV humana, leishmaniose canina e vetores de leishmanioses são mostrados nos gráficos a seguir.

#### *Leishmaniose visceral humana*



**GRÁFICO 8:** Ocorrência de Casos de LV por faixa hipsométrica na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007



**GRÁFICO 9:** Ocorrência de Casos de LVA considerando os parâmetros: vegetação, vilas e aglomerados e cursos d'água a céu aberto, na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

A/AI: área/área de influência

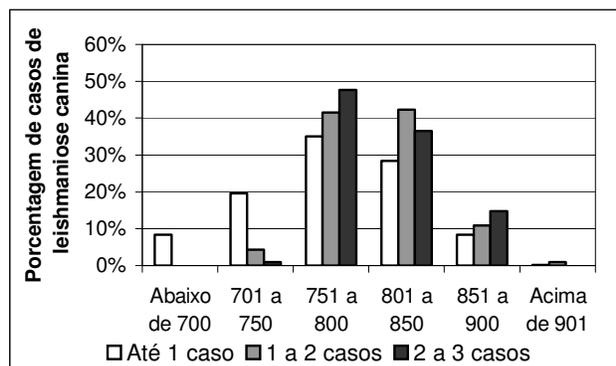
FA/FAI: fora da área/fora da área de influência

Conforme mostrado no gráfico 8, a maioria dos casos de LV no período de estudo, ocorreram entre as altitudes de 751 metros a 850 metros. Não houve registro de casos em altitudes abaixo de 700 metros ou acima de 901 metros.

A ocorrência de casos parece não ser influenciada pelos parâmetros vegetação, vilas e aglomerados e cursos d'água a céu aberto (Gráfico 9). Apenas 16% dos casos ocorreram em áreas de vegetação, 4% em áreas de vilas e aglomerados e 3% em áreas de influência de cursos d'água a céu aberto. Estas proporções indicam a baixa correlação espacial entre os parâmetros

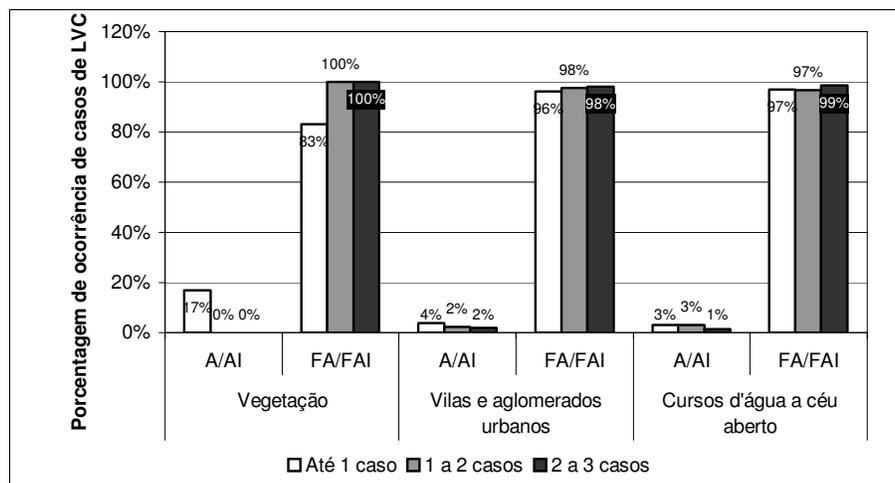
biogeográficos analisados e os casos de LV. Não foi possível gerar um mapa de média de ocorrência de casos de LV devido ao pequeno número de eventos para esta variável.

*Leishmaniose canina*



**GRÁFICO 10:** Ocorrência de Casos de leishmaniose canina, por faixa hipsométrica na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

Assim como ocorreu com os casos de LV, os casos de leishmaniose canina também concentraram-se na faixa de altitude entre 751 e 850, e poucos casos ocorreram abaixo de 700 metros e acima de 900 metros.



**GRÁFICO 11:** Ocorrência de Casos de leishmaniose canina considerando os parâmetros: vegetação, vilas e aglomerados e cursos d'água a céu aberto, na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

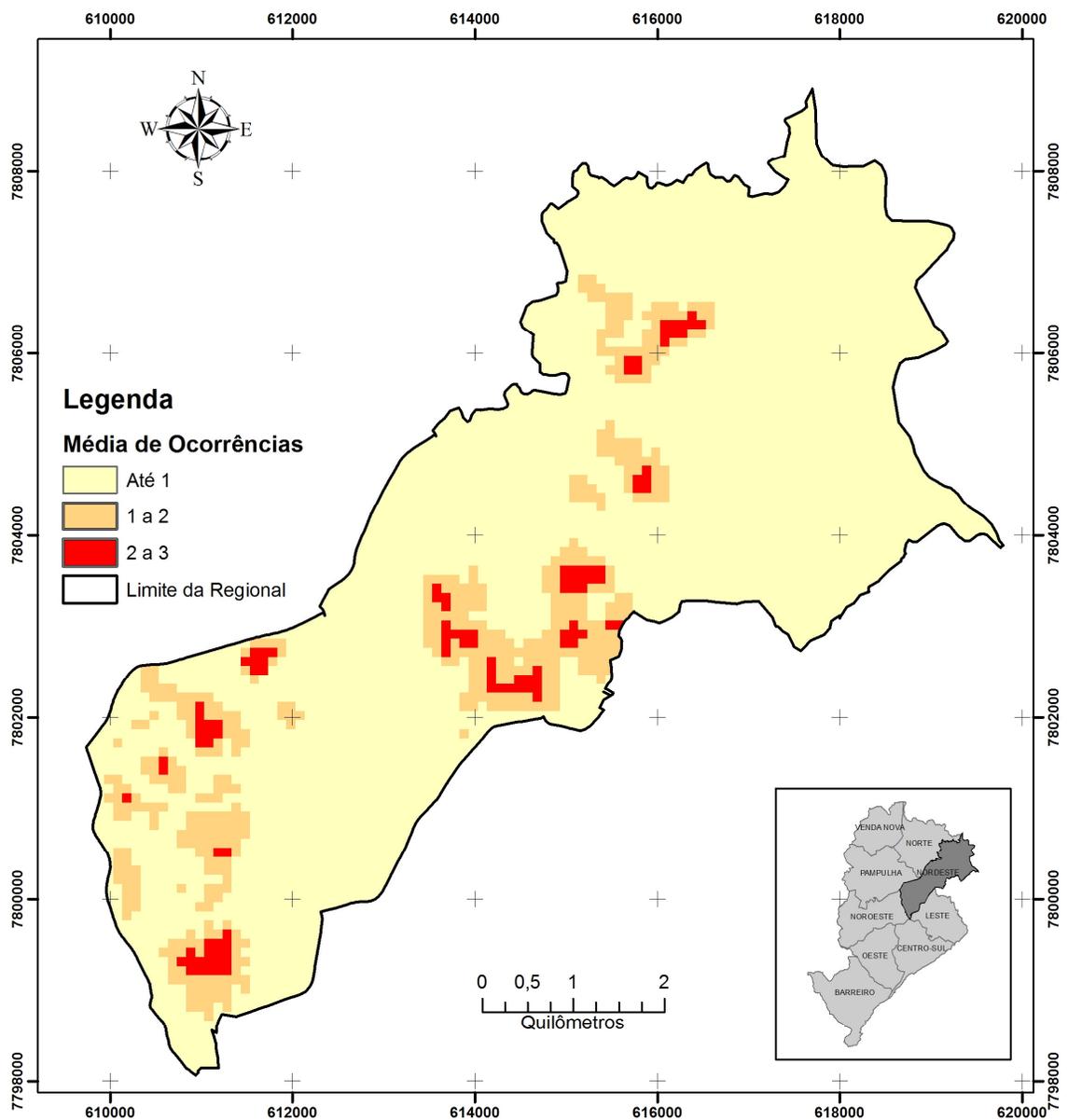
A/AI: área/área de influência

FA/FAI: fora da área/fora da área de influência

Os casos de leishmaniose canina também parecem não sofrer influência dos parâmetros biogeográficos estudados. Com relação à influência da vegetação, 100% dos casos das classes entre 1 e 2 casos e entre 2 e 3 ocorreram fora das áreas de vegetação. Apenas 17% dos casos da faixa até 1 caso, ocorreram em área de vegetação.

Considerando os parâmetros aglomerados urbanos e cursos d'água mais de 96% dos casos das três classes de médias de casos caninos de leishmaniose ocorreram fora da área, ou fora da área de influência das vilas e aglomerados urbanos e cursos de água a céu aberto.

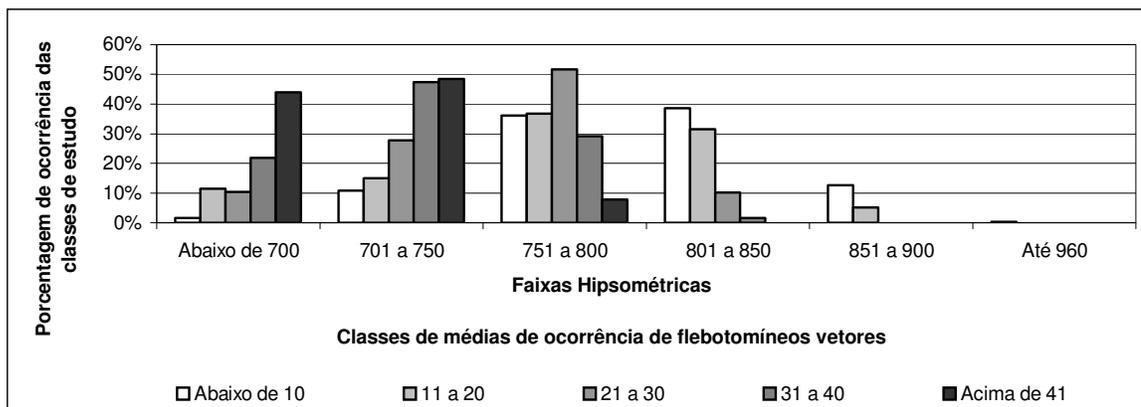
A figura 34 apresenta o mapa de distribuição de médias de ocorrências de casos caninos de leishmaniose na Regional no período de estudo. Apesar de tratarmos dados coletados de forma não uniforme, pois os métodos de coleta de sangue canino da prefeitura são diversos, pode-se inferir que em toda a Regional houve uma probabilidade média de ocorrência de até um caso canino de leishmaniose canina, durante o período de estudo. Alguns focos de ocorrência puderam ser caracterizados em áreas de ocorrência de médias de 2 a 3 casos. Os focos estavam circundados por áreas de ocorrência de 1 a 2 casos. Estas áreas podem ser identificadas tanto nas porções sudoeste, central e norte da Regional.



**FIGURA 34:** Médias de ocorrência de casos caninos de leishmaniose na Regional Nordeste, notificados pela Gerência de Controle de Zoonoses da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

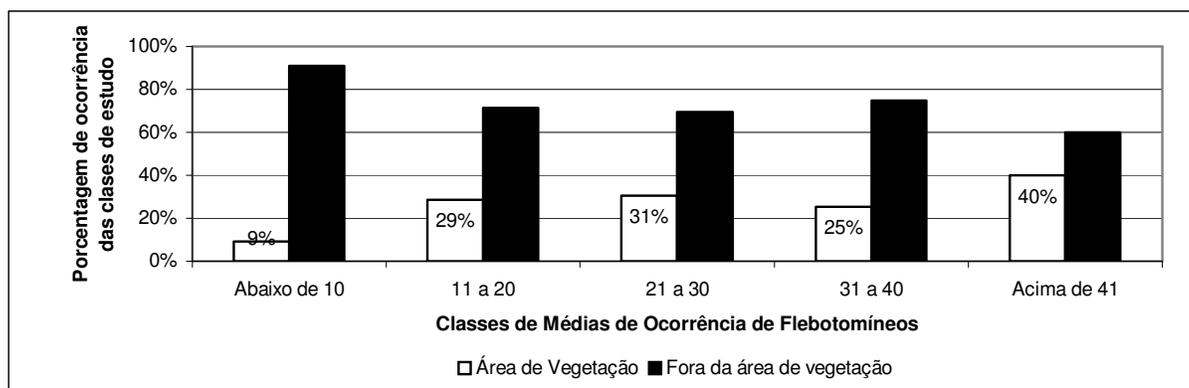
### *Flebotomíneos vetores*

O gráfico 12 apresenta o perfil de ocorrência dos flebotomíneos vetores por faixas de médias de ocorrência e de altitude.



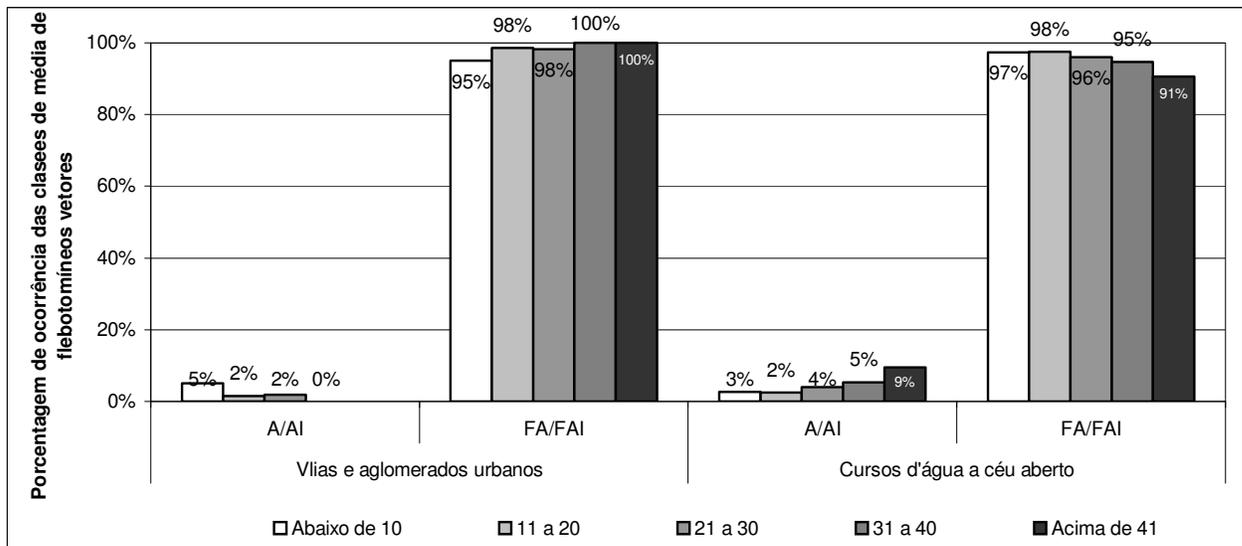
**GRÁFICO 12:** Ocorrência média de flebotomíneos vetores de leishmanioses, por faixa hipsométrica na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

A ocorrência média de flebotomíneos vetores na Regional Nordeste concentrou-se nas altitudes abaixo de 851 metros. Apesar da maioria das classes (abaixo de 10, 11 a 20, 21 a 30, 31 a 40 flebotomíneos) ter apresentado maior ocorrência entre as faixas de 701 a 850 metros. A classe que apresentou a maior média de ocorrência de vetores (acima de 41) concentrou-se abaixo de 750 metros de altitude.



**GRÁFICO 13:** Ocorrência média de flebotomíneos vetores de leishmaniose considerando as áreas de vegetação, Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

A ocorrência de flebotomíneos vetores concentrou-se fora das áreas de vegetação, principalmente para classe abaixo de 10 insetos. As classes de médias de ocorrência mais altas apresentaram valores maiores de ocorrência em áreas de mata. Para a classe de média de ocorrência acima de 41 flebotomíneos, 40% das ocorrências foram em áreas verdes.



**GRÁFICO 14:** Ocorrência média de flebotomíneos vetores de leishmaniose considerando os parâmetros: áreas de vilas e aglomerados urbanos e cursos d'água a céu aberto, Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

A/AI: área/área de influência

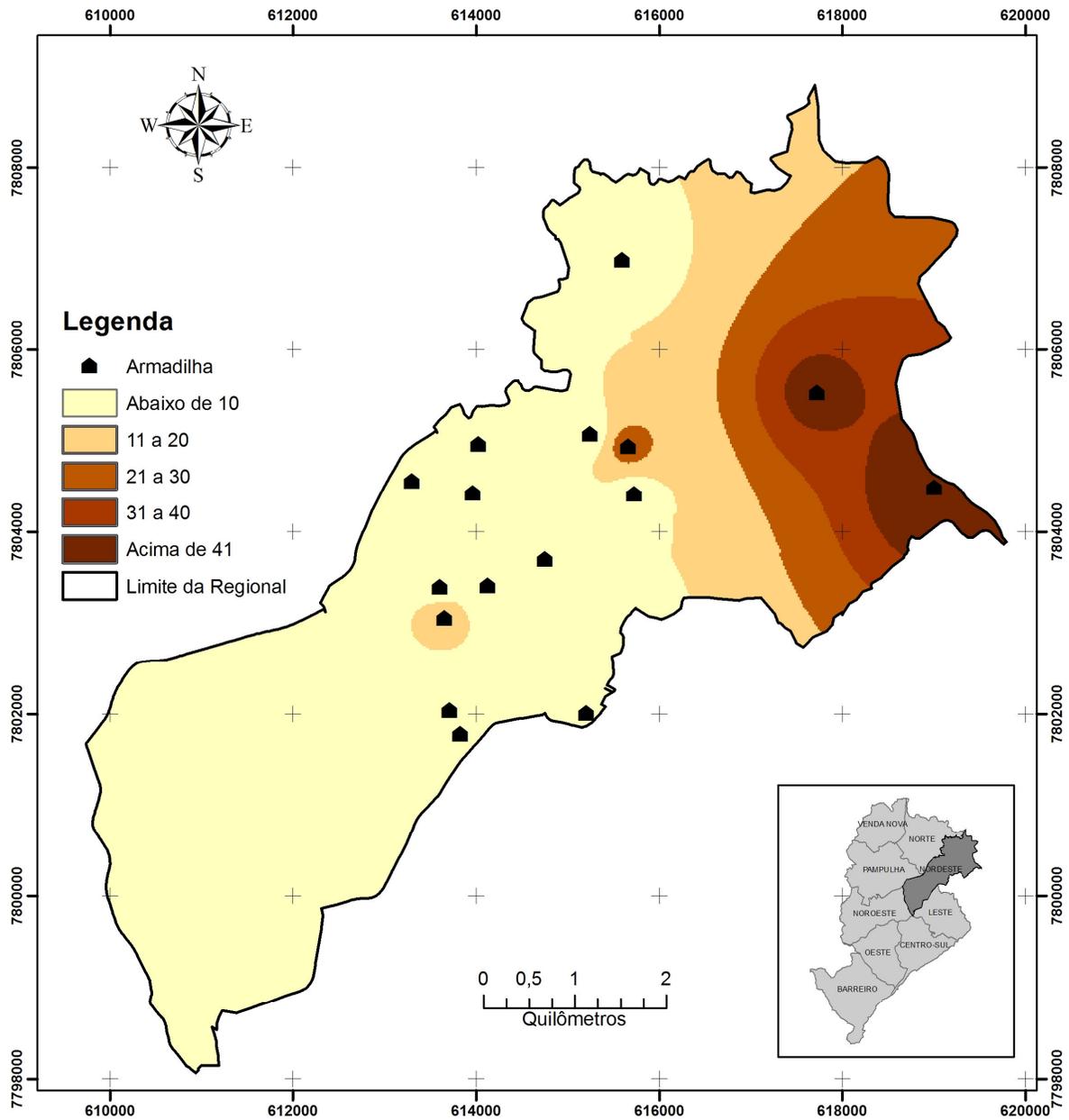
FA/FAI: fora da área/fora da área de influência

Todas as classes de média de ocorrência de flebotomíneos tiveram sua maior concentração fora das áreas de vilas e aglomerados. Para a influência dos cursos d'água a céu aberto na ocorrência de flebotomíneos temos um padrão similar ao encontrado para as áreas de vilas e aglomerados, onde a ocorrência de flebotomíneos não parece ser influenciada pela presença de cursos d'água.

A análise da média de ocorrência de flebotomíneos vetores consiste em um processo exploratório para descrever apenas o período e locais de estudo. Como os pontos de coleta não abrangeram toda a área da Regional, pois foram selecionados domicílios com casos de LV no ano de 2005, o perfil apresentado para a porção sudoeste da regional consiste apenas de extrapolação estatística.

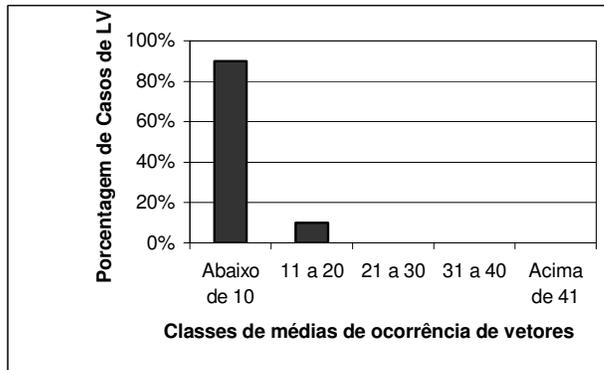
Os dados apresentados não podem ser considerados como representativos da distribuição da fauna flebotomínica na Regional, tanto qualitativa, quanto quantitativamente.

Para o restante da Regional, é possível perceber que a maior ocorrência de flebotomíneos vetores coincide com as áreas verdes da Regional, e na maior parte das porções urbanizadas a média de ocorrência é abaixo de 10 vetores (Figura 35).

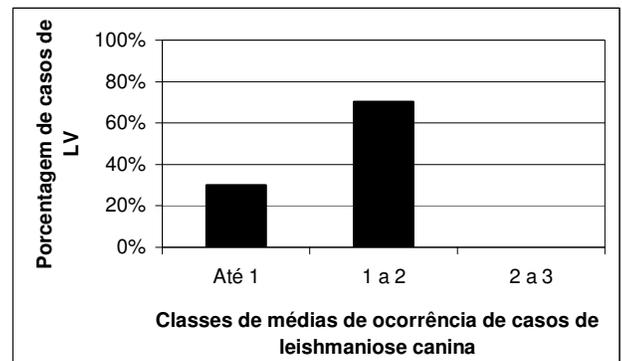


**FIGURA 35:** Média de ocorrência de flebotomíneos vetores a partir de coletas quinzenais realizadas com armadilhas HP na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

Os dados referentes à distribuição espacial dos casos de LV humana e dos casos de leishmaniose canina sobrepostos com a ocorrência média de vetores, gerarão os gráficos números 15 e 16 respectivamente.



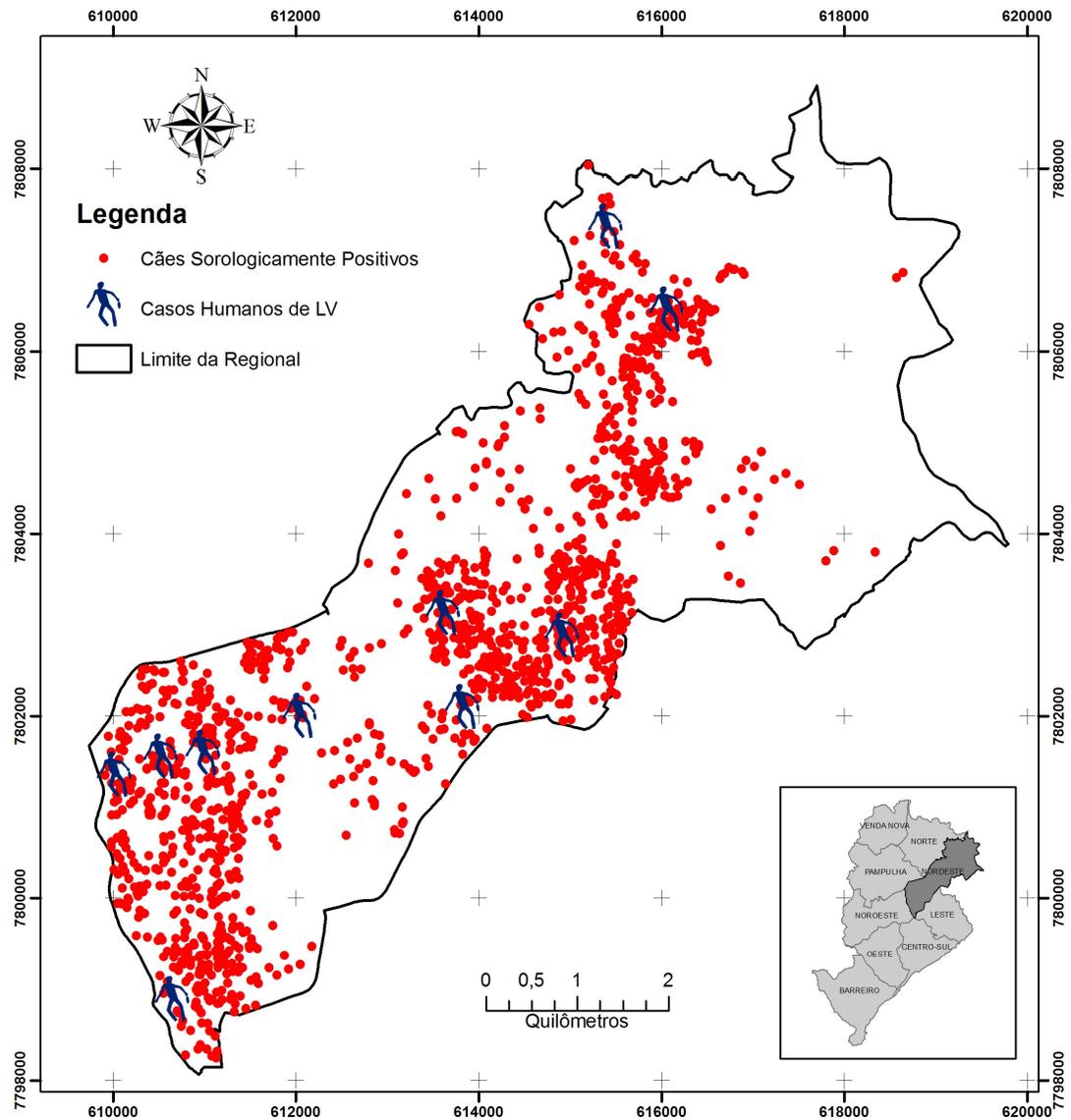
**GRÁFICO 15:** Ocorrência de casos de LV humana em relação às classes de ocorrência média de flebotomíneos vetores de leishmanioses na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007.



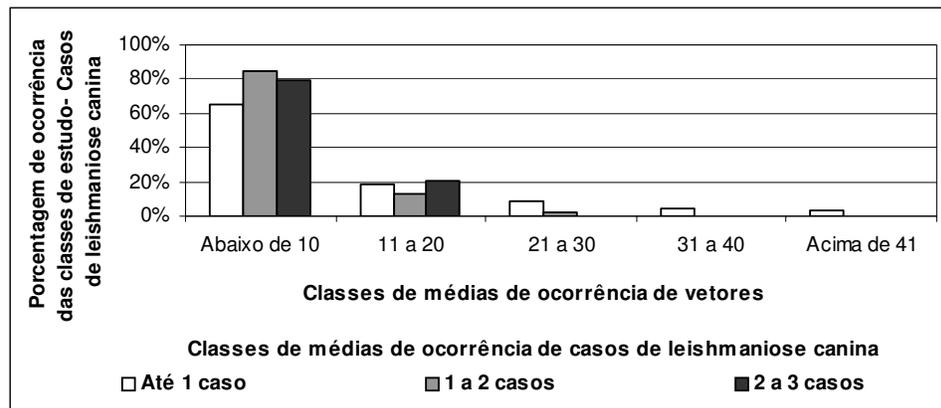
**GRÁFICO 16:** Ocorrência de casos de LV humana em relação às classes de ocorrência média de casos de leishmaniose canina na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

No período de estudo, os casos de LV humana concentraram-se nas áreas de médias mais baixas de ocorrência de flebotomíneos (classes abaixo de 10 e 11 a 20 flebotomíneos), e de menor média de casos caninos de leishmaniose (classes: até 1 caso e de 1 a 2 casos caninos de leishmaniose) (Gráficos 15 e 16).

Ainda que a figura 36 consista apenas na sobreposição dos dados georreferenciados de casos de LV humana e caninos de leishmaniose, ela mostra a correlação espacial destes dois eventos, apenas em uma análise visual. Os casos humanos concentraram-se nas áreas onde a média de ocorrência de casos de leishmaniose canina está entre 1 e 2 casos. Nesta figura, fica clara a dispersão tanto de casos de LV humana como de leishmaniose canina em toda a Regional à exceção da porção nordeste na divisa com os Municípios de Sabará e Santa Luzia onde há predominância de áreas verdes.



**FIGURA 36:** Sobreposição dos casos humanos de leishmaniose visceral e casos caninos de leishmaniose na Regional Nordeste, notificados pela Gerência de Epidemiologia e Informação da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007.



**GRÁFICO 17:** Ocorrência média de casos de leishmaniose canina em relação às classes de ocorrência média de flebotômíneos vetores de leishmanioses na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte, no período de julho de 2006 a junho de 2007.

Conforme mostrado no gráfico 17, a ocorrência de casos de leishmaniose canina concentrou-se nas áreas de menor ocorrência de flebotômíneos vetores. A classe de ocorrência de 2 a 3 casos concentrou-se apenas nas áreas de ocorrência média de flebotômíneos abaixo de 10 e de 11 a 20 flebotômíneos. Pequena porcentagem das classes de até 1 caso e de 1 a 2 casos ocorreu nas áreas de ocorrência média de flebotômíneos acima de 21.

## **DISCUSSÃO**

*...as circunstâncias adversas  
perdem a amargura, pela  
esperança que o sonho acende ao  
longe...*

Cecilia Meireles

## 6. Discussão

### *Situação das leishmanioses*

As doenças transmitidas por vetores estão entre as principais morbidades que acometem a humanidade, e assim, como ocorre para a grande maioria dos agravos, os grupos mais acometidos são as populações em condição de pobreza (OPAS, 2008).

As leishmanioses são consideradas eventos eco-epidemiológicos extremamente complexos e, atualmente, um novo fator soma-se a esta complexidade, tornando as leishmanioses um desafio para a saúde pública mundial: a urbanização. Durante os últimos vinte anos ocorreu um aumento no número de casos de todas as formas de leishmanioses no mundo, sendo que alguns especialistas as consideram como doenças emergentes em algumas áreas, e reemergentes em outras (ASHFORD, 2000).

Este grupo de agravos faz parte das doenças tropicais graves, que necessitam de medidas de controle efetivas (WHO, 2006). Em nosso país, as medidas de controle da leishmaniose visceral, por exemplo, mostram-se ineficazes, mesmo em municípios com um ofensivo programa de eliminação de cães sorologicamente positivos para leishmanioses e borrifação de inseticida em áreas de maior incidência de casos humanos e caninos, como no Município de Belo Horizonte.

Desde 1994, quando ocorreram os primeiros casos da doença em Belo Horizonte, essa apresenta-se em expansão, tanto em número de casos, como em relação às áreas geográficas de ocorrência. Em 1994, a Regional Leste notificou 17 casos de LV e a Regional Nordeste 12, apenas dez anos depois, em 2004, todas as nove regionais da capital mineira já notificavam casos de LV, com um total de 128 em 2004. Em Belo Horizonte, no ano de 2005 foram notificados 111 casos, 113 em 2006 e 96 em 2007 (PBH, 2008).

Com relação à LTA, não há base de dados sistematizada, mas ocorre também aumento do número de casos no município de Belo Horizonte (PBH,

2008).

A prefeitura de Belo Horizonte realiza intenso trabalho de controle de LV, conforme ações preconizadas pelo Ministério da Saúde. Entre os anos de 2005 e 2007, cerca de 140.000 amostras de sangue canino foram analisadas para leishmanioses, 10.000 cães sorologicamente positivos foram eutanasiados, e cerca de 160.000 casas foram borrifadas, em cada ano (PBH, 2008).

Desta forma, torna-se clara a necessidade de se mudar o olhar sobre a ocorrência deste agravo, especialmente nas áreas urbanas, onde a doença apresenta características ainda desconhecidas.

Uma vez que as condições de vida de determinada população acometida por algum agravo, que apresenta vetores invertebrados, são determinantes para a compreensão da ocorrência do agravo, a análise ambiental dos locais de ocorrência pode ser uma ferramenta fundamental, talvez não para o controle, mas para que se possa começar a entender o perfil do agravo, no caso as leishmanioses no meio urbano. Ressaltamos que os fatores ambientais, tais como: água, umidade do ar, vegetação e as formas de ocupação do espaço pelo homem são condicionantes da ocorrência dos vetores de doenças (OPAS, 2008<sup>A</sup>).

Os estudos de caracterização de fauna flebotomínica se devem, principalmente, à importância desses dípteros como vetores de leishmanioses (MARCONDES, 2001). Em nosso país, apesar dos diversos trabalhos realizados, ainda há muito para se conhecer sobre as espécies, sua distribuição geográfica, sendo que descrições de novas espécies não são eventos raros (ANDRADE-FILHO *et al.*, 2007; GALATI *et al.*, 2007; PINTO & DOS SANTOS, 2007). Ainda que, na cidade de Belo Horizonte, vários trabalhos tenham sido desenvolvidos sobre leishmanioses, incluindo aqueles que permitiram caracterizar sua fauna flebotomínica, não há, todavia, nenhum trabalho sistemático que tenha avaliado as oscilações da fauna e a eficácia das ações de controle sobre a população de vetores.

Tratando-se de doenças metaxênicas, a dinâmica populacional dos vetores possui especial importância, à medida que representa um dos principais fatores que determina o grau de contato entre infectantes e susceptíveis.

A vigilância ambiental baseada nos artrópodes vetores provê bases para intervenções adequadas no controle de doenças, e os indicadores por ela delineados devem considerar a diversidade das atividades enzoóticas, a abundância das espécies e suas taxas de infecção natural (GOMES, 2002).

Nesta ótica, a integração disciplinar e o uso de novas tecnologias, como o geoprocessamento, mostram-se como caminhos que podem apontar novas formas de abordagem dos problemas em saúde pública.

#### *Estudos de fauna flebotomínica e sua infecção natural*

Das nove espécies de flebotomíneos coletadas na Regional Nordeste, no período de junho de 2006 a julho de 2007, três são incriminadas como vetoras de leishmanioses no Novo Mundo: *L. longipalpis* (LAINSON & RANGEL 2003), principal vetora de *L. chagasi* e *L. intermedia* e *L. whitmani* vetoras de *L. braziliensis* (ANDRADE FILHO *et al.*, 2007; LUZ *et al.*, 2000; QUEIROZ *et al.*, 1994;). A ocorrência destas espécies na Regional Nordeste também foi registrada por SOUZA *et al.*, (2004).

Considerando-se a Regional Nordeste como um todo, a espécie que apresentou maior densidade populacional durante nosso estudo foi *L. whitmani*, que correspondeu a 75% dos espécimes coletados, seguida pela espécie *L. longipalpis* que correspondeu a 11% do total (Tabelas 1 e 2). Estes resultados contrapõem-se aos encontrados por outros autores em estudos entomológicos realizados em Belo Horizonte, onde *L. longipalpis* foi apontada como a espécie predominante (RESENDE *et al.*, 2004, SOUZA *et al.*,2004). Além disso, *L. longipalpis* foi a espécie mais coletada na Regional Nordeste em estudo realizado entre abril de 2001 e março de 2003 por SOUZA *et al.*,(2004).

Entretanto, ao analisarmos a fauna da Regional Nordeste separadamente, em áreas urbanas e áreas verdes (rurais), constatamos perfil semelhante ao descrito pelos autores acima, uma vez que na área urbana da Regional, *L. longipalpis* foi a espécie mais abundante, correspondendo a 63% dos espécimes capturados, e *L. whitmani* foi a segunda espécie mais coletada, correspondendo a

15% do total (Tabela 4).

Nesta perspectiva, nossos dados são compatíveis com os estudos anteriormente relatados, por RESENDE *et al.*, (2004), entre os anos de 1997 e 1999 em Belo Horizonte, que relataram o encontro de *L. longipalpis* no intra e peridomicílios. Neste estudo, *L. longipalpis* representou 69% das espécies coletadas, e no estudo realizado por SOUZA *et al.*, (2004), a taxa foi de 68%. Ambos os estudos avaliaram áreas urbanas do Município de Belo Horizonte.

Em nosso estudo, *L. longipalpis* foi a espécie mais prevalente em cinco das nove localidades urbanas estudadas, apresentando médias altas de ocorrência, não alcançadas por nenhuma outra espécie. Novamente, nossos dados condizem com os apresentados por SOUZA (2005) onde *L. longipalpis* foi a espécie mais prevalente em seis das nove Regionais de Belo Horizonte. Tais resultados são fator indicativo da grande adaptabilidade desta espécie ao ambiente antropicamente modificado (Tabela 3).

A adaptabilidade desta espécie tem sido comprovada por diversos autores desde a década de 30, quando o ciclo da LV começou a ser elucidado. Sua presença no peridomicílio e seus hábitos oportunistas de alimentação já eram relatados anteriormente (LAINSON & RANGEL, 2005).

O perfil de distribuição das espécies *L. longipalpis* e *L. whitmani* em áreas urbanas e áreas verdes (rurais) próximas, encontrado na Regional Nordeste foi similar ao perfil descrito por CARVALHO (2006), em estudo realizado em área endêmica de leishmaniose visceral, no Município de Santa Luzia, região metropolitana de Belo Horizonte. Na Regional Nordeste, as duas espécies intercalam a prevalência entre as áreas urbanas e áreas verdes (rurais), assim como descrito por aquele autor, na área já citada, limítrofe ao Município de Belo Horizonte.

A partir destes padrões, podemos inferir que as populações de *L. longipalpis* que ocorrem em Belo Horizonte, bem como na região metropolitana, estão adaptadas ao ambiente antrópico, conforme descrito por diversos autores, tanto para a mesma região, como para outras localidades do Brasil.

Na cidade de Natal a ocorrência de *L. longipalpis* foi associada às áreas de

mata presentes no ambiente urbano, apesar desta espécie também ser capturada em bairros totalmente urbanizados (XIMENES *et al.*, 2007).

O perfil de ocorrência descrito para *L. whitmani* confirma estudos que a descrevem como uma espécie com alta capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais, tanto de variações climáticas, como de vegetação (SOUZA *et al.*, 2002; TEODORO *et al.*, 2003). Conforme descrito por alguns autores, esta espécie apresenta padrão de periurbanização, já reconhecido (LEONARDO & REBÊLO, 2004), mas pesquisas recentes apontam para sua urbanização (SOUZA, 2005; CARVALHO, 2006; TEODORO *et al.*, 2003<sup>B</sup>).

Em nosso trabalho, considerando o ambiente urbano, *L. whitmani* correspondeu a 14,7 % dos espécimes coletados na Regional Nordeste, valor similar ao encontrado por SOUZA (2005) que foi de 16,7%. Em ambos os estudos, *L. whitmani* foi a segunda espécie mais capturada, o que foi também observado por CARVALHO (2006) em Santa Luzia. SOUZA (2005) relata que *L. whitmani* foi encontrada em oito das nove Regionais de Belo Horizonte, e que o número de espécimes coletados no intra e no peridomicílio, não apresentou diferença estatisticamente significativa, o que aponta para a domiciliação da mesma.

*L. whitmani* apresenta importância crescente enquanto espécie vetora de *L. braziliensis*. Em 1985, DEANE & GRIMALDI apenas citaram esta espécie que apresentou infecção por promastigotas em alguns focos de LTA, sem maiores considerações. Atualmente, ela é considerada uma das principais vetoras de *L. braziliensis* em diversas partes do Brasil, sendo sua prevalência em localidades de ocorrência de LTA freqüentemente mencionada (LOIOLA *et al.*, 2007; RANGEL & LAINSON, 2003).

A adaptabilidade de *L. whitmani*, bem como sua capacidade vetorial, tem sido foco de discussão de diversos trabalhos. PETERSON & SHAW (2003), utilizando modelos complexos de análises de nichos ecológicos, vão além, e apontam que, a adaptabilidade de *L. whitmani* para sobreviver em ambientes modificados é tão grande, que ela pode torna-se capaz de sobreviver às mudanças climáticas atuais do planeta.

A espécie *L. intermedia* representou 5% dos espécimes coletados no total, 4% na zona urbana e 5% dos espécimes da zona de áreas verdes (rurais). Ainda assim, sua ocorrência merece ser discutida dada sua importância epidemiológica, principalmente no Sudeste do país (ANDRADE FILHO, 2007; MARCONDES *et al.*, 1997). LUTZ & NEIVA (1912) quando da descrição da espécie, já relatavam a frequência de *L. intermedia* em residências. Esta espécie já foi encontrada naturalmente infectada por *L. braziliensis* (RANGEL *et al.*; 1986) e é incriminada como principal suspeita de transmitir LTA em diversas localidades (ANDRADE FILHO, 2003).

Em Minas Gerais, *L. intermedia* (*sensu lato*) é prevalente ou bastante abundante em áreas de transmissão de LTA (ANDRADE FILHO, 2007). GONTIJO *et al.*, (2002) em trabalho realizado em um surto de LTA no Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, descreveram a prevalência de *L. intermedia* na região, bem como sua preferência por ambientes com maior grau de modificação antrópica.

A presença simpátrica de *L. intermedia* e *L. whitmani* já foi registrada em diversas localidades do Brasil. TEODORO & KÜHL (1997) relataram a ocorrência dessas espécies no Município de São Jorge do Ivaí, no Estado do Paraná, com predominância de *L. intermedia*. Fato similar foi descrito por SARAIVA *et al.*, (2006) em estudo realizado nos Municípios mineiros de Caparaó e Alto Caparaó, e também por SOUZA *et al.*, (2002) no Distrito de Posse no Rio de Janeiro, ambas áreas de ocorrência de LTA. Neste último estudo, os autores descrevem a alternância sazonal das duas espécies, com o predomínio de *L. intermedia* nos meses quentes e de *L. whitmani* nos meses frios, sugerindo que tal fato poderia explicar a transmissão *L. braziliensis* durante todo ano.

Apesar de ter sido coletada em pequeno número, é necessário destacar a ocorrência de *L. lenti* na Regional Nordeste. Esta espécie pode picar o homem, cavalos e cães e já foi encontrada naturalmente infectada por promastigotas em Jacobina, BA (SHERLOCK, 1996). Apesar desse relato, BRAZIL *et al.*, (1997) em estudo realizado sobre a biologia desta espécie, declararam que a mesma não apresenta hábitos antropofílicos e é refratária ao desenvolvimento de *Leishmania* sp. Recentemente foi relatada sua infecção natural por *L. braziliensis* em

avaliação utilizando técnicas de biologia molecular (XAVIER, 2007). Assim, o possível papel epidemiológico de *L. lenti* precisa ser melhor esclarecido.

Em nosso trabalho não foi possível diferenciar as fêmeas das espécies *L. sallesi* e *L. cortellezzi*, uma vez que ambos os machos foram coletados, os dados são apresentados considerando-se a possibilidade de se tratar de qualquer uma das duas espécies. Ambas são comuns no Estado de Minas Gerais (CARVALHO *et al.*, dados não publicados).

*L. sallesi* já foi encontrada naturalmente infectada por tripanossomatídeos (MAYRINK *et al.*, 1979), mas não é suspeita de possuir capacidade vetorial (RANGEL & LAINSON, 2003; YOUNG & DUNCAN 1994). Sua infecção natural por *L. chagasi* já foi relatada por SARAIVA *et al.*, (dados não publicados).

Na região metropolitana de Belo Horizonte foi assinalada a infecção natural de *L. cortellezzi* por *L. chagasi* (CARVALHO, 2006). Entretanto, não há outros relatos que possam indicar que tal espécie apresente importância epidemiológica.

*L. termithophila* já foi registrada em nosso município, e é freqüentemente citada em levantamentos entomológicos no Estado de Minas Gerais (LOIOLA *et al.*, 2007). Não há relatos de que a mesma possua importância epidemiológica no ciclo das leishmanioses. Esta espécie foi descrita em 1964, em Minas Gerais, quando teve sua ocorrência associada a ninhos de térmitas (MARTINS *et al.*, 1977).

A espécie *L. lutziana* foi descrita em 1932, por Costa Lima, e sua ocorrência é comum em Minas Gerais (AGUIAR & MEDEREIROS, 2003). Entretanto, este é o primeiro registro da espécie no município de Belo Horizonte. Não há registro ou mesmo suspeita na literatura de que esta possa atuar como vetora de *Leishmania* sp.

Quanto a *L. lloydi*, não há suspeita de que ela tenha importância epidemiológica nos ciclos de transmissão de leishmanioses, ainda que diversas espécies relacionadas, do mesmo sub-gênero (YOUNG & DUNCAN 1994, CARVALHO *et al.*, 2006) sejam vetoradas. Esta espécie já foi registrada no município de Belo Horizonte (SOUZA *et al.*, 2004, RESENDE *et al.*, 2006) e também é comum em Minas Gerais (AGUIAR & MEDEIROS, 2003).

---

Ao se comparar as localidades de estudo da Regional Nordeste, quanto à distribuição da fauna flebotomínica como um todo, vemos que as áreas verdes (rurais) apresentaram maior riqueza de espécies que as localidades urbanas. Ao se comparar a ocorrência sazonal de flebotomíneos, entre os ambientes de estudo, verificou-se que há diferença estaticamente significativa entre elas.

O padrão de variação sazonal das espécies de flebotomíneos sofre influência de diversos fatores abióticos, e o perfil deste também depende da espécie de estudo e da área geográfica em que o mesmo é realizado. Ainda assim, devido à variação dos fatores climáticos ao longo do tempo, uma mesma espécie pode apresentar diferentes padrões sazonais em uma mesma área geográfica (XIMENES *et al.*, 2006).

Considerando nosso intervalo de estudo, o padrão da curva sazonal dos flebotomíneos deve-se, majoritariamente, a *L. whitmani*. Os picos de coleta ocorreram antes e após o período de chuvas intensas (Gráficos 5 e 6). Estes dados contradizem outros autores, que apontam para a maior ocorrência de flebotomíneos durante as estações chuvosas (SOUZA 2005, GALATI *et al.*, 1997).

Talvez este fato possa ser explicado pelos altos índices pluviométricos ocorridos entre outubro de 2006 e março de 2007, em Belo Horizonte. Eles provavelmente acarretaram elevada umidade, em possíveis criadouros, e podem ter dificultado o desenvolvimento dos insetos. Apesar de que, em geral, as espécies de flebotomíneos se desenvolvem bem na faixa de umidade relativa do ar entre 80 e 85%, conforme descrito por BRAZIL *et al.*, (1997), em estudos de laboratório. Sabe-se, no entanto, que as formas imaturas não se desenvolvem em locais encharcados (LAINSON, 1982).

Foram coletados flebotomíneos em todos os meses de estudo, e mesmo na época de chuvas mais intensas foram observados picos de ocorrência, ainda que discretos. Estatisticamente, apenas a temperatura média apresentou correlação significativa com a variação sazonal dos flebotomíneos, mas considerações sobre os demais fatores são válidas, uma vez que os valores de  $p$  para os parâmetros de umidade relativa do ar e pluviosidade estavam próximos de 0,10. Houve portanto uma tendência para a influência dessas variáveis na curva sazonal dos

flebotomíneos capturados (Tabela 6 e quadro 6).

*L. whitmani* foi coletada em todos os meses de estudo, ocorrendo em maior número nos meses secos e frios, e o mesmo perfil foi observado para *L. longipalpis*. O perfil encontrado para *L. whitmani* é similar àquele descrito por SOUZA (2005) no Município de Belo Horizonte. Para *L. longipalpis*, a autora encontrou, entre os anos de 2001 e 2002, predomínio em meses secos e frios, enquanto entre 2002 e 2003 os picos de coletas foram nos meses quentes e chuvosos.

XIMENES *et al.*, (2006) em estudo realizado no Rio Grande do Norte, verificou picos de ocorrência para *L. longipalpis* nos meses quentes e chuvosos. Os autores correlacionaram os machos e fêmeas, separadamente, aos parâmetros climáticos. Os machos apresentaram correlação significativa apenas com a umidade relativa do ar e as fêmeas com todos os parâmetros avaliados.

SHERLOCK (1996) em estudo realizado na Bahia, relata a maior ocorrência de *L. longipalpis* nos meses mais chuvosos do ano, tanto os mais quentes, como os mais frios. Este autor demonstra a importância de se conhecer o perfil sazonal de uma espécie vetora, ao estabelecer a correlação entre a ocorrência sazonal de *L. longipalpis*, casos humanos de LV e a frequência de gambás nos peridomicílios.

Nas coletas realizadas com a armadilha de Shannon, apenas as espécies *L. whitmani* e *L. longipalpis* foram coletadas, o que concorda com autores que afirmam que os diferentes tipos de armadilhas auxiliam na melhor descrição da fauna flebotomínica (Tabela 7).

Considerando-se a descrição da fauna de flebotomíneos, um aspecto interessante do nosso estudo foi a caracterização mais detalhada da fauna da Regional Nordeste. Em 2005, SOUZA descreveu uma riqueza de seis espécies para a Regional, utilizando seis armadilhas em três pontos, com coletas de quatro dias consecutivos por mês, durante dois anos. Em nosso trabalho, encontramos uma riqueza de nove espécies, utilizando 16 pontos de coleta, 24 armadilhas, em coletas quinzenais de uma noite, durante um ano. Apenas *Lutzomyia firmatoi* Barreto, Martins & Pelegrino, 1956, que estava presente no levantamento

realizado por SOUZA (2005), não foi coletada em nosso estudo.

Desta maneira torna-se clara a necessidade de estudos pormenorizados para a melhor caracterização da fauna flebotomínica da Regional Nordeste. Pois, os resultados até agora obtidos apontam que ainda não se conseguiu caracterizar inteiramente a fauna deste grupo de insetos na Regional, ao se considerar critérios ecológicos de curva de acumulação de espécies (SANTOS, 2004).

Como descrito por FELICIANGELI, (1987) o conhecimento sobre a diversidade e abundância relativa das espécies de flebotomíneos auxilia no entendimento da história natural da transmissão de determinados parasitos. Na Regional Nordeste, a presença das leishmanioses pode estar vinculada à ocorrência das três espécies vetoras já citadas, e suas correlações com outros fatores. Mas nossos resultados de análise de infecção natural apontam a possibilidade de eventos mais complexos.

As taxas de infecção foram altas, considerando-se a maioria dos relatos existentes na literatura. Tradicionalmente, as taxas de infecção natural dos flebotomíneos nos focos endêmicos variam em torno de 0,2% (RODRIGUEZ *et al.*, 1999; LUZ *et al.*, 2000).

Nossos resultados podem ser explicados pela utilização de métodos de biologia molecular, para determinação da taxa de infecção natural. Esses métodos são mais sensíveis e específicos, e têm substituído os procedimentos de dissecação e busca visual de parasitos, ao microscópio óptico. Encontramos apenas três exemplares com promastigotas no tubo digestivo, quando utilizamos a dissecação e a busca visual ao microscópio óptico.

No presente estudo, para *L. longipalpis*, a taxa de infecção natural por *L. chagasi* foi de 19%, para *L. whitmani*, importante vetora de *L. braziliensis*, a taxa de infecção por *L. chagasi* foi de 3,8%. *L. intermedia* apresentou uma taxa de 14,3% de infecção natural para *Leishmania* sp (Quadro 9).

PAIVA *et al.*, (2006) em estudo realizado na localidade de Antônio João, estado do Mato do Grosso do Sul, relataram as seguintes taxas de infecção para *L. longipalpis*: 10,4% para infecção por tripanossomatídeos e 3,9% para *L. chagasi*, além de uma amostra positiva para *L. amazonensis*, utilizando reações

de PCR, que tinham como alvo regiões do gene do minixon. A taxa para infecção por tripanossomatídeos, utilizando o método de dissecação foi de apenas 1,24%.

A infecção natural de *L. whitmani* por *L. braziliensis* já foi verificada na região metropolitana de Belo Horizonte, em estudo utilizando reações de PCR genérica e espécie específicas (CARVALHO, 2006).

Um exemplar dos três coletados de *L. termithopila* apresentou infecção por *L. chagasi*, o que originou a elevada taxa de 33,3% de infecção natural. Esse resultado deve ser analisado com cuidado, devido ao pequeno número de insetos coletados. O encontro de *L. termithopila* infectada por *L. chagasi* é um relato inédito na literatura.

PITA-PEREIRA *et al.*, (2005) registraram uma taxa de infecção de 15,6% para *L. intermedia* por *L. braziliensis* no Município do Rio de Janeiro.

Neste estudo, um exemplar de *L. intermedia* foi encontrado infectado por *Leishmania* sp., mas não foi possível a identificação específica do parasito.

Para a amostra do complexo *cortellezzi* infectadas por *Leishmania* sp sabemos que não se trata de nenhuma das espécies do subgênero *Leishmania*, uma vez que esta amostra foi negativa para a hibridização com sonda específica para esse subgênero. Supomos que ambas as infecções encontradas para este complexo sejam por *L. braziliensis*, devido fato de termos encontrado uma amostra positiva para *L. braziliensis*. Este é o primeiro relato da infecção de fêmeas do complexo *cortellezzi* pela espécie *L. braziliensis*, e demonstra a presença e circulação deste parasito na região de estudo.

Os espécimes do complexo *cortellezzi* infectados foram coletados na fazenda SL, área verde (rural). Nesta mesma área, no mesmo período de estudo, foram coletados 16 espécimes de pequenos mamíferos, entre roedores e carnívoros, positivos para a infecção por *L. braziliensis* (MELO, 2008). Maiores estudos sobre o comportamento das espécies do complexo *cortellezzi* são necessários, para que se possa inferir sobre sua possível participação no ciclo de transmissão de *L. braziliensis*.

CARVALHO (2006) e SARAIVA (dados não publicados) relataram a infecção natural das espécies *L. cortellezzi* e *L. sallesi* por *L. chagasi*, no estado

de Minas Gerais.

As técnicas de biologia molecular contribuem significativamente para a correta identificação das espécies de *Leishmania* que ocorrem nos vetores, pois reações de PCR, cujo alvo são seqüências de DNA de *Leishmania*, são específicas e sensíveis. O uso destas técnicas em estudos de infecção natural é crescente, e alguns autores já propõe padronizações de metodologias para serem utilizadas com esta finalidade (PAIVA *et al.*, 2007). As reações de PCR que identificam parasitos do gênero *Leishmania*, além de serem mais sensíveis e específicas que as técnicas de dissecação e procura dos flagelados ao microscópio óptico, permitem a diferenciação entre os complexos ou grupos de flagelados que os flebotomíneos podem albergar em seu intestino, muito mais rapidamente (PAIVA *et al.*, 2007).

PEREZ *et al.*, (2007) em estudo com metodologia semelhante a nossa, utilizando dissecação, observação ao microscópio, e reação de PCR gênero específica, seguida de uma reação de RFLP espécie específica, caracterizou a infecção de *Lutzomyia peruensis* Shannon, 1929, por *Leishmania (Viannia) peruviana*. Estes autores ressaltam a praticidade e rapidez dos métodos moleculares neste tipo de estudo, uma vez que em poucos dias pode-se ter os resultados de identificação específica do parasito.

Em nosso trabalho utilizamos os insetos inteiros, no processo de extração de DNA e as taxas de infecção natural foram calculadas segundo o critério de taxa mínima de infecção, quando se tratava de grupos de espécimes. Atualmente estes dois passos metodológicos estão se consagrando como os melhores para este tipo de estudo (PAIVA *et al.*, 2007; PITA-PEREIRA *et al.*, 2005).

Neste estudo as fêmeas foram congeladas em freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$  logo após a dissecação, mas mesmo métodos de armazenamento mais simples como: manter os insetos secos a  $4^{\circ}\text{C}$ , ou em solução de álcool a 70%, mantém íntegro o DNA, tanto dos insetos como dos parasitos (PAIVA *et al.*, 2007). Este fato reforça a praticidade do uso de técnicas de biologia molecular em estudos de infecção natural, pois muitas vezes o local de coleta é distante do laboratório em que os insetos serão processados.

---

Apesar do pequeno número de amostras, o que não nos permite realizar maiores inferências, das 15 amostras de flebotomíneos positivas para *Leishmania* nas análises utilizando técnica de biologia molecular, apenas três foram positivas na análise feita com microscopia óptica. Isto representa um acréscimo de 500% em números relativos de diferença na positividade de uma técnica para outra. Razão pela qual sugerimos as técnicas moleculares como mais práticas para o estudo de infecção natural de flebotomíneos, em áreas endêmicas.

A técnica de PCR-RFLP, com digestão de produto amplificado a partir de PCR gênero específica, pela enzima *Hae* III, para diferenciação de *L. braziliensis*, *L. amazonensis* e *L. chagasi*, desde a sua padronização por VOLPINI (2003), tem sido usada com sucesso para identificação de parasitos de cultura, de amostras clínicas de reservatórios, como por exemplo, para identificação de *Leishmania* em infecções caninas. A técnica foi utilizada com sucesso tanto por ANDRADE *et al.*, (2006), quanto por QUARESMA (2007) em estudos de leishmaniose canina realizados em Belo Horizonte. MELO (2008) também a usou com sucesso para identificação de *Leishmania* em tecidos de pequenos mamíferos das ordens Rodentia e Carnivora.

Este é o primeiro relato do emprego desta técnica para identificação de *Leishmania* em flebotomíneos naturalmente infectados. A técnica mostrou-se exeqüível e prática: com uma única reação pode-se caracterizar três espécies *Leishmania*, que são as principais espécies encontradas nas infecções humanas, pelo menos na região Sudeste do Brasil. Este é ponto de fundamental importância, dado que a quantidade de DNA extraída dos flebotomíneos é pequena e não há possibilidade de novas extrações, como ocorre para tecidos de vertebrados. Além disso, parte das amostras foi submetida à técnica de hibridização com sonda radioativa para confirmação dos resultados, e houve concordância em todas as amostras testadas. Técnicas de hibridização são usadas com sucesso tanto na identificação de *Leishmania* em tecidos de vertebrados como em tecidos de flebotomíneos (ANDRADE *et al.*, 2001, OLIVEIRA *et al.*, 2005; PITA-PEREIRA *et al.*, 2005, MELO 2008).

Nossos resultados apontam para uma importante circulação de *L. chagasi*

nos ecótopos estudados na Regional Nordeste. Podemos inferir uma intensa circulação deste parasito, a vetora clássica desta espécie *L. longipalpis* que apresentou taxa de infecção muito alta 19%. E até mesmo espécies que nunca foram encontradas naturalmente infectadas por qualquer espécie de *Leishmania*, revelaram-se infectadas com *L. chagasi* na Regional. *L. whitmani*, importante espécie vetora de *L. braziliensis* e que comprovadamente suga o homem e animais domésticos e sinantrópicos (LAINSON & RANGEL, 2003) teve expressiva taxa de positividade para *L. chagasi*.

É importante ressaltar que o fato da ocorrência de infecção natural não é suficiente para que se possa suspeitar da participação de uma espécie como vetora no ciclo das leishmanioses.

Como estabelecido por KILLICK-KENDRICK (1990), para se definir que uma espécie de flebotomíneo é vetora de uma determinada espécie de *Leishmania*, é preciso que ela se enquadre nos parâmetros descritos pelo autor, que são aceitos e adotadas pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2007). Os critérios são: ser abundante no foco de leishmaniose, ser antropofílica, apresentar o desenvolvimento dos parasitos no intestino na ausência de sangue, apresentar a maior taxa de infecção natural dentre todas as espécies de flebotomíneos do local de estudo, e o parasito isolado do inseto deve ser indistinguível daqueles isolados de casos humanos.

Desta forma, nossos dados apenas atestam a circulação de *L. chagasi* e não que as espécies *L. whitmani* e *L. termitophila* sejam vetoras da mesma.

A densidade relativamente baixa de *L. longipalpis* em nosso estudo e a presença de outras espécies de flebotomíneos com taxas de infecção natural expressivas para *L. chagasi*, bem como as elevadas taxas de positividade canina para este parasito na Regional Nordeste, levantam algumas considerações a respeito de aspectos ainda não esclarecidos da epidemiologia da LV.

Alguns trabalhos registraram a baixa densidade de *L. longipalpis* em áreas onde ocorre LV e também LTA, como a situação descrita por SALOMÓN *et al.*, (2001) para a Argentina. Dentre as hipóteses formuladas, por estes autores, para explicar tal fato estão: a investigação insuficiente da fauna flebotomínica, e a

possibilidade de outras espécies atuarem como vetoras de *L. chagasi*.

No município de Dom-Pedro, Maranhão, área de ocorrência de LV, também foi registrada a predominância *L. whitmani*, correspondendo a 82% do total de espécimes, enquanto *L. longipalpis* correspondeu a 18% (LEONARDO & REBÊLO, 2004).

Apesar de classicamente a distribuição de *L. longipalpis* determinar a de LV no Brasil (DEANE & GRIMALDI, 1985), BARBOSA DE SOUZA *et al.*, (2003) relataram a ausência desta espécie em localidades com ocorrência de LV no estado do Rio de Janeiro. Estes autores também sugerem a participação de outras espécies, como *L. migonei* (França, 1920) (vetora de *L. braziliensis*), e *L. firmatoi* (Barreto, Martins & Pelegrino, 1956), no ciclo de transmissão de *L. chagasi*.

A participação de *L. cruzi* (Mangabeira, 1938) e *L. forattinii* (Galati, Rego, Nunes & Teruya, 1985) como vetoras de *L. chagasi* em Corumbá, Mato Grosso do Sul foi sugerida por GALATI *et al.*, (1997). Estas espécies apresentaram elevada prevalência nesse Estado, onde *L. longipalpis* foi raramente registrada.

Ainda que todas estas considerações possam ser feitas e embasadas em dados atuais, a importância de *L. longipalpis* como vetora de *L. chagasi* permanece inalterada, inclusive com dados que mostram a grande eficiência desta espécie como vetora, e na capacidade de componentes de sua saliva interferir no processo de infecção causado pela *L. chagasi* (MONTROYA-LERMA *et al.*, 2003).

#### *Caracterização ambiental e análise biogeográfica*

Mudanças na estrutura agrária do país resultaram na transferência de um contingente populacional significativo para os centros urbanos, criando condições favoráveis para ocorrência de eventos emergentes e reemergentes entre as doenças infecciosas (GOMES, 2002). Estimativas indicam que em 2030, 5 bilhões de pessoas viverão em áreas urbanas em todo o mundo e este crescimento da população urbana pode acarretar o aumento de surtos de doenças transmitidas

por vetores nestas áreas. Na América do Sul, mais de 70% da população é considerada urbana (WHO, 2002).

Atualmente, têm-se um problema conceitual do que seria o meio urbano e o que seria o meio rural: DIAS (1998) relata que a urbanização de determinadas doenças poderia advir da ruralização de espaços urbanos periféricos. Conforme discutido por ALBUQUERQUE & PIMENTEL (2004), estes conceitos são de grande importância para a saúde pública, mas na maioria das vezes permanecem vagos.

Conforme PROIETTI & CAIAFFA (2005) a saúde urbana possui uma dimensão peculiar, o papel do ambiente físico e social do “lugar” e sua participação em moldar a saúde das pessoas. A importância do lugar na saúde urbana apontada por CAIAFFA *et al.*, (2005), em especial com relação à ocorrência de flebotomíneos vetores, é referendada por CAMARGO-NEVES *et al.*, (2001), uma vez que estes autores sugerem que alguns domicílios podem ser responsáveis pela ocorrência destes insetos, contribuindo para o perfil focal da LV e apontam a importância de se conhecer os peridomicílios.

Em nosso trabalho, buscamos analisar cada local de ocorrência de caso de humano de LV e de coleta de flebotomíneos vetores, tentando elucidar quais as características presentes no ambiente que poderiam favorecer tais eventos.

Ao se comparar os lotes de área urbana, participantes do estudo, em relação à ocorrência sazonal de espécimes de flebotomíneos, apenas o lote 14 revelou diferença estatisticamente significativa em relação aos demais. As fazendas SL e CA, também apresentaram diferença significativa em relação às localidades urbanas. A pesquisa de caracterização ambiental foi realizada apenas na fazenda SL, e por isso considerações pormenorizadas são traçadas sobre a mesma.

Em nosso trabalho, o perfil geral da estrutura das residências foi razoável, a maioria das casas apresentou boa estrutura de alvenaria, mas houve casos de precariedades, onde inclusive materiais alternativos, como fragmentos de madeira compensada e lona, eram utilizados na construção das residências (Lotes 3 e 15 – Figuras 23 e 32).

Considerando a umidade como fator de atração dos flebotomíneos para o interior das residências, algumas delas apresentaram características que aumentam a umidade em construções, sendo: paredes sem reboco (28,6%), presença de rachaduras (50,0%) e de buracos (35,7%), teto apenas de telha (20,0%) ou laje sem telhado (36,0%). A presença de mofo que, claramente, indica uma umidade alta, foi constatada em 35,7% dos lotes.

Os flebotomíneos são insetos de hábitos crepusculares que durante o dia buscam se abrigar em locais onde não há grandes alterações de microclima (BRAZIL & BRAZIL, 2003), assim as próprias residências poderiam propiciar este abrigo aos insetos. *L. longipalpis*, em localidades da Bahia, é encontrado com maior frequência no interior das residências durante os períodos de seca (SHERLOCK, 1996), o que corrobora nossa suposição.

AGUIAR & MEDEIROS (2003) também relatam que, devido a sua estrutura delgada, estes insetos precisam se proteger de mudanças bruscas de temperatura em locais com alto teor de umidade, pouca luminosidade e circulação de ar, o que também apóia nossa hipótese das residências poderem atuar como abrigos para os flebotomíneos.

Apenas um lote apresentou casa com esgoto a céu aberto, não houve registro de ausência de piso nas residências e todas elas apresentaram banheiro completo. Segundo OLIVEIRA *et al.*, (2006) a ausência de banheiro, de rede de esgoto e de piso representaram fatores de risco para a LV.

Os peridomicílios estudados apresentaram características que podem favorecer tanto a ocorrência das leishmanioses, como de outras doenças urbanas, como a dengue e a leptospirose, uma vez que grande parte dos lotes apresentou condições propícias à presença de roedores e acúmulo de inservíveis (BRASIL, 2002<sup>A</sup>; BRASIL, 2002<sup>B</sup>). Estas condições demonstram a ausência de cuidado higiênico adequado com os quintais, situação comum nos grandes centros urbanos brasileiros, fato este que vai ao encontro da visão de DIAS (1998) sobre a importância fundamental da participação comunitária, ativa, consciente e permanente no controle de determinadas endemias.

De acordo com nossos resultados, as residências apresentaram apenas a

---

---

umidade como um fator favorável à presença de flebotomíneos, assim, supomos que os quintais (peridomicílios) apresentem as características mais importantes, que poderiam explicar a ocorrência destes insetos.

As principais características presentes nos peridomicílios, que podem estar relacionadas à ocorrência destes dípteros, foram: presença de árvores (85,7%), de hortas (35,7%), pilhas de madeira (92,9%), entulhos (85,7%), montes de folhas (57,1%), utilização de esterco (35,7%), lixo não acondicionado e águas pluviais (ambos ocorreram em 21,4% dos lotes), além dessas, a criação de pelo menos um tipo de animal (85,7%).

Os cães foram os animais de criação mais presentes, ocorrendo em 78,57% dos lotes estudados. Esta espécie, além de servir como fonte de alimento para as fêmeas de flebotomíneos, pode albergar a infecção por *L. chagasi*, sendo importante reservatório deste parasito (MARZOCHI *et al.*, 1994). Além disso, os cães também se infectam com *L. braziliensis* e seu papel na epidemiologia da LTA precisa ser esclarecido (BASANO, 2004).

Depois dos cães, as galinhas e os pássaros foram os animais mais presentes nos locais de estudos. A criação de galinhas foi uma característica presente em 43% dos locais estudados, a atração de flebotomíneos por estes animais, que atuam como fonte de alimento, já está consagrada na literatura. Fêmeas de *L. longipalpis* se alimentam com extrema facilidade em galinhas (*Gallus gallus*), e a abundância de flebotomíneos em galinheiros é considerada fato de importância epidemiológica para a ocorrência de LV (ALEXANDER *et al.*, 2002; LAINSON & RANGEL, 2005).

A associação entre espécies de flebotomíneos vetores de *L. braziliensis* e galinheiros também é comum. TEODORO & KÜHL (1997) relataram a ocorrência tanto de *L. whitmani* como de *L. intermedia* em pocilgas e ambientes peridomésticos com a presença de galináceos. LEONARDO & REBÊLO (2004) verificaram a alta frequência de flebotomíneos em abrigos de animais e apontam a importância dos mesmos para atração dos vetores para áreas periurbanas. SARAIVA *et al.*, (2006) registraram a maior ocorrência de flebotomíneos em abrigos de animais, quando comparados com os ambientes de mata, cafezal, e

parede externa de residências. Na região metropolitana da cidade de Natal, houve uma associação entre a criação de animais no peridomicílio, e o risco de transmissão de *L. chagasi* (XIMENES *et al.*, 2006; 2007).

MELO (2008), em estudo realizado concomitantemente ao nosso e nos mesmos locais, mostrou a presença de espécies de mamíferos sinantrópicos nas residências da Regional. Nas áreas urbanas, em ambiente peridomiciliar, a autora relatou as seguintes espécies de roedores: *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*, *Mus musculus* e o marsupial: *Didelphis albiventris*. Nas áreas de matas (fazendas CA e SL) além das espécies citadas, foram encontradas: *Akodon* sp., *Oryzomys* sp (roedores), *Didelphis aurita* (marsupial), *Galactis* sp.(carnívoro). A ocorrência de tais espécies pode favorecer tanto a presença de flebotomíneos, como a sua infecção por *Leishmania*, uma vez que roedores são incriminados como reservatórios de *L. braziliensis* (BRANDÃO FILHO, 2003; OLI VEIRA *et al.*, 2005).

Conforme descrito por SOUZA (2005), a presença de ambiente favorável aos flebotomíneos, associados à presença de animais domésticos e sinantrópicos podem representar fatores que explicariam as populações urbanas de flebotomíneos. Em estudo feito em todo município de Belo Horizonte, esta autora apontou a ocorrência de cães em 66,7% dos domicílios estudados, aves em 48,2%, gatos em 7,4%, caprinos e/ou eqüinos em 3,7% e gambás em 3,7%.

Nossos resultados mostram, na área de estudo, a presença de árvores, lixo, hortas, mato (ervas daninhas) e áreas de solo úmido, características já associadas ao risco de se adquirir LV na região metropolitana de Belo Horizonte (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Apenas os lotes 2 e 6 não apresentaram condições propícias ao desenvolvimento de flebotomíneos, mas houve registro de lotes arborizados no entorno, o que pode explicar a ocorrência destes insetos, pois esses se encontravam à uma distância dentro do intervalo de vôo de um flebotomíneo, em torno de 500 a 700 metros.

Todos os demais lotes pesquisados (1, 3, 4, 5, 7, 8, 10, 11, 13,15 e 16) apresentaram, pelo menos, algumas das condições consideradas como propícias à ocorrência de flebotomíneos. O lote 7, apesar de limpo e organizado, tinha uma

criação de galinhas e estas podem atuar como atrativo para os flebotomíneos e, como no lote também havia locais sombreados, este foi considerado um local propício à ocorrência destes insetos, apesar de apresentar condições sanitárias adequadas, ao se considerar as ações cabíveis aos moradores.

O lote 14 apresentou a maioria das características que podem favorecer a ocorrência de flebotomíneos. Em relação à residência, as características presentes foram: teto apenas de laje, paredes sem reboco, presença de infiltração, rachaduras e buracos nas paredes. Quanto ao peridomicílio, registrou-se: presença de árvores, sendo uma de grande porte (mangueira) que proporcionava ambiente sombreado e úmido em quase toda área. Havendo também plantas em vasos, madeira e entulhos empilhados, montes de folhas, lixo não acondicionado espalhado e criação de quatro cães. Mas tais descrições não explicam a significância estatística encontrada ao se comparar este local com os demais, uma vez que havia lotes semelhantes ao lote 14, como o 3 e o 16.

A fazenda SL merece consideração especial por apresentar peculiaridades que podem explicar a maior ocorrência, tanto em número de espécies como de espécimes neste local. A fazenda possui criação de canídeos, bovinos, eqüinos, além de diversas espécies de aves de grande porte (galinhas, emas e pavões) e estes representam farta fonte alimentar para os insetos. A fazenda possui área de mata onde os animais têm livre acesso, o que gera matéria orgânica em solo sombreado e possibilidades de locais que podem atuar como criadouros (Figura 29).

As áreas de mata, classicamente, apresentam maior riqueza de espécies de insetos, e isto vale também para os flebotomíneos (ANDRADE FILHO *et al.* 2001; DE LUCA *et al.* 2003), a fazenda apresentou também uma maior diversidade de animais de criação, além de apresentar o maior número de pequenos mamíferos capturados na Regional (MELO, 2008), os quais podem exercer atração sobre as fêmeas destes insetos (TEODORO & KÜHL, 1997, LAINSON & RANGEL 2005). Estes fatores poderiam explicar a riqueza e abundância de espécies de flebotomíneos ali encontradas.

As amostras de flebotomíneos positivas para a infecção por *Leishmania* sp.

foram provenientes apenas das áreas verdes (Fazendas SL e CA) e do lote 14. Não podemos fazer nenhuma afirmação sobre este fato, mas inferimos que as condições ambientais presentes propiciam uma maior densidade de espécimes, tanto de vetores quanto de reservatórios, e a circulação dos parasitos.

Em estudo de caso controle, realizado na região metropolitana de Belo Horizonte, OLIVEIRA *et al.*, (2006) utilizando metodologia semelhante a nossa, para a caracterização ambiental das residências de pessoas que tiveram LV, comparando-as com residências de vizinhos que não apresentavam testes sorológicos positivos para LV, demonstraram que a ocorrência de determinadas características são mais comuns nas casas com casos de LV. As características que foram relacionadas ao risco de infecção para a doença foram: presença de animais, matéria orgânica em decomposição, sombra e umidade nos quintais.

Estes autores também relataram que a frequência de limpeza dos quintais e a localização da residência em áreas de urbanização em condições de pobreza, são fatores importantes para o risco de infecção.

TEODORO *et al.*, (2003) confirmam o exposto acima e relatam que a limpeza da matéria orgânica, a poda de árvores evitando sombreamento excessivo e a drenagem de áreas alagadas, auxiliam na diminuição da densidade populacional de flebotomíneos.

MORENO (2002) em estudo sobre a epidemiologia das infecções assintomáticas por *L. chagasi* na comunidade de General Carneiro, município de Sabará, descreve fatores de risco para este tipo de infecção. A autora utilizou quatro critérios diagnósticos para os pacientes participantes, de acordo com os resultados das técnicas utilizadas no diagnóstico, separando os pacientes em grupos. Os fatores de risco que foram identificados em mais de um dos grupos foram: o morador encontrar-se fora de casa entre 18 e 22 horas, presença de matéria orgânica no quintal, criação de pássaros e lixo doméstico não recolhido pelo serviço municipal, ou não enterrado, ou não dispensado.

Na Bahia, a LV espalhou-se rapidamente para áreas costeiras e para a periferia das grandes cidades, em locais em que as condições ecológicas eram consideradas inadequadas ao desenvolvimento do vetor. O que pode ser

explicado pelas drásticas mudanças ambientais produzidas pelo homem, criando situações que propiciaram a interação dos elos epidemiológicos da LV nos ambientes urbanos e periurbanos (SHERLOCK, 1996).

Tais relatos deixam evidente a necessidade de se repensar as medidas de controle das leishmanioses, sendo que uma das mudanças que deve ser realizada é a ênfase no manejo ambiental. Apesar dessa estratégia de controle ser preconizada nos Manuais de Controle da LV e da LTA, ainda é pouco utilizada em nosso país (BRASIL 2006<sup>B</sup>, BRASIL 2007).

Conforme mostrado por GOMES (2002) no contexto da vigilância ambiental, os indicadores se baseiam em determinantes biológicos e não biológicos. Na subárea dos fatores de risco biológicos, levam-se em conta as características de vetores, hospedeiros e reservatórios, sem desconsiderar os fatores do clima que influenciam suas inter-relações. A esse quadro deve-se acrescentar a influência do contexto social e as mudanças na organização do espaço antrópico.

A tríade clássica de controle da LV: tratamento dos casos humanos, eutanásia de cães sorologicamente positivos para leishmanioses e uso de inseticida para diminuir as populações de flebotomíneos vetores, pode obter sucesso temporário, mas se ações sobre o vetor não são efetivas, o ciclo da doença tende a seguir seu curso natural (SHERLOCK, 1996). O controle químico por si só apresenta problemas, como a não sustentabilidade devido aos fatores logísticos, e os altos custos (DESJEUX, 2004). As condições favoráveis de criadouros e abrigos mantidas nos quintais aumentam o problema.

A metodologia por nós utilizada, já foi apontada por outros autores como um dos aspectos necessários nas ações de controle das leishmanioses. CAMARGO-NEVES *et al.*, (2001), utilizando ferramentas de análise espacial para a vigilância epidemiológica, mostram a necessidade de se correlacionar a densidade vetorial com os aspectos ambientais dos peridomícilios, tais como: presença de vegetação, raízes e troncos de árvores e matéria orgânica no solo, que representam possíveis criadouros e abrigos para os insetos e a criação de animais, tais como cães, galinhas e outros, que são possíveis fontes de alimentos para as fêmeas.

A maioria dos estudos de características dos peridomicílios, ou são descritivos, ou precisam se pautar em avaliações subjetivas. Há necessidade de novas abordagens sobre o lugar geográfico dos acontecimentos, nos eventos considerados no campo da saúde. Como descrito por CUTCHIN (2006) é necessário agregar às análises os conceitos da “nova geografia” onde se considere o lugar e os processos referentes ao mesmo, não realizando apenas análises que sejam passíveis de generalizações.

Neste trabalho, a utilização de uma ferramenta simples, disponível na Internet, propiciou uma análise interessante. A visualização dos entornos dos lotes estudados permitiu a verificação da presença de áreas verdes e lotes arborizados em todos os locais estudados, a uma distância menor do que a capacidade de vôo relatada para os flebotomíneos. Segundo FORATINI (1973) estes insetos possuem uma capacidade média de vôo de 500 metros e a área analisada foi um retângulo de 375 metros por 255 metros. Este fato poderia explicar a captura de flebotomíneos mesmo em locais que não apresentavam condições para a ocorrência deles, como o lote 2 e 6 ( Figuras 22 e 26 ).

Nosso trabalho buscou aliar a análise dos peridomicílios com as ferramentas de geoprocessamento disponíveis para o tratamento de nossos dados. As análises espaciais da distribuição da fauna de flebotomíneos vetores, em conjunto com fatores biogeográficos e os locais de ocorrência de casos humanos e caninos de leishmanioses podem auxiliar na compreensão destes fenômenos no espaço-tempo.

Em nossas análises, utilizamos dados da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte, que possui seu próprio banco de dados e sistema de localização geográfica. Nesse aspecto, a capital mineira inova nas ações de controle de agravos urbanos ao desenvolver seus próprios programas computacionais e possuir eficiente sistema de geo-localização. Por essa razão, pudemos realizar o mapeamento dos cães sorologicamente positivos para *Leishmania*, com uma perda relativamente pequena.

No período de estudo, foram notificados 10 casos de leishmaniose visceral humana na Regional, número este que pode ser considerado alto, e

caracteriza aquela região geográfica como de intensa transmissão de LV (BRASIL 2006<sup>B</sup>). Em relação aos cães sorologicamente positivos, nos anos de 2006 e 2007, foram registrados 2041 cães positivos para *Leishmania* sp. dos quais 1736 foram mapeados.

Ao analisarmos nossas três variáveis de estudo: casos de LV, cães sorologicamente positivos para *Leishmania* sp. e presença de flebotomíneos vetores, frente aos parâmetros altimétricos, vemos que a ocorrência de casos humanos e caninos concentrou-se nas faixas de 750 a 850 metros de altitude. Não ocorreram casos humanos nas faixas altimétricas abaixo de 700 metros e acima de 901 metros. Apenas pequena porcentagem (8,5%) da classe de médias de ocorrência até um caso de leishmaniose visceral estava na faixa abaixo de 700 metros, e 1% da classe de 1 a 2 casos ocorreu na faixa acima de 900 metros.

Como não foram realizadas coletas de insetos em todas as faixas altimétricas, as considerações traçadas referem-se apenas aos pontos de estudo. Para os flebotomíneos, as classes de médias de ocorrência mais altas (acima de 41) concentram-se nas faixas abaixo de 700 metros e de 701 a 750 metros, que coincidem com os locais de coleta em áreas verdes (Figuras 7, 11 e 14). A classe de menor média (abaixo de 10 flebotomíneos) também teve sua ocorrência concentrada no mesmo intervalo altimétrico dos casos humanos e caninos de leishmaniose.

Ao analisarmos a influência dos parâmetros áreas de vegetação, vilas e favelas e áreas de influência de cursos d'água a céu aberto, na ocorrência dos eventos de estudo, vimos que essas exercem pouca influência sobre os mesmos.

Para os casos humanos de leishmaniose visceral apenas, 16% ocorreram em áreas de vegetação, 4% em áreas de vilas e aglomerados urbanos e 3% em áreas de influência de cursos d'água a céu aberto. Para as classes de médias de ocorrências de cães positivos, com relação a estes três fatores, foram encontrados perfis muitos semelhantes ao de casos humanos. Apenas a classe de média de ocorrência de até 1 caso de leishmaniose canina apresentou ocorrência um pouco maior em áreas verdes (16%). Para as demais classes a ocorrência concentrou-se fora da área ou na área de influência dos fatores

biogeográficos analisados.

Estes dados reforçam o perfil de urbanização da leishmaniose visceral, uma vez que, a mesma está ocorrendo em locais onde as condições classicamente relacionadas a ela não estão presentes, e demonstram a alta correlação espacial entre os casos humanos e caninos (ALVAR *et al.*, 2006; AHLUWALIA *et al.*, 2003), mas, há relatos da correlação entre áreas de vilas e favelas e áreas de vegetação com a presença de leishmanioses no Brasil, como descrito por WERNECK & MAGUIRE (2002) para a cidade de Teresina e por XIMENES *et al.*, (2006) para a cidade de Natal.

Quanto à ocorrência de flebotomíneos vetores, todas as faixas de médias de ocorrência, apresentaram predominância fora das áreas de vilas e favelas e das áreas de influência de cursos de d'água a céu aberto. Considerando as áreas de vegetação, vimos que os valores de ocorrência das classes nas mesmas foram mais expressivos, sendo que para a classe de maior média (acima de 41 flebotomíneos) 40% das ocorrências estiveram relacionadas a áreas de mata (áreas verdes).

Como apontado por KING (2004) e referendado por SOUZA (2005), em estudos de tal natureza é importante considerar não apenas as áreas verdes de maior extensão (parques, restos de vegetação, e propriedades rurais), mas também a vegetação presente nos quintais. THOMSON *et al.*, (1999) utilizaram a caracterização dos tipos de solos e de espécies de plantas na construção de mapa de risco para ocorrência de Kalazar no Sudão, e observaram que os flebotomíneos vetores estavam associados a duas espécies vegetais da região.

Em nosso estudo a análise de geoprocessamento levou em conta apenas as áreas verdes de maior extensão da Regional, mas a caracterização fotográfica e a análise do entorno através de imagens de satélite (GoogleMaps) reforçam o estabelecido por KING (2004). Conforme já descrito, a maioria dos lotes de estudo apresentou arborização, ou lotes arborizados no entorno, o que pode favorecer a ocorrência de flebotomíneos.

O mapa de densidade média de casos caninos mostra que, a partir das médias geradas, houve a probabilidade de ocorrência de casos em toda a

Regional, no período de estudo. Foi possível identificar focos de ocorrência de leishmaniose canina em 15 locais da Regional (Figura 34), em que a média de casos esteve entre 2 a 3 casos por *pixel* (área de 400m<sup>2</sup>). Este mapa deixa evidente a preocupante situação da leishmaniose canina na Regional.

Os casos humanos da LV localizaram-se nas áreas de médias de casos caninos até 1, e de 1 a 2 casos, concentrados na segunda (70%). No período de estudo, não foram relatados casos humanos em áreas com médias de ocorrência de 3 casos caninos. É preciso lembrar que as áreas de análise são de apenas 400m<sup>2</sup>, ou seja, uma pequena distância pode determinar a não coincidência destes dados, além disso, a ocorrência de um caso humano deflagra ações de controle da LV, preconizadas pelo Ministério da Saúde e executadas pela PBH, que podem aumentar a descoberta e notificação de cães positivos.

O planejamento anual das ações de controle da LV pela PBH é executado através de núcleos, isto é, áreas de maior ocorrência de casos caninos e humanos, neles são realizados o inquérito canino censitário e a borrifação de inseticidas. Os núcleos trabalhados em um ano são definidos pela análise dos dados do ano anterior. Este fato explica a não ocorrência de casos humanos em áreas com médias de casos caninos entre 2 a 3 casos, o que corrobora nossos dados.

Apenas a análise visual da sobreposição de ocorrência de casos humanos e caninos no período de estudo na Regional, mostra que os mesmos estão geograficamente relacionados. Apesar de aparentemente simples, a sobreposição espacial dos dados em mapas, já permite correlacionar a ocorrência de eventos e mesmo embasar ações mais localizadas de controle. (CAMARGO-NEVES *et al.*, 2001).

O padrão de ocorrência geográfica de casos humanos e caninos descrito em nosso estudo foi muito similar ao padrão descrito para a Regional entre os anos de 2001 e 2002 (SOUZA, 2005). As mesmas áreas de concentração de casos humanos foram observadas, o que também é verdade para os focos de casos caninos de leishmaniose e, além disso, o número de casos também foi similar. Assim podemos dizer que, apesar das ações de controle realizadas, a

---

situação da Regional permanece preocupante. Em Belo Horizonte, a eutanásia canina nos últimos três anos foi praticada em cerca de 79% dos cães sorologicamente positivos para *Leishmania* sp., mas a rápida reposição de cães para os mesmos ambientes, pode reduzir os efeitos desta ação.

Um exemplo disto foi descrito por ANDRADE *et al.*, (2007), no Município de Araçatuba, em um período de um ano, em cerca de 45% dos domicílios. Os cães eram repostos após outro ter sido eutanasiado devido à leishmaniose. Como o cão doméstico é o principal reservatório de *L. chagasi* em áreas urbanas, considerado fonte de infecção para flebotomíneos por apresentar intenso parasitismo cutâneo (GONTIJO & MELO 2004; MARZOCHI *et al.*, 1994), nossos dados reafirmam a importância dos cães na epidemiologia da LV no Município de Belo Horizonte e a correlação deles com os casos humanos de LV.

Quanto à análise conjunta dos vetores em relação aos casos humanos e caninos de leishmanioses, ambos se concentraram nas regiões de médias baixas de ocorrência de vetores. É importante frisar que a distribuição dos vetores baseou-se apenas nas coletas por nós executadas e que não abrangeram toda a extensão da Regional, devido ao critério utilizado para escolha dos locais de coleta. Assim esta abordagem é exploratória e não pode ser profundamente elucidativa a este respeito.

Entretanto, uma vez que indicadores de densidade vetorial são difíceis de obter para grandes áreas urbanas, devido à complexidade logística das coletas de dados, que além de trabalhosas, necessitam de grande número de armadilhas, nossos resultados são de interesse no entendimento da dinâmica de transmissão da LV na Regional. Mesmo considerando apenas nossa área de estudo de forma mais restrita, eles mostram a presença das três principais espécies de flebotomíneos vetores de *Leishmania* sp. que ocorrem em nosso país, em considerável extensão geográfica da Regional. Como as áreas com casos humanos são borrifadas, nossos dados também reafirmam a ineficácia das ações de controle, dada a importante presença de vetores nos ambientes de estudo.

Como o período entre a infecção e o desenvolvimento de sintomas e sinais da doença em humanos e cães é longo e variável, é difícil definir uma

correlação estatística entre a densidade vetorial e as taxas de incidência da doença (OLIVEIRA *et al.*, 2006; SOUZA *et al.*, 2004). Isto corrobora nossa argumentação anterior sobre a utilidade de nossos resultados.

A análise espacial dos dados referentes à ocorrência da LV pode subsidiar a melhoria das ações de controle dela, como mostrado por nossos resultados. Entretanto, vale à pena considerar que, apesar da sofisticação dos Sistemas Informativos Geográficos, que tendem a passar da análise descritiva para a prognóstica, e que em lugar de simplesmente descrever elementos ou fatos, poder traçar cenários, simulações de fenômenos, com base em tendências observadas ou julgamentos de condições estabelecidas, quase sempre isso não resulta em uma aplicação prática em saúde pública (CUTCHIN, 2006; MOURA, 2000). Provavelmente, este quadro se deve à difícil implementação dos avanços tecnológicos pelos órgãos executores dos sistemas públicos de saúde, o que representa importante desafio, pelo menos no Brasil.

Uma política pública para enfrentamentos dos vários problemas, tanto morbidade quanto mortalidade, necessita de uma base de informações confiável, que sustente e direcione as tomadas de decisões. As novas possibilidades de uso de bases cartográficas e dados de saúde para o geoprocessamento podem constituir estratégias de melhoria das ações e programas para controle dos agravos (MARINHO DE SOUZA, 2008).

## **7. Considerações finais**

Afirmamos a necessidade de rever as medidas de controle atualmente preconizadas para as leishmanioses, em especial a leishmaniose visceral nos municípios brasileiros. Conforme mostrado por CAMARGO-NEVES *et al.*, (2001) apenas a execução isolada das ações de controle (eliminação de cães sorologicamente positivos para leishmanioses e aspersão de inseticidas de efeito residual), sem análise sistemática do impacto de tais ações, acaba por torná-las inócuas.

Melhores condições de urbanização podem proteger as populações contra a ocorrência de leishmanioses (OLIVEIRA *et al.*, 2006). Grande parte da população enfrenta problemas logísticos em relação a necessidade de tratamento das leishmanioses, tais como: dificuldade no transporte para os centros de tratamento, que em geral são distantes, e comunicação com os profissionais de saúde (DESJEUX, 2004). Há de se considerar os contextos pormenorizados, uma vez que, especialmente no meio urbano, generalizações não podem ser feitas, já que as pessoas não são atingidas igual e linearmente pelas transformações sociais. As metrópoles não podem ser consideradas homogeneamente globalizadas e modernizadas. (COSTA & TEIXEIRA, 1999).

Nossos dados indicam a necessidade de estudos mais aprofundados a respeito da ocorrência dos casos de LV, que permitam redimensionar e re-analisar as estratégias de controle da doença atualmente empregadas, pelo menos na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte.

Novas estratégias de controle precisam ser elaboradas, programas educativos serem considerados, e os próprios moradores instruídos e habilitados a melhorar as condições ambientais de seus quintais, reduzindo as possibilidades associadas à presença de vetores de leishmanioses (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

As informações apresentadas envolvem importantes características epidemiológicas das leishmanioses na Regional Nordeste. Com os dados que obtivemos, esperamos contribuir para a formação e divulgação de ampla base de

dados sobre esta epidemia no município de Belo Horizonte, destinadas a subsidiar as tomadas de decisões dos gestores públicos e dos cidadãos, de uma maneira geral.

Mas, não responsabilizando apenas o poder público pela solução deste problema, temos consciência de que as causas e repercussões da urbanização desordenada, migração, aumento populacional e degradação ambiental em diferentes regiões do país são múltiplas e complexas, tanto quanto a compreensão do processo de adaptação de insetos vetores, aos novos ambientes antropizados (XIMENES *et al.*,2007)

A organização do esforço conjunto da população, instituições acadêmicas, e os setores público e privado da saúde é um processo de construção intrincada que envolve diversas questões. A complexidade da formação de recursos para a Saúde é grande, sendo necessário situar, pelo menos minimamente o contexto sócio-histórico e evolutivo, em que ela ocorre. Nossa entrada no século XXI impôs à saúde pública a necessidade de treinamento e capacitação dos seus agentes, para utilizar as tecnologias disponíveis e para a boa gestão político-administrativa das instituições de saúde, públicas ou privadas. A identificação das dificuldades técnicas e operacionais precisam se tornar uma prioridade dos órgãos de Saúde Pública, bem como a melhoria dos seus quadros profissionais, visando o entendimento da complexidade biológica, social, política e econômica, no controle de doenças zoonóticas transmitidas por vetores.

A Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS, 2008<sup>B</sup>) ao analisar a história da Saúde mostra que esta é um conjunto de construções e significações sobre a natureza. O grande número de fatores ambientais que afetam a saúde humana é um indicativo da complexidade e das interações homem-meio ambiente. A maioria dos problemas ambientais têm causas múltiplas e, como resultado, podem ter efeitos múltiplos. Há uma relação intrínseca entre saúde, meio ambiente e desenvolvimento. O desenvolvimento depende dos esforços de melhorar a saúde e reduzir os riscos ambientais. Ao mesmo tempo, a melhoria da saúde só será atingida mediante uma visão holística dos serviços de saúde, do setor público, do setor privado, da comunidade e do indivíduo.

## **Conclusões**

*“Não sou nada. Nunca serei nada.  
Não posso querer ser nada. À parte  
isso, tenho em mim todos os sonhos  
do mundo.”*

Fernando Pessoa

---

---

## 8. Conclusões

- A fauna flebotomínica da Regional Nordeste apresentou nove espécies, entre elas importantes espécies vetoras de LV e LTA, sendo que as espécies mais prevalentes foram *L. whitmani* e *L. longipalpis*.
- A curva sazonal dos flebotomíneos teve picos de ocorrência nos meses de dezembro, março e junho e julho, sendo que o perfil da mesma deve-se majoritariamente a *L. whitmani*;
- As áreas verdes (rurais) e urbanas mostraram diferença de composição faunística tanto em riqueza, quanto em abundância de espécies de flebotomíneos;
- *L. longipalpis* teve a taxa de infecção natural mais alta por *Leishmania chagasi* 19% e *L. whitmani* e *L. termotiphila* apresentaram respectivamente 3,8% e 33,3% de taxas de infecção natural para esta espécie;
- Fêmeas do complexo *cortellezzi* apresentaram infecção tanto por *L. braziliensis* (3,2%) como *Leishmania* sp. (3,2%), e *L. intermedia* apresentou infecção natural por *Leishmania* sp. (14,3%).
- As técnicas de biologia molecular (reações de PCR e PCR-RFPL) utilizados para avaliar a infecção natural dos insetos revelaram-se exeqüíveis e práticas;
- A maioria dos lotes residenciais demonstrou cuidado higiênico inadequado, com características que podem explicar a ocorrência de flebotomíneos nas áreas urbanas;

- Os casos humanos e caninos de leishmaniose concentraram-se nas faixas de 750 a 850 metros de altitude, e a ocorrência de flebotomíneos vetores concentrou-se nas faixas abaixo de 851 metros de altitude;
- Os fatores biogeográficos: áreas de influência dos cursos d'água a céu aberto, áreas de vilas e aglomerados urbanos não apresentaram grande influência na ocorrência de casos humanos de LV, caninos de leishmanioses e flebotomíneos vetores na Regional Nordeste, no período de estudo;
- A presença vegetação foi o fator que apresentou maiores índices de correlação com casos humanos de LV e caninos de leishmaniose, além de ter importante influência na ocorrência de flebotomíneos;
- Nosso estudo indica a necessidade de se reavaliar as ações de controle da LV na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte;

## *Referências Bibliográficas*

## 9. Referências Bibliográficas

AGUIAR, G.M., & MEDEIROS, W.M. Distribuição regional e habitats das espécies de flebotomíneos do Brasil. In RANGEL, E.F., & LAINSON, R.(ED.) Flebotomíneos do Brasil. Editora FIOCRUZ, 2003.

AHLUWALIA, I.B., BERN, C., COSTA, C., AKTER, T., CHOWDHURY, R., ALI, M., ALAM, D., KENAH, E., AMANN, J., ISLAM, M., WAGATSUMA, Y., HAQUE, R., BREIMAN, R.F., MAGUIRE, J.H. Visceral leishmaniasis: consequences of a neglected disease in a Bangladesh community. *American Journal of Tropical Medicine and Higiene*. 69 (6): 624-628, 2003.

ALBUQUERQUE, F.J.B., & PIMENTEL, C. A. Uma Aproximação Semântica aos Conceitos de Urbano, Rural e Cooperativa. *Psicologia: Teoria e Pesquisa*. 20 (2): 175-182, 2004.

ALEXANDER, B.; CARVALHO, R.L.; MCCALLUM, H.; PEREIRA, M.H. Role of the domestic chicken (*Gallus gallus*) in the epidemiology of urban visceral leishmaniasis in Brazil. *Emerging Infectious Diseases*. 8(12): 1480-1485, 2002.

ALVAR, J., YACTAYO, S., BERN, C. Leishmaniasis and poverty. *TRENDS in parasitology*. 22 (12): 552-557, 2006.

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*. 13: 767-770, 2001.

ANDRADE FILHO, J.D., SOUZA, G.D., FALCÃO, A.L. Description of a new phlebotomine species, *Evandromyia gaucha* sp. nov. (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), from Rio Grande do Sul, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 102(6): 737, 2007.

ANDRADE FILHO, J.D.. Morfologia do Complexo *Nyssomyia intermedia* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) Faculdade de Saúde da Universidade de São Paulo: 152 pp, 2003.

ANDRADE FILHO, J.D., GALATI, E.A., 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* 102 (4): 481-487, 2007.

ANDRADE, A.M., QUEIROZ, L.H., NUNES, G.R., PERRI, S.H.V., NUNES C.M. Dog replacement in an area endemic for visceral leishmaniasis. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* .40(5):594-595, 2007.

ANDRADE, A.S.R., GOMES R.F., FERNANDES, O., MELO, M.N. Use of DNA-based diagnostic methods for human leishmaniasis in Minas Gerais, Brazil. *Acta Tropica* 78 (2001) 261–267, 2001.

ANDRADE, H.M., REIS, A.B., SANTOS, S.L., VOLPINI, A.C., MARQUES, M.J., ROMANHA, A.J. Use of PCR-RFLP to identify *Leishmania* species in naturally-infected

dogs. *Veterinary Parasitology* .140:231-238, 2006.

ANTONIALI, S.A.C., TORRES, T.G., PARANHOS FILHO, A.C., TOLEZANO, J.E. Spatial analysis of american visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul state, Central Brazil. *Journal of Infection*. 54(5): 509-514, 2006.

ARANSAY, A.M., SCOULICA, E., TSELENTIS, Y. Detection and identification of *Leishmania* DNA within naturally infected sand flies by seminested PCR on minicircle kinetoplastic DNA. *Applied Environmental Microbiology*. 66 (5): 1933-1938, 2000 .

ASHFORD, D.A., DAVID, J.R., FREIRE, M., DAVID, R., SHERLOCK, I., EULALIO, M.C., SAMPAIO, D.P., BADARO, R. Studies on control of visceral leishmaniasis: impact of dog control on canine and human visceral leishmaniasis in Jacobina, Bahia, Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 59(1): 53-57, 1998.

ASHFORD, R.W. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *International Journal of Parasitology*. 30: 1269-1281, 2000.

BARBOSA DE SOUZA, M.; MARZOCHI, M.C.A., CARVALHO, R.W., RIBEIRO, P.C., PONTES, C.S., CAETANO, J.M., MEIRA, A.M. Absence of *Lutzomyia longipalpis* in some endemic visceral leishmaniasis areas in Rio de Janeiro municipality. *Cadernos de Saúde Pública* 19(6): 1881-1885, 2003.

BARCELLOS, C., BASTOS, F.I.. Geoprocessamento, ambiente e saúde: uma união possível? *Cadernos de Saúde Pública*. 12: 389-397, 1996.

BARCELLOS, C., COUTINHO, K., PINA, M.F., MAGALHÃES, M.M.A.F., PAOLA, J.C.M.D., SANTOS, S.M. Inter-relacionamento de dados ambientais e de saúde: análise de risco à saúde aplicada ao abastecimento de água no Rio de Janeiro utilizando Sistema de Informações Geográficas. *Cadernos de Saúde Pública*. 14: 597-605, 1998.

BARCELOS, C., & QUITÉRIO, L.A.D. Vigilância Ambiental em Saúde e sua implantação no Sistema Único de Saúde. *Revista de Saúde Pública*. 40(1): 170-171, 2006.

BARCELOS, C., MACHADO, J.H. A organização espacial condiciona as relações entre ambiente e saúde: o exemplo da exposição ao mercúrio em uma fábrica de lâmpadas fluorescentes. *Ciência e Saúde Coletiva*. 3(2): 103-113, 1998.

BASANO, S.A., & CAMARGO, L.M.A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. *Revista Brasileira de Epidemiologia*. 7(3): 328-337, 2004.

BATES, P.A. Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *International Journal of Parasitology* 37: 1097-1106. 2007

BOTTECHIA, M., OLIVEIRA, S.G., BAUZER, L.G.S.R., SOUZA, N.A., WARD, R.D., GARNER, K.J., KYRIACOU, C.P., PEIXOTO, A.A. Genetic divergence in the cacophony IVS6 intron among five brazilian populations of *Lutzomyia longipalpis*. *Journal of Molecular Evolution*. 58: 754-761, 2004.

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

BRASIL - MINISTÉRIO DA SAÚDE. FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, CENTRO DE EPIDEMIOLOGIA. Leishmaniose visceral no Brasil: situação atual, principais aspectos epidemiológicos, clínicos e medidas de controle. *Boletim Epidemiológico*. 6: 1-11, 2001.

BRASIL - MINISTÉRIO DA SAÚDE. MANUAL DE CONTROLE DE ROEDORES, 2002<sup>A</sup>. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual\\_roedores.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_roedores.pdf)> acesso em cinco de abril de 2008.

BRASIL - MINISTÉRIO DA SAÚDE. PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE DA DENGUE 2002<sup>B</sup>. Disponível em: <[http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pncd\\_2002.pdf](http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pncd_2002.pdf)> acesso em cinco de abril de 2008.

BRASIL - MINISTÉRIO DA SAÚDE - PORTAL DA SAÚDE 2006<sup>A</sup> <[http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar\\_texto.cfm?idtxt=22140](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=22140)>. Acesso em nove de fevereiro de 2007.

BRASIL - MINISTÉRIO DA SAÚDE. MANUAL DE VIGILANCIA E CONTROLE DA LEISHMANIOSE VISCERAL 2006<sup>B</sup>. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual\\_leish\\_visceral2006.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_leish_visceral2006.pdf)> acesso em cinco de abril de 2008.

BRASIL - MINISTÉRIO DA SAÚDE. MANUAL DE VIGILANCIA DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA. EDITORA MS, 2007.

BRASIL - INSTITUTO DE PESQUISAS ESPACIAIS - DIVISÃO DE PROCESSAMENTO DE IMAGENS, 2008. Disponível em : <<http://www.dpi.inpe.br/geoschisto/index.php>> acesso em três de fevereiro de 2008.

BRAZIL, R.P.; CARNEIRO, V.L.; ANDRADE FILHO, J.D.; ALVES, J.C.M.; FALÇÃO, A.L. The colonization and biology of *Lutzomyia lenti* (MANGABEIRA, 1939). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 26 (1): 191-193, 1997

BRAZIL P.P., & BRAZIL, B.G. Biologia de flebotomíneos Neotropicais. In RANGEL, E.F., & LAINSON, R.(ED.) Flebotomíneos do Brasil. Editora FIOCRUZ, 2003.

BRIANT, E., DRIGO, M., ZIRILLI, V., POGLAYEN, G., GIANNETTO, S. Use of a health information system (HIS) for the epidemiological surveillance of leishmaniasis in urban areas.

CAIAFFA, W.T., ALMEIDA, M.C.M., OLIVEIRA, C.D.L., FRICHE, A.A.L., MATOS, S.G., DIAS, M.A.S., CUNHA, M.C.M., PESSANHA, E., PROIETTI, F.A.. The urban environment from the health perspective: the case of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*. 21(3): 958-967, 2005.

CAMARGO-NEVES, V.L.F., KATZ, G., RODAS, L.A.C., POLETTO, D.W., SPÍNOLA, R.M.F., CRUZ, O.G. Utilização de ferramentas de análise espacial da vigilância epidemiológica de leishmaniose visceral americana – Araçatuba, São Paulo, Brasil, 1998-1999. *Cadernos de Saúde Pública*. 17(5):1263-1267, 2001

CARVALHO, A.L.M. Estudos sobre a posição sistemática, a biologia e a transmissão de tripanosomatídeos encontrados em *Zelus leucogrammus* (Perty, 1934) (Hemiptera, Reduviidae). Dissertação (Mestrado em Parasitologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 82pp, 1973.

CARVALHO, G.M.L. Flebotomíneos vetores e prevalência canina da leishmaniose visceral canina, em área endêmica do município de Santa Luzia, região metropolitana de Belo Horizonte. Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas e Parasitárias) Centro de Pesquisas René Rachou – Fundação Oswaldo Cruz. 128pp, 2006.

CARVALHO, G.M.P., FALCÃO, A.L., ANDRADE FILHO, J.D. Taxonomic revision of phlebotomine sand fly species in the series *davisi* and *panamensis* of the subgenus *Psychodopygus* Mangabeira, 1941 (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 1001(2): 129-136, 2006.

CASTRO, G.O. Sobre um processo de cultura de flebotomos. Nota prévia. Sociedade de Biologia, Sessão de 8 de outubro de, Rio de Janeiro, RJ, 1937.

CATTAND, P., DESJEUX, P., GUZMÁN, M.G., JANNIN, J., KROEGER, A., MEDICI, A., MUSGROVE, P., NATHAN, M.B., SHAW, A., SCHOFIELD, C.J.. Tropical diseases lacking adequate control measures: Dengue, Leishmaniasis and African Trypanosomiasis, Chap. 23 *In*: JAMISON, D.T., BREMAN, J.G., MEASHAM, A.R., ALLEYNE, G., CLAESON, M., EVANS, D.B., J.H.A. P, MILLS, A, MUSGROVE, P. (ED) Disease control priorities in developing countries. Washington (DC): IBRD/The World Bank and Oxford University Press, 2006.

CDC – Centers for disease Control and Prevention – disponível em : < <http://www.cdc.gov/>> acesso em 12 de maio de 2008.

CORTES, S., ROLÃO, N., RAMADA, J., CAMPINO, L. PCR as a rapid and sensitive tool in the diagnosis of human and canine leishmaniasis using *Leishmania donovani* s.l.-specific kintoplastido primers. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 98: 12-17, 2004.

COSTA, J.M.L., VALE, K.C., FRANÇA, F., COSTA, M.A.F., SILVA, J.O., LAGO, E.L., MARSDEN, P.D. A Leishmaniose Tegumentar Americana em uma região endêmica como fator de mobilização comunitária. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 27:255-257, 1994.

COSTA, M.C.N., TEIXEIRA, M.G.L.C. A concepção de “espaço” na investigação epidemiológica. *Cadernos de Saúde Pública*. 15 (2): 217-279, 1999.

COSTA, S.M., CECHINEL, M., BANDEIRA, V., ZANNUNCIO, J.C., LAINSON, R., RANGEL, E. *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* s.l. (Antunes e Coutinho, 1939) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): geographical distribution and the epidemiology of American

cutaneous leishmaniasis in Brazil – Mini review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 102 (2): 149-153, 2007.

CUTCHIN, M.P. The need for the “new health geography” in epidemiologic studies of environment and health. *Health & Place*. 13(3): 725-742, 2007.

DE BRUIJN, M.H., & BARZER, D.C. Diagnosis of New World leishmaniasis: specific detection of species of the *Leishmania braziliensis* complex by amplification of kinetoplast. *Acta Tropica*. 52:45-58, 1992.

DEANE, L.M., & GRIMALDI G.JR. Leishmaniasis in Brazil in Leishmaniasis (Chang/Bray.ED. Elsevier Science Publishers Biomedical Division, 1985.

DEGRAVE, W., FERNANDES, O., CAMPBELL, D., BOZZA, M., LOPES, U. Use of molecular probes and PCR for detection and typing of *Leishmania* – a mini-review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 89 (3): 463-469, 1994.

DEJEUX, P. Global control and Leishmania HIV co-infection. *Clinical Dermatology*. 17: 317-315, 1999.

DEJEUX, P. Leishmaniasis: Current situation and new perspectives. *Comparative Immunology Microbiology & Infections Diseases*. 27:305-318, 2004.

DE LUCA, A.S., VASCONCELOS, H.L., BARRETT, T.V. Distribution of Sandflies (Diptera: Phlebotominae) in forest remnants and adjacent matrix habitats in Brazilian Amazonia. *Brazilian Journal of Biology*. 63(3): 401-410, 2003.

DIAS, J.C.P. Problemas e possibilidades de participação comunitária no controle das grandes endemias no Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*. 14(Supl.2):19-37, 1998.

ESTESO, S.C. Educación popular – punto débil em la lucha contra la enfermedad de Chagas. *Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Universidade de Córdoba*. 42:14-17, 1984.

FELICIANGELI, M.D. Ecology of Sandflies (Diptera: Psychodidae) in a restricted focus of cutaneous leishmaniasis in northern Venezuela. I Description of study area, catching methods and species composition. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 82(1): 119-124, 1987.

FORATTINI, O.P. Entomologia Médica. São Paulo, E. Blücher/ EDUSP, 658p, 1973.

GALATI E.A, RODRIGUES DOS SANTOS D, DA SILVA AM. *Brumptomyia angelae*, a new species of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) of the Atlantic forest of the state of Paraná, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 102(6):701-705, 2007

GALATI, E.B., NUNES, V.L.B., REGO JR, F.A., OSHIRO E.T., CHANG, M.R. Estudo de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista de Saúde Pública* 31(4): 378-390, 1997.

GAMA, M.E.A., BARBOSA, J.N., PIRES, B., CUNHA, A.K.B., FREITAS, A.R., RIBEIRO,

I.R., COSTA, J.M.L. Avaliação do nível de conhecimento que populações residentes em áreas endêmicas têm sobre leishmaniose visceral, Estado do Maranhão, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*. 14(2):381-390, 1998.

GARCIA, A.L., TELLEZ, T., PARRADO, R., ROJAS, E., BERMUDEZ, H., DUJARDIN, J.C. Epidemiological monitoring of American tegumentary leishmaniasis: molecular characterization of a peridomestic transmission cycle in the Amazonian lowlands of Bolivia. *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 101: 1208-1213, 2007.

GOMES, A.C. Vigilância Entomológica. Informe Epidemiológico do SUS. 11(2): 79-90, 2002.

GONTIJO, C.M.F. Caracterização Biológica de Amostras de *Leishmania*, ROSS 1903, Dissertação (Mestrado em Parasitologia) – Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 158 pp, 1989

GONTIJO, C.M.F. Leishmaniose Tegumentar em Minas Gerais: Estudos Moleculares de amostras de *Leishmania* isoladas de casos humano. Tese (Doutorado em Parasitologia) – Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 158 pp, 2000.

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* 81: 143-150, 2002.

GONTIJO, C.M.F., & MELO, M.N. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual desafios e perspectivas. *Revista Brasileira de Epidemiologia*. 7(3): 338-349, 2004.

GOOGLE - Google Maps – Termos de Uso – Disponível em : < [http://www.google.com/intl/pt-BR\\_br/help/terms\\_maps.html](http://www.google.com/intl/pt-BR_br/help/terms_maps.html) > acesso em 23 de dezembro de 2007.

GRAMICCIA, M. & GRADONI, L. The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. *International Journal for Parasitology* .35 (2005): 1169-1180, 2005.

GRUPO CIPA – BERMUDEZ, H., DEDET, J.P., FALCÃO, A.L., FELICIANGELI, D., RANGEL, E.F., FERRO, C., GALATI, E.A.B., GOMEZ, E.L., HERRERO, M.V., HERVAS, D., LEBRE, J., MORALES, A., OGUSUKU, E., PEREZ, E., SHERLOCK, I., TORREZ, M., VIGNES, R., WOLFF, M. Proposition of a standard description for Phlebotomine sandflies. *Parassitologia*. 33:127-135, 1991.

HAILU, A., MUSA, A.M., ROYCE, C., WASUNNA, M. Visceral Leishmaniasis: New health tools are needed. *PLoS Medicine Neglected Diseases*. 2(7): 590-594, 2005.

JORQUERA A, GONZ'ALEZ R, MARCH'AN-MARCANO E, OVIEDO M, MATOS M. Multiplex-PCR for detection of natural *Leishmania* infection in *Lutzomyia* spp. captured in an endemic region for cutaneous leishmaniasis in State of Sucre, Venezuela. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 100 (1): 45-48, 2005.

KAMHAWI, S. The biological and immunomodulatory properties of sandfly saliva and its role in the establishment of *Leishmania* infections. *Microbes and Infection*. 2:1765-1773, 2000.

KAWA, H., & SABROZA, P.C. Spatial distribution of tegumentary leishmaniasis in the city of Rio de Janeiro. *Cadernos de Saúde pública*. 18: 853-865, 2002.

KILLICK-KENDRICK, R. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Medical and Veterinary Entomology*. 4: 1-24, 1990.

KILLICK-KENDRICK, R. The biology of *Leishmania* in phlebotomine sandfly. In Lumsden WHR & Evans DA (ED) *Biology of kinetoplastida* Academic Press, New York, 1979.

KILLICK-KENDRICK, R., & RIOUX, J.A. Leishmania: cycle intravectorial. Intravectorial cycle of *Leishmania* in sandflies. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*. 66(1): 71-144, 1991.

KING, R.J., DIARMID, H., CAMPBELL-LENDRUM, D.H., DAVIEST, C.R. Predicting geographic variation in cutaneous leishmaniasis, Colombia. *Emerging Infectious Diseases*. 10 (4): 598-607, 2004.

LAINSON, R. The American leishmaniasis: some observations on their ecology and epidemiology. *Transactions of Royal Society of Medicine and Hygiene* 77(5): 569-596, 1982.

LAINSON, R., & RANGEL, E.F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – A review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 100(8): 811-827, 2005.

LAINSON, R., & SHAW, J.J. Evolution, classification and geographical distribution. In W. Peters and Killick-Kendrick (ED) *The leishmaniasis in biology and medicine*. Vol 1. Biology and epidemiology. Academic Press, London, United Kingdom, 1987.

LAINSON, R., READY, P.D., SHAW, J.J. *Leishmania* in phlebotomid sandflies. VII. On the taxonomic status of *Leishmania peruviana*, causative agent of Peruvian "uta", as indicated by its development in the sandfly, *Lutzomyia longipalpis*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B. Biological Science*. 206(1164): 307-318, 1979.

LAINSON, R., Demographic changes and their influence on the epidemiology of the American leishmaniasis. In: Service MW, editor. *Demography and vector-borne disease*. Boca Raton (FL): CRC Press, p. 85-106, 1989.

LEONARDO, F.S., & REBÊLO, J.M.M. A periurbanização de *Lutzomyia whitmani* em área de foco de leishmaniose cutânea, no Estado do Maranhão, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 37(3): 282-284, 2004.

LINS, R.M., OLIVEIRA, S.G., DE QUEIROZ, R.G., JUSTINIANO, S.C., WARD, R.D., KYRIACOU, C.P., PEIXOTO, A.A. Molecular evolution of the cacophony IVS6 region in sandflies. *Insect Molecular Biology* 11(2):117-22, 2002.

LOIOLA, C.F., SILVA, D.A., GALATI, E.A.B. Phlebotominae fauna (Díptera: Psychodidae)

and species abundance in an area of American cutaneous leishmaniasis in southeastern Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* .102 (5): 581-585, 2007.

LUZ, E., CASTRO, M.E.A., DEREURE, J., PRATLONG, F., DEDET, J.A., PANDEY, A., SOCCOL, V.T. *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) as vector of *Leishmania (V.) braziliensis* in Paraná state, southern Brazil. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*. 94 (6): 623-631, 2000.

LUZ, Z.M.P., PIMENTA, D.N., CABRAL, A.L.V., FIÚZA, V.O.P., RABELLO, A.. A urbanização das leishmanioses e a baixa resolutividade diagnóstica em municípios da Região Metropolitana de Belo Horizonte. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 34: 249-254, 2001.

LUTZ, A.; NEIVA, A. Contribuição para o conhecimento das espécies do gênero *Phlebotomus* existentes no Brasil 1912. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 4: 84-95.

MARCONDES, C.B., SANTOS NETO, L.G., LOZOVEI, A.L. Ecology of Phlebotomine sandflies (Diptera, Psychodidae) in Brazilian Atlantic Forest. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 34: 255-260, 2001.

MARCONDES, J. B., LOZOVEI, A.L., VILELA, J.H. Geographic distribution of phlebotomine sandflies of the *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) complex (Diptera, Psychodidae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 31(1): 51-58, 1998.

MARINHO DE SOUZA, M.F. Dos dados à política: a importância da informação em saúde. *Epidemiologia e Serviços de Saúde-Revista do Sistema Único de Saúde do Brasil* 14(1): 5-6, 2008.

MARTINS, A.V., FALCÃO, A.L., SILVA, J.E. Estudo sobre os flebotomos do Estado de Minas Gerais. XIV: Descrição de *Lutzomyia termitiphila*, MARTINS, FALCÃO & SILVA, 1964 (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). *Revista Brasileira de Biologia* 37 (3): 645-647, 1977.

MARZOCHI, M.C.A. & MARZOCHI, K.B.F. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil – Emerging Anthroponosis and possibilities for their control. *Cadernos de Saúde Pública*. 10(supl.2): 359-375, 1994.

MARZOCHI, M.C.A..Leishmanioses no Brasil. *Jornal Brasileiro de Medicina*.63:82-104, 1992.

MAYRINK, W., WILLIAMS, P., COELHO, M.V., DIAS, M., MARTINS, A.V., MAGALHÃES, P.A., 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* 73: 123-137, 1979

MEDRONHO, R.A. *Geoprocessamento e saúde: uma nova abordagem do espaço no processo saúde-doença*. Rio de Janeiro. FIOCRUZ/CICT/NECT, 135 p, 1995.

MELO, L.A. Detecção de *Leishmania* sp. em pequenos mamíferos silvestres e sinantrópicos no município de Belo Horizonte, MG. Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas e Parasitárias). Fundação Oswaldo Cruz - Centro de Pesquisas René Rachou, 2008.

MONTOYA-LERMA, J., CADENA, H., OVIEDO, M., READY, P.D., BARAZARTE, R., TRAVI, B.L., LANE, R.P. Comparative vectorial efficiency of *Lutzomyia evansi* and *Lutzomyia longipalpis* for transmitting *Leishmania chagasi*. *Acta Tropica*. 85 (1) : 19-29, 2003.

MORENO, E.C. Epidemiologia da Leishmaniose Visceral Humana em área urbana de Minas Gerais: Identificação da infecção assintomática e seus fatores de risco. Tese (Doutorado em Parasitologia) – Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 273 pp, 2002.

MORENO, E.C., MELO, M.N., GENARO, O., LAMBERTUCCI, J.R., SERUFO, J.C., ANDRADE, A.S.R., ANTUNES, C.M.F., CARNEIRO, M. Risk factors for *Leishmania chagasi* infection in an urban area of Minas Gerais State. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 38 (6): 456-463, 2005.

MOURA, A.C.M. Contribuições Metodológicas do Geoprocessamento à Geografia, Tese (Doutorado em Geografia). Instituto de Geociências da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.

NETO, E.M., TADA, M., GOLIGHTLY, L., KALTER, D., IAGO, E., BARRETO, A., MARSDEN, P. Conceitos de uma população a respeito da leishmaniose mucocutânea em uma área endêmica. *Revista da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas*. 18:33-37, 1985.

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 an endemic area of cutaneous and visceral leishmaniasis in Brazil. *Veterinary Parasitology* 129: 219-227, 2005.

OLIVEIRA, C.L., DIEZ-ROUX, A., CÉSAR, C.C., PROIETTI., A.F. A case-control study of microenvironmental risk for urban visceral *leishmaniasis* in a large city in Brazil, 1999-2000. *Revista Panamericana de Salud Publica*. 20 (6): 369-376, 2006. *Veterinary Parasitology* 129: 219-227, 2005.

OPAS – ORGANIZACION PAN AMERICANA DE LA SALUDE, 2008<sup>A</sup> -Saúde e ambiente: controle de vetores. Disponível em:<<http://www.opas.org.br/ambiente/temas.cfm?id=33&Area=Conceito> > Acesso em 16 de janeiro de 2008.

OPAS – ORGANIZACION PAN AMERICANA DE LA SALUDE, 2008<sup>B</sup> -. Saúde e ambiente – Marco Conceitual. Disponível em:< <http://www.opas.org.br/ambiente/carta.cfm> > Acesso em 16 de janeiro de 2008.

PAIVA, B.R., SECUNDINO, N.F.C., NASCIMENTO, J.C., PIMENTA, P.F.P., GALATI, E.A.B., ANDRADE JUNIOR, H.F., MALAFRONTA, R.S.. Detection and identification of *Leishmania* species in field-captured phlebotomine sandflies based on mini-exon gene

PCR. *Acta Tropica*. 99: 252-259, 2006.

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

PASSOS, V.M.A., BARRETO, S.M., ROMANHA, A.J., KRETTLI, A.U., VOLPINI, A.C., GONTIJO, C.M.F., FALCÃO, A.L., LIMA-COSTA, M.F.F. Leishmaniose tegumentar na Região Metropolitana de Belo Horizonte: aspectos clínicos, laboratoriais, terapêuticos e evolutivos (1989-1995). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 34(1):5-12, 2001.

PBH — PREFEITURA DE BELO HORIZONTE 2006. Disponível em : <[http://portal1.pbh.gov.br/pbh/index.html?id\\_conteudo=4349&id\\_nivel1=-&ver\\_servico=N](http://portal1.pbh.gov.br/pbh/index.html?id_conteudo=4349&id_nivel1=-&ver_servico=N)> Acesso em 09 de fevereiro de 2007.

PBH — PREFEITURA DE BELO HORIZONTE 2008. Disponível em <[http://portal2.pbh.gov.br/pbh/index.html?id\\_conteudo=9479&id\\_nivel1=-1&ver\\_servico=N](http://portal2.pbh.gov.br/pbh/index.html?id_conteudo=9479&id_nivel1=-1&ver_servico=N)> Acesso em 8 de março de 2008.

PEREZ, J.E., OGUSUKU, E., INGÁ, R., LOPEZ, M., MONJE, J., PAZ, L., NIETO, E., AREVATO, J., GUERRA, H. Natural *Leishmania* infection of *Lutzomyia* spp. in Peru. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 88: 16-14, 1994.

PEREZ, J.E., VELAND, N., ESPINOSA, D., TORRES, K., OGUSUKU, E., LLANOS-CUENTAS, A., GAMBOA, D., ARÉVALO J. Isolation and molecular identification of *Leishmania (Viannia) peruviana* from naturally infected *Lutzomyia peruensis* (Diptera: Psychodidae) in the Peruvian Andes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 102 (6): 655-658, 2007.

PERRUOLO, G., RODRÍGUES, N., FELICIANGELI, M.D. Isolation of *Leishmania (Viannia) braziliensis* from *Lutzomyia spinicrassa* (species group Verrucarum) Morales Osorno Mesa, Osorno & Hoyos 1969, in the Venezuelan Andean region. *Parasite*. 13(1):17-22, 2006.

PERTERSON, A.T., & SHAW, J. *Lutzomyia* vectors for cutaneous leishmaniasis in Southern Brazil: ecological niche models, predicted geographic distributions, and climate change effects. *International Journal for Parasitology* 33(2003): 919-931, 2003.

PESSOA, S., 1978. *Ensaio Médico Sociais*. São Paulo :Cebes / Ed. Huccitec. apud COSTA, M.C.N., TEIXEIRA, M.G.L.C. A concepção de “espaço” na investigação epidemiológica. *Cadernos de Saúde Pública*. 15 (2): 217-279, 1999.

PINTO I.D.E.S., DOS SANTOS C.B. Description of *Lutzomyia (Lutzomyia) falquetoi* sp. nov. (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) a new species from the state of Espírito Santo, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 102(2):165-167, 2007

PITA-PEREIRA, D., ALVES, C.R., SOUZA, M.B., BRAZIL, R.P., BERTHO, A.L., 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 hybridisation assay. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 99: 905-913, 2005.

PROIETTI, F.A. & CAIAFFA, W.T. Fórum: o que saúde urbana? *Cadernos de Saúde Pública*. 21(3): 940-941, 2005.

PUGEDO, H., BARATA, R.A., FRANÇA-SILVA, J.C., SILVA, J.C., DIAS, E.S. HP: an improved model of suction light trap for the capture of small insects. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 38: 70-72, 2005.

QUARESMA, P.F. Diagnóstico molecular da leishmaniose visceral canina e quantificação da carga parasitária através da reação em cadeia da polimerase. Dissertação (Mestrado em Ciências de Saúde), Fundação Oswaldo Cruz-Centro de Pesquisas René Rachou. Belo Horizonte, 2007.

QUEIROZ, R.G.; VASCONCELOS, I.A.B.; VASCONCELOS, A.W.; PESSOA, F.A.C.; SOUZA, R.N., DAVID, JR. 1994. 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*. 50: 693-698.

RANGEL, E.F., & LAINSON, R. Ecologia das Leishmaniose – Transmissores de Leishmaniose Tegumentar Americana *In* RANGEL, E.F., & LAINSON, R.(ED.) Flebotomíneos do Brasil. Editora FIOCRUZ, 2003.

RANGEL EF, SOUZA NA, WERMELINGER ED, AZEVEDO ACR, BARBOSA AF, ANDRADE CA. Flebotomos de Vargem Grande, foco de leishmaniose tegumentar no Estado do Rio de Janeiro. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. ; 81: 347-349, 1986

RESENDE, M.C., CAMARGO, M.C.V., VIEIRA, J.R.M., NOBI, R.C.A., PORTO, N.M.N., OLIVEIRA, C.L., PESSANHA, J.E., CUNHA, M.C.M., BRANDÃO, S.T. Seasonal variation of *Lutzomyia longipalpis* in Belo Horizonte, State of Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 39 (1): 51-55, 2004.

RODRIGUEZ N, AGUILAR CM, BARRIOS MA, BARKER DC 1999. Detection of *Leishmania braziliensis* in naturally infected individual sandflies by the polymerase chain reaction. *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 93: 47-49, 1999.

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* 39(1):56-63, 2006

SABROZA, P.C. *O domicílio como fator de risco na leishmaniose tegumentar americana*, Thesis, Escola Nacional de Saúde Pública, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 1983, *apud* SABROZA, P.C., TOLEDO, L.M., OSANI, C.H.. *A organização do espaço e os processos endêmicos-epidêmicos*, 1992. *In* LEAL, M.C., SABROZA, P.C., RODRIGUEZ, R.H., BUSS, P.M. *Saúde, ambiente e desenvolvimento : processos e conseqüências sobre as condições de vidas*. v. 2, 1992.

SABROZA, P.C., TOLEDO, L.M., OSANI, C.H. *A organização do espaço e os processos endêmicos-epidêmicos*. In Leal MC, Sabroza PC, Rodriguez RH, Buss PM 1992. *Saúde, ambiente e desenvolvimento : processos e conseqüências sobre as condições de vidas.v.2*, 1992.

SALOMÓN, O.D., ESTANI, S.S., ROSSI, G.C., SPINELLI, G.R. Presencia de *Lutzomyia longipalpis* y situación de la leishmaniosis visceral em argentina. *Medicina (Buenos Aires)*. 61: 174-178, 2001.

SAMBROOK, J.; FRITCH, E.F.; MANIATIS, T. *Molecular cloning: A laboratory manual*, 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, USA, 1989.

SANTOS, A.J. Estimativas de riquezas em espécies. In CULLEN JR. L., RUDRAN, R., In VALLADARES-PADUA, C. (ORG.) *Métodos de estudos em biologia e conservação da vida silvestre*. Editora UFPR- Paraná, 2004.

SANTOS, F.R.; PENA, S.D.J.; EPPLIN, J.T.,. Genetic and population study of a Y-linked tetranucleotide repeat DNA polymorphism with a simple non-isotopic technique. *Humam Genetic*. 90:655-656, 1993.

SANTOS, J.B.; LAUAND, L.; SOUZA, G.S.; MACÊDO, V.O. Fatores sócio-econômicos e atitudes em relação à prevenção domiciliar da leishmaniose tegumentar americana, em uma área endêmica do sul da Bahia, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*. 16: 701-708, 2000.

SCOMGER-NE. Secretaria Municipal da Coordenação de Gestão Regional Nordeste – Relatório de atividades 2004. Disponível em <[http://portal1.pbh.gov.br/pbh/srvConteudoArq/relativne.pdf?id\\_conteudo=6241&id\\_nivel1=-1](http://portal1.pbh.gov.br/pbh/srvConteudoArq/relativne.pdf?id_conteudo=6241&id_nivel1=-1)> Acesso em 09 de fevereiro de 2007.

SHANNON, R.C. Methods for collecting and feeding mosquitoes in jungle yellow fever studies. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 19: 131-148, 1939.

SHAW, J.J. New world leishmaniasis: the ecology of leishmaniasis and the diversity of leishmanial species in Central and South America. In Farrel, J. (ED) *World Class Parasites: Leishmania*. Kluwer Academic Publishers, Boston, Dordrecht, London, 2003.

SHERLOCK, I.A., Ecological interactions of visceral leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 91 (6): 671-683, 1996.

SHERLOCK, I.A. Importância Médico-Veterinária: A importância dos flebotomíneos. In Rangel, E.F. & Lainson, R. (ED) *Flebotomíneos do Brasil*. Editora FIOCRUZ – Rio de Janeiro, 2003.

SILVA, E.S.; GONTIJO, C.M.F.; PACHECO, R.S.; FIÚZA, V.O.P.; BRAZIL, R.P.,. Visceral Leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 96 (3): 285-291, 2001.

SINAN -Sistema de Informação de Agravos de Notificação 2006 (<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/index.php?name=RelatoriosGerenciais>) Acesso em 09 de fevereiro de 2007.

SOUZA, C.M.; PESSANHA, J.E.; BARATA, R.A.; MONTEIRO, E.M.; COSTA, D.C.; DIAS, E.;S. Study on Phlebotomine Sand Fly (Diptera: Psychodidae) Fauna in Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 99 (8): 795-803, 2004.

SOUZA, C.M. As Leishmanioses no município de Belo Horizonte: estudos entomológicos e biogeográficos visando a vigilância epidemiológica. Tese (Doutorado em Biologia Parasitária) - *Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 2005.

SOUZA, C.M.; PESSANHA, J.E.; BARATA, R.A.; MONTEIRO, E.M.; COSTA, D.C.; DIAS, E.S. Epidemiology of visceral leishmaniasis through spatial analysis, in Belo Horizonte municipality, state of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 101: 31-38, 2006.

SOUZA, N.A., ANDRADE-COELHO, C.A., VILELA, M.L., PEIXOTO, A.A., RANGEL, E.F. Seasonality of *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), occurring sympatrically in Area of Cutaneous Leishmaniasis in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 97(6): 759-765, 2002.

SUSSER, M. The logic in ecological: II. The logic of design. *American Journal of Public Health*. 84: 831-835, 1994.

TAVARES, C.A.P.; FERNANDES, A.P.; MELO, M.N. Molecular diagnosis of leishmaniasis. *Expert Rev. Molecular Diagnosis*. 3(5): 657-667, 2003.

TDR – WHO – World Health Organization – Tropical Diseases Research 2007< <http://www.who.int/tdr/grants/strategic-emphases/disease.htm#leish> >. Acesso em 09 de fevereiro de 2007.

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

TEODORO, U., SILVEIRA, T.G.V., SANTOS, D.R., SANTOS, E.S., SANTOS, A.R., OLIVEIRA, O., KÜHL, J.B., ALBERTON, D. Influência da reorganização, da limpeza do peridomicílio e a da desinsetização de edificações na densidade populacional de flebotomíneos no Município de Doutor Camargo, Estado do Paraná, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*. 19(6):1801-1813, 2003<sup>A</sup>.

TEODORO, U.; ALBERTON, D.; KÜHL, J.B.; SANTOS, E.S.; SANTOS, D.R.; SANTOS, A.R.; OLIVEIRA, O.; SILVEIRA, T.G.V.; LONARDONI, M.V.C. Ecology of *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* in an urban area in Brazil. *Revista de Saúde Pública*. 37(5): 651-656, 2003<sup>B</sup>.

THOMSON MC, ELNAIEM DA, ASHFORD RW, CONNOR SJ . Toward a dala azar risk map for Sudan: mapping the potential distribution of *Phlebotomus orientalis* using digital data of environmental variables. *Tropical Medicine and International Health* 4: 105-113, 1999.

VÁZQUEZ, M.; KROEGER, A.; LIPOWSKY, R.; ALZATE, A. Conceptos sobre la leishmaniasis cutanea en Colômbia y su aplicabilidad en programas de control. *Boletín de*

*la Oficina Sanitária Panamericana*. 110: 402-415, 1991.

VOLPINI, A.C. PCR-RFLP mkDNA no diagnóstico e identificação de espécies de *Leishmania* causadoras de leishmaniose cutânea no Brasil. Tese (Doutorado em Biologia Parasitária). Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2003.

VOLPINI, A.C.; PASSOS, V.M.A.; OLIVEIRA, G.C.; ROMANHA, A.J. PCR-RFLP to identify *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L.(Leishmania) amazonensis* causing american cutaneous leishmaniasis. *Acta Tropica*. 90: 31-37, 2004.

WARD, R.D., RIBEIRO, A.L., READY, P.D., MURTAGH, A. Reproductive isolation between different forms of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae), the vector of *Leishmania donovani* chagasi Cunha & Chagas and its significance to Kala-azar distribution in South America. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 78: 269-280, 1983.

WERNECK, G.L., & MAGUIRE, J.H. Spatial modeling using mixed models in an ecological study of visceral leishmaniasis in Teresina, Piauí state, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*. 18 (3): 633-637, 2002.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION – Urbanization: an increasing risk factor for leishmaniasis. *Weekly epidemiological record*. 44(77): 365-372, 2002.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION – Leishmaniasis 2006. Disponível em: <<http://www.who.int/leishmaniasis>>. Acesso em nove de fevereiro de 2007.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION 2008 - PUBLIC HEALTH MAPPING AND GIS. Disponível em: <[http://www.who.int/health\\_mapping/tools/en/](http://www.who.int/health_mapping/tools/en/)> Acesso em dois de fevereiro de 2008.

XAVIER, D.C.A., Estudos entomológicos do Parque Florestal do Gafanhoto, visando a vigilância epidemiológica das leishmanioses no município de Divinópolis, Minas Gerais, Brasil. Monografia (Curso de Ciências Biológicas) - Fundação Educacional de Divinópolis - UEMG, 2007.

XIMENES, M.F.F.M., CASTELLÓN, E.G., SOUZA, M.F., MENEZES, A.A.L., QUEIROZ, J.W., MACEDO E SILVA, V.P., JERÔNIMO S.M.B. Effect of abiotic factors on seasonal population dynamics of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in Northeastern Brazil. *Journal of Vector Entomology* 43(5): 990-995, 2006.

XIMENES, M.F.F.M., SILVA, V.P.M.E., QUEIROZ, P.V.S., REGO, M.M., CORTEZ., A.M., BATISTA, L.M.M., MEDEIROS, A.S.M., JERONIMIO, S.M.B. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) e Leishmanioses no Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil - Reflexos do Ambiente Antrópico. *Neotropical Entomology*.36(1):128-137, 2007.

YOUNG, D.G. & DUNCAN, M.A.. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Memory American Entomological Institute*. 54:1-881, 1994.

YOUNG, D.G. & LAWYER, P.G.. New World vectors of leishmaniasis. In KF Harris, *Current Topics in Vector Research*, Springer-Verlag, New York, 1987.

**10. Adendos****Ficha de caracterização do domicílio**

## Instruções

Ler o Consentimento Pós informado para o entrevistado

Caso o entrevistado concorde em participar, pedir que assine o Consentimento.

Deixar uma copia do Consentimento com o entrevistado

<p>Data da entrevista: ___ / ___ / ___</p> <p>Nome do entrevistador: _____</p>
--

REGIONAL NORDESTE, MUNICÍPIO DE BELO HORIZONTE/MINAS GERAIS

## Ficha de caracterização do domicílio

<p><b>Identificação:</b></p> <p>1. Identificação (ID) _____  Nome: _____</p> <p>2. Endereço: Bairro: _____  Rua Avenida: _____ Nº: _____</p> <p>Morador (adulto) que acompanhou o preenchimento da ficha:  _____</p> <p><b>Caracterização do domicilio</b></p> <p>3. Número de casas no lote: __ __</p> <p>Se houver mais de uma casa, caracterizar cada uma separadamente e anexar as fichas de cada uma</p> <p>4. Tipo de Paredes:</p>	<p>Codificação (não preencher)</p> <p>1. _____</p> <p>2. _____</p> <p>3. _____</p>
--	--

<p>1- Tijolo sem reboco  2- Tijolo com reboco  3- Madeira  4- Outros  5- Mista  9- NR  0- NS</p> <p>5. Estado de conservação da casa: há presença de:</p> <p>1- Mofo  2- Rachaduras  3- Buracos  4- Infiltração</p>	<p>4. ____</p> <p>5. ____</p>
<p>6. Tipo de teto</p> <p>1. Laje  2. Telha</p> <p>7 Tipo de piso:</p> <p>1. Cerâmica, ardósia, porcelanato  2. Cimento queimado  3. Taco  4. Terra batida  5. Misto  6. Outro: _____</p> <p>8. Possui banheiro? Se Não, vá para questão 10</p> <p>0. Sim  1. Não</p> <p>9. Descrever o tipo do banheiro</p> <p>a. Lavabo  b. Vaso  c. Chuveiro</p> <p>10. Possui rede de esgoto?</p>	<p>6 ____</p> <p>7 ____</p> <p>8 ____</p> <p>9a ____</p> <p>9b ____</p> <p>9c ____</p> <p>10</p>

<p>0. Sim</p> <p>1. Não</p> <p>11. Tipo de esgoto:  1- ligado à rede da Prefeitura.  2- ligado a fossa  3- Outro: _____  9- NR  0- NS</p>	<p>11 _____</p>
<p><b>Caracterização geral do quintal</b></p> <p>12 Assinalar a presença de :</p> <p>a. Árvores (somente se duas ou mais) 12a _____</p> <p>b. Plantas no chão, em vasos ou latas 12b _____</p> <p>c. Horta 12c _____</p> <p>d. Monte de madeira, telha 12d _____</p> <p>e. Entulhos 12e _____</p> <p>f. Lixo doméstico não acondicionado 12f _____</p> <p>g. Montes de folhas, troncos podres 12g _____</p> <p>h. Esterco 12h _____</p> <p>j. Esgoto a céu aberto 12i _____</p> <p>j. Canais de águas pluviais 12j _____</p> <p>k. Gaiolas de passarinho 12k _____</p> <p>13. O que fazem com o lixo?</p> <p>a. Recolhido pelo serviço municipal 13a _____</p> <p>b. Colocam na caçamba 13b _____</p> <p>c. Queimam 13c _____</p> <p>d. Jogam perto de casa (lote vago, córrego, rio) 13d _____</p> <p>e. Enterram 13e _____</p>	

14. A casa apresenta anexos ou outras construções no quintal?	14a ____
a. Canil	
b. Galinheiro	14b ____
c. Depósito	14c ____
d. Chiqueiro	14d ____
e. Porão	14e ____
f. Paiol	14f ____
g. Viveiro	14g ____
h. Outros	14h ____
15. Tem animais de criação/estimação em casa? Quantos?	
a. Cão - Quantos: ____ ____	15 <sup>a</sup> ____
b. Gatos - Quantos: ____ ____	15b ____
c. Pássaros - Quantos: ____ ____	15c ____
d. Outros: _____ Quantos: ____ ____	15d ____
Verificar se os cães apresentam algum sinal aparente de leishmaniose Fotografar aqueles com algum sinal aparente de leishmaniose	

<p>Deverão ser fotografados os seguintes ambientes, se houver :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Local onde e armazenado o lixo</li> <li>• Entulhos, monte de madeira, telha</li> <li>• Local com acúmulo de matéria orgânica (Montes de folhas, troncos podres, esterco)</li> <li>• Local onde os cães dormem</li> </ul>	
<p>16. Localização da casa</p> <p>0. Urbana 1. Rural – Fazenda</p> <p>17. O ambiente próximo a casa apresenta:</p> <p>a. Vegetação Natural b. Pastagens c. c. Córregos d. d. Terrenos baldios no quarteirão e. Outros . Descrever: _____</p> <p>Fotografar o ambiente próximo a casa: Ambiente acima descrito, visto do portão de entrada da casa, dos fundos ou em frente á casa</p>	<p>16. ____</p> <p>17<sup>a</sup> ____</p> <p>17b ____</p> <p>17c ____</p> <p>17d ____</p>

**Universidade Federal de Minas Gerais**

Termo de Consentimento

A Universidade Federal de Minas Gerais está realizando uma pesquisa sobre leishmanioses na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte. Algumas casas serão visitadas e os moradores terão sua residência caracterizada, através de uma ficha e fotografias. As informações dadas ao entrevistador, bem com as fotografias, serão confidenciais e utilizadas apenas para pesquisa.

Os moradores têm liberdade para se recusar a participar da pesquisa ou retirar seu consentimento a qualquer momento.

Vimos solicitar a autorização para a realização da pesquisa em sua casa. Se você concorda, favor assinar a autorização abaixo.

Autorizo:

- caracterização de minha residência através do preenchimento de uma ficha;
- registro fotográfico do meu quintal e anexos à minha casa;

**Belo Horizonte, \_\_\_\_/\_\_\_\_/2007**

**Chefe da Família**

Projeto de Pesquisa: Estudo da Fauna Flebotomínica e de sua Infecção Natural por *Leishmania* sp. na Regional Nordeste do Município de Belo Horizonte – Minas Gerais / Brasil

Pesquisadores responsáveis: Maria Norma Melo, Lara Saraiva.

Laboratório de Biologia de *Leishmania* Instituto de Ciências Biológicas. Departamento de Parasitologia 4º andar , bloco L4, sala: 244. Avenida Antônio Carlos 6627, Pampulha – Belo Horizonte/MG CEP: 31270-901  
Telefone: 3499-2969/3499-2850

COEP - Comitê de Ética em Pesquisa

Unidade Administrativa II – 2º andar – Avenida Antônio Carlos 6627, Pampulha – Belo Horizonte/MG CEP: 31270-901 Telefone: 3499-4592

## 11. Anexos

### Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais

	Universidade Federal de Minas Gerais Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - COEP
---	--

Parecer nº. ETIC 154/07

**Interessado(a): Profa. Maria Norma Melo**  
Departamento de Parasitologia  
Instituto de Ciências Biológicas-UFMG

**DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 27 de julho de 2007, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "**Percepção de moradores da Região Nordeste, Município de Belo Horizonte – Minas Gerais sobre transmissão das leishmanioses**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

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

  
**Profa. Dra. Maria Elena de Lima Perez Garcia**  
Coordenadora do COEP-UFMG

Av. Pez. Antonio Carlos, 6627 – Unidade Administrativa II – 2º andar – Sala 7005 – Cep. 31270-901 – BHEMG  
Telefone: (051) 3499-4592- FAX: (051)3199-4516 - e-mail: prpp@coep.ufmg.br

## Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte



**PREFEITURA BH**

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA-SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DE  
BELO HORIZONTE (CEP-SMSA/PBH)**

Avaliação de projeto de pesquisa – Protocolo 072/2007

**Nome do projeto:** Estudo de fauna flebotômica (Diptera- Psychodidae) e de sua infecção natural por *Leishmania sp.* No município de Belo Horizonte - Minas Gerais/Brasil.

**Área de Conhecimento:** Ciências Biológicas - Parasitologia  
**Pesquisador responsável:** Maria Norma Melo

Professora Titular do Departamento de Parasitologia do ICB/UFG

**Resumo do Projeto/Objetivos:** Trata-se de estudo transversal (com cooperação estrangeira - financiamento da Comunidade Europeia), com objetivo de caracterizar a fauna flebotômica e as taxas de infecção por *Leishmania sp.* que infectam estes vetores no Distrito Sanitário Nordeste de Belo Horizonte. Tem como objetivos específicos: estudar o padrão de flutuação sazonal das espécies de flebotômios neste distrito isolado e caracterizar as espécies de leishmania presentes nos flebotomos e identificar possíveis indicadores de risco ambiental através de caracterização dos domicílios e técnicas de geoprocessamento.

**Metodologia / População:** Será realizado estudo das condições ambientais e domiciliares da região nordeste de Belo Horizonte, onde serão colocadas armadilhas para captura de flebotomos, com aplicação de questionário padronizado a ser respondido por moradores dos domicílios selecionados. Os flebotomos capturados serão identificados quanto a espécie e presença de infecção por espécies de leishmania. Será estudada a associação entre a presença de vetor, cão soropositivo e leishmaniose visceral e tegumentar humana (LVT e LTA, respectivamente) nesta região.

**Período de realização do estudo:** março/06 a fevereiro/08

**Parecer:**

Recebemos as pendências encaminhadas pelo pesquisador em 06 de novembro de 2007, sendo respondidas todas as dúvidas levantadas, não restando nenhuma pendência no Projeto apresentado.

O projeto acima referido cumpriu os requisitos da resolução 196/96 da CONEP, tendo sido aprovado no âmbito do Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao CEP um ano após início do projeto ou ao final deste, se em prazo inferior a um ano.

  
 Janice Barros Lebitani  
**Coordenadora adjunta do CEP-SMSA/PBH**

Belo Horizonte, 30 de novembro de 2007.