**Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública**

Estudo Epidemiológico da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), no município de Itambaracá, Região Norte do Estado do Paraná, Brasil, em áreas de influência do complexo hidrelétrico na bacia do Rio Paranapanema, 2004 a 2006.

Mariza Fordellone Rosa Cruz

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública para obtenção do título de Doutor em Saúde Pública.

Área de Concentração: Epidemiologia

Orientador: Prof^a.Dra. Eunice Aparecida Bianchi Galati

**São Paulo
2008**

Estudo Epidemiológico da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), no município de Itambaracá, Região Norte do Estado do Paraná, Brasil, em áreas de influência do complexo hidrelétrico na bacia do Rio Paranapanema, 2004 a 2006.

MARIZA FORDELLONE ROSA CRUZ

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Saúde Pública.

Área de Concentração: Epidemiologia

Orientador: Profa. Dra. Eunice Aparecida Bianchi Galati

São Paulo
2008

É expressamente proibida a comercialização deste documento tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da tese.

Dedico este trabalho :

**À minha família, Roberto, Carolina, Mariana e
Gabriel, que sempre estiveram presentes em todos os momentos.**

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, por conceder forças e ânimo, mesmo nos momentos mais difíceis.

A meus pais, familiares e amigos que sempre foram meus incentivadores .

À prof. Dra. Eunice Aparecida Bianchi Galati, pela orientação, apoio, amizade, em todos os momentos necessários, nem tenho palavras para agradecer.

Aos estagiários, Karol, Iury, Alexandra, Alexandre, Priscila Mota, Fernanda, Priscila, Ana Paula, Rodolfo, Carol, Leonardo, Iassudara, Danielle, Fabio, Edinho e Formigão, por seu trabalho incansável, mesmo nas coletas de 24 horas.

Aos alunos Fabiana, Camila, Rodrigo, Mariana, Kessie e Neila, que ajudaram na aplicação dos questionários epidemiológicos. Às estudantes de enfermagem Cíntia e Thaise pela colaboração com as coletas de sangue.

Aos funcionários da Fazenda São José, que nos ajudaram com as coletas.

Aos amigos que me acolheram Lilian, Prof. Delsio, Prof. Carlos Celso, Mieko, Maria Christina e Maricel.

Às amigas Edna e Dulce, dos laboratórios da FSP, pela ajuda e colaboração.

À Dra. Rosely Malafronte, sua equipe e orientadas, pela ajuda nas técnicas moleculares

À Dra. Elisa San Martin Savani e sua equipe do laboratório do Centro de controle de Zoonoses- SP, pela inestimável colaboração e realização dos exames laboratoriais.

À Bio-manguinhos-Fiocruz pela doação dos Kits de EIE.

À equipe de enfermagem do Centro de Saúde de Itambaracá que colaborou com as coletas. À equipe da Epidemiologia e Vigilância Sanitária, especialmente aos Srs. Osvaldo Pereira Jr e João Batista pelo apoio e colaboração com a pesquisa.

À Prefeitura Municipal de Itambaracá, nas pessoas do Sr. Moacyr Thomé do Carmo e Sr. Reginaldo Ticianel.

À Prof. Cida Valério pelas sugestões na área de estatística.

À Banca examinadora pelas valiosas sugestões.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente com esta pesquisa.

Epígrafe

Primeiro faça o necessário
Depois faça o possível,
E quase sem perceberes
Estarás fazendo o impossível

Francisco de Assis

FORDELLONE-CRUZ, M. Estudo Epidemiológico da leishmaniose tegumentar americana (LTA), no município de Itambaracá, região Norte do Estado do Paraná, Brasil, em áreas de influência do complexo hidrelétrico na bacia do Rio Paranapanema, 2004-2006. [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2008

Resumo. Foi realizado um estudo epidemiológico para avaliação dos fatores determinantes para a transmissão da LTA. O estudo foi realizado na área urbana, periurbana e rural da cidade de Itambaracá, incluindo a Vila Rural e as localidades de Porto Almeida e São Joaquim do Pontal, as duas últimas próximas à área impactada pelas hidrelétricas de Canoas I e II, no rio Paranapanema. Capturou-se de fevereiro de 2004 a junho 2006, 3.187 flebotomíneos. As espécies predominantes foram *Nyssomyia neivai* (34,36%), *Pintomyia pessoai* (32,57%), *Migonemya migonei* (11,61%), *Nyssomyia whitmani* (8,82%) e *Pintomyia fischeri* (2,73%) todas elas com capacidade de transmissão da doença. Para *Ny neivai*, houve predominância de machos e para as outras espécies vetoras, as fêmeas prevaleceram, com diferença estatística significativa ($p < 0,001$). As espécies mais abundantes, segundo o índice de abundância das espécies padronizado, foram *Ny neivai*, *Pi. pessoai*, *Ny whitmani*, *Br. brumpti*, *Mg migonei* e *Pi fischeri*. As maiores frequências e diversidade das espécies foram encontradas na localidade de Porto Almeida (PA), seguida por São Joaquim do Pontal (SJP). *Ny neivai* apresentou médias sazonais mais elevadas e na distribuição mensal, picos em fevereiro, maio e outubro. A maior média horária desta espécie foi registrada das 19:00 às 20:00 h (1,2) mas mostrou-se ativa das 23:00 às 10:00 h da manhã. A prevalência de Acs da classe IgG para LTA em RIFI, na população humana foi de 6,73%, nos caninos de 1,75% e nos equídeos de 16,0 %. Em EIE/ELISA, a prevalência para os caninos foi de 16,49%. Na PCR, todos os cremes leucocitários correspondentes à soros reagentes a Acs da classe IgG (humanos), e Ac totais (equinos e caninos) foram negativos para *Leishmania* sp. No inquérito sócio econômico, verificou-se que a população entrevistada em sua maioria pertence à etnia branca e à faixa etária de 30-50 anos, recebem em torno de dois salários mínimos, possuem ocupações voltadas à agricultura e pecuária, nível de escolaridade fundamental (1º grau), habita casas de alvenaria, possuem animais domésticos com seus abrigos próximos às casas. Realizam atividades de trabalho e lazer em áreas de

risco em proximidades às matas, áreas com animais silvestres e domésticos e com presença de matéria orgânica, que são fatores atrativos aos flebotomíneos. A população entrevistada, de uma forma geral, desconhece os aspectos da transmissão da LTA. Observou-se em todas as localidades amostradas a presença de flebotomíneos, com predominância de cinco espécies com capacidade vetorial de agentes da LTA, destacando-se *Ny. Neivai* , incluindo os peridomicílios. Houve transmissão ativa da doença, ocorrendo dois casos notificados e autóctones, em área de baixa frequência de espécimes. A soroprevalência na população humana (6,73%) foi considerável, embora seja uma área de baixa ocorrência da doença. Nas localidades onde havia um foco mais recente da doença, em SJP, os cães e eqüinos apresentaram sorologia positiva. A alta prevalência de reagentes na sorologia observada em eqüídeos sugere que estes animais poderiam ser usados como sentinela para a detecção precoce da circulação do agente da LTA nas áreas estudadas.

Palavras-chave: Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), flebotomíneos Diptera, Psychodidae, impactos ambientais por hidrelétricas, levantamento sorológico, RIFI, EIE, PCR , fatores de risco, vetores..

FORDELLONE-CRUZ, M. Estudo Epidemiológico da leishmaniose tegumentar americana (LTA), no município de Itambaracá, região Norte do Estado do Paraná, Brasil, em áreas de influência do complexo hidrelétrico na bacia do Rio Paranapanema, 2004-2006./Epidemiological study of American Cutaneous Leishmaniasis (ACL), in northern Paraná State, Brazil, in areas around the hydroelectric plants on the Paranapanema river, 2004 -2006. [Thesis]. São Paulo BR): Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2008.

Abstract. An epidemiological study was carried out in the urban area of Itambaracá and rural areas of the same municipality, including Vila Rural, Porto Almeida and São Joaquim do Pontal, to investigate the phlebotomine fauna and behavioral aspects of its species and also some determining factors of the transmission of American cutaneous leishmaniasis (ACL). The last two localities mentioned are situated close to the areas impacted by the Canoas I and II hydroelectric plants on the Paranapanema river. A total of 3,187 phlebotomines were captured between February 2004 and June 2006. *Nyssomyia neivai* predominated (34.36%), followed by *Pintomyia pessoai* (32.6%), *Migonemyia migonei* (11.6%), *Nyssomyia whitmani* (8.8%) and *Pintomyia fischeri* (2.7%), all of them implicated in the transmission of the disease. Regarding *Ny. neivai*, males predominated over females which may indicate the proximity of its breeding places to the capture sites. As for all the other vector species, the females were predominant, with significant statistical differences ($p < 0,001$). *Ny. neivai*, *Pi. pessoai*, *Ny. whitmani*, *Br. brumpti*, *Mg. migonei* and *Pi. fischeri* presented the highest values for the species standardized abundance index. The greatest frequencies and diversity of the species were found at Porto Almeida (PA), a locality situated close to a well preserved forest fragment and secondly at São Joaquim do Pontal (SJP), with degraded forest. Of all the species, *Ny. neivai* presented the highest monthly averages with the main peak occurring in successive months of April. Its greatest hourly average was registered at 19:00-20:00 hours, but the species presented activity from 23:00 p.m. to 10:00 a.m. The prevalence of Ac IgG class, serum-reagents for *Leishmania* obtained with RIFI from the human, canine and equine populations was 6.73% (20/297), 1.75% (5/285) and 16% (8/50), respectively. A prevalence of 16.4% was observed by the EIE/ELISA test only for the canine population. The buffy-coat of all the reagent human and animal blood

samples was tested by the polymerase chain reaction (PCR) to investigate the presence of *Leishmania*, with negative results. In the socioeconomic survey, it was found that the majority of the people interviewed belonged to the white ethnic and 30-50 year-old groups, earning two minimum salaries, exercising occupations associated with agriculture and livestock breeding, of fundamental school level, inhabiting brick houses and keeping pets and domestic animals in and around them. They exercise their work and leisure activities in risk areas close to forest fragments, thus in areas containing both wild and domestic animals with the presence of organic matter, which attract the sandflies. The population interviewed was, in general, ignorant of the facts involved in ACL transmission. Sandflies were observed at all the sites sampled, with the predominance of five vectors of the ACL agents, with *Ny. neivai*, the main vector in all three areas, also being captured in the peridomiciles. Active transmission of the disease, with two cases registered, was observed at sites with very low frequency of this sandfly. The serum prevalence in the human population (6.73%) was considerable, despite this being an area of few registered ACL cases. In the localities in which there was a more recent focus of the disease, in SJP, the dogs and equines presented positive serology. The high prevalence of equine serum reagents suggests that these animals could be used as sentinels for the early detection of the presence of the ACL agent in the area studied.

Descriptors: American Cutaneous Leishmaniasis, ELISA, environmental impact of hydroelectric plants, Phlebotomine (Diptera, Psychodidae), serum-epidemiological survey, RIFI, PCR, risk factors, vectors.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	20
1.1 ASPECTOS GERAIS DAS LEISHMANIOSES	20
1.2 EPIDEMIOLOGIA DAS LEISHMANIOSES	21
1.3 ASPECTOS AMBIENTAIS LIGADOS À TRANSMISSÃO DAS LEISHMANIOSES	23
1.4 ASPECTOS DA LTA NO BRASIL	26
1.5 AGENTES	28
1.6 VETORES	28
1.7 RESERVATÓRIOS	32
1.8 SINTOMAS	33
1.9 DIAGNÓSTICO	33
1.10 PREVENÇÃO	34
1.11 JUSTIFICATIVAS DO ESTUDO	34
2. OBJETIVOS	35
2.1 OBJETIVO GERAL	35
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
3. MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1 ÁREA DE ESTUDO	36
3.2 INQUÉRITO DOS FLEBOTOMÍNEOS	37
3.2.1 Capturas de formas aladas	38
3.3 INQUÉRITO DOS ANIMAIS DOMÉSTICOS	39
3.4 INQUÉRITO HUMANO	40
3.5 TÉCNICAS SOROLÓGICAS E MOLECULARES	41
3.5.1 Sorológicas	41
3.5.2 Moleculares	43
4. ANÁLISE DOS DADOS	44
4.1 FLEBOTOMÍNEOS	44
4.2 INQUÉRITO HUMANO E DOS ANIMAIS DOMÉSTICOS	45
4.3 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA	45
5. RESULTADOS	46
5.1 PARÂMETROS METEOROLÓGICOS DA ÁREA ESTUDADA	46
5.2 INQUÉRITO DOS FLEBOTOMÍNEOS	48
5.2.1 Coleta Geral	48
5.2.2 Localidades Estudadas	54
5.2.3 Média geométrica mensal das principais espécies coletadas	64
5.2.4 Média horária das principais espécies coletas (Ritmo Horário), em barraca de Shannon modificada branca e preta	69
5.3 INQUÉRITOS	72
5.3.1 Inquérito sorológico humano	72
5.3.2. Inquérito molecular humano	75
5.3.3. Inquérito sorológico da população canina	75
5.3.4. Inquérito molecular da população canina	78
5.3.5. Inquérito sorológico dos eqüinos	78
5.3.6. Inquérito molecular dos eqüinos	80
5.4. INQUÉRITO SÓCIO-ECONÔMICO CULTURAL HUMANO	80

6. DISCUSSÃO	91
6.1. INQUÉRITO DOS FLEBOTOMÍNEOS	91
6.2. INQUÉRITO HUMANO	104
6.3. INQUÉRITO DA POPULAÇÃO CANINA	108
6.4. INQUÉRITO DOS EQUÍDEOS	111
6.5. INQUÉRITO SÓCIO ECONÔMICO CULTURAL	112
7. CONCLUSÕES	117
8. REFERÊNCIAS	121

ANEXOS

Anexo 1 - Termo de consentimento Livre e esclarecido (TCLE)	136
Anexo 2 - Questionário epidemiológico – Moradores.	139
Anexo 3 - Questionário epidemiológico – Propriedade	141
Anexo 4 - Ficha de Identificação dos animais para coleta de sangue	146
Anexo 5 - Termo de consentimento para coleta de materiais biológicos.	147
Anexo 6 - Termo de consentimento para coleta entomológica	148
Anexo 7- Cálculo do índice de Abundância Padronizado (IAEP)	149
Anexo 8- Cálculo dos índices de Diversidade de Shannon (H) e de Equitabilidade de Pielou (J)	150
Anexo 9- Figuras	151
Anexo 10 - Protocolo de Extração de DNA Genômico Kit Promega	160
Anexo 11 – Protocolo do Ensaio Imuno Enzimático – Bio manguinhos	162

LISTA DAS TABELAS, GRÁFICOS E QUADROS

TABELAS

Tabela 1 - Média mensal dos parâmetros meteorológicos para a região norte pioneira do Paraná, no período de 2004 a 2006. 46

Tabela 2 - Frequência de flebotomíneos, segundo espécie e sexo, capturados no município de Itambaracá (zona urbana e periurbana) e nas localidades rurais de São Joaquim do Pontal e Porto Almeida, fevereiro de 2004 a junho de 2006 48

Tabela 3 - Frequência de flebotomíneos, capturados no município de Itambaracá, segundo localidades (zona urbana e periurbana) e nas localidades rurais de São Joaquim do Pontal e Porto Almeida, fevereiro de 2004 a junho de 2006. 49

Tabela 4 - Distribuição geral das espécies de Phlebotominae, segundo razão entre sexos, capturadas em Itambaracá-PR nas três localidades (São Joaquim do Pontal, Porto Almeida, Cidade e Vila Rural) de fevereiro de 2004 a junho de 2006. 50

Tabela 5 - Distribuição das espécies de Phlebotominae, segundo sexo, capturadas em Itambaracá-PR, na localidade São Joaquim do Pontal e razão entre os sexos (M/F), de fevereiro de 2004 a junho de 2006 . 54

Tabela 6 - Distribuição das espécies de Phlebotominae, segundo sexo, pontos de coleta da localidade de Porto Almeida e razão entre os sexos, de 2004 a 2006.	58
Tabela 7- Distribuição das espécies de Phlebotominae, segundo os pontos de coleta da localidade Cidade,Vila Rural e Pesq-Pag e razão entre os sexos, 2004- 2006.	62
Tabela 8- Distribuição, segundo sexo e local de residência da população amostrada em Itambaracá-PR, de março de 2006 a junho de 2007.	72
Tabela 9– Distribuição, segundo idade e local de residência da população amostrada em Itambaracá-PR, de março de 2006 a junho de 2007.	72
Tabela 10 – Número de soros humanos obtidos, segundo os pontos de coletas e resultados da RIFI (Reação de Imunofluorescência Indireta). Município de Itambaracá, março de 2006 a junho de 2007.	73
Tabela 11 – Número de pessoas reagentes, de acordo com os resultados da RIFI (IgG), segundo localidades, diluição e sexo, e prevalência por sexo. Município de Itambaracá, março de 2006 a junho de 2007.	73
Tabela 12 – Número de pessoas reagentes, segundo sexo e etnia. Município de Itambaracá, março de 2006 a junho de 2007	74
Tabela 13 – Número e prevalência de pessoas reagentes de acordo com os resultados da RIFI, segundo localidade e faixa etária (em anos). Município de Itambaracá, março de 2006 a junho de 2007.	74
Tabela 14 - Distribuição da população canina amostrada, segundo localidades e sexo Itambaracá-PR, de janeiro a dezembro de 2006.	75
Tabela 15 – Distribuição da população canina, segundo localidades e idade, Itambaracá-PR, de janeiro a dezembro de 2006.	76
Tabela 16 – Distribuição da população canina, segundo localidades e raça, Itambaracá-PR, de janeiro a dezembro de 2006.	76
Tabela 17: Número de soros caninos obtidos, segundo os pontos de coletas e resultados da RIFI (Reação de Imunofluorescência Indireta). Município de Itambaracá, de janeiro a dezembro de 2006.	77
Tabela 18 - Número de soros caninos obtidos, segundo os pontos de coletas e de acordo com os resultados do Ensaio Imuno Enzimático (EIE). Reagente (R), Não Reagente (NR), Inconclusivo (I) em Itambaracá-PR, janeiro a dezembro de 2006.	77
Tabela 19 - Soros caninos reagentes no teste Ensaio Imuno Enzimático (EIE), por ponto de coletas e sexo. Itambaracá-PR, de janeiro a dezembro de 2006.	78

Tabela 20 – Distribuição da população de equídeos do inquérito sorológico, segundo localidades e sexo, Itambaracá- PR, de julho a dezembro de 2006.	78
Tabela 21- Distribuição da população de equídeos do inquérito sorológico, segundo localidades e faixa etária, Itambaracá- PR, de julho a dezembro de 2006.	79
Tabela 22 - Distribuição da população de equídeos do inquérito sorológico, segundo localidades e raças, Itambaracá- PR, de julho a dezembro de 2006.	79
Tabela 23 - Distribuição da população de equídeos do inquérito sorológico, segundo resultados da RIFI-Não Reagente (NR), Reagente (R), Itambaracá- PR, de julho a dezembro de 2006.	79
Tabela 24 - Distribuição da população de equídeos do inquérito sorológico, dos soro-reagentes pela RIFI, segundo localidades, Itambaracá- PR de julho a dezembro de 2006.	80
Tabela 25 - Distribuição dos entrevistados, em número e porcentagem, segundo sexo e local de residência no período de janeiro a dezembro de 2006	80
Tabela 26-Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo sexo, etnia e local de residência no período de janeiro a dezembro de 2006	81
Tabela 27 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo sexo e categoria de moradia, em todas as localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006.	84
Tabela 28 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo sexo e tipo de construção, em todas as localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006.	84
Tabela 29- Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo número de cômodos, por localidade, no período de janeiro a dezembro de 2006.	85
Tabela 30 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo número de moradores, por residência, em cada localidade, no período de janeiro a dezembro de 2006.	86
Tabela 31 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo a presença de anexos, por localidade, no período de janeiro a dezembro de 2006.	86
Tabela 32 - Distribuição segundo número de animais no peridomicílio, por localidade, no período de janeiro a dezembro de 2006.	86
Tabela 33 - Distribuição dos entrevistados, segundo atividades de lazer, em porcentagens, nas localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006.	87

Tabela 34 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo os hábitos de fumar e beber, em porcentagens, por localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006. 87

Tabela 35 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo grau de alfabetização, em todas as localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006. 87

Tabela 36 - Distribuição da população entrevistada, em porcentagem, segundo as respostas sobre o conhecimento de LTA, em porcentagens referentes a cada localidade, no período de janeiro a dezembro de 2006. 88

Tabela 37 - Distribuição da população entrevistada, segundo presença de lesões e cicatrizes, em porcentagens, referentes a cada localidade, no período de janeiro a dezembro de 2006. 88

Tabela 38 - Distribuição da população segundo renda familiar, porcentagem e localidade, no período de janeiro a dezembro de 2006. 89

Tabela 39 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo utilização de serviços médicos, em todas as localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006 89

Tabela 40 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo disposição dos resíduos sólidos, em todas as localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006 89

Tabela 41 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo escolaridade, em todas as localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006. 90

GRÁFICOS:

Gráfico 1- Média mensal dos parâmetros meteorológicos para a região norte pioneira do Paraná, no período de 2004 a 2006. 46

Gráfico 2 - Índice de abundância das espécies padronizado (IAEP) obtido nas coletas com armadilhas tipo CDC nas três localidades de Itambaracá (região urbana e perirubana), São Joaquim do Pontal e Porto Almeida, de fevereiro de 2004 a junho de 2006. 51

Gráfico 3 - Índice de diversidade de Shannon (H) e Índice de equitabilidade de Pielou (J) das espécies capturadas com armadilhas tipo CDC e Shannon, nas três localidades de Itambaracá (região urbana e perirubana), São Joaquim do Pontal e Porto Almeida, de fevereiro de 2004 a junho de 2006. 52

Gráfico 4 - Índice de Abundância das Espécies Padronizado (IAEP) segundo espécies capturadas na localidade de São Joaquim do Pontal -fevereiro de 2004 a junho de 2006. 55

Gráfico 5 - Índices de Shannon (H) e Pielou (J) nos pontos de coleta da localidade de S. Joaquim do Pontal, de março de 2004 a junho 2006.	56
Gráfico 6 - Índice de diversidade de Shannon (H) nos pontos de coleta da localidade de S. Joaquim do Pontal, em 2004, 2005 e 2006.	57
Gráfico 7 - Índice de equitabilidade de Pielou (J) nos pontos de coleta em S. Joaquim do Pontal, em 2004, 2005 e 2006.	57
Gráfico 8 - Índice de Abundância das Espécies Padronizado (IAEP), segundo as espécies capturadas na localidade de Porto Almeida, de fevereiro de 2004 a junho de 2006.	59
Gráfico 9 - Índices de Shannon (H) e Pielou (J) nos pontos de coleta da localidade de Porto Almeida, de março de 2004 a junho 2006.	60
Gráfico 10 - Índices de diversidade de Shannon (H) nos pontos de coleta da localidade Porto Almeida, nos anos de 2004, 2005 e 2006.	60
Gráfico 11 - Índices de equitabilidade de Pielou (J) nos pontos de coleta da localidade de Porto Almeida, nos anos de 2004, 2005 e 2006.	61
Gráfico 12 - Índice de abundância das espécies padronizado (IAEP) capturadas na localidade de Vila Rural, Cidade (zona urbana) e Pesque-Pag, de fevereiro de 2004 a junho de 2006	63
Gráfico 13 - Índices de diversidade de Shannon (H) e Pielou (J), nos pontos de coleta das localidades Vila Rural e Cidade, de março de 2004 a junho 2006.	63
Gráfico 14 - Índices de diversidade de Shannon (H) nos pontos de coleta da localidade Vila Rural e Cidade, nos anos de 2004, 2005 e 2006.	64
Gráfico 15 - Índices de equitabilidade de Pielou (J), nos pontos de coleta da localidade Vila Rural e Cidade, nos anos de 2004, 2005 e 2006.	64
Gráfico 16 - Médias geométricas mensais de <i>Mg. migonei</i> nas localidades de São Joaquim do Pontal (SJP), Porto Almeida (PA) e cidade de Itambaracá (ITC), no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.	65
Gráfico 17 - Médias geométricas mensais de <i>Ny neivai</i> nas localidades de São Joaquim do Pontal (SJP), Porto Almeida (PA) e cidade de Itambaracá (ITC), no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.	66
Gráfico 18 - Médias geométricas mensais de <i>Ny whitmani</i> nas localidades de São Joaquim do Pontal (SJP), Porto Almeida (PA) e cidade de Itambaracá (ITC), no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.	67

Gráfico 19 - Médias geométricas mensais de <i>Pi. fischeri</i> nas localidades de Porto Almeida (PA) e Cidade de Itambaracá (ITC) no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.	67
Gráfico 20 - Médias geométricas mensais de <i>Pi. pessoai</i> em São Joaquim do Pontal (SJP), Porto Almeida (PA) e Cidade de Itambaracá (ITC) no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.	68
Gráfico 21 – Médias horárias para <i>Mg. migonei</i> na localidade Porto Almeida (PA)- FSJ- Fazenda São José, no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.	69
Gráfico 22 - Médias horárias de <i>Ny.neivai</i> na localidade Porto Almeida (PA)- FSJ- Fazenda São José, no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.	69
Gráfico 23 – Médias horárias de <i>Ny.whitmani</i> na localidade Porto Almeida (PA)- FSJ- Fazenda São José, no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.	70
Gráfico 24 - Médias geométricas horárias de <i>Pi.fischeri</i> na localidade Porto Almeida (PA)- FSJ- Fazenda São José, no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.	70
Gráfico 25 - Médias geométricas horárias de <i>Pi.pessoai</i> na localidade Porto Almeida (PA)- FSJ- Fazenda São José, no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.	71
Gráfico 26- Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo ocupação e sexo, em S.J.Pontal, no período de janeiro a dezembro de 2006.	81
Gráfico 27- Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo sexo e ocupação, em Porto Almeida, no período de janeiro a dezembro de 2006.	82
Gráfico 28- Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo sexo e ocupação, em Itambaracá, no período de janeiro a dezembro de 2006.	83
Gráfico 29 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo sexo e ocupação, na Vila Rural, no período de janeiro a dezembro de 2006.	83
Gráfico 30 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo tipo de cobertura da casa, nas localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006.	84
Gráfico 31 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo localização do banheiro (WC), por localidade, no período de janeiro a dezembro de 2006. Itambaracá	85
Gráfico 32 - Distribuição dos entrevistados, segundo localização do banheiro (WC), por localidade, no período de janeiro a dezembro de 2006.	84

QUADROS:

Quadro 1: Número de casos de LTA, e Coeficiente de Incidência (CI) por 100.000/hab., segundo a população, da 18ª Regional de Saúde de Cornélio Procopio, e Município de Itambaracá, segundo o ano de ocorrência, de 1992 a 2006. 27

LISTA DAS FIGURAS

Figura 1: Vista Aérea da cidade de Itambaracá, área central , praça da Igreja Matriz – Itambaracá – 2007.	151
Figura 2: Localização do Estado no Paraná na Região sul do Brasil.	151
Figura 3: Mapa do Estado do PR, com a localização da 18ªRegional de Saúde, onde está o município de Itambaracá.	152
Figura 4: Localização do Município de Itambaracá, no conjunto dos municípios da 18ª Regional de Saúde- Norte do Paraná.	152
Figura 5: Localização do Município de Itambaracá, em relação ao complexo Hidrelétrico Canoas I (7) e Canoas II (8).	153
Figura 8: Mapa de Itambaracá visualizando as áreas de coleta ,Itambaracá (urbana),Periférica e Rural,.	53
Figura 7: Vista Parcial de Canoas I.	154
Figura 8: Vista Parcial do Rio Paranapanema.	154
Figuras 9 e 10: Armadilha Automática Luminosa- tipo CDC.	154
Figuras 11 e 12: Aspiração em barraca de Shannon branca e preta.	154
Figuras 13 e 14: Coleta de sangue humana.	155
Figuras 15 e 16: Coleta de sangue em caninos.	155
Figuras 17 e 18: Coleta de sangue em eqüinos.	155
Figuras 19 e 20: Aplicação de questionários.	156
Figuras 21 e 22: Lesões ativas da LTA.	156
Figuras 23 e 24: Lesões cicatrizadas de LTA pós-tratamento.	156
Figura 25: Mapa dos pontos de captura em São Joaquim do Pontal.(SJP).	157
Figura 26: Mapa dos pontos de captura em Porto Almeida.(PA).	158
Figura 26: Mapa dos pontos de captura de Itambaracá.	159

SIGLAS UTILIZADAS

ACS- Anticorpos
CCZ-SP - Centro de Controle Zoonoses de São Paulo
DNA - Ácido desoxirribonucléico
DST - Doenças sexualmente transmissíveis
EIE - Ensaio Imuno Enzimático
ELISA – Enzyme linked immunosorbent assay
FMA – Fazenda Monte Alto
FPA – Fazenda Porto Almeida
FSJ - Fazenda São José
FSJ-CAP – Faz. São José - capela
FSJ-Col- Faz. São José -colônia
FSJ-ME – Faz. São José -Mata estrada
FSJ-R - Faz. São José – Mata rio
HIV- Vírus da Imunodeficiência Humana
I – Inconclusivo
IAEP - Índice de Abundância de Espécies Padronizado
IgG - Imunoglobulina G
IgM - Imunoglobulina M
IN – Insolação
IRM - Intradermo Reação de Montenegro
ITC – Itambaracá
LTA – Leishmaniose Tegumentar Americana
LVA – Leishmaniose Visceral Americana
NR – Não reagente
OMS - Organização Mundial de Saúde
RIFI - Reação de Imunofluorescência Indireta
PA - Porto Almeida
PCR - Reação em Cadeia da Polimerase
Pr – Precipitação
SHB - Barraca de Shannon Branca
SHP - Barraca de Shannon Preta
SJP - São Joaquim do Pontal
SRD – Sem raça definida
TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TM - Temperatura média
URA – Umidade Relativa do ar
UR - Umidade relativa
WCD- World Commission of dams
WHO - World Health Organization
VR – Vila Rural

Estudo Epidemiológico da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) no município de Itambaracá, região norte do Estado do Paraná, Brasil, em áreas de influência do complexo hidrelétrico na bacia do Rio Paranapanema, 2004-2006.

1. INTRODUÇÃO

1.1. ASPECTOS GERAIS

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) tem sido descrita como uma zoonose, em ambientes florestais primitivos, onde o ciclo do parasita processa-se sem a participação humana, caracterizando o foco silvestre, onde a manifestação da doença existe concomitantemente com a atividade humana (MAYWALD, 1996).

É uma zoonose urbana e periurbana em franca expansão geográfica no Brasil, sendo uma das infecções dermatológicas mais importantes, não só pela frequência, mas principalmente pelas dificuldades terapêuticas, deformidades e seqüelas que pode acarretar. Normalmente não leva à morte, mas pode diminuir a capacidade de trabalho e integração social do indivíduo (SAVANI, 1998).

Esta doença apresenta surtos associados à derrubada das matas para construção de estradas, instalação de povoados, extração de madeira, agricultura e pecuária. Estes mesmos surtos acontecem também através de processos migratórios, ocupação de encostas, aglomerados na periferia de centros urbanos, com a falta de saneamento básico, situação econômica precária, convívio com animais ermos ou mesmo domesticados considerados reservatórios da doença (GOMES, 1992).

Leishmaniose tegumentar silvestre modificada: ocorre através de surtos epidêmicos sazonais, em áreas com pequenos focos residenciais de mata primária. A infecção tem lugar na interface da área peridomiciliar e nas áreas de mata, onde o homem costuma desenvolver atividades agrícolas, estando ligada às flutuações da densidade populacional dos flebotomíneos (BARRETO et al., 1984)..

Leishmaniose tegumentar periurbana: ocorre de forma endemo-epidêmico, endo ou peridomiciliar, em áreas de colonização antiga onde há suspeita da participação de animais domesticados como reservatórios (cães, eqüinos) (BASANO, 2004).

Antigamente os casos predominavam em adultos jovens do sexo masculino, porque eles viviam e trabalhavam na zona rural (OLIVEIRA, 2004) e com a transmissão ocorrendo em periferias de área urbana em ambientes domiciliares e peridomiciliares, a doença passou a atingir também crianças e mulheres (TEODORO, 1993).

As grandes obras de engenharia alteram os ecossistemas naturais, como a construção e o funcionamento de represas com a finalidade de obtenção de energia elétrica (WHO, 2000).

Na década de 60 estudos sobre o aproveitamento do rio Paranapanema, indicavam que poderia haver a construção de uma barragem, com a formação de um reservatório que inundaria 95 km² de terras férteis paranaenses e paulistas, e após vários estudos, chegaram à alternativa de duas barragens, Canoas I e II, divisor do oeste do Estado de São Paulo, e norte do Estado do Paraná (CESP, 1990; CESP ENGEVIX, 1991).

Nos últimos anos, mudanças ambientais têm ocorrido em muitas áreas, como resultado da construção de represas e outras atividades do desenvolvimento econômico, envolvendo o uso da água e da terra. Como consequência, os hábitos reprodutivos de insetos vetores e alguns aspectos de seu comportamento podem sofrer mudanças (WHO, 1982).

1.2. EPIDEMIOLOGIA DAS LEISHMANIOSES

As leishmanioses são zoonoses que envolvem uma ampla rede causal, desde a presença do vetor no ambiente, que são os flebotomíneos, se infectados com protozoários do gênero *Leishmania*, ao que se alimentarem, transferem o agente a hospedeiros, no caso, o homem e animais silvestres ou domésticos, o protozoário se desenvolve no Sistema Retículo Endotelial de mamíferos, causando a doença, podendo manifestar-se na forma tegumentar ou visceral.

O gênero *Leishmania* Ross 1903, compreende espécies de protozoários unicelulares, com ciclo de vida digenético (heteroxênico), vivendo alternadamente em hospedeiros vertebrados e insetos vetores (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae), sendo esses responsáveis pela transmissão de parasitas de um mamífero a outro

acometendo o homem, animais silvestres e domésticos que atuam como reservatórios (ASHFORD, 2000).

As leishmanioses encontram-se amplamente distribuídas pelo mundo afetando principalmente regiões tropicais e subtropicais. Estima-se em 12 milhões o número de casos humanos existente no mundo, com acréscimo de 2 milhões de novos casos ao ano. Avalia-se que 350 milhões de pessoas vivam sob o risco de contrair a infecção nas regiões endêmicas. No mundo, está entre as seis doenças infecto-parasitárias de maior importância. Entre as doenças causadas por protozoários, ocuparia o segundo lugar em gravidade superada apenas pela malária (WHO, 1982).

Mais de 90% dos casos de leishmaniose cutânea ocorrem no Irã, Afeganistão, Síria, Arábia Saudita, Brasil e Peru e da leishmaniose visceral, em Bangladesh, Brasil, Índia e Sudão. A forma de leishmaniose visceral é bastante grave e pode se tornar fatal, na ausência de tratamento (WHO, 1990).

Em várias áreas do mundo, inclusive no Brasil, tem ocorrido um aumento no número de casos de leishmaniose tegumentar (LT). Em 1998, eram 21.800 casos, em 1999, 30.550 casos e no ano 2000, este número atingiu a proporção de 35.000 casos. No Afeganistão, em 1994, foram registrados 14.200, contra 200.000 casos em 1999 (WHO, 2004).

A leishmaniose tegumentar recebe esse nome porque afeta principalmente a estrutura da pele e das mucosas. A Organização Mundial de Saúde (WHO, 2004) considera o grupo das leishmanioses tegumentares como a segunda doença dermatológica de interesse em saúde pública, devido a sua incidência e capacidade destrutivas das lesões, podendo ocasionar mutilações graves ou permanentes.

A forma tegumentar abrange desde formas inaparentes, lesões discretas de pele que podem evoluir espontaneamente para cura, ulcerações múltiplas, lesões de mucosas até formas com tendência às metástases e recidivas, de curso lento e tratamento difícil, podem ocorrer infecções secundárias, sobretudo quando ocorre a destruição ou mutilação de mucosas ou lesões cutâneas deformantes, gerando fenômenos psicossociais e estigmatizantes aos pacientes (COUTINHO, et al. 1981; COSTA et al., 1987; BARRAL et al., 1991).

Normalmente não leva à morte, mas pode diminuir a capacidade de trabalho e integração social do indivíduo (SAVANI, 1998). A consequência da leishmaniose tegumentar, em termos de sofrimento humano, chega a ser incalculável (WALTON, 1987).

Casos humanos têm sido registrados em todos os continentes, exceto na Oceania. É uma doença considerada endêmica em 88 países distribuídos por quatro continentes (WHO, 2004).

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença que acompanha o homem desde a Antigüidade, existindo relatos e descrições encontrados na literatura desde o Séc. I d.C.. Foram encontradas cerâmicas pré-colombianas, datadas de 400 a 900 anos d.C., fabricadas pelos índios do Peru, que apresentam mutilações de lábios e narizes, hoje conhecidas como leishmaniose mucocutânea (BASANO, 2004).

Provavelmente, a primeira descrição da doença nas Américas foi feita por Dr. L.Villar, no Peru, que a considerou semelhante ao botão de Aleppo e também a primeira suspeita da implicação de flebotomíneos na transmissão da doença por Cosme Bueno, em 1764, nos Andes peruanos (LAINSON e SHAW, 2005).

Nas Américas, a LTA distribui-se em todo continente americano, desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina. Com exceção do Chile e Uruguai, atinge 21 países, com expansão geográfica e numérica que podem ser consideradas preocupantes.

1.3. ASPECTOS AMBIENTAIS LIGADOS À TRANSMISSÃO DA LTA

A expansão dos casos de LTA, tem ocorrido devido à extensa modificação de ambientes florestais primários, intervenções massivas do homem, que concorrem para a antropização progressiva dos ciclos evolutivos da leishmânia, como desmatamento, abertura de estradas e urbanização de áreas primitivas. Movimentos esses, que acabam favorecendo a transmissão peridomiciliar da doença (DEDET, 1993).

Em ambientes florestais primitivos a LTA tem sido descrita como uma zoonose, onde o ciclo do parasita se processa sem a participação humana,

caracterizando o foco silvestre, onde a manifestação da doença existe concomitantemente com a atividade humana. Vem ocorrendo de forma endêmico-epidêmica apresentando diferentes padrões de transmissão, relacionados não somente à penetração do homem em focos silvestres, freqüentemente em áreas de expansão de fronteiras agrícolas (GOMES, 1992). Neste aspecto, pode ser considerada uma doença ocupacional, tal como descrito por PESSÔA et al. (1941). Tem-se evidenciado a ocorrência da doença em áreas de colonização antiga e também em novas áreas, onde existem matas residuais ou de segunda formação (GOMES, 1992).

Esta doença apresenta surtos associados à derrubada das matas para construção de estradas, instalação de povoados, extração de madeira, agricultura e pecuária. Estes mesmos surtos acontecem também através de processos migratórios, ocupação de encostas, aglomerados na periferia de centros urbanos, com a falta de saneamento básico, situação econômica precária, convívio com animais silvestres considerados reservatórios da doença. Portanto três padrões de transmissão podem ser observados: o silvestre, no qual a transmissão ocorre em focos naturais em ecossistemas florestais; o identificado em áreas desmatadas e agrícolas próximas à mata e ainda, o padrão de transmissão, cuja ocorrência tem sido observada nas periferias de áreas urbanas (BARRETTO et al., 1984).

Além do desmatamento provocado pelas ações antrópicas, ligadas às atividades agropecuárias, na região Norte do Paraná, existe um outro fator de influência representado pela construção de complexos hidrelétricos na bacia do rio Paranapanema.

A construção de hidrelétricas causa grande impacto nas localidades onde são implantadas, promovendo alterações ambientais nos habitats da fauna, e geralmente envolvem extensas áreas de desmatamento, afeta a biocenose entre as populações existentes, promovendo também mudanças de ordem física, social e econômica para as comunidades que vivem nas áreas alagadas para compor a represa que irá movimentar as turbinas (OLIVEIRA, 2006; PINHEIRO, 2007).

Afetam a saúde e a qualidade de vida destas comunidades. Verificam-se após a inundação e mobilização da população humana, a ocorrência de doenças infecciosas e epidêmicas, principalmente, as ligadas à transmissão por vetores e por veiculação hídrica (WALSH et al., 1993; WHO 2000; TETTEH et al., 2004).

A modificação da dinâmica do ecossistema também é influenciada pelo acúmulo de sedimentos e diminuição do fluxo da corrente da água, ou mesmo sua quase paralisação. A construção de represas pode facilitar o desenvolvimento e a disseminação de doenças até o momento não endêmicas, devido a mudanças bruscas no ecossistema (TUBAKI et al., 2004).

Em relação ao aspecto social, grandes hidrelétricas podem acarretar significantes efeitos adversos na saúde de populações locais, além da desagregação das comunidades locais. De acordo com as organizações de saúde, é imprescindível o acesso à água potável, acesso aos serviços de saúde e necessidade de estruturação de um novo ambiente social e físico são importantes para a manutenção das condições de saúde (World Commission on Dams, 2000).

Durante a construção da usina hidrelétrica Tucuruí, houve um aumento acentuado e progressivo da incidência da leishmaniose tegumentar nos nove municípios da área de influência, e o número de casos continuou subindo, mesmo muitos anos após a conclusão das obras: de apenas 18 casos em 1983 para quase mil em 1995, dez anos após a conclusão da represa. Esse aumento foi atribuído ao processo de migração, aos desmatamentos para ocupação de novas áreas e à implantação de projetos de assentamento (MOURA, 1998).

As doenças mais comumente alteradas em decorrência de projetos hidrelétricos são aquelas transmitidas por vetores que proliferam na água, as de veiculação hídrica e as predispostas pela migração. As principais doenças de veiculação hídrica são as decorrentes de saneamento básico deficiente, como as doenças diarréicas agudas causadas por infecções bacterianas, virais e parasitas intestinais, além das hepatites A e E, febre tifóide e outras salmoneloses, leptospirose e cólera. Dentre as doenças predispostas pela migração, assumem importância as leishmanioses tegumentar e visceral, as doenças sexualmente transmissíveis (DST), inclusive o HIV/Aids, e as hepatites pelos vírus B e D, além de estresse, violência, acidentes, abuso de álcool e drogas ilegais (MOURA, 2001).

O principal efeito sobre a saúde são as modificações ambientais, causando impactos sobre os ciclos de transmissão de doenças, modificando os habitats, e deslocando as doenças para as proximidades dos peridomicílios do entorno da área impactada (OLIVEIRA, 2006).

LEMOS et al. (2004) encontraram em área de implantação de uma hidrelétrica, no município de Uberlândia, MG, *Ny. intermedia s.lat* (Lutz & Neiva, 1912) e *Lu. longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) espécies vetoras respectivamente das leishmanioses tegumentar e visceral

1.4. ASPECTOS DA LTA NO BRASIL

Segundo BASANO (2004), os primeiros casos da doença no Brasil foram identificados na Bahia, em 1885, por Alexandre Cerqueira, caracterizando-a como botão de Biskra, e também suspeitou do papel dos flebotomíneos como vetores. Foi somente em 1909 que Lindenberg e também Carini & Paranhos, independentemente, identificaram o parasita em lesões de pele de pacientes do Estado de São Paulo; Gaspar Vianna, em 1911, propôs a denominação *Leishmania brasilienses* ao parasita, cuja grafia foi posteriormente corrigida por Matta (1916) para *Leishmania braziliensis*, citado por LAINSON e SHAW (2005). ARAGÃO, no Brasil, demonstrou pela primeira vez, no ano de 1922, o papel do flebotomíneo na transmissão da LTA.

No Brasil, em meados de 1939 a 1941, PESSÔA et al. (1941) descreveram a LTA como doença profissional da margem de mata. Mais recentemente, observa-se uma expansão geográfica crescente nas Regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste. Do ano de 1994 para 1998, houve um aumento de 1861 para 2.055 municípios com casos registrados da doença.

Analisando-se a expansão da LTA, no início da década de 80, foram notificados casos em 19 estados, a partir de 2003 todos os estados registraram autoctonia. Notificou-se na década de 90, uma média de 32 mil novos casos a cada ano (BRASIL, 2006).

No ano de 2003, na Região Norte ocorreram 45% dos casos, com destaque para os estados do Pará, Amazonas e Rondônia; na Região Nordeste foram notificados 26% dos casos, principalmente no Maranhão, Bahia e Ceará, no Centro-Oeste ocorreram 15% dos casos, com predomínio no Estado de Mato Grosso, no Sudeste 11% dos casos, com maior frequência em Minas Gerais, e na Região Sul ocorreram 3% dos casos, com destaque para o Estado do Paraná (BRASIL, 2006).

Foram notificados no Brasil, no período de 1980 a 2001, 490.606 casos de leishmaniose tegumentar, sendo 10.384 (2,1%) na Região Sul, destes, 10.345 casos foram notificados no Estado do Paraná (MASSAFERA et al., 2005).

O Paraná vem apresentando aumento gradativo no número de municípios com casos de LTA, e é responsável por 98% dos casos da Região Sul. Deve-se considerar que houve uma melhoria no coeficiente de detecção da doença e da notificação nos estados (FUNASA, 2000).

No Estado do Paraná de uma forma geral, a LTA, tem se demonstrado endêmica, ocorre em 276 do total de 399 municípios (TEODORO et al., 2006). No norte do Estado, onde o número de casos tem sido elevado, atingiu proporções epidêmicas nos últimos anos em algumas localidades, caracterizando-se como problema de saúde pública (TEODORO et al., 1991; SILVEIRA et al., 1996).

Nos municípios compreendidos pela 18ª Regional de saúde, o número de casos tem se apresentado de forma crescente nos últimos cinco anos (Quadro 1).

Quadro 1: Número de casos de LTA, e Coeficiente de Incidência (CI) por 100.000/hab., segundo a população, da 18ª Regional de Saúde de Cornélio Procópio, e Município de Itambaracá, segundo o ano de ocorrência, de 1992 a 2006.

ANO	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
LTA/ 18RS	3	4	2	3	1	9	42	68	35	37	38	42	38
CI	6,1	8,6	4,3	6,5	2,2	19,5	16,74	27,2	14,06	14,92	15,2	16,8	15,5
LTA/ Itamba racá	2	1	1	1	-	-	5	1	1	-	1	2	3
CI	19,5	14,3	15,0	15,8	-	-	73,9	15,3	16,5	-	14,2	28,6	42,8

Fonte: 18ª Regional de Saúde – Cornélio Procópio- Pr.

Esta ocorrência está relacionada ao desenvolvimento econômico, ao desmatamento de florestas primárias, às mudanças e desequilíbrios ambientais, urbanização não planejada, construção de represas e hidrelétricas, expondo mais o homem à ação dos vetores, inclusive flebotomíneos, aumentando a ocorrência da

doença, um fator a ser considerado é a adaptação dos vetores aos entorno das áreas domiciliares. (WHO, 2004).

1.5. AGENTES

Os agentes causais são protozoários do gênero *Leishmania* transmitidos aos seres humanos e animais por flebotomíneos. Aproximadamente 20 espécies e/ou subespécies infectam humanos. Atuam, na América, como agentes etiológicos da forma visceral (LV) a *Leishmania (Leishmania) chagasi* Cunha & Chagas, 1937 e nas formas dermatotrópicas humanas da LTA, pelo menos, 10 espécies.

Nas Américas, as formas cutâneas com infecção humana conhecida, podem ser causadas por 13 espécies de leishmânias: *Leishmania (Leishmania) amazonensis* Lainson & Shaw, 1972, *L. (L.) garnhami* Scorza, Valera, Scorza, Carnevali, Moreno & Lugo-Hernandez, 1979, *L. (L.) mexicana* (Biagi, 1953), *L. (L.) pifanoi* (Medina & Romero, 1959), *L. (L.) venezuelensis* Bonfante-Garrido, 1980, *L. (V.) braziliensis* Vianna, 1911, *L. (V.) guyanensis* Floch, 1954, *L. (V.) lainsoni* Silveira, Shaw, Braga & Ishikawa, 1987, *L.(V.) lindenbergi* Silveira, Ishikawa, Souza & Lainson, 2002, *L. (V.) naiffi* Lainson & Shaw, 1989, *L. (V.) panamensis* Lainson & Shaw, 1972, *L.(V.) peruviana* Vélez, 1913 e *L. (V.) shawi* Lainson, Braga, Souza, Pova & Ishikawa, 1989.

No Brasil, estas compreendem sete: *L. (L.) amazonensis*, de ocorrência nas Regiões Norte, Nordeste, Sudeste, Centro-Oeste. Sul; *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) shawi* e *L. (V.) lindenbergi*, estas cinco, encontradas na região amazônica e *Leishmania (V.) braziliensis*, com a mais ampla distribuição no Brasil (DEDET, 1993; SILVEIRA et al., 2002; LAINSON e SHAW, 2005).

No Estado do Paraná duas espécies de *Leishmania* foram identificadas, *L. (V.) braziliensis* e *L. (L.) amazonensis* (SILVEIRA et al., 1990 b; LUZ et al., 2000).

1.6. VETORES

Todas as formas de leishmanioses são transmitidas por flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) (ASHFORD, 2000).

A transmissão ocorre através das picadas de fêmeas que se infectam ao se alimentarem de sangue em reservatórios infectados ou no próprio homem. (ASHFORD, 2000). Vivem e se reproduzem em áreas de florestas, cavernas ou tocas de roedores e de outros animais e algumas espécies inclusive em áreas antrópicas, inclusive em ambiente urbano (GALATI et al., 2003).

Os flebotomíneos formam um grupo de insetos de origem antiga, com registros fósseis de cerca de 120 milhões de anos. Apresenta ampla distribuição mundial, concentrada principalmente nas zonas tropicais e subtropicais do globo. Na atualidade são conhecidas no mundo aproximadamente 900 espécies ou subespécies, cerca de 490 delas nas Américas (informação pessoal de Galati EAB). No Velho Mundo, apenas espécies que pertencem ao gênero *Phlebotomus* atuam como vetoras de *Leishmania* e na América, de acordo com Galati (2003), dos 22 gêneros existentes, sete pertencentes a duas subtribos se destacam: Lutzomyiina - gêneros *Lutzomyia*, *Migonemyia* e *Pintomyia* e Psychodopygina - gêneros *Bichromomyia*, *Nyssomyia*, *Psychodopygus* e *Trichophoromyia* (RANGEL e LAINSON 2003).

A reprodução e o desenvolvimento das formas imaturas de flebotomíneos ocorrem em solo úmido com presença de matéria orgânica, protegido da luz direta, entre raízes, embaixo de árvores, onde existam folhas caídas, em fendas de rochas, tocas de animais e ambientes próximos a domicílios, como chiqueiros, galinheiros ou outros locais, em que existam condições adequadas para sua reprodução (FORATTINI, 1973).

As fases larvais são bastante sensíveis, abrigam-se em locais onde possam proteger-se das mudanças bruscas que ocorrem no meio ambiente (AGUIAR e MEDEIROS, 2003).

As fêmeas dos flebotomíneos necessitam de sangue de vertebrados para a maturação de seus ovos, daí a importância destas para a transmissão de agentes patógenos. Algumas espécies alimentam-se apenas uma vez entre as posturas, enquanto outras fazem múltiplos repastos durante um único ciclo de oviposição, o que pode torná-las importantes vetoras (SHERLOCK, 2003).

Embora tenham sido encontrados machos com sangue em seu tubo digestivo (GONTIJO et al., 1987), somente as fêmeas são consideradas hematófagas realizando repasto sanguíneo em vários tipos de animais, como mamíferos, aves e

animais de sangue frio. O macho e a fêmea precisam de açúcares em sua alimentação. Os machos geralmente se alimentam de néctares vegetais, o que a fêmea também costuma fazer, antes ou após a alimentação sangüínea (SHERLOCK, 2003).

Algumas espécies de flebotomíneos se alimentam somente em determinadas espécies de vertebrados, porém, outras, podem se alimentar em várias espécies de mamíferos (SHERLOCK, 2003). As fêmeas, geralmente realizam seu repasto sangüíneo, à noite, mas também podem picar durante o dia (GOMES et al., 1989; GALATI et al., 1999).

As formas adultas em geral buscam abrigo próximo aos locais de criadouros ou árvores e arbustos ou abrigos próximos ao chão. Ambos os sexos tendem a não se afastarem muito dos seus criadouros ou locais de abrigos, em torno de 300m (MORRISON et al., 1993).

Os flebotomíneos além de atuarem como vetores das leishmanioses, são também considerados insetos importunos, devido à sua picada dolorida, com freqüentes reações alérgicas (SHERLOCK, 2003).

Para que uma espécie possa ser considerada vetora da leishmaniose, a sua distribuição geográfica deve coincidir com a de ocorrência da doença, e apresentar competência vetorial, além de alta densidade e detecção de sua infecção natural pelo parasito. Em relação a esta, entre os flebotomíneos, a infecção por flagelados, em áreas endêmicas de LTA, está em torno de 0,2% (BARRETTO, 1943; FORATTINI, 1954, CASANOVA et al., 1995; GALATI et al., 1996).

Até a década de 50, destacavam-se como espécies de flebotomíneos predominantes e antropofílicas nas áreas de ocorrência da doença no Estado de São Paulo a *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939), *Pintomyia pessoai* (Coutinho & Barretto, 1940) e *Pintomyia fischeri* (Pinto, 1926) e, embora, a *Nyssomyia intermedia s. lat* (Lutz & Neiva, 1912) não se apresentasse em abundância, BARRETTO (1943) chamava a atenção para a sua grande dispersão. Com o progressivo desmatamento, este táxon assumiu dominância entre os flebotomíneos em praticamente todas as áreas de transmissão (CASANOVA et al., 1995; GALATI 1995; GALATI, 2000).

Recentemente, se identificou que o táxon *Ny. intermedia s. lat.*, na realidade, compreende duas espécies críticas: a *Ny. intermedia s. str.* distribuída em áreas litorâneas atlânticas e a *Ny. neivai* (Pinto, 1926), até então considerada na sinonímia da primeira, em área do Planalto Paulista e do Paraná (MARCONDES, 1996), com ocorrência em municípios não litorâneos do Vale do Ribeira (MARCONDES, 1998). Embora em níveis inferiores ao de *Ny. intermedia s. lat.*, a espécie, *Migonemyia migonei* (França, 1920) vem assumindo importância na transmissão da LTA por todo o Estado de São Paulo (NEVES, 1999).

No Estado do Paraná, a presença de *Ny. intermedia s. lat.*, foi detectada em áreas de araucárias e também de mata atlântica (AGUIAR et al., 1989). Em áreas de transmissão de leishmaniose cutânea têm sido encontradas as espécies *Ny. whitmani*, *Ny. intermedia s. lat.*, *Mg. migonei*, *Pi. fischeri*, e *Pi. pessoai*, que são potencialmente vetoras de LTA (CASTRO, 2001; LUZ et al., 2000).

No município de Terra Boa, fazenda Palmital (noroeste do Paraná), TEODORO et al (1993) capturaram 15 espécies, num total de 75.637 flebotomíneos, com armadilhas tipo Falcão, sendo 95,8% no ambiente peridomiciliar e os 4,2% restantes no ambiente florestal. Das espécies encontradas, 93,8% pertenciam às espécies, *Ny. whitmani*, *Pi. pessoai*, *Pi. fischeri* e *Ny. intermedia s. lat.*, *Mg. migonei* que prevaleceu em uma das armadilhas, e nas demais prevaleceu *Ny. whitmani*. As maiores densidades ocorreram nos meses quentes e úmidos. No ambiente florestal predominou a acrodendrofilia, as armadilhas foram instaladas a 10m do solo e as espécies capturadas foram *Ny. whitmani*, *Mg. migonei*, *Ny. intermedia*, *Brumptomyia brumpti*, *Pintomyia monticola* (Costa Lima, 1932) e *Pi. pessoai*.

LUZ et al. (2000) encontraram em algumas cidades do Noroeste do Estado do Paraná: Arapongas, Apucarana, Cambira, Marumbi, Faxinal, Florestópolis e Sabáudia as seguintes espécies em ordem decrescente de frequências: *Ny. whitmani* (62%), *Pi. fischeri* (13.3%), *Pi. pessoai* (10.8%), *Mg. migonei* (8.2%) e *Ny. intermedia, s.lat.* (2.8%). *Pi. monticola*, *Psathyromyia shannoni* (Dyar, 1929), *Expapillata firmatoi* (Barretto, Martins & Pellegrino, 1956), *Psathyromyia lanei* (Barretto & Coutinho, 1941), *Martinsmyia alphabetica* (Fonseca, 1936), *Pintomyia misionensis* (Castro, 1959), *Evandromyia correalimai* (Martins, Coutinho & Luz, 1970), *Evandromyia cortellezzii* (Brèthes, 1923), *Micropygomyia longipennis*

(Barretto, 1946), *Brumptomyia brumpti* (Larrousse, 1920) e *Br. nitzulescui* (Costa Lima, 1932) (3.0%).

Em 3 das 1961 fêmeas de *Ny. whitmani* coletadas e dissecadas, no município de Cambira, onde havia sido registrado um caso recente de LTA, foram encontrados flagelados, e foram isolados em NNN, e inoculados em hamster. O resultado da eletroforese isoenzimática indicou que o agente presente nos três isolados era *L. (Viannia) braziliensis*.

Observou-se no norte do Paraná, prevalência de *Ny. whitmani*, com 11.188 (67,82%) exemplares, seguido por *Ny. intermedia*, s.lat. com 2.900 (17,58%) e *Mg. migonei* com 1.491 (9,03%). *Ny. whitmani* e *Ny. intermedia* s. lat. vêm mostrando grande capacidade de adaptação nos ambientes antrópicos, onde têm destacado papel na transmissão da leishmaniose tegumentar (TEODORO et al., 1999).

Foi também observado o predomínio de *Ny. whitmani* no Parque do Ingá; Maringá; o pico maior de frequência de *Ny. whitmani* em armadilha de Shannon é no mês de agosto e nas Armadilhas tipo Falcão, em março e novembro; o pico de atividade de *Ny. whitmani* ocorre entre 0h e 2h. (TEODORO et al., 2003)

1.7. RESERVATÓRIOS

Entre as espécies de leishmânias americanas que já foram assinaladas no homem tem seus reservatórios e/ou hospedeiros ocasionais em algumas espécies animais que pertencem a várias ordens de mamíferos.

Algumas espécies da ordem Marsupialia, que compreende várias espécies de gambás, são reservatórios habituais de *L.(V.) guyanensis* e hospedeiros ocasionais de *L.(L.) amazonensis* e *L.(V.) panamensis*. A ordem Xenarthra, que inclui tamanduás e preguiças, são reservatórios de *L. (V.) guyanensis* e *L.(V.) panamensis* e ocasionais de *L.(L.) amazonensis*, *L.(V.) panamensis*, e *L.(V.) shawi*. Os Primatas, que compreendem macacos-pregos, entre outros, são hospedeiros ocasionais de *L. (V.) shawi*. Carnívora, ordem que inclui caninos e felinos silvestres e domésticos, é reservatório de *L.(L.) chagasi* e *L (V.) peruviana*, e hospedeira ocasional de *L. (V.) amazonensis*, *L. (V.) braziliensis* e *L.(V.) panamensis* A ordem Perissodactyla, à qual pertencem os equídeos, é hospedeira ocasional de *L.(V.) braziliensis*. Rodentia inclui várias espécies de roedores silvestres, que são reservatórios de *L.(L.) mexicana* e *L.*

(*L.*) *amazonensis* *L.*(*V.*) *lainsoni*, e hospedeiros ocasionais de *L.*(*V.*) *braziliensis*, *L.*(*V.*) *panamensis*, *L.* (*V.*) *guyanensis* (DEDET, 1993).

A participação do cão doméstico na transmissão das leishmanioses pode ser um fator de importância, podendo inclusive atuar como reservatório principalmente nas áreas de transmissão de leishmaniose visceral. Para leishmaniose tegumentar, alguns autores consideram o cão como fator de risco (FALQUETO et al., 1986) e para outros, o cão não apresenta importância epidemiológica, como reservatório (SAVANI, 1998).

1.8. SINTOMAS

A manifestação cutâneo-mucosa (LCM) que além de úlceras na pele, pode afetar mucosas como as de nariz e boca, provocando sua destruição, tem sido principalmente atribuída a *L.*(*V.*) *braziliensis*, que ocorre em ampla área da América do Sul. A forma cutâneo-difusa (LCD) que produz lesões crônicas e disseminadas é causada por *L.*(*L.*) *amazonensis*.

1.9. DIAGNÓSTICO

Para a pesquisa direta podem ser utilizados os seguintes procedimentos: escarificação, punção aspirativa e biópsia com impressão por aposição. O diagnóstico parasitológico baseia-se no achado do parasita. O material para os diversos exames, pode ser a pele, mucosa ou gânglios acometidos (FUNASA, 2000)

O diagnóstico laboratorial parasitológico de LTA pode ser feito através da pesquisa direta em lâmina com esfregaço de material colhido de ulcerações, ou “imprint” da lesão em lâmina de vidro, fixado em metanol, e corado pela coloração de Giemsa (BRASIL, 2006).

O diagnóstico de certeza pela histopatologia somente ocorre quando se identifica o agente nos tecidos o parasita. A experiência brasileira, em termos globais, revelou não ser alta a sensibilidade deste método. Indiscutivelmente a sensibilidade aumenta quanto mais recente for o caso (FUNASA, 2000).

Para o diagnóstico da LTA também são usadas técnicas indiretas para imuno diagnóstico, como IRM (Intradermo Reação de Montenegro), Reação de

Imunofluorescência Indireta (RIFI), e Ensaio Imunoenzimático/ Enzyme Linked Immunosorbent Assay (EIE/ELISA) (WHO, 2004).

A IRM é utilizada como uma rotina diagnóstica em unidades básicas de saúde e testes imuno-sorológicos (RIFI- EIE/ELISA), que expressam os níveis de anticorpos circulantes, são realizados em centros de referência. A positividade destes exames está associada ao tempo de evolução da doença sendo mais freqüente em presença de lesões ou comprometimento de mucosas (FUNASA, 2000).

O diagnóstico da LTA pode ser feito também por meio de técnicas moleculares como a PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), que implica na utilização de materiais biológicos, como sangue, líquido, aspirado de medula óssea (principalmente, para a forma visceral), ou fragmentos de tecido das lesões cutâneo-mucosas (para a forma cutânea) (FUNASA, 2000).

1.10. PREVENÇÃO

A infecção pode ser prevenida com o uso de telas nas casas, em áreas de ocorrência dos vetores. Controle dos reservatórios e vetores é geralmente de alto custo e difícil de ser realizado. O controle de vetores com inseticidas, deve ser feito quando ocorram focos de transmissão ativa nos domicílios e peridomicílios. Quando a transmissão é silvestre, ou em áreas de matas, podem ser usadas proteções individuais, como roupas teladas, com mangas e repelentes de insetos (FUNASA, 2000).

As diferentes situações epidemiológicas do Brasil requerem distintas estratégias para o controle desta endemia, as quais demandam estudos epidemiológicos, de distribuição geográfica, ecológicos e também integração dos serviços de saúde e tecnologias apropriadas de diagnóstico, tratamento e prevenção. Para o sucesso do controle são requeridos grandes esforços junto às comunidades, para planejamento e manutenção dos programas adotados (MARZOCHI et al., 1994).

1.11. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

Tendo-se presente os aspectos mencionados sobre a epidemiologia da LTA no Paraná, e o caráter endêmico no norte deste Estado, onde as áreas de influência

dessas hidrelétricas estão situadas, pretendeu-se com este estudo ampliar os conhecimentos sobre a ocorrência e possível adaptação dos flebotomíneos em ambientes peridomiciliares em núcleos populacionais situados nas áreas de influência do complexo Canoas I e II de modo a identificar as inter-relações entre o ambiente, agente(s) vetor(es), reservatório(s) e o homem para identificar aspectos da transmissão da LTA na área em questão, levando-se em conta os seguintes aspectos:

- Ausência de informações sobre flebotomíneos, e sobre possível expansão da transmissão da doença para os peridomicílios próximos à área sobre influência das hidrelétricas, e impactadas por outras ações antrópicas ligadas à agropecuária;

- Presença de casos humanos de LTA; a existência de cães, eqüídeos e outros animais silvestres, possíveis hospedeiros e/ou reservatórios da LTA, em todas as localidades;

- Ocorrência de uma alta taxa de migração entre as áreas impactadas e esses movimentos pode influenciar na transmissão da doença;

- Implementação do turismo e de atividades de pesca esportiva, com implantação de balneários e condomínios nas regiões ribeirinhas, o que levou a um aumento do número de visitantes na região; e

- Os reflorestamentos dos novos condomínios e residências na área em questão, aumentaram o sombreamento do solo, gerando condições para abrigos e criadouros de flebotomíneos.

De posse das informações levantadas, pretende-se fornecer subsídios aos serviços de saúde pública local, para promover a prevenção da transmissão da doença nas localidades.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Realizar um estudo epidemiológico e de fatores determinantes para a transmissão da LTA, no município de Itambaracá, Estado do Paraná, em áreas de influência do complexo Hidrelétrico Canoas I e Canoas II; divisa entre os Estados de Paraná e S. Paulo, no período de 2004 a 2006.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.2.1. Identificar a fauna flebotomínea nas proximidades da região impactada e áreas que incluem ambientes urbanos, rurais, e matas;
- 2.2.2. Avaliar as variáveis climáticas e possíveis influências sobre os vetores;
- 2.2.3. Avaliar a frequência geral, predominância de macho/fêmea; abundância, diversidade, equitabilidade, atividade mensal e ritmo horário das populações de flebotomíneos nas áreas estudadas;
- 2.2.4. Identificar a(s) possíveis espécie(s) vetora(s);
- 2.2.5. Determinar a soro-prevalência da leishmaniose em humanos, cães e eqüídeos;
- 2.2.6. Identificar a(s) leishmânia(s) circulante(s) na área, por meio de técnica molecular;
- 2.2.7. Descrever as características ambientais, sócio-econômicas, culturais, higiênico-sanitárias, atividades de trabalho e de lazer da população humana dessas localidades;
- 2.2.8. Identificar fatores de risco envolvidos na transmissão da LTA; e a percepção da população sobre os fatores que levam à sua transmissão; e
- 2.2.9. Recomendar ações de Educação em Saúde, voltadas à prevenção da doença a órgãos ligados à saúde pública na área de estudo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi desenvolvido no município de Itambaracá- Estado do Paraná, (Fig.1 a 4), em áreas periféricas e localidades de Vila Rural, São Joaquim do Pontal e Porto Almeida (Fig.8), as duas últimas próximas ao Rio Paranapanema (Fig. 7), onde foi construído o complexo Hidrelétrico Canoas I e II (Fig. 5 e 6) , atualmente sob administração da concessionária DUKE ENERGY .

O município apresenta área de 197,301 km², altitude de 402 m e situa-se a 23°02'00'' de Latitude Sul e 50° 22'00'' Longitude Oeste. Sua população é composta de 7.089 habitantes, sendo 5.302, na área urbana e 1787, na área rural.

O clima é subtropical úmido mesotérmico, apresentando verões quentes com tendência de concentração das chuvas (temperatura média superior a 22°C), invernos com geadas pouco freqüentes (temperatura média inferior a 18°C), sem estação seca definida.

Prevalece na região geologicamente, o latossolo roxo eutrófico. As áreas de florestas são remanescentes de matas semi-estacionais decíduais (mata Atlântica) (PARANÁ CIDADES, 2006).

3.2. INQUÉRITO DOS FLEBOTOMÍNEOS

Para a captura dos flebotomíneos na área de influência do complexo hidrelétrico formado por Canoas I e II, em Itambaracá foram escolhidas duas localidades rurais próximas a Canoas I: São Joaquim do Pontal (1) e Porto Almeida (2), ambas localizadas nas proximidades de áreas impactadas com construção da represa.

Também foram realizadas capturas na cidade de Itambaracá (3), em duas áreas periféricas e nas áreas periurbanas: Vila Rural e Pesque-Pague da Mata, que distam aproximadamente 10 km da área impactada pela hidrelétrica.

Em todas as áreas pesquisadas houve a ocorrência de pelo menos um caso de LTA, segundo informação do Serviço Municipal de Saúde.

A captura foi realizada nestas localidades, pois existiam casos humanos notificados de LTA, em pessoas que não se deslocaram, alguns possuíam lesões cicatrizadas (23 e 24), e outras lesões ativas (Fig.21 e 22), e seus cinco casos registrados nos últimos dois anos (2006 e 2007), podem ser considerados autóctones nas áreas: urbana, periurbana e rural.

Em cada uma das localidades foram escolhidos os seguintes pontos:

Localidade 1: São Joaquim do Pontal (SJP): (anexo 10)

Patrimônio de São Joaquim do Pontal (área urbana)

- Ponto 1 Casa 1 (SJP-C1)- peridomicílio - entrada do bairro à direita;
- Ponto 2 Casa 2 (SJP-C2) – peridomicílio - entrada do bairro à esquerda;
- Ponto 3 Casa 3 (SJP-C3) – peridomicílio - área periférica, saída para a barragem;
- Ponto 4 Casa 4 (SJP-C4)- peridomicílio - área periférica, saída /áreas de plantio.

Fazenda Monte Alto –FMA (área rural)

- Ponto 5-SJP-FMA-Casa1-C1-Colônia 1, peridomicílio;
- Ponto 6-SJP-FMA-Casa 2-Colônia 2, peridomicílio;
- Ponto 7- SJP-FMA-Casa 3- CX FORÇA, margem da mata;
- Ponto 8- SJP-FMA-Barracão, borda mata.

Localidade 2: Porto Almeida (PA) (área rural) (anexo 11)

Próximo á travessia da balsa para Cândido Mota - SP

- Ponto 1-PA-Balsa-Casa dos Balseiros, peridomicílio;
- Ponto 2-PA-Favoni-Sítio Favoni, peridomicílio;
- Ponto 3-PA-FPA-Fazenda Porto Almeida, mata ciliar;
- Ponto 4-PA-Strambecchi- Sítio Strambecchi, pomar.

Fazenda São José (área rural)

- Ponto 5 -FSJ - Mata do rio (próxima ao rio Paranapanema);
- Ponto 6-FSJ – Porteira, borda da mata (fundos da fazenda);
- Ponto 7-FSJ-Colônia, peridomicílio;
- Ponto 8-FSJ-Capela, borda da mata (entrada da fazenda);
- Ponto 9- FSJ-Estrada, borda da mata (atravessa a fazenda).

**Localidade 3: Cidade de Itambaracá, Vila Rural e Pesque-Pague da Mata:
(anexo 13)**

- Ponto 1-Vila Rural: VR-C1, peridomicílio, próximo a chiqueiro;
- Ponto 2- Vila Rural: VR-mata , borda de mata degradada;
- Ponto 3- Vila Rural: VR-C2-Peridomicílio, pomar;
- Ponto 4- Vila Rural: VR-C3-Peridomicílio, chiqueiro;
- Ponto 5 - Pesque – Pague - Borda de mata degradada.
- Ponto 6 - Matadouro Municipal, peridomicílio;
- Ponto 7 -Abastecedouro Municipal; peridomicílio;
- Ponto 8 - Chácara Joel, peridomicílio, com animais domésticos.

3.2.1. Capturas de formas aladas

Armadilhas automáticas luminosas tipo CDC (MAROLI et al., 1997) (figs.9 e 10), foram instaladas bimensalmente das 18:00 às 7:00 horas, nas três localidades, nos pontos assinalados acima, no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.

Capturas com armadilha de Shannon modificadas durante 24 horas (figs. 11 e 12), nas cores branca e preta foram realizadas a cada 6 meses, das 18:00-17:00 horas, na Fazenda São José, na mata próxima ao rio. Em cada armadilha, um indivíduo fazia a captura. Foram utilizados lampiões à gás, com luminosidade de 100 W. Os insetos foram capturados com aspirador elétrico, e sacrificados com clorofórmio a cada hora, e acondicionados em caixas entomológicas, e mantido nestas até a identificação.

No laboratório de Entomologia em Saúde Pública/Phlebotominae do Departamento de Epidemiologia, da FSP/USP, foram separados os flebotomíneos dos outros insetos. Os machos e fêmeas foram submetidos ao processo de clarificação, segundo técnica de FORATTINI (1973) para identificação, segundo chave de identificação de GALATI (2003).

3.3. INQUÉRITO DOS ANIMAIS DOMÉSTICOS

Para o inquérito soro-epidemiológico, foi feito um cadastramento dos animais (canídeos e eqüídeos) nas áreas em estudo, onde ocorreram casos humanos de LT durante os anos de 2005 e 2006.

Foram investigados 280 cães a partir de 4 meses de idade e 50 eqüídeos, com idades variadas, que representou o universo desses animais de cada uma das localidades. O número de cães coletados em SJP foi de 123/285, em PA 104/285, e em ITC 58/285, nos eqüinos a quantidade de coletados em SJP foi de 8/50; em PA 35/50 e em ITC 7/50.

Foi feito um exame dos animais, avaliando-se as condições clínicas e sanitárias dos mesmos, não apresentavam ao exame lesões sugestivas de LTA.

A seguir coletou-se uma amostra de sangue venoso (10 ml), (fig. 15, 16, 17 e 18) que foi dividida em dois tubos (5 ml em um tubo seco, e 5 ml em tubo com anti-coagulante). Essas alíquotas foram transportadas em caixas térmicas sob refrigeração em gel até o Laboratório de Parasitologia da Universidade Estadual do Norte do Paraná, Faculdades Luiz Meneghel (UENP/FALM), onde as amostras colhidas foram centrifugadas. De uma delas foi obtido o soro (tubo seco) e da outra (tubo com anti-coagulante), o creme leucocitário. Após a centrifugação a 2.000 rpm por dez minutos

o material foi acondicionado em duplicidade em microtubos (1,5 ml), devidamente identificados e congelados a -15°C.

A seguir foi transportado desse laboratório até o Laboratório de Doenças Tropicais da Faculdade de Saúde Pública/USP/ e mantido congelado (-15°C) até o envio ao laboratório do Centro de Controle de Zoonoses do Município de São Paulo (CCZ-SP) para a realização dos testes sorológicos.

O creme leucocitário correspondente às amostras soro-reagentes em RIFI, obtido da mesma amostra do sangue, em uma fração coletada com anti-coagulante foi submetido à Reação em Cadeia da Polimerase - PCR no Instituto de Medicina Tropical da USP, segundo protocolo de PAIVA (2006).

3.4. INQUÉRITO HUMANO

Foi feito um levantamento no Setor de Epidemiologia do Serviço Municipal de Saúde de Itambaracá, sobre a ocorrência de casos de LTA na área de estudo, para se identificar todas as localidades com maior potencial de transmissão.

Os dados sobre os casos de LTA foram obtidos da ficha de notificação compulsória. Os casos de LTA foram definidos pela presença de lesão cutânea ou cutâneo-mucosa e encontro de parasita em exame direto realizado por meio de “imprint” em lâminas de vidro de material de lesões. Em alguns casos, havia sido realizado o teste de IRM (Intradermo Reação de Montenegro).

A pesquisa direta em lâmina foi utilizada para a confirmação dos casos incidentes em Itambaracá, totalizando três casos em 2007.

Nos mesmos locais da coleta entomológica (São Joaquim do Pontal, Porto Almeida e Vila Rural) foram aplicados questionários na população residente, destinados ao levantamento das condições sócio-econômicas e culturais e de outras informações sobre fatores de risco para a transmissão da doença.

Para a determinação de soro-prevalência, coletou-se sangue (10 ml) (fig. 13 e 14), de uma amostra da população em estudo, constituída de pessoas com idade igual ou superior a 18 anos, que concordaram em participar da pesquisa.

Para a obtenção dos dados e da amostra de sangue do grupo de estudo, contou-se com o apoio de técnicos do serviço municipal de saúde, e das enfermeiras destes serviços, assim como voluntários e estagiários do projeto.

Nos casos suspeitos de LTA, os pacientes foram encaminhados para o Serviço de Vigilância em Saúde local, para a realização de diagnóstico de rotina, no caso pesquisa direta com fragmento de lesão em lâmina, e tratamento se forem confirmados.

As 297 amostras de sangue coletadas, 143/297 em São Joaquim do Pontal (SJP), 86/297 em Porto Almeida (PA) e 68/297 em Itambaracá; foram coletadas duas alíquotas, uma para extração de creme leucocitário, e outra para obtenção de soro para testes sorológicos.

A amostragem da população foi calculada pela fórmula $n = Z_{\alpha/2}^2 \cdot p \cdot (1-p) / \text{erro}^2$, onde $Z_{\alpha/2} = 1,96$; p = prevalência da LTA na área = 0,25% e o erro admitido foi de 5%. Portanto $n = 288$.

3.5. TÉCNICAS SOROLÓGICAS E MOLECULARES

3.5.1. Sorológicas

3.5.1.1. Reação de Imunofluorescência Indireta: (RIFI)

As amostras de soro foram submetidas à RIFI, no laboratório do CCZ-SP, segundo técnica utilizada por SAVANI (1998). Os soros foram testados frente às formas promastigotas do parasita. As cepas do parasito utilizadas na reação de imunofluorescência, foram de *L. (L.) amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8), originárias de cultivo, mantido no próprio laboratório do CCZ-SP. As cepas foram mantidas a 23°C nos meios de cultura sólidos Blood Agar Base (BAB), acrescidos de fase líquida constituída pelo caldo BHI (Brain Heart Infusion).

O antígeno foi preparado, segundo a técnica descrita por GUIMARÃES et al (1974), com cepas após oito dias de cultivo.

O conjugado anti-gamaglobulina, marcado com isotiocianato de fluoresceína, (anticorpos totais) de cão e equino foram produzidos no laboratório do CCZ-SP, segundo SAVANI (1998).

Os conjugados contendo anti-imunoglobulina das classes G e M (humano), marcados com isotiocianato de fluoresceína (FITC), utilizados foram da marca Fluoline® G e M, do laboratório Bio Mérieux.

Para a reação sorológica, as amostras foram diluídas a 1:20 em solução salina tamponada (SST), e depositadas em áreas delimitadas nas lâminas impregnadas com antígeno. A cada reação foram utilizados os controles negativo e positivo diluídos à razão 2, a partir de 1:20, e foram testados juntamente com os soros pesquisados.

As lâminas foram incubadas em câmara úmida a 37° C por 30 minutos. A seguir foram lavadas em dois banhos de SST de 10 minutos cada. Após a secagem em temperatura ambiente, foi acrescentado em cada área o conjugado específico marcado com isotiocianato de fluoresceína (anti-gamaglobulina de humanos e cães) diluídos 1:100 e 1:50 (anti-gamaglobulina de equínos) em azul de Evans 4 mg %.

As lâminas foram novamente incubadas por 30 minutos em câmara úmida e posteriormente, o conjugado foi removido por dois banhos de 10 minutos em SST. Após a secagem, as lâminas foram montadas com glicerina tamponada pH 8,0 e lamínula.

A leitura foi realizada em microscópio Olympus, modelo BH2-RFL, equipado com lâmpada de halogênio 12V50W, filtro excitador BP490, filtro barreira O-530 e objetiva A40 0,65 160/0,17. O “cut-off” considerado foi a partir do título 40.

3.5.1.2. Ensaio Imuno Enzimático (EIE/ELISA):

As amostras de soro de cães foram submetidas também à técnica de Ensaio Imunoenzimático, no laboratório do CCZ-SP, segundo protocolo preconizado pelo Kit de EIE para diagnóstico de leishmaniose canina fornecido pelo laboratório Bio-Manguinhos (anexo 11).

Este ensaio consiste na reação de soros de cães com antígenos solúveis e purificados de *Leishmania* (complexo *L. donovani*) obtido a partir da cultura “in vitro”, que são previamente absorvidos nas cavidades de microplacas/strips (fase sólida). A seguir adicionam-se devidamente diluídos os soros controle do teste e as amostras a serem analisadas, que possuindo anticorpos específicos, vão se fixar aos antígenos. Na etapa seguinte, ao se adicionar uma anti-gamaglobulina de cão marcada com a enzima peroxidase, esta se ligará aos anticorpos caso estejam presentes.

Para evidenciação da reação, utiliza-se uma substância cromógena (tetrametilbenzidina-TMB) que pela ação da peroxidase com o peróxido de

hidrogênio forma um composto de coloração azul turquesa que ao adicionar-se o ácido sulfúrico que interrompe a reação, passa a apresentar uma coloração amarela, em caso positivo (reagente). Nas cavidades onde não houver anticorpos específicos, não haverá desenvolvimento da cor, o que caracteriza uma reação negativa (não reagente).

3.5.2. Moleculares

3.5.2.1. Extração de DNA de Sangue (Creme Leucocitário - CL):

Foram utilizadas amostras de CL correspondentes aos soros das pessoas e animais reagentes pela RIFI. Essas amostras de 300 µl de CL foram acondicionadas em microtubos de 1,5 ml, acrescidas de 1 µl de saponina a 5%, e incubadas em estufa a 37 ° C por 5 minutos. Após várias lavagens com PBS, para clareamento do pellet, a amostra foi tratada de acordo como o protocolo extração do Kit Promega® -cat.A-1120 (anexo 15).

3.5.2.2. Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Nesta técnica, com o protocolo de PAIVA et al. (2006), foram utilizados os *primers* deduzidos a partir de seqüências de mini-exon, capazes de identificar o gênero *Leishmania* (PG) e subgênero *Viannia* (PV), já descritos por PAIVA et al (2004).

Foram utilizados os *primers* PG1: 5'-TTT ATT GGT ATG CGA AAC TTC C-3' e PG2: 5'-GAA ACT GAT ACT TAT ATA GCG TTA G-3'.

Para a amplificação das seqüências de mini-exon, a reação foi realizada em volume final de 35 µl, contendo 5µl de DNA, 1µM de cada *primer*; 0,2 mM de dNTPs (Biotools®), 2,5% de formamida, 1X Tampão da enzima, 2mM de MgCl₂ e 0,5U de Taq DNA polimerase (Invitrogen®). A reação foi realizada em termociclador Eppendorf Mastercycler Gradient serie 5331, com temperatura de desnaturação inicial de 95°C por 5 minutos, seguida por 35 ciclos de 95°C por 1 minuto, 50°C por 30 segundos, 72°C por 1 minuto e extensão final de 72°C por 6 minutos. Foram incluídos controles positivos em todas as reações (DNA de cultura de *Leishmania*), como também controle negativo contendo água bidestilada no lugar

do DNA. O produto amplificado (10 µl de cada) foi separado por eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corado com brometo de etídeo (0,5 µg/ml).

Foram utilizados padrões de peso molecular de 100pb e 50pb. O gel de agarose a 1,5% foi observado diretamente sob luz ultravioleta e também analisado pelo sistema de captura LABWORKS®.

4. ANÁLISE DOS DADOS

4.1. FLEBOTOMÍNEOS

A frequência foi calculada obtendo-se a proporção entre o total de espécimes de cada espécie sobre o total de espécimes de todas as espécies coletadas para um determinado local. A frequência dos sexos foi obtida pela proporção entre o total de espécimes cada sexo, no total de exemplares de ambos os sexos de uma determinada espécie. A razão macho/fêmea foi obtida considerando-se cada espécie.

A abundância das espécies levando em conta os diferentes pontos de coleta, foi calculada para os flebotomíneos capturados com as armadilhas automáticas luminosas tipo CDC, segundo o Índice de Abundância de Espécies Padronizado (IAEP), conforme ROBERT e HSI (1979). (Anexo 7)

A diversidade das espécies foi calculada pelo índice de Shannon (H) e a equitabilidade pelo índice de Pielou (J) (HAYEK e BUZAS, 1997). (Anexo 8)

Para o cálculo do índice de Shannon (H) foram utilizadas as frequências das espécies coletadas, multiplicadas pelos logaritmos naturais destas frequências, com os resultados, é realizado um somatório, e aplicada a fórmula: $H = - \sum \log_n(\text{freq}_x)$.

Para obtenção da equitabilidade (índice de Pielou), divide-se H logaritmo natural do número de espécies coletadas (S). Portanto, $J = H / \log_n S$.

Para avaliar as atividades sazonais (mensais) e ritmo horário das espécies de flebotomíneos mais abundantes, no caso, os que apresentam capacidade vetorial, foi utilizada a Média Geométrica de Williams (Xw) (HADOW, 1960).

4.2. INQUÉRITO HUMANO E DOS ANIMAIS DOMÉSTICOS

Foi calculada a prevalência da infecção detectada através das reações sorológicas anti-leishmânias, bem como, daquelas observadas por diagnóstico clínico, tanto na população humana como nos animais domésticos.

Também foram calculadas as porcentagens de características pessoais, tais como idade, sexo, ocupação, tempo residência e condições sócio econômicas. Para os animais foi considerada a idade, sexo, e tempo permanência no local.

A comparação entre as prevalências foi realizada por meio do teste estatístico do qui-quadrado.

4.3. ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas da FSP/USP, antes do início das coletas para o inquérito soro-epidemiológico.

Nas três localidades foram feitas visitas aos moradores para explicar os objetivos da pesquisa e esclarecimentos conforme recomendações da Resolução CNS 196/96 e complementares constantes no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Anexo 1).

Nesta oportunidade também foi aplicado um questionário (anexos 2 e 3) respondido por um dos proprietários, e foi feita uma coleta de sangue das pessoas com idade igual ou superior a 18 anos, realizada pelos técnicos em enfermagem da Secretaria Municipal de Saúde nas pessoas que concordaram em participar da pesquisa, mediante a assinatura do TCLE. Foi escolhida a idade de coleta acima de 18 anos, por tornar mais fácil a abordagem e aceitação da coleta, a partir desta idade.

Foi solicitada ainda, permissão dos proprietários para a coleta de 10 ml de sangue dos cães e eqüídeos da propriedade (anexos 4 e 5). Nas propriedades onde foram realizadas coletas entomológicas (anexo 6) também foi solicitado o consentimento dos proprietários

5. RESULTADOS

5.1. PARÂMETROS METEOROLÓGICOS DA ÁREA ESTUDADA

A influência do clima sobre a ocorrência e distribuição sazonal dos flebotomíneos é considerável, por este motivo é interessante termos o padrão meteorológico da região estudada durante os períodos de coleta.

Tabela 1 - Média mensal dos parâmetros meteorológicos para a região norte pioneira do Paraná, no período de 2004 a 2006.

Ano	2004	2005	2006	2004	2005	2006	2004	2005	2006	2004	2005	2006
Parâmetros	TM	TM	TM	UR	UR	UR	Pr	Pr	Pr	IN	IN	IN
Média mensal	°C	°C	°C	%	%	%	mm	mm	mm	h	h	h
Janeiro	24,1	24,5	25,4	73,4	81,7	72,4	231	378	153	7,3	4,4	7,1
Fevereiro	24,1	25,1	24,4	70,3	63,7	76,9	63	30	183	8,8	9,1	6,7
Março	23,6	25,3	25,2	67,4	65,2	72,0	75	30	66	8,7	8,0	7,4
Abril	22,9	24,2	21,7	74,4	65,7	68,7	96	57	93	6,3	7,6	7,8
Maio	17,0	21,2	17,7	81,7	64,6	65,0	228	84	6	5,2	7,7	7,9
Junho	17,2	20,0	18,5	75,4	71,7	64,6	78	48	21	6,4	6,7	7,9
Julho	16,7	17,4	19,7	74,5	69,1	58,1	75	27	15	6,1	7,4	8,2
Agosto	19,1	20,6	20,9	55,8	55,2	48,5	15	12	15	9,3	8,0	8,6
Setembro	23,6	19,6	20,2	50,9	70,3	62,5	27	111	240	7,9	5,8	7,0
Outubro	21,8	23,2	23,5	67,8	74,6	67,6	240	180	177	6,2	4,9	7,9
Novembro	23,7	23,6	24,3	65,9	62,5	63,7	126	72	69	7,8	8,3	8,1
Dezembro	24,0	24,0	25,2	70,1	68,6	73,3	141	135	252	7,6	7,4	6,5
Média anual	21,5	22,4	22,2	69,0	67,7	66,1	1395	1164	1290	7,3	7,1	7,6

Fonte: Estação Meteorológica da Faculdade Luiz Meneghel, Bandeirantes Paraná.
TM = temperatura média; UR = umidade relativa; Pr = precipitação; In = insolação.

Durante o ano de 2004, observa-se que a média de temperatura anual foi de 21,5 °C, no ano de 2005, 22,4° C, e durante o ano de 2006, 22,2°C. A média anual da umidade relativa do ar em 2004, foi de 69 %, em 2005, 67,7% e em 2006, 66,6%. A média anual de precipitação no ano de 2004 foi de 1395 mm, em 2005, 1164 mm e em 2006, 1290 mm. A média anual de insolação em 2004 foi de 7,3 horas, em 2005 de 7,1 horas e em 2006, de 7,6 horas (tabela 1).

Percebe-se que algumas épocas foram de baixa pluviosidade, início dos anos de fevereiro a abril de 2004 e 2005, constituiu-se em uma época bastante seca, até um pouco fora do padrão regional, baixa pluviosidade também nos meses de maio a junho de 2006. Houve também uma diminuição atípica da insolação nos meses de janeiro, setembro e outubro de 2006. Nos meses de fevereiro a maio de 2005, a umidade esteve abaixo da média (tabela 1).

Gráfico 1- Média mensal dos parâmetros meteorológicos para a região norte pioneiro do Paraná, no período de 2004 a 2006.

Com exceção de alguns meses, as curvas das medidas meteorológicas tiveram tendência semelhante nos três anos. No entanto, a URA foi bem mais alta e semelhante em maio de 2004 e janeiro de 2005. As médias de temperatura apresentaram curvas semelhantes, com variações maiores nos meses de maio e junho dos três anos. O ano de 2004 apresentou-se mais chuvoso que os anos de 2005 e 2006. As curvas de insolação apresentaram simetria, com uma média anual menor durante o ano de 2004 (tabela 1, gráf. 1).

5.2. INQUÉRITO DOS FLEBOTOMÍNEOS

5.2.1. Coleta Geral:

Nas três localidades: São Joaquim do Pontal, Porto Almeida e Itambaracá (urbana e periurbana), num total de 25 pontos amostrados, foram encontrados flebotomíneos.

Com as duas técnicas empregadas (CDC e Shannon) capturou-se um total 3187 flebotomíneos pertencentes a 15 espécies, distribuídas em 4 subtribos: Brumptomyiina – *Brumptomyia brumpti* (Larrousse, 1920), *Brumptomyia cunhai* (Mangabeira, 1942) e *Brumptomyia nitzulescui* (Costa Lima, 1932); Lutzomyiina – *Evandromyia bacula* (Martins, Falcão & Silva, 1965), *Evandromyia cortellezzii* (Brèthes 1923), *Expapillata firmatoi* (Barretto, Martins & Pellegrino, 1956), *Migonemyia migonei* (França, 1920), *Pintomyia fischeri* (Pinto, 1926), *Pintomyia pessoai* (Coutinho & Barretto, 1940) e *Sciopemyia sordellii* (Shannon & del Ponte, 1927); Psychodopygina – *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926), *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939), *Psathyromyia aragaoi* (Costa Lima, 1932) e *Psathyromyia shannoni* (Dyar, 1929) e Sergentomyiina – *Micropygomyia ferreirana* (Barretto, Martins & Pellegrino, 1956) (tabela 2).

Tabela 2 - Frequência de flebotomíneos, segundo espécie e sexo, capturados no município de Itambaracá (zona urbana e periurbana) e nas localidades rurais de São Joaquim do Pontal e Porto Almeida, fevereiro de 2004 a junho de 2006.

Espécie	Sexo	Macho	%	Fêmea	%	Total	%
<i>Brumptomyia brumpti</i>		112	7,59	92	5,37	204	6,40
<i>Brumptomyia cunhai</i>		35	2,37	26	1,52	61	1,91
<i>Brumptomyia nitzulescui</i>		-	-	1	0,06	1	0,03
<i>Brumptomyia sp</i>		-	-	9	0,53	9	0,28
<i>Evandromyia bacula</i>		1	0,07	2	0,12	3	0,09
<i>Evandromyia cortellezzii</i>		6	0,41	8	0,47	14	0,44
<i>Expapillata firmatoi</i>		6	0,41	7	0,41	13	0,41
<i>Micropygomyia ferreirana</i>		-	-	4	0,23	4	0,13
<i>Migonemyia migonei</i>		114	7,73	256	14,95	370	11,61
<i>Nyssomyia neivai</i>		643	43,59	452	26,40	1095	34,36
<i>Nyssomyia whitmani</i>		135	9,15	146	8,53	281	8,82
<i>Pintomyia fischeri</i>		18	1,22	69	4,03	87	2,73
<i>Pintomyia pessoai</i>		400	27,12	638	37,27	1038	32,57
<i>Psathyromyia shannoni</i>		1	0,07	-	-	1	0,03
<i>Psathyromyia aragaoi</i>		4	0,27	-	-	4	0,13
<i>Sciopemyia sordellii</i>		-	-	2	0,12	2	0,06
Total		1475	100,00	1712	100,00	3187	100,00

Do total capturado, 1475 (46,28%) foram machos e 1712 (53,72%) fêmeas. A espécie predominante foi *Ny. neivai* (34,36%), seguida por *Pi. pessoai* (32,57%), *Mg. migonei* (11,61%), *Ny. whitmani* (8,82%) e *Pi. fischeri* (2,73%) (tabela 2).

A razão entre os sexos para cada espécie pode ser observada na tabela 3. Entre as espécies predominantes, para *Ny. neivai* capturou-se mais machos do que fêmeas, e para *Mg. migonei*, *Pi. pessoai* e *Pi. fischeri* mais fêmeas do que machos; diferenças estas, estatisticamente significantes ($p < 0,001$) pelo teste do χ^2 , e para *Ny. whitmani* embora tenham sido capturadas mais fêmeas do que machos a diferença não foi significativa ($p > 0,05$).

Para as demais, houve predomínio de fêmeas nas espécies *Br. nitzulescui*, *Br. sp*, *Ev. bacula*, *Ev. cortelezzii*, *Ex. firmatoi*, *Mi. ferreirana*, *Sc. sordellii*, e de machos nas espécies *Br. brumpti*, *Br. cunhai*, *Pa. shannoni* e *Pa. aragaoi*.

Tabela 3 - Distribuição geral das espécies de Phlebotominae, segundo razão entre sexos, capturadas em Itambaracá-PR nas três localidades (São Joaquim do Pontal, Porto Almeida, Cidade e Vila Rural) de fevereiro de 2004 a junho de 2006.

Espécie	Macho	Fêmea	Razão M/F
<i>Brumptomyia brumpti</i>	112	92	1,22
<i>Brumptomyia cunhai</i>	35	26	1,35
<i>Brumptomyia nitzulescui</i>	-	1	-
<i>Brumptomyia sp</i>	-	9	-
<i>Evandromyia bacula</i>	1	2	0,50
<i>Evandromyia cortelezzii</i>	6	8	0,75
<i>Expapillata firmatoi</i>	6	7	0,86
<i>Micropygomyia ferreirana</i>	-	4	-
<i>Migonemyia migonei</i>	114	256	0,45
<i>Nyssomyia neivai</i>	643	452	1,42
<i>Nyssomyia whitmani</i>	135	146	0,92
<i>Pintomyia fischeri</i>	18	69	0,26
<i>Pintomyia pessoai</i>	400	638	0,63
<i>Psathyromyia shannoni</i>	1	-	-
<i>Psathyromyia aragaoi</i>	4	-	-
<i>Sciopemyia sordellii</i>	-	2	-
Total	1475	1712	0,86

Tabela 4 - Frequência de flebotomíneos, capturados no município de Itambaracá, segundo espécies e localidades(zona urbana e periurbana) e nas localidades rurais de São Joaquim do Pontal e Porto Almeida, fevereiro de 2004 a junho de 2006.

	Localidade São Joaquim do Pontal								Localidade Porto Almeida								Localidade Vila Rural, cidade e Pesq-pag								Total		%
	FMA-Barr	FMA-C1	FMA-C2	FMA-Cxf	SJP-C1	SJP-C2	SJP-C3	SJP-C4	PA-Bal	PA-Fav	PA-FPA	PA-Str	FSJ-Cap	FSJ-Col	FSJ-ME	FSJ-MRio	FSJ-Port	ITC-Abas	ITC-C.Joel	ITC-MAT	ITC-P/Pag	VR-C1	VR-C2	VR-C3			
Br.brumpti	3	-		8							8	3	25	10	42	43	19				37		1		5	204	6.4
Br.cunhai	0	-									5				19	21	16				1					62	1.95
Br.nitzulescui	0																1									1	0.03
Br.sp	1										1		6													8	0.25
Ev.cortelezzi	1			1									2			3					3		1	3	1	15	0.47
Ev.bacula													2												1	3	0.09
Ex.firmatoi													2	1		10										13	0.41
Mi.ferreirana													1			3										4	0.13
Mg.migonei		1									3		22	18	91	173	30			2	1			2	27	370	11.6
Ny.whitmani	1	7	11		1				13		2	1	20	11	29	131	19					29		3	2	280	8.79
Ny.neivai	22	4	12	5	1	1	1	1	2	4	49	3	41	14	11	205	22	4	5	6	8	373		195	106	1095	34.4
Pi.pessoai	4	2	5	20			1		1	2	62	3	205	35	224	338	116			5		2		5	8	1038	32.6
Pi.fischeri			2								1		6		9	56	10			1					2	87	2.73
Pi.shannoni																1										1	0.03
Pa.aragaoi															4											4	0.13
Sc.sordellii											1													1		2	0.06
Total	32	14	30	34	2	1	2	1	16	6	132	10	332	89	429	984	233	4	5	14	50	404	2	209	152	3187	100
%	1	0.44	0.94	1.07	0.06	0.03	0.06	0.03	0.5	0.19	4.14	0.31	10.42	2.79	13.46	30.88	7.311	0.13	0.16	0.44	1.57	12.68	0.06	6.558	4.77	100	

Ny. neivai ocorreu em praticamente todos os pontos amostrados, incluindo as localidades impactadas pela construção da hidrelétrica, Porto Almeida e São Joaquim do Pontal, como nos pontos próximos à cidade de Itambaracá (tabela 4).

Ny. whitmani e *Mg. migonei* ocorreram em maior número, em locais de mata mais preservada, que é o caso da Fazenda São José. *Pi. fischeri* e *Pi. pessoai* também foram mais numerosas em áreas mais preservadas, mas foram observadas em todas as áreas coletadas (tabela 4).

A abundância das espécies foi avaliada pelo Índice de Abundância das Espécies Padronizado (IAEP), no qual, quanto mais próximo o resultado do valor um, mais abundante será a espécie. Os valores obtidos considerando todas as localidades São Joaquim do Pontal, Porto Almeida, Cidade e Vila Rural, encontram-se no gráfico 2. *Ny. neivai* foi a mais abundante, seguida por *Pi. pessoai*, *Br. brumpti*, *Ny. whitmani*, *Mg. migonei*, *Pi. fischeri*, *Br. sp.*, *Ev. cortelezzi*, *Br. cunhai*, *Br. nitzulescui*, *Ex. firmatoi*, *Ev. bacula*, *Sc. sordellii*, *Mi. ferreirana*, *Pa. aragaoi* e *Pa. shannoni*.

Gráfico 2 - Índice de abundância das espécies padronizado (IAEP) obtido nas coletas com armadilhas tipo CDC nas três localidades de Itambaracá (região urbana e perirubana), São Joaquim do Pontal e Porto Almeida, de fevereiro de 2004 a junho de 2006.

Os dois maiores e próximos valores para o índice de abundância das espécies (IAEP) considerando-se todas as localidades foram para *Ny. neivai* (0,87), *Pi. pessoai* (0,79), seguidos pelos de *Ny. whitmani* (0,50), *Br. brumpti* (0,41), *Mg. migonei* (0,35), *Pi. fischeri* (0,20). Os menores valores foram para: *Br. sp* (0,14), *Br. cunhai* (0,10), *Br. nitzulescui* (0,07), *Ex. firmatoi* (0,05), *Ev. bacula* (0,03), *Si. sordellii* (0,02), *Mi. ferreirana* (0,01), *Pa. aragaoi* (0,01) e *Pa. shannoni* (0,01) (gráfico 2).

Gráfico 3 - Índice de diversidade de Shannon (H) e Índice de equitabilidade de Pielou (J) das espécies capturadas com armadilhas tipo CDC e Shannon, nas três localidades de Itamaracá (região urbana e perirubana), São Joaquim do Pontal e Porto Almeida, de fevereiro de 2004 a junho de 2006.

■ São Joaquim do Pontal; ■ Porto Almeida; □ cidade (periurbana e urbana).

Considerando-se as três localidades, na de São Joaquim do Pontal (SJP), a maior diversidade de espécies foi encontrada no entorno do patrimônio, na Fazenda Monte Alto (FMA), com a maior diversidade no ponto FMA-CxForça (1,36), seguido por FMA-C2 (1,31), FMA-C1 (1,1), FMA-barracão (1,06). No patrimônio, os pontos SJP-C1 e SJP-C3 apresentaram diversidades semelhantes (0,7), e não houve diversidade nos pontos SJP-C2 e SJP-C4, pois em ambos foi coletada uma única espécie (gráfico 3)

Em termos de equitabilidade (J), os pontos com distribuição mais similar em quantidade de exemplares por espécies, foram os SJP-C1 e SJP-C3, onde foram

coletadas 2 espécies, com um exemplar de cada, em cada ponto, o que pode ser considerado uma coleta homogênea. Os índices de equitabilidade para os outros pontos foram menores, ou seja, menor equilíbrio entre o número de exemplares de cada espécie coletada, a saber: ponto FMA-C2 (0,94), com predomínio de *Ny. neivai*, FMA-C1 (0,79), predomínio de *Ny. whitmani*, FMA-barracão (0,59) com predomínio de *Ny. neivai*, e FMA-C3 (0,56) predomínio da espécie (*Pi. pessoai*) (gráfico 3, tabela 4).

Na localidade de Porto Almeida (PA) e proximidades foram verificados os maiores índices de diversidade entre todas as localidades coletadas. Destacaram-se os pontos de coleta da Fazenda São José (FSJ). O maior índice (H) encontrado foi no ponto FSJ-mata rio (1,74), seguido por FSJ-porteira (1,58), FSJ-colônia (1,53), FSJ-estrada (1,43), FSJ-Capela (1,35), PA-sítio Strambeche (1,31), PA-Faz. Porto Almeida (1,27), PA-Sítio Favoni (1,0), PA-Balsa (0,6) (gráfico 3).

Em relação à equitabilidade, os locais com as quantidades mais similares entre as espécies foram: PA-sítio Favoni (1,44), PA-Strambeche (0,95), FSJ-colônia (0,86), entre os outros pontos, os índices foram menores, pois houve maior diferença numérica entre as espécies coletadas, PA-Faz. Porto Almeida (0,58), FSJ-Capela (0,56), PA-balsa (0,55), FSJ-mata estrada (0,24). Nos pontos de coleta da Faz. São José, houve um predomínio da espécie *Pi. pessoai*, nas outras localidades, de *Ny. neivai* (gráfico 3, tabela 4).

Na cidade de Itambaracá: urbana e periurbana (Vila Rural e Pesque e Pague) a diversidade foi maior nos pontos da Vila Rural (VR), VR-mata (1,01) e Itambaracá- matadouro (1,2); seguidos por Pesq-Pague (0,84), VR-C2 (0,7) e VR-C1 (0,3). Nos outros pontos o índice de diversidade foi nulo, pois somente uma espécie foi coletada. Na Vila rural e no Matadouro predominou a espécie *Ny. neivai*. Em relação à equitabilidade, foi mais equilibrado o número entre as espécies na VR-C2 (gráfico 3, tabela 4).

5.2. 2. Localidades Estudadas

5.2.2.1. Localidade 1- São Joaquim do Pontal (SJP)

Em São Joaquim do Pontal predominou *Ny. neivai* (40,5%), seguida por *Pi. pessoai* (27,6%), *Ny. whitmani* (17,2%), *Br. brumpti* (9,48%), *Pi. fischeri* e *Ev. cortelezzii* (1,72%), *Mg. migonei* e *Br. sp.* (0,86) (tabela 5).

Tabela 5 - Distribuição das espécies de Phlebotominae, segundo sexo, capturadas em Itambaracá-PR, na localidade São Joaquim do Pontal e razão entre os sexos (M/F), de fevereiro de 2004 a junho de 2006.

Espécie/sexo	FMA-Barracão		FMA-C1		FMA-C2-		FMA-Cx força		SJP-C1		SJP-C2		SJP-C3		SJP-C4		Total	%	M/F
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F			
<i>Br.brumpti</i>	2	1	-	-	-	-	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	11	9,48	1,20
<i>Br.sp</i>	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,00	-
<i>Ev.cortelezzii</i>	1	0	-	-	-	-	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1,72	1,00
<i>Mg. migonei</i>	-	-	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,86	-
<i>Ny. whitmani</i>	0	1	1	6	10	1	-	-	0	1	-	-	-	-	-	-	20	17,2	1,22
<i>Ny. neivai</i>	3	19	0	4	8	4	2	3	0	1	0	1	1	0	0	1	47	40,5	0,42*
<i>Pi. pessoai</i>	1	3	1	1	5	0	11	9	-	-	-	-	0	1	-	-	32	27,6	1,29
<i>Pi. fischeri</i>	-	-	-	-	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1,72	-
Total	7	25	3	11	25	5	17	17	0	2	0	1	1	1	0	1	116		0,84
%	6	22	3	9	22	4	15	15	0	2	0	1	1	1	0	1	100	100,0	
% ambos os sexos	27,59		12,07		25,87		29,31		1,72		0,86		1,72		0,86		100,00		

* diferença estatisticamente significativa pelo teste do χ^2 ($p < 0,001$).

Em relação aos pontos de coleta, *Br. brumpti* foi mais freqüente nos pontos FMA-Cx força (72,7%) e FMA-Barracão (27,3%). *Brumptomyia sp* foi identificada apenas na localidade FMA-barracão. *Ev. cortelezzii* foi coletada nos pontos FMA-barracão (50%) e FMA-cx força (50%), *Mg. migonei*, apenas no ponto FMA-C1 no peridomicílio e *Ny. whitmani*, em vários pontos, entre eles FMA-barracão (46,8%), FMA-C2 (25,5%), FMA-cx força (10,6%), FMA-C2 (8,51%), todos estes pontos, próximos à área de mata e também foi observada nos pontos SJP-C1, SJP-C2, SJP-C3, SJP-C4 com 2,1 % cada. Somente para *Ny. neivai* houve predomínio de fêmeas sobre os machos, com diferença estatisticamente significativa pelo teste do χ^2 ($p < 0,001$). Exceto para *Br. sp* e *Ev. cortelezzii*, a primeira com a coleta apenas de uma

fêmea e a segunda, com um macho e uma fêmea, nas demais espécies predominaram os machos, contudo a diferença não foi estatisticamente significativa (tabela 5).

No total das espécies, a maior frequência de flebotomíneos por pontos de coleta foi observada na FMA-caixa força (29,31%), FMA-barracão (27,59%), FMA-C2 (25,87%), FMA-C1 (12,07%), já nos outros pontos representados por casas os valores foram bem mais reduzidos: SJP-C1 e C3 (1,72%), FMA-C2 e C4 (0,86%) (tabela 5) .

Gráfico 4 - Índice de Abundância das Espécies Padronizado (IAEP) segundo as espécies capturadas na localidade de São Joaquim do Pontal de fevereiro de 2004 a junho de 2006.

Em relação ao índice de abundância das espécies padronizado em São Joaquim do Pontal, foi observado para todo o período de estudo a maior abundância para *Ny. neivai* (0,88), seguida por *Pi. pessoai* (0,48), *Br. brumpti* (0,35), *Ny. whitmani* (0,18), *Pi. fischeri* (0,08) *Mg. migonei* e *Ev. cortezezzii* (0,05). Este índice obtido para cada um dos anos do estudo mostra para *Pi. pessoai* (0,92) e *Ny. whitmani* (0,38) que no ano de 2004 o valor foi bem mais elevado em relação ao do período de estudo (0,48 e 0,18, respectivamente) (gráfico 4).

A abundância de *Ny. neivai*, destacou-se nesta localidade, mas no ano de 2004 foi inferior à de *Pi. pessoai*. As outras espécies mantiveram-se em índices mais baixos durante todo o período de estudo.

O índice de diversidade (H) aproximou-se ao de equitabilidade (J), nas localidades da Fazenda Monte Alto (FMA-barracão, C1 e C2; SJP C1, e C4), já no ponto FMAcx força, houve uma maior diversidade (1,35) do que equitabilidade (0,56). Em dois pontos a diversidade foi nula (SJP-C2 e SJPC4), tendo sido capturado somente um exemplar em cada ponto (gráfico 5).

Gráfico 5 - Índices de Shannon (H) e Pielou (J) nos pontos de coleta da localidade de S. Joaquim do Pontal, de março de 2004 a junho 2006.

Em São Joaquim do Pontal, o maior índice de diversidade (H) observado foi no ponto de coleta localizado na Fazenda Monte Alto -FMA- Caixa força (1,35), seguido pelo da FMA-Casa 2 (1,31), FMA- Casa 1 (1,1), FMA-barracão (1,06) e SJP-C1 e SJP-C3 (0,7). Nos pontos de coleta SJP-C2 e SJP-C4, o índice foi nulo, com apenas uma espécie coletada (gráfico 5).

Quanto à equitabilidade, observou-se que os pontos que apresentaram um maior equilíbrio entre o número de exemplares coletados de cada espécie foram SJP-C1 e SJP-C3 (1,01), seguidos por FMA-C2(0,94) e FMA-C1 (0,79), FMA-barracão (0,59), FMA-cx de força (0,56) (gráfico 5).

Gráfico 6 - Índice de diversidade de Shannon (H) nos pontos de coleta da localidade de S. Joaquim do Pontal, em 2004, 2005 e 2006 (até junho).

Os índices de diversidade na maioria dos locais variaram de zero ao máximo nos três anos de coleta. Apenas em duas localidades, FMA-C2-Alice e SJP-C2, os valores foram mais constantes (gráfico 6). O mesmo sucedeu com o de equitabilidade (gráfico 7).

Gráfico 7 - Índice de equitabilidade de Pielou (J) nos pontos de coleta em S. Joaquim do Pontal, em 2004, 2005 e 2006.

5.2.2.2. Localidade 2- Porto Almeida (PA)

Tabela 6 - Distribuição das espécies de Phlebotominae, segundo sexo, pontos de coleta da localidade de Porto Almeida e razão entre os sexos (M/F), de 2004 a 2006.

Localidade	PA Balsa		PA Favoni		PA-FPA		PA-Stram		FSJ-Capela		FSJ-Colônia		FSJ-Estrada		FSJ-Matario		FSJ-Porteira		Total	%	M/F
Espécie/sexo	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F			
<i>Br.brumpti</i>					6	2	2	1	13	12	6	4	29	13	22	21	5	14	150	6,72	1,24
<i>Br.cunhai</i>					3	2							8	11	13	8	11	5	61	2,73	1,35
<i>Br.nitzulescui</i>																	0	1	1	0,04	-
<i>Br.sp</i>					0	1			0	6									7	-	
<i>Ev.cortelezzii</i>									1	1					1	2			5	0,22	0,67
<i>Ev.bacula</i>									1	1									2	0,09	1,00
<i>Ex.firmatoi</i>									0	2	0	1			6	4			13	0,58	0,86
<i>Mi.ferreirana</i>									0	1					0	3			4	0,18	-
<i>Mg. Migonei</i>					1	2			12	10	8	10	33	58	40	133	6	24	337	15,11	0,42*
<i>Ny. whitmani</i>	2	11			1	1	1	0	5	15	4	7	5	24	74	57	5	14	226	10,13	0,75**
<i>Ny. neivai</i>	0	2	2	2	23	26	2	1	21	20	2	12	3	8	83	122	9	13	351	15,73	0,57*
<i>Pi. pessoai</i>	1	0	1	1	15	47	2	1	71	134	8	27	80	144	151	187	44	72	986	44,20	0,61*
<i>Pi. fischeri</i>					0	1			1	5			1	8	9	47	4	6	82	3,68	0,22*
<i>Pi. shannoni</i>															1	0			1	0,04	-
<i>Pa. aragaoi</i>													4	0					4	0,18	-
<i>Sc. Sordellii</i>					0	1													1	0,04	-
Total	3	13	3	3	49	83	7	3	125	207	28	61	163	266	400	584	84	149	2231		0,61*
%	0	1	0	0	2	4	0	0	5,6	9,3	1	3	7	12	18	26	4	6,7			
% ambos sexos	0,72		0,27		5,92		0,45		14,88		3,99		19,23		44,10		10,44		100,00		

* diferença estatisticamente significante (p < 0,001); ** (p < 0,05).

Na localidade de Porto Almeida, nos três anos, foram coletados 2231 flebotomíneos, com predomínio de *Pi. pessoai* (44,2%), seguida por *Ny. neivai* (15,7%), *Mg. migonei* (15,1 %), *Ny. whitmani* (10,05%), *Br. brumpti* (6,73%), *Pi.fischeri* (3,68), *Br.cunhai* (2,73%), *Br. nitzulescui* (0,04%), *Brumptomyia sp* (0,31%), *Ev.cortelezzii* (0,22%), *Ev. bacula* (0,09%), *Ex. firmatoi* (0,58%), *Mi. ferreirana* (0,18%), *Pa. shannoni* (0,04%) e *Sc. sordellii* (0,04%) (tabela 6).

Para *Brumptomyia sp*, *Mg. migonei*, *Ny. neivai*, *Pi. pessoai*, *Pi. fischeri*, houve predomínio de fêmeas com diferença estatística significativa (p<0,0001). Também houve predomínio de fêmeas para *Ny. whitmani* (p<0,05), assim como nas espécies *Ev. cortelezzii*, *Pa. shannoni*, *Pa. aragaoi*, estas sem diferença significativa (tabela 6).

Houve um predomínio de machos nas espécies *Br. cunhai*, *Br. brumpti* e *Ev. bacula*, porém sem diferença significativa. No total de espécimes capturados também houve uma diferença estatística significativa ($p < 0,001$) com o predomínio de fêmeas nesta localidade (tabela 6).

Gráfico 8 - Índice de Abundância das Espécies Padronizado (IAEP), segundo as espécies capturadas na localidade de Porto Almeida, de fevereiro de 2004 a junho de 2006.

Considerando-se a somatória dos três anos de coleta, *Pi. pessoai* foi a espécie mais abundante, seguida de *Ny. neivai*, *Ny. whitmani*, *Br. brumpti*, *Mg. migonei*, *Br. cunhai*, *Pi. fischeri*, *Ex. firmatoi*, *Br. sp*, *Pa. aragaoi*, *Sc. sordellii* e *Pa. shannoni*. Em relação a cada um dos anos, em 2004, o IAEP foi mais elevado, e em 2006, inferior, para a maioria das espécies em relação ao do período dos três anos juntos. Em 2005, apenas *Ny. neivai* se destaca em relação ao período dos três anos juntos (gráfico 8).

Gráfico 9 - Índices de Shannon (H) e Pielou (J) nos pontos de coleta da localidade de Porto Almeida, de março de 2004 a junho 2006.

Em Porto Almeida, o ponto de coleta que apresentou maior diversidade de espécies, foi FSJ-Mata Rio (1.74), seguido de FSJ-porteira (1.58), FSJ-colônia (1.54), FSJ- Mata estrada (1.43), FSJ-Capela (1.36), PA-Strambeche (1.31), PA-FPA (1.28), , PA-Favoni (1.0), PA-Balsa (0.60). Em relação à equitabilidade (J), o ponto que apresentou quantidades mais próximas entre as espécies coletadas foi PA-Favoni (1.44), seguido por PA-Strambeche (0.95), FSJ-Colônia (0.86). Os menores índices de equitabilidade foram em PA-FPA (0.58), PA-balsa (0.55), FSJ-Capela (0.57), FSJ-Mata estrada (0.24), FSJ-Mata rio (0.19) (gráfico 9).

Gráfico 10 - Índices de diversidade de Shannon (H) nos pontos de coleta da localidade Porto Almeida, nos anos de 2004, 2005 e 2006.

Observa-se um maior índice de diversidade durante o ano de 2004, nos pontos PA-balsa, PA-Favoni, PA-FPA, PA-Strambeche, PA-Capela.

Já na Fazenda São José os pontos apresentam os mais altos índices de diversidade nos três anos de coleta. Com exceção do ponto FSJ-ME, o ano de 2004 apresentou os índices mais elevados em relação aos outros dois anos (gráfico 10).

Gráfico 11 - Índices de equitabilidade de Pielou (J) nos pontos de coleta da localidade de Porto Almeida, nos anos de 2004, 2005 e 2006.

Em termos de equitabilidade, também foram observados os melhores índices na Fazenda São José (FSJ), e de uma forma geral, durante o ano de 2004 (gráfico 11).

5.2.2.3. Localidade 3- Cidade, Vila Rural, e Pesque-Pague (ITC)

Esta terceira localidade contempla a zona urbana e seus entornos, incluindo a Vila Rural e um Pesque-pague, que possui uma área de remanescente de mata semi-degradada.

Nesta localidade observou-se predominância de *Ny. neivai* (82,98%), e com ocorrência muito menor para as outras espécies como *Br.brumpti* (5,12%), *Ny.whitmani* (4,05%), *Mg. migonei* (3,81%), *Pi. pessoai* (2,38%), *Ev.cortelezzii*

(0,95%), *Pi. fischeri* (0,36%), *Br.cunhai* (0,12%), , *Ev. bacula* (0,12%) e *Sc. sordellii* (0,12%) (tabela 7).

Tabela 7 - Distribuição das espécies de Phlebotominae, segundo os pontos de coleta da localidade Cidade,Vila Rural e Pesque-Pague e razão entre os sexos (M/F), 2004-2006.

Localidade Espécies/sexo	ITC- Abastec		ITC_Joel		iTC- MAT		Pesq- Pag		VR-C1		VR-C2		VR-C3		VR-mata		Total		
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	N	%	RM/F
<i>Br.brumpti</i>	-	-	-	-	-	-	19	18	-	-	1	-	-	-	3	2	43	5,12	0,2*
<i>Br.cunhai</i>	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,12	-
<i>Ev.cortelezzii</i>	-	-	-	-	-	-	1	2	-	-	1	-	-	3	1	-	8	0,95	0,6
<i>Ev. bacula</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	0,12	-
<i>Mg .migonei</i>	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-	1	1	10	17	32	3,81	0,7
<i>Ny. whitmani</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	23	6	-	-	3	0	0	2	34	4,05	3,25*
<i>Ny. neivai</i>	2	2	3	2	4	2	3	5	269	104	-	-	149	46	54	52	697	82,98	2,27*
<i>PI .pessoai</i>	-	-	-	-	1	4	-	-	2	-	-	-	5	-	1	7	20	2,38	0,8
<i>Pi. fischeri</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	3	0,36	0,5
<i>Sc. sordellii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	0,12	-
Total	2	2	3	2	7	7	24	26	294	110	2	-	158	51	69	83	840	100,0	1,92*
%	0,2	0,2	0,4	0,2	0,8	0,8	2,9	3,1	35	13	0,2	-	19	6,1	8,2	9,9			
% ambos sexos	0,5		0,6		1,7		6,0		48,0		0,2		25,0		18,0		100,0		

* Diferença estatisticamente significante (p < 0.001)

No conjunto dos pontos Cidade,Vila Rural e Pesque-Pague, observa-se o predomínio de machos para as espécies *Ny. whitmani* e *Ny neivai*, com diferença estatística significativa (p <0,001).

Houve predomínio de fêmeas, com diferença estatística significativa (p<0,001) para *Br. brumpti*. Nas demais espécies, embora tenha ocorrido o predomínio de fêmeas, não houve diferença estatística significativa (tabela 7).

No conjunto dos pontos da Vila Rural, Cidade e Pesque-Pague e nos três anos de estudo, os maiores índices de abundância foram verificados para *Ny. neivai* (0,75), e com índices bem menores para *Pi. pessoai* (0,35), *Mg. migonei* (0,28), *Br. brumpti* (0,28), *Ev. cortelezzii* (0,27), *Pi. fischeri* (0,12), *Br. cunhai* (0,05), *Ny. whitmani* (0,03) e *Ev. bacula* (0,01) (gráfico 12).

Gráfico 12 - Índice de abundância das espécies padronizado (IAEP) capturadas na localidade de Vila Rural, Cidade e Pesque-Pague, fevereiro de 2004 a junho de 2006.

Gráfico 13 - Índices de diversidade de Shannon (H) e Pielou (J), nos pontos de coleta das localidades Vila Rural e Cidade, de março de 2004 a junho 2006.

Verifica-se também que os maiores índices de diversidade, na localidade Itambaracá-(área urbana e periurbana), foram observados nos pontos Matadouro, Pesque-pague, e na Vila Rural-mata (gráfico 13).

Gráfico 14 - Índices de diversidade de Shannon (H) nos pontos de coleta da localidade Vila Rural e Cidade, nos anos de 2004, 2005 e 2006.

Observando-se os anos, durante o ano de 2004, a maior diversidade, correspondeu ao ponto de coleta Matadouro, no ano de 2005, na Vila rural (mata), e em 2006 no pesque-pague (gráfico 14).

Gráfico 15 - Índices de equitabilidade de Pielou (J), nos pontos de coleta da localidade Vila Rural e Cidade, nos anos de 2004, 2005 e 2006.

Os índices de maior equitabilidade, ocorreram nos pontos de coleta: ITC-matadouro (0,87) ano de 2004, Vila-Rural-Mata (0,69) ano de 2004, e Pesque-pague (0,59), ano de 2006 (gráfico 15).

5.2.3 Média geométrica mensal das principais espécies coletadas

5.2.3.1 Média mensal de *Mg. migonei*:

A distribuição mensal de *Mg. migonei* está plotada no gráfico 20. Na localidade de Porto Almeida observou-se as médias mais elevadas, com picos em agosto (2,09) setembro (2,99) e dezembro de 2007 (5,33) e agosto de 2005 (1,47). Nos outros meses, manteve médias mensais que variaram de 0,12 a 0,78, tendo ocorrido em praticamente todos os meses do ano.

Gráfico 16 - Médias geométricas mensais de *Mg. migonei* nas localidades de São Joaquim do Pontal (SJP), Porto Almeida (PA) e cidade de Itambaracá (ITC), no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.

Na cidade de Itambaracá (ITC) foi verificada a maior média nos meses de fevereiro de 2004 (1,06) e maio de 2004 (1,0) e setembro de 2005 (1,11). Em São Joaquim do Pontal, com exceção dos meses de novembro de 2004, maio de 2005 e de 2006, com médias mensais de 1,0, nos demais meses as coletas foram nulas. Não houve coincidência dos picos mais expressivos entre as localidades (gráfico 16).

5.2.3.2. Média geométrica mensal *Ny. neivai*

Gráfico 17 - Médias geométricas mensais de *Ny neivai* nas localidades de São Joaquim do Pontal (SJP), Porto Almeida (PA) e cidade de Itambaracá (ITC), no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.

Ny. neivai, de um modo geral, apresentou as maiores médias na cidade de Itambaracá, com grande influência da Vila Rural (tabela 6), cujos valores mais elevados se observaram em março e abril de 2004 (2,3 e 3,0 respectivamente). Outros picos menores ocorreram julho/2004 e abril /2006. Em São Joaquim do Pontal os valores mensais foram mais homogêneos e com picos menores do que na cidade de Itambaracá. Os picos ocorreram em fevereiro de 2004 (1,21) e outubro de 2005 (1,09). Em Porto Almeida a maior média encontrada foi em agosto de 2004 (1,26) seguida pelas médias de abril de 2004 (0,79) e maio de 2006 (0,77). Não houve coincidência dos principais picos entre as três localidades (gráfico 17) .

5.2.3.3. Médias mensais de *Ny.whitmani*

Para *Ny. whitmani* as médias mais elevadas foram em Porto Almeida (PA), com picos no ano de 2004, em junho (0,61), agosto (0,92), setembro (1,24) e dezembro (1,08); outros picos, se bem que menores que os anteriores, ocorreram em 2006 nos meses de março (0,51) e junho (0,84).

Gráfico 18 - Médias geométricas mensais de *Ny whitmani* nas localidades de São Joaquim do Pontal (SJP), Porto Almeida (PA) e cidade de Itamaracá (ITC), no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.

Em São Joaquim do Pontal (SJP) observou-se apenas um pico mais expressivo em junho de 2004 (0,96) juntamente com o do PA; outros dois picos menores foram observados em fevereiro de 2004 (0,57) e novembro de 1995 (0,39). Na cidade de Itamaracá (ITC) o maior pico ocorreu em março de 2004 (0,58); em abril e agosto de 2004 apresentou a segunda maior média (0,30), o pico de agosto foi coincidente com um valor elevado de PA (gráfico 18).

5.2.3.4. Médias geométricas mensais de *Pi. fischeri*

Gráfico 19 - Médias geométricas mensais de *Pi. fischeri* nas localidades de Porto Almeida (PA) e Cidade de Itamaracá (ITC) no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.

No gráfico 19 está representada a distribuição mensal de *Pi. fischeri* apenas para as localidades de Porto Almeida (PA) e cidade de Itambaracá (ITC). Em São Joaquim do Pontal as coletas foram nulas. Na localidade de Porto Almeida ocorreu em praticamente todos os meses, com picos mais expressivos em setembro de 2004 (1,67) e de 2005 (1,26); outros picos ocorreram em dezembro de 2004 (0,82), abril de 2005 (0,98) e março de 2006 (0,62). Na cidade de Itambaracá, com exceção dos meses de agosto de 2004 e 2005 e abril de 2006, com valor das médias de 0,09, nos demais meses as coletas foram nulas.

5.2.3.5. Média geométrica mensal de *Pi. pessoai*

Gráfico 20 - Médias geométricas mensais de *Pi. pessoai* em São Joaquim do Pontal (SJP), Porto Almeida (PA) e Cidade de Itambaracá (ITC) no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.

As médias mensais mais elevadas de *Pi. pessoai* ocorreram na localidade de Porto Almeida (PA), com picos em intervalos de 4 a 6 meses (agosto e dezembro de 2004, abril e outubro/2005 e abril de 2006), sendo o maior deles em dezembro de 2004 (3,64). Em São Joaquim do Pontal (SJP) as médias mais elevadas ocorreram a intervalos de 10 e 12 meses, maio de 2004 (0,74) e maio de 2005 (1,17) e em fevereiro de 2006 (0,59). Na cidade, os valores foram muito reduzidos, com o mais elevado (0,19) em dezembro de 2004. Não houve sincronismo dos picos entre as três localidades (gráfico 20).

5.2.4. Média geométrica horária das principais espécies coletadas em armadilha de Shannon modificada nas cores branca e preta

5.2.4.1. Média geométrica horária de *Mg. migonei*

Gráfico 21 – Médias geométricas horárias para *Mg. migonei* na localidade Porto Almeida (PA)- FSJ- Fazenda São José, em armadilhas modificadas de Shannon Preta (SHP) e Shannon Branca (SHB), no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.

Para *Mg. migonei*, verificam-se as maiores médias no horário entre 19:00 e 20:00 horas, na armadilha de Shannon branca, mas apresentou atividade das 19:00 - 20:00 h (SHP); das 21:00 - 23:00 h, 24:00 - 1:00, 4:00 - 5:00, 6:00 - 7:00, 9:00 - 10:00 (SHB), sendo ativo até a manhã seguinte (gráfico 21)

5.2.4.2. Média geométrica horária de *Ny. neivai*

Gráfico 22 - Médias geométricas horárias de *Ny. neivai* na localidade Porto Almeida (PA)- FSJ- Fazenda São José, no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.

Para *Ny. neivai*, a maior média foi registrada das 19:00 - 20:00 h na armadilha de Shannon Preta, com picos subsequentes na branca, das 22:00 - 23:00 h, das 23:00 - 24:00 h, das 4:00 - 5:00 h, das 6:00 - 7:00 h e 9:00 - 10:00 h (gráfico 22).

5.2.4.3. Média geométrica horária de *Ny.whitmani*

Gráfico 23 – Médias geométricas horárias de *Ny.whitmani* na localidade Porto Almeida (PA)- FSJ- Fazenda São José, no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.

A espécie *Ny. whitmani*, apresentou atividade a partir das 19:00 h, com picos das 4:00 - 5:00 h e das 6:00 - 7:00 h (SHB), ocorrendo em ambas até às 8:00h da manhã seguinte (gráfico 23).

6.2.4.4. Média geométrica horária de *Pi. fischeri*

Gráfico 24 - Médias geométricas horárias de *Pi.fischeri* na localidade Porto Almeida (PA)- FSJ- Fazenda São José, no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.

Pi. fischeri, apresentou picos das 18:00 - 19:00 h, 24:00 - 1:00, 3:00 - 4:00, 5:00 - 6:00 até 7:00 h na coleta em armadilha de Shannon Branca (SHB), e também das 22:00 - 23:00 h, de 24:00 - 1:00, das 2:00 - 3:00 - 4:00, das 5:00 - 6:00 até 7:00 h na Shannon Preta (SHP) (gráfico 24).

5.2.4.1. Média geométrica horária de *Pi. pessoai*

Gráfico 25 - Médias geométricas horárias de *Pi. pessoai* na localidade Porto Almeida (PA)- FSJ- Fazenda São José, no período de fevereiro de 2004 a junho de 2006.

Pi. pessoai apresentou bastante atividade durante as coletas, apresentando picos das 18:00 às 19:00, das 21:00 às 22:00, de 24:00 à 1:00, de 3:00 às 4:00, de 4:00 às 5:00 e 9:00 às 10:00 h (SHB), de 20:00 às 21:00, de 1:00 às 2:00, de 3:00 às 4:00, e de 6:00 às 7:00 h (SHP) (gráfico 25).

5.3. INQUÉRITOS

5.3.1. Inquérito Sorológico Humano

Foram coletadas amostras de 162 homens (54,55%) e 135 mulheres (45,45%), perfazendo a coleta total de 297 amostras, mas a diferença entre os sexos não foi estatisticamente significativa ($\chi^2 = 2,45$; $p > 0,05$).

Tabela 8- Distribuição, segundo sexo e local de residência da população amostrada em Itambaracá-PR, de março de 2006 a junho de 2007.

Local	M	%	F	%	Total	%
SJP	84	28,28	59	19,87	143	48,15
PA	47	15,82	39	13,13	86	28,96
ITC	31	10,44	37	12,46	68	22,90
Total	162	54,55	135	45,45	297	100

A maior parte das coletas foi realizada em SJP (48,46%), seguida por PA (29,53%) e Cidade (22,19%). A coleta em pessoas do sexo masculino e feminino foi aleatória, procurando atingir o máximo possível da população da localidade (tabela 8).

Tabela 9-Distribuição, segundo faixa etária (anos) e local de residência da população amostrada em Itambaracá-PR, de março de 2006 a junho de 2007.

Local	18-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	70 ou+	Total
SJP	23	17	41	38	16	2	6	143
PA	4	23	17	23	9	6	4	86
ITC	9	18	26	6	7	2		68
Total	36	58	84	67	32	10	10	297
%	12,12	19,53	28,28	22,56	10,77	3,37	3,37	100

Em relação às faixas etárias, houve um predomínio de coletas na faixa etária de 31-40 anos (28,28%), seguida da faixa de 41-50 (21,55%), 21-30 (19,53) 18-20 (12,12%), 51-60 anos (10,44%), 61-70 anos (4,71%) e 70 anos ou mais (3,37%) (tabela 9).

As idades foram declaradas pelas pessoas, assim como a etnia seguiu a declaração dos entrevistados, considerando-se que a faixa etária mais freqüente foi de 30 a 40 anos, pessoas ativas, em fase de trabalhos, especialmente rurais, a maioria das pessoas mora nas localidades desde o nascimento.

Tabela 10 – Número de soros humanos obtidos, segundo os pontos de coleta, divididos em não reagentes e reagentes para Ac da classe IgG em RIFI. Município de Itambaracá, março de 2006 a junho de 2007.

Local	NR	%	R	%	Total	%
SJP	131	44,11	12	4,04	143	48,15
PA	80	26,94	6	2,02	86	28,96
ITC	66	22,22	2	0,67	68	22,90
Total	277	93,27	20	6,73	297	100,00
NR=não reagentes R= reagentes				“cutt-off” IgG $\geq$ 40		

Foram coletadas amostras de sangue de 297 pessoas. Do total de soros coletados, o resultado na RIFI foi não-reagente em 277/297 pessoas (93,27%), e reagente para Imunoglobulina G (IgG) em 20/297 delas (6,73%) (Tabela 10). Para a Imunoglobulina M (IgM) o resultado foi negativo para todos os soros coletados.

Tabela 11 – Número de pessoas reagentes, segundo localidades, títulos de Ac da classe IgG em RIFI, sexo, e prevalência segundo os títulos e sexo. Município de Itambaracá, março de 2006 a junho de 2007.

Local	MASC					FEM					Total		%		
	Título	40	80	160	Total	%	40	80	160	Total	%	Total	%	Total	%
SJP		4		1	5	55,6	1	3	3	7	63,6	12	60		
PA			3		3	33,3		2		2	18,2	5	25		
ITC		1			1	11,1		2		2	18,2	3	15		
Total		5	3	1	9	100,0	1	7	3	11	100,0	20	100		
%		25,0	15,0	5,0	45,0		5,0	35,0	15,0	55,0		-	-		
Prev		3,08	1,85	0,62	5,55		0,74	5,18	2,22	8,15		6,73	-		

* Prev = prevalência Masc=masculino Fem= feminino

“cutt-off “ IgG $\geq$ 40

Foram reagentes no sexo masculino, 9/20 (45%); para Ac da classe IgG títulos 40, 80 e 160, o número de reagentes foi respectivamente de 5/20 (25%), 3/20 (15%), e 1/20(5%) ; e no sexo feminino, 11/20 (55%); para os títulos 40,80 e 160 foram respectivamente 1/20(5%), 7/20 (35%), 3/20 (15%) . As prevalências para os títulos 40, 80 e 160 no sexo masculino foram de 3,08% (5/162); 1,85%(3/162) e 0,62% (1/162) e total de 5,55% (9/162); e para o sexo feminino de 0,74% (1/135); 5,18% (7/135) e 2,22% (3/135) e total de 8,15% (11/135). Portanto sendo para o feminino mais elevado, porém sem significância estatística pelo teste do χ^2 . A prevalência para ambos os sexos dos reagentes para RIFI foi de 6,73 %. A proporção

de reagentes de acordo com as localidades, foi para SJP (60%); PA (25%) e ITC (15%) (tabela 11).

Tabela 12 – Número de pessoas reagentes para Ac da classe IgG em RIFI, segundo sexo, frequência, etnia e prevalência. Município de Itambaracá, março de 2006 a junho de 2007.

Sexo	Etnia	MASCULINO				FEMININO			
		Branco	Pardo	Total	%	Branco	Pardo	Total	%
Localidade	n	134	28	162		116	19	135	
SJP		3	2	5	55,56	5	2	7	63,64
PA		2	1	3	33,33	2		2	18,18
ITC			1	1	11,11	1	1	2	18,18
Total		5	4	9	100,00	8	3	11	100,00
%		25	20	45		40	15	55	
Prev		3,73	14,28	5,55		6,89	15,78	8,15	

*Prev =Prevalência.

“cutt-off” IgG $\geq$ 40

Entre as pessoas da amostra, pertencem ao sexo masculino e etnia branca 25%, e à etnia parda 20%; ao sexo feminino e etnia branca (40%), e à etnia parda (15%) (tabela 12). Na população amostrada, a prevalência na parda foi de 14,89% e na branca 5,2%, sendo a primeira, 2,86 vezes maior que a segunda; diferença esta estatisticamente significativa ($\chi^2 = 4,67$; $p < 0,05$). No sexo masculino a prevalência nos pardos foi 3,83 vezes maior do que nos brancos; diferença estatisticamente significativa ($\chi^2 = 6,19$; $p < 0,02$), no sexo feminino a prevalência nas mulheres pardas foi 2,29 vezes maior, porém não significativa ($\chi^2 = 3,49$; $p > 0,05$).

Em termos das pessoas reagentes e localidade, com relação ao sexo; no caso do masculino; foram de SJP (55,5%), PA (33,3%), e de ITC(11,1%), e no feminino foram de SJP(63,64%), PA(18,18%) e ITC (18,18%) (tabela 12).

Tabela 13 – Número e prevalência de pessoas reagentes de acordo com os resultados da RIFI, segundo localidade e faixa etária (em anos). Município de Itambaracá, março de 2006 a junho de 2007.

FaixaEtária	Local	n	18-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71 e+	Total	Prev. %
			36	58	84	67	32	10	10	297	
SJP			1	-	-	2	2	2	5	12	8,39
PA			-	1	-	2		2	-	5	5,81
ITC			-	-	1	1	1			3	4,41
Total			1	1	1	5	3	4	5	20	-
Prev. (%)			2,78	1,72	1,19	7,46	9,38	40,0	50,00	-	6,73

* Prev=prevalência.

“cutt-off” IgG $\geq$ 40

Verifica-se que 85% dos casos reagentes compreenderam as faixas a partir de 41 anos de idade (tabela 13). A maior prevalência foi observada na faixa etária de 71 ou mais anos observou-se a maior (50,0%), que com exceção da faixa etária de 61-70 anos ($\chi^2 = 3,33$; $p > 0,05$) apresentou diferença estatisticamente significativa em relação às demais faixas etárias, sendo o $\chi^2 = 13,43$; $p < 0,0001$, na comparação com a terceira mais elevada prevalência, ou seja 9,38%, na faixa de 51-60 anos.

Esta prevalência e a da faixa anterior foram muito próximas e ambas bem mais elevadas, com diferenças estatisticamente significante, em relação à da faixa de 21-30 anos e de 31-40 anos ($p \leq 0,05$). A localidade de São Joaquim do Pontal apresentou o maior número de casos e também a maior prevalência, segue-se Porto Almeida e Itambaracá. Todavia a diferença na prevalência entre a primeira localidade e as demais não foi estatisticamente significativa ($\chi^2 = 0,47$ e $1,24$; $p > 0,05$).

5.3.2. Inquérito molecular humano

Todos os cremes leucocitários coletados correspondentes às amostras dos soros reagentes para Ac da classe IgG em RIFI (24 soros), foram submetidos à técnica de PCR. Todas as amostras apresentaram resultados negativos.

5.3.3. Inquérito sorológico da população canina

Foi realizada a coleta de sangue em 285 cães, que não apresentavam lesões sugestivas de LTA, distribuídos entre as localidades, procurando-se atingir o máximo da população nas localidades rurais.

Tabela 14 - Distribuição da população canina amostrada, segundo localidades e sexo Itambaracá - PR, de janeiro a dezembro de 2006.

	M	%	F	%	Total	%
SJP	94	32,98	29	10,18	123	43,16
PA	72	25,26	32	11,23	104	36,49
ITC	44	15,44	14	4,91	58	20,35
Total	210	73,68	75	26,32	285	100,00

* M=machos F=fêmeas

Nas amostras de soros da população canina houve predomínio de machos 210/285 (73,68%) em relação às fêmeas 75/285 (26,32%). A maior parte das amostras foi obtida em SJP 123/285 (43,16%). Segue-se PA 104/285 (36,49%), ITC 58/285 (20,35%) (Tabela 14)

Tabela 15 – Distribuição da população canina, segundo localidades e idade (anos), Itambaracá - PR, de janeiro a dezembro de 2006.

Local/Idade	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	Total	%
SJP	2	11	22	23	16	13	12	0	11	12	1	123	43,16
PA	2	21	12	8	22	5	15	15	3	1		104	36,49
ITC	2	6	19	11	4	5	7	2	1	1		58	20,35
Total	6	38	53	42	42	23	34	17	15	14	1	285	100,00
%	2,11	13,33	18,6	14,74	14,74	8,07	11,93	5,96	5,26	4,91	0,35		

A maior parte dos animais coletados, apresentava em torno de três anos 53/285 (18,60%), seguido por quatro e cinco anos 42/285 (14,74%) e dois anos 38/285 (13,33%). As outras faixas etárias corresponderam a menos de 10%, com menores quantidades para os animais acima de sete anos e abaixo de dois (tabela 15).

Tabela 16 – Distribuição da população canina, segundo localidades e raça, Itambaracá - PR, de janeiro a dezembro de 2006.

Local/Raça	SRD	Boxer	Amer	B.Colie	Dash	Pastor	Fila	Perd	Poodle	Pinsher	Rotw	Total	%
SJP	113	1	1	1		1		1	1	3	1	123	43,16
PA	80	4		1	3		5		4	3	4	104	36,49
Pesq-Pag	1					2				1		4	1,40
VR	36	1							1			38	13,33
Matad- Abastec	15					1						16	5,61
Total	245	6	1	2	3	4	5	1	6	7	5	285	100
%	86	2,1	0,4	0,7	1,1	1,4	1,8	0,4	2,1	2,5	1,8	0	100

SRD=sem raça definida, Boxer = boxer; B.Colie = Border Colie Amer = americano, Dash = dashund, Perd = perdigueiro; Rotw = rotweiler.

A maior parte dos cães amostrados não possuía raça definida, pertencendo portanto à categoria SRD 245/285 (86,0%), as outras raças variaram de 7/285 (2,5%) (pinsher) a 0,4 % (americano) (Tabela 16).

Tabela 17: Número de soros caninos obtidos, segundo os pontos de coletas e resultados reagentes a Ac totais em RIFI. Município de Itambaracá, de janeiro a dezembro de 2006.

Local	NR	%	R/Tít40	%	Total	%
SJP	121	42,46	2	0,70	123	43,16
PA	101	35,44	2	0,70	103	36,14
ITC	58	20,35	1	0,35	59	20,70
Total	280	98,25	5	1,75	285	100,00

* NR= não reagentes R=reagentes “cutt-off” Ac totais ≥ 40

Do total de amostras de sangue coletadas em cães, 280/285 (98,25%) foram não reagentes, e 5/285 (1,75%) reagentes, para Ac totais, título 40, na RIFI (tabela 17).

Tabela 18 - Número de soros caninos obtidos, segundo os pontos de coletas e de acordo com os resultados do EIE/ELISA, em Itambaracá - PR, de janeiro a dezembro de 2006.

NR						R						Total			
Local	M	%	F	%	%	M	%	F	%	%	%	I	%	Total	
SJP	53	24,2	25	11,42	78	27,4	25	53,2	8	17	33	11,6	12	4,21	123
PA	62	28,3	37	16,89	99	34,7	2	4,26	0	0	2	07	3	1,05	104
ITC	32	14,6	10	4,57	42	14,7	9	19,1	3	6,38	12	4,21	4	1,4	58
Total	147	67,1	72	32,88	219	76,8	36	76,6	11	23,4	47	16,5	19	6,67	285

* NR=não reagente; R = reagente ; I = inconclusivo; M = masculino; F = feminino.

“ cutt-off” IgG ≥ 40

Foram reagentes para Ac totais em EIE, 47/285 (16,5%) animais, 36/47 (76,6%) machos e 11/47 (23,4%). Nas localidades, SJP, PA e ITC, foram reagentes, respectivamente, para o sexo masculino 25/47 (53,2%), 2/47 (4,26%), 9/47 (19,15%) e para SJP e ITC, para o sexo feminino 8/47 (17,02%) e 3/47 (6,39%). A maioria dos animais reagentes foi identificada em SJP 33/285, seguida por ITC 12/285 e Porto Almeida 2/285 (tabela 18).

Tabela 19 – Comparação entre soros caninos reagentes (R) e não reagentes (NR) para Ac totais, em RIFI e EIE/ELISA, por pontos de coleta. Itambaracá - PR, de janeiro a dezembro de 2006.

Local	R			NR		I-EIE	Total
	RIFI	EIE	EIEI/RIFI	RIFI	EIE		
SJP	2	33	93,9	121	78	12	123
PA	2	2	1,00	102	99	3	104
ITC	1	12	91,7	57	42	4	58
Total	5	47	89,4	280	219	19	285

* R-RIFI= reagente em RIFI NR-RIFI=não reagente R-EIE= reagente em EIE NR-EIE= não reagente.

cutt-off Ac $\geq$ 40 (RIFI)

A diferença para os soros identificados como reagentes, entre as duas técnicas foi significativa ($p < 0,005$), 89,4% maior para EIE/ELISA (tabela 19).

5.3.4. Inquérito molecular da população canina

Todos os cremes leucocitários coletados correspondentes às amostras dos soros reagentes, inclusive com título 20 para Ac totais em RIFI (20 soros), foram submetidos à técnica de PCR. Todas as amostras apresentaram resultados negativos.

5.3.5. Inquérito sorológico dos equídeos:

Tabela 20 – Distribuição da população de equídeos do inquérito sorológico, segundo localidades e sexo, Itambaracá- PR, de julho a dezembro de 2006.

Local	M	%	F	%	Total	%
SJP	7	14,0	1	2,0	8	16,0
PA	26	52,0	8	16,0	34	68,0
ITC	5	10,0	3	6,0	8	16,0
Total	38	76,0	12	24,0	50	100,0

Foi coletada amostra de sangue de 50 animais, sendo 12/50 fêmeas (24%) e 38/50 machos (76%). O local onde se realizou a maior coleta foi Porto Almeida 34/50 (68%), onde foram encontrados mais exemplares dos equídeos, entre as localidades da pesquisa. Em São J. Pontal, foram coletadas amostras de 8/50 animais (16%) e na vila rural, 8/50 animais (16%) (tabela 20)

Tabela 21-Distribuição da população de equídeos do inquérito sorológico, segundo localidades e faixa etária (anos), Itambaracá- PR, de julho a dezembro de 2006.

Local/idade	1-3	4-5	6-7	8-9	10-11	12-13	14-15	16-25	Total	%
SJP	-	-	1	3	2	1	1	-	8	16
PA	1	1	9	8	6	6	2	2	35	70
ITC	-	-	1	3	2	-	1	-	7	14
Total	1	1	11	14	10	7	4	2	50	100
%	2	2	22	28	20	14	8	4	100	-

A maior parte das amostras sanguíneas dos equídeos foi coletada na localidade de Porto Almeida (68%), seguida por Vila Rural (16%), e S.Joaquim do Pontal (16%). As faixas etárias de maior ocorrência entre os animais coletados foi de 8-9 anos (28%), 6-7 e 10-11 anos (20%), e 12-13 anos (8%) (tabela 21).

Tabela 22 - Distribuição da população de equídeos do inquérito sorológico, segundo localidades e raças, Itambaracá- PR, de julho a dezembro de 2006.

Local/Raça	Muar	Q.Milha	M.Larga	SRD	Total	%
SJP		2		6	8	16
PA	3	13	1	17	34	68
ITC	1	-		7	8	16
Total	4	15	1	30	50	100
%	8	30	2	60	100	

*Qmilha=quarto de milha Mlarga= manga larga SRD= sem raça definida

Entre os eqüinos amostrados, prevaleceram os animais cruzados, ou sem raça definida, SRD 30/50 (60%), seguidos pelos mestiços Quarto de Milha 15/50 (30%). Também foram coletadas amostras de muares 4/50 (8%) e mestiços manga larga (2%). A maior parte dos animais amostrados foi de PA 34/50; nas outras localidades foram amostrados 16/50 (16%) em cada (tabela 22).

Tabela 23 - Distribuição da população de equídeos do inquérito sorológico, segundo reagentes para Ac totais em RIFI-, Itambaracá- PR, de julho a dezembro de 2006.

Local	NR	%	R	%	Total	%
SJP	6	12	2	4	8	16
PA	30	60	4	8	34	68
ITC	7	14	1	2	8	16
Total	43	86	7	14	50	100

*Não Reagente (NR), Reagente (R)

“cutt-off “ Ac $\geq$ 40

Dos animais coletados, 7/50 (14%) apresentaram-se reagentes em RIFI, e 43/50 (86%) não reagentes. Em relação às localidades, SJP ,PA e ITC, os reagentes

para Ac totais em RIFI, corresponderam a 2/50 (4%), 4/50 (8%) e 1/50 (2%) respectivamente (tabela 23).

Tabela 24 - Distribuição da população de equídeos, segundo reagentes para Ac totais em RIFI, sexo e localidades, Itambaracá- PR, de julho a dezembro de 2006.

Local	M	%	F	%	Total	%
SJP	2	4	-	-	2	4
PA	3	6	1	2	4	8
ITC	1	2	-	-	1	2
Total	6	12	1	2	7	14

“cutt-off “Ac $\geq$ 40 (RIFI)

Em relação aos reagentes do sexo masculino, nas localidades de SJP, PA e ITC, corresponderam a 2/50 (4%), 3/50 (6%) e 1/50 (2%) respectivamente, e do sexo feminino, na localidade de PA, correspondeu a 1/50 (2%) (tabela 24).

5.3.6. Inquérito molecular dos equídeos

Todos os cremes leucocitários correspondentes às amostras dos soros reagentes para Ac totais na RIFI, foram submetidos à PCR. Todas as amostras apresentaram resultados negativos.

5.4. Inquérito sócio econômico-cultural da população humana

Para avaliação dos fatores de risco em relação à transmissão da Leishmaniose Tegumentar foram aplicados questionários a 316 pessoas, sendo 155 do sexo feminino e 166 do sexo masculino, em todas as localidades.

Tabela 25 - Distribuição dos entrevistados, em número e porcentagem, segundo sexo e local de residência no período de janeiro a dezembro de 2006.

Localidade/sexo	F	%	M	%	Total	%
Porto Almeida	37	47,44	41	52,56	78	24,68
SãoJ.Pontal	52	47,27	58	52,73	110	34,81
Vila Rural	34	59,65	23	40,35	57	18,04
Itambaracá	32	45,07	39	54,93	71	22,47
Total	155	49,05	161	50,95	316	100,00

Observa-se predominância de homens que responderam, na cidade de Itambaracá (54,93%), São Joaquim do Pontal (52,73%) e em Porto Almeida (52,56%), havendo predominância feminina na Vila Rural (59,65%) (tabela 25).

Tabela 26-Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo sexo, etnia e local de residência no período de janeiro a dezembro de 2006.

Etnia	Branca			Parda			Negra		
Local/Sexo	M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total
Porto Almeida	37,2	33,3	70,5	14,1	12,8	26,9	1,3	1,3	2,6
SJP	31,8	30,0	61,8	11,8	13,6	25,4	3,6	9,1	12,7
Itambaracá	49,3	38,0	87,3	4,2	5,6	9,8	1,4	1,4	2,8
Vila Rural	26,3	26,3	52,6	5,3	26,3	31,6	8,8	7,0	15,8

Nas localidades amostradas, houve predominância da etnia branca, variando de 52,6% a 87,3%, principalmente na população entrevistada na cidade de Itambaracá (87,3%), seguida por Porto Almeida (70,5%), S.J.Pontal (61,8%) e Vila Rural (52,6%) (tabela 25). A etnia parda aparece em segundo lugar, com maior ocorrência na Vila Rural (31,6%), seguida por Porto Almeida (26,9%), S.J.Pontal (25,4%) e cidade de Itambaracá (9,8%). Menos numerosa foi a população negra entre os entrevistados, com predomínio na Vila Rural (15,8%), seguida por São Joaquim do Pontal (12,7%), Itambaracá (2,8%) e Porto Almeida (2,6%) (tabela 26).

Gráfico 26- Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo ocupação e sexo, em S.J.Pontal, no período de janeiro a dezembro de 2006.

Entre os entrevistados em S.J. Pontal, houve um predomínio de mulheres que se ocupam do lar (25,45%), seguida pela ocupação de estudante (7,27%), trabalho rural (3,64%), professoras, costureiras e aposentadas (2,73%) e trabalho no comércio (1,82%) e agricultura (0,91%). Entre os homens a principal ocupação identificada foi trabalho rural (18,18%), seguida por agricultura (17,27%) e diaristas (8,18%). Pescadores e aposentados compreenderam 3,64%, e mecânicos e pedreiros, 0,91%. (gráfico 26).

Gráfico 27- Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo sexo e ocupação, em Porto Almeida, no período de janeiro a dezembro de 2006.

Segundo o observado no gráfico 27, em Porto Almeida, entre os entrevistados, há um predomínio da ocupação com a agricultura, somando-se os sexos masculino e feminino, seguida pela soma da ocupação de estudante, existe também um número considerável de mulheres que se ocupam do lar (16,67%). Pontuaram também ocupações como diaristas, balseiros, motoristas, administradores e aposentados.

Na população entrevistada na cidade de Itambaracá, na soma dos sexos masculino e feminino, há um predomínio da ocupação, com a agricultura (24,66%), seguida por estudantes (19,18%), diaristas (13,7%), entre as mulheres entrevistadas, 10,0% ocupam-se do lar. Pontuaram também entre os homens, profissões como caminhoneiro, vendedor e caseiro (1,27%), pedreiro, empreiteiro, funcionário público e operador de máquina (2,74%) (gráfico 28).

Gráfico 28- Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo sexo e ocupação, em Itamaracá, no período de janeiro a dezembro de 2006.

Nas três localidades onde foi desenvolvida a pesquisa, predominam as atividades ligadas à agricultura, e também à pecuária, inclusive em atividades como trabalhadores volantes, e sempre a população está em contato com áreas de matas, pois é uma região onde existem vários remanescentes, ainda que degradados.

Gráfico 29 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo sexo e ocupação, na Vila Rural, no período de janeiro a dezembro de 2006.

Na população entrevistada na Vila Rural, na soma entre os sexos, houve o predomínio da ocupação de trabalhador rural (29,83%), seguido por diaristas (22,8%) agricultura (19,3%), estudantes (17,54%) e aposentados (5,26%) (gráfico 29) .

Tabela 27 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo sexo e categoria de moradia, em todas as localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006.

Categoria da moradia	Própria		Cedida		Alugada	
	F	M	F	M	F	M
SJP	27,27	30,91	15,45	19,09	4,55	2,73
PA	42,31	46,15	2,56	3,85	2,56	2,56
ITCA	21,13	36,62	9,86	14,08	14,08	4,23
VR	29,81	22,81	12,28	12,28	17,54	5,26

Verifica-se que a maior parte da população nas localidades mora em casas próprias, em segunda posição encontramos a população que está alojada em casas de familiares, edículas ou trabalha em propriedades rurais, e mora em casa do local. E por último estão as pessoas que alugam casas para moradia (tabela 27).

Tabela 28 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo sexo e tipo de construção, em todas as localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006.

Tipo de construção	Alvenaria - com reboco		Alvenaria - sem reboco		Madeira	
	F	M	F	M	F	M
SJP	8,18	11,82	23,64	30,00	15,45	10,91
PA	28,21	30,77	-	-	19,23	21,79
ITCA	28,17	36,62	12,68	15,49	4,23	2,82
VR	38,60	26,32	15,79	10,53	5,26	3,51

A maior parte da população vive em casas de alvenaria com reboco, exceto em S.J. Pontal, onde existem também as casas de alvenaria sem reboco, e casas de madeira em menor quantidade (tabela 28).

Gráfico 30 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo tipo de cobertura da casa, nas localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006.

A maior parte das residências é coberta com telhas de barro, em todas as localidades, mas existem as moradias cobertas com telha de amianto (Eternit®), e coberturas improvisadas de madeira pintada (gráfico 30)

Gráfico 31 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo localização do banheiro (WC), por localidade, no período de janeiro a dezembro de 2006. Itambaracá

Observa-se que a maioria das famílias, dispõe de banheiro interno nas casas em média 95,75%, uma pequena parcela ainda possui banheiro externo, com média entre as localidades de 3,9% (gráfico 31).

Tabela 29- Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo número de cômodos, por localidade, no período de janeiro a dezembro de 2006.

N.cômodos	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
SJP	2,73	2,73	13,64	35,36	12,73	18,18	2,73	8,18	0,00	2,73
PA	-	-	20,52	37,18	14,10	17,95	-	-	8,97	1,28
ITC	2,82	15,49	39,44	32,39	5,63	-	4,23	-	-	-
VR	-	12,28	40,35	38,60	8,77	-	-	-	-	-

A maior parte dos entrevistados, das localidades, mora em casas com quatro a cinco cômodos (tabela 29).

Tabela 30 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo número de moradores, por residência, em cada localidade, no período de janeiro a dezembro de 2006.

Local/n.pessoas	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SJP	10,91	10,00	19,09	18,18	23,64	8,6	0,91	9,09	-
PA	2,44	4,88	7,32	9,76	12,20	14,63	17,07	19,51	21,95
ITC	2,57	1,28	26,93	14,10	8,97	8,97	8,97	2,56	25,65
VR	-	12,28	15,79	35,09	19,3	8,77	3,51	5,26	-

Nas localidades, em relação ao número de habitantes por casa, predominam as casas com quatro a seis pessoas, mas podem ser vistas desde uma até nove pessoas por casa (tabela 30).

Tabela 31 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo a presença de anexos, por localidade, no período de janeiro a dezembro de 2006.

	galinheiro	curral	chiqueiro	mata	Barracão	não tem
SJP	36,36	16,36	19,09	19,09	3,64	5,46
PA	42,31	10,26	16,67	21,79	5,13	3,84
ITCA	26,76	-	7,04	19,72	7,04	39,44
VR	2,07	7,02	36,84	19,3	8,77	-

A maioria das casas na área periurbana e rural possui um anexo à residência, geralmente, para o abrigo de animais, como galinheiro, chiqueiro ou curral. Na cidade existem poucos anexos, mas podem ser observados galinheiros (tabela 31).

Tabela 32 - Distribuição segundo número de animais no peridomicílio, por localidade, no período de janeiro a dezembro de 2006.

	Bovinos	Eqüídeos	suínos	ovinos	caprinos	aves	Caninos	Felinos
SJP	2	35	383	2	0	0	92	18
PA	518	10	67	50	91	1831	61	31
ITCA	7	3	13	0	4	170	132	28
VR	10	7	18	5	4	270	132	28

Bovinos e outros animais de produção são mais freqüentes nas áreas periurbanas e rurais, a maior quantidade de animais é do grupo das aves de postura ou de engorda. Os animais de companhia como cães e gatos, também estão presentes em todas as localidades (tabela 32).

Tabela 33 - Distribuição dos entrevistados, segundo atividades de lazer, em porcentagens, nas localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006.

	Pescar		Caçar		Andar em Matas	
	F(%)	M (%)	F(%)	M(%)	F(%)	M(%)
SJP	5,45	25,45	3,64	16,36	0,91	10,91
PA	16,67	19,23	-	1,28	2,53	3,85
ITCA	1,41	5,63	-	4,23	2,82	15,49
VR	7,02	3,51	-	-	12,28	3,51

Percebe-se pela distribuição apresentada na tabela, que os homens realizam mais atividades externas, como pescar, caçar, entre outras ligadas a reservas florestais e de matas, do que as mulheres, exceto na Vila Rural (tabela 33).

Tabela 34 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo os hábitos de fumar e beber, em porcentagens, por localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006.

	Fumar		Beber	
	F	M	F	M
SJP	7,27	12,73	6,36	23,64
PA	11,54	11,54	35,9	34,62
ITCA	8,45	14,08	2,82	9,86
VR	12,28	3,51	7,02	3,51

O hábito de fumar e beber é mais freqüente entre os homens de São Joaquim do Pontal e Itambaracá. Ambos os hábitos tem freqüências semelhantes nos dois sexos em Porto Almeida e na Vila Rural, é mais freqüente entre as mulheres (tabela 34).

Tabela 35 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo grau de alfabetização, em todas as localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006.

	Sabe ler		Não sabe/ ler		Sabe escrever		Não escreve	
	F	M	F	M	F	M	F	M
SJP	41,82	50,91	5,45	1,82	42,73	50,91	4,55	1,82
PA	44,87	47,44	2,56	5,13	43,59	46,15	3,85	6,41
ITCA	36,32	50,7	8,45	4,23	38,03	52,11	7,04	2,82
VR	56,14	33,33	3,51	7,02	52,63	35,09	7,02	5,26

Verifica-se que a maior parte dos entrevistados, em ambos os sexos, tem condições de ler e escrever, em detrimento de uma pequena parte que não consegue realizar estas atividades (tabela 35).

Tabela 36 - Distribuição da população entrevistada, em porcentagem, segundo as respostas sobre o conhecimento de LTA, em porcentagens referentes a cada localidade, no período de janeiro a dezembro de 2006.

	Sabe sobre LTA?		Sabe como se pega?		Sabe tratar e prevenir?		Já conheceu alguém com LTA?	
	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim
SJP	88,18	11,82	94,55	5,45	96,36	3,64	95,45	4,55
PA	93,59	6,41	92,31	5,13	94,87	3,64	92,31	7,69
ITCA	92,96	7,04	90,14	9,86	97,18	2,82	94,37	5,63
VR	91,23	8,77	89,47	10,53	92,98	5,26	91,23	8,77

LTA = leishmaniose tegumentar americana

Observa-se que a maior parte das pessoas entrevistadas não conhece a doença, incluindo sua transmissão, tratamento e prevenção. Poucas pessoas conhecem alguém que já teve ou tem a doença (tabela 36).

Tabela 37 - Distribuição da população entrevistada, segundo presença de lesões e cicatrizes, em porcentagens, referentes a cada localidade, no período de janeiro a dezembro de 2006.

	Lesões						Cicatriz								
	F	%	M	%	T	%	F	%	M	%	T	%	R	%	T
SJP	1	0,91	1	0,91	2	33,33	2	1,82	3	2,73	5	55,56	12	4,04	143
PA	0	0	1	1,28	1	16,67	2	1,28	0	1,28	2	22,22	6	2,02	86
ITCA	2	2,82	1	1,41	3	50,00	2	2,82	0	0	2	22,22	2	0,67	68
Total	3		3		6	100,00	6		3		9	100,00	20	6,73	297

R=reagentes RIFI "cutt-off" ≥ 40

Uma pequena amostra dos entrevistados apresenta lesões ou cicatrizes sugestivas de LTA (tabela 37). Todos os entrevistados que apresentaram sinais ou sintomas são de origem da cidade de Itambaracá. Dos que apresentaram lesões, todos apresentaram sorologia positiva.

Tabela 38 - Distribuição da população segundo renda familiar, porcentagem e localidade, no período de janeiro a dezembro de 2006.

	1 SM		2SM		3 SM		4 SM		Sem renda	
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
SJP	11,82	10,00	23,64	20,91	5,45	14,55	0,91	1,82	5,45	5,45
PA	11,54	14,1	16,67	20,51	-	-	3,85	7,69	15,38	10,26
ITCA	23,94	46,48	14,08	5,63	-	-	4,23	2,82	2,82	-
VR	33,33	26,32	17,54	7,02	-	-	5,26	3,51	3,51	3,51

* Salário mínimo= R\$ 380,00

Pela tabela 38, pode-se observar que a renda familiar dos entrevistados, na maior parte, está em torno de um a dois salários mínimos, embora exista uma parcela que apresente uma renda entre três e quatro salários mínimos, também existe uma parcela de pessoas sem renda e desempregados, em geral nas regiões periurbanas e rurais.

Tabela 39 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo utilização de serviços médicos, em todas as localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006

	Posto de saúde	Hospital público	Médico particular
SJP	86,36	7,27	6,37
PA	75,64	15,38	8,98
ITCA	81,69	8,45	9,86
VR	85,96	8,77	5,27

A maior parte dos entrevistados utiliza os serviços públicos de saúde, como postos de saúde e hospital público. Uma pequena parte, quando tem problemas de saúde procura atendimento médico particular (tabela 39).

Tabela 40 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo disposição dos resíduos sólidos, em todas as localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006

	Coleta	Incineração	Enterrado
SJP	71,82	28,18	-
PA	0	53,85	46,15
ITCA	84,51	15,49	-
VR	80,7	19,3	-

A maior parte das localidades dispõe de coleta de lixo, feita pelo serviço público, exceto em Porto Almeida, nesta localidade o lixo é incinerado (53,85%), ou enterrado (46,15%). Grande parte da população incinera o lixo, mesmo nas áreas onde há coleta regular (tabela 40).

Tabela 41 - Distribuição dos entrevistados, em porcentagem, segundo escolaridade, em todas as localidades, no período de janeiro a dezembro de 2006.

	Analfabeto	1º grau incompleto	1º grau completo	2º grau	Superior
SJP	2,5	40	30	25	2,5
PA	3	56	24	15	2
ITCA	2	38	30	25	5
VR	2	52	35	10	1

Entre os entrevistados, houve um predomínio entre as localidades, de pessoas com primeiro grau incompleto e completo, seguido por pessoas com segundo grau. Poucos entrevistados possuíam formação superior, e também poucos não eram capazes de ler ou escrever (tabela 41).

6. DISCUSSÃO

6.1. INQUÉRITO DE FLEBOTOMÍNEOS

A LTA no Paraná persiste especialmente nas regiões norte, e noroeste do Estado, onde ocorre na maioria dos municípios, inclusive em Itambaracá, localidade do estudo, que possui um fator agravante, que são as ações antrópicas excessivas realizadas pelo homem, devido à natureza privilegiada do relevo plano e dos solos ricos do norte do Paraná. As terras são usadas intensamente para cultivos agrícolas e os que não adequados ao cultivo, são utilizados para práticas pecuárias, restando poucos residuais de matas e florestas. Resta pouca cobertura vegetal no Estado de uma forma geral, que está sendo recuperada aos poucos, devido aos programas implantados pela Secretaria do Meio Ambiente que incentiva o reflorestamento ciliar e a criação de corredores de biodiversidade.

Ocorreram também impactos relacionados à construção do complexo hidrelétrico Canoas I e II, estando a área de estudo mais próxima a Canoas I, no rio Paranapanema. A construção da hidrelétrica foi implantada há cerca de 10 anos, provocando áreas de desmatamento, locais que foram substituídas por áreas alagadas, causando sérios problemas de ordem social e econômica, assim como ligados à transmissão de doenças, que já identificados por outros autores (OLIVEIRA, 2006; PINHEIRO, 2007).

Problemas em relação à transmissão de doenças e dispersão de vetores já foram identificados em outras áreas impactadas por construção de hidrelétricas (LE MOS, 2004; OLIVEIRA, 2006; PINHEIRO, 2007).

Também há que se considerar a presença da pecuária e agricultura nos locais da pesquisa, que já haviam impactado os locais próximos ao rio. As áreas onde se realizaram as coletas, mais próximas à represa, são procuradas para atividades de lazer, inclusive pesca, e construção de condomínios e chácaras devido à proximidade com a represa e a beleza cênica do local.

Cabe salientar, que esta região é muito procurada para atividades de lazer, incluindo-se pesca e natação, e existe próximo aos pontos amostrados em Porto Almeida, um campo de futebol, com apoio de área de estar e bar, muito procurados

aos finais de semana, estendendo-se ao anoitecer, o que se constitui em fator de risco para a transmissão da doença.

As matas ciliares foram derrubadas, para dar lugar vastas áreas de inundação. Com estas modificações acontecendo no ambiente, o deslocamento dos vetores para os peridomicílios próximos às matas remanescentes, deve ser considerado, tal fato também já foi verificado em outros trabalhos como de WALSH et al. (1993) e CAMPBELL-LENDRUM et al. (2001).

Nas margens do rio, o reflorestamento ciliar não foi realizado a contento, e atualmente existe uma grande área sem vegetação, onde anteriormente existia uma densa mata ciliar. Possivelmente esta área abrigava anteriormente os vetores, que com a destruição do habitat natural, acabaram se dispersando para os remanescentes de matas, ou mesmo pequenos capões de mata, e para os peridomicílios das residências existentes nas localidades estudadas.

A coleta de flebotomíneos vetores nos peridomicílios foi um indicativo de que estão em processo de adaptação às novas condições de vida ao meio urbano, com chances de aumentar a transmissão da doença nesta localidade.

Outros fatores de risco foram identificados, como presença de animais silvestres, capivaras, gambás entre outros; e também domésticos, como cães, aves bovinos, suínos e eqüinos, além de matéria orgânica acumulada, proveniente de esterco de animais, especialmente suínos, que são fatores atrativos aos flebotomíneos, tanto para repastos, no caso a presença de animais, como para constituição de criadouros, no caso ambientes ricos em matéria orgânica e ambientes sombreados.

A hipótese considerada foi verificar se havia adaptação dos flebotomíneos aos peridomicílios que estão em área de influência das hidrelétricas Canoas I e Canoas II. Estas áreas também já receberam o impacto das ações antrópicas ligadas à agropecuária. As hidrelétricas causaram impactos ambientais de forma a alterar com mais intensidade o ecossistema, já impactado pelas ações antrópicas descritas, colaborando para o deslocamento e dispersão dos flebotomíneos, especialmente os vetores, e sua adaptação aos peridomicílios, nos bairros próximos à área impactada. Em outras localidades, durante a construção de hidrelétricas de grande porte como Itaipu, já foi verificada a presença de flebotomíneos vetores (CONSOLIM, 1990).

Esta adaptação aos peridomicílios foi verificada com a presença de várias espécies de flebotomíneos neste ambiente durante a pesquisa, com ocorrência nas áreas de bairros rurais e patrimônios. Estas espécies, mesmo em pequenas quantidades, têm sido identificadas como vetores de LTA.

Várias ações antrópicas, como desmatamento de extensas áreas para cultivo e pecuária, influenciaram neste deslocamento vetorial. Todavia, nesta área, especialmente, os impactos causados pela hidrelétrica foram determinantes para esta adaptação. Isto porque aproximou os peridomicílios dos remanescentes de mata onde se encontram os abrigos naturais dos flebotomíneos, facilitando o contato homem/vetor.

A tendência desses dípteros é de não se afastarem muito de seus abrigos. Os experimentos de marcação-soltura-recaptura identificaram que a dispersão é focal e os deslocamentos, em sua maioria são inferiores a 100m, embora alguns espécimes possam ser recapturados a distâncias bem maiores (ALEXANDER, 1987; ALEXANDER e YOUNG, 1992; CASANOVA et al., 2005).

Portanto, em áreas de matas preservadas os flebotomíneos tendem a permanecer no seu interior tendo-se a ocorrência da LTA associada às mesmas (LAINSON e SHAW, 1987) e aos trabalhadores em áreas de desmatamento (WHO, 1990).

Na área periurbana da cidade de Itambaracá também foi verificada a presença de flebotomíneos com capacidade vetorial, as ações antrópicas intensas já citadas, são possivelmente responsáveis por este deslocamento.

Os fatores climáticos também influenciaram na dinâmica dos vetores, que apresentaram maior abundância e diversidade durante o ano de 2004, quando também se verificou a maior média anual de pluviosidade e umidade relativa do ar.

O ano de 2005, exceto pelo mês de janeiro (12,6mm), apresentou-se como um ano atípico, com períodos de seca prolongados, que se estenderam por sete meses a partir de janeiro; também nesta época pôde-se observar uma média de umidade do ar, menor que a média anual e regional. No ano de 2006, também foi observado um período de seca que se estendeu de março a agosto, com quedas também nos índices de umidade relativa do ar.

Em relação aos flebotomíneos, pôde-se observar uma diminuição na abundância e diversidade das espécies nos anos de 2005 e 2006, principalmente nas localidades de SJP e PA, este efeito está possivelmente ligado às alterações climáticas verificadas nestes dois anos.

Nas três localidades: São Joaquim do Pontal (SJP), Porto Almeida (PA) e Itambaracá área urbana e periurbana (ITC), num total de 25 pontos amostrados, com as duas técnicas empregadas, capturou-se 13 espécies, segundo AGUIAR e MEDEIROS (2003), todas já assinaladas para o Estado do Paraná.

Do total de 3.187 espécimes coletados, 46,28% foram machos e 53,72% fêmeas, houve predomínio de *Ny. neivai* (34,36%), *Pi. pessoai* (32,57%), *Mg. migonei* (11,61%) e *Ny. whitmani* (8,82%), todas consideradas como vetores da leishmaniose tegumentar americana (PESSÔA et al, 1941; RANGEL e LAINSON et al., 2003; QUEIROZ et al., 1994; PITA-PEREIRA et al., 2005; ANDRADE-FILHO et al., 2007).

O predomínio de *Ny. neivai*, calculado pelo Índice de Abundância das espécies padronizado (IAEP), observado no presente estudo, nem sempre foi observado em outras áreas do Paraná. Em alguns estudos, foi *Ny. whitmani* quem predominou; na região do norte pioneiro do Paraná em 76,3% (GOMES e GALATI, 1977) e 58,9% (MASSAFERA et al., 2005); no norte em 70% (MUNIZ et al., 2006), no noroeste com 67,82% (TEODORO et al., 1983). Na região noroeste do PR, em 10 municípios pesquisados, divide a predominância com *Ny. neivai* (TEODORO, 2006).

Ressalta-se que esta espécie até os estudos de MARCONDES (1996) vinha sendo considerada como sinônima júnior de *Ny. intermedia*. Este autor constatou que no Estado de São Paulo, esta espécie ocorre em áreas litorâneas e *Ny. neivai* nas regiões de Planalto.

Neste estudo, para a espécie *Ny. neivai* capturou-se mais machos do que fêmeas, e para *Mg. migonei*, *Pi. pessoai* e *Pi. fischeri* mais fêmeas do que machos; diferenças estas, estatisticamente significantes ($p < 0,001$) pelo teste do χ^2 , e para *Ny. whitmani* embora tenham sido capturadas mais fêmeas do que machos a diferença não foi significativa ($p > 0,05$). O predomínio de fêmeas, para todas as espécies capturadas foi verificada em estudo realizado por TEODORO et al. (1993), em Jussara-PR. A predominância de machos de *Ny. neivai*, pode indicar a proximidade

de criadouros, uma vez que estes tem menor capacidade de dispersão, como já foi identificado em outros trabalhos (GOMES e GALATI, 1977; GOMES, 1980).

A espécie *Ny. neivai*, foi a mais abundante, o que pode ser explicado pela sua adaptação em residuais de mata degradados e em peridomicílios, como também foi observado em um estudo realizado por AGUIAR et al.(1989) que encontraram um predomínio desta espécie próximo às residências (48,2%) e relativa abundância na margem de mata (17,7%).

Foram encontradas diferenças nos índices de diversidade e abundância das espécies, entre as localidades. Estes índices foram maiores em Porto Almeida, que pode ser explicado pela existência de áreas de matas preservadas, em relação às outras duas localidades.

Os dois maiores valores para o índice de abundância das espécies (IAEP) considerando-se todas as localidades juntas foram para *Ny. neivai* (0,87) e *Pi. pessoai* (0,79), os quais se distanciam das demais espécies *Ny. whitmani* (0,50), *Br. brumpti* (0,41), *Mg. migonei* (0,35), *Pi. fischeri* (0,20). Os menores valores foram para: *Br.sp* (0,14), *Br. cunhai* (0,10), *Br. nitzulescui* (0,07), *Ex. firmatoi* (0,05), *Ev. bacula* (0,03), *Si. sordellii* (0,02), *Mi. ferreirana* (0,01), *Pa. aragaoi* (0,01) e *Pa. shannoni* (0,01), estas espécies já foram encontradas no Paraná por outros autores (GOMES e GALATI, 1977; TEODORO et al., 1983; MASSAFERA et al., 2005; MUNIZ et al., 2006).

Embora tenham sido observadas diferenças entre as localidades, para a abundância das espécies, os valores mais elevados do IAEP para *Ny. neivai* e *Pi. pessoai* refletem a maior dispersão de ambas, e certa constância de suas maiores frequências em relação demais às espécies. Os valores do IAEP corroboram que as espécies mais abundantes são as implicadas na veiculação da LTA. Todavia faz exceção, *Br. brumpti*, espécie que pertence a grupo de flebotomíneos associados à tocas de tatus (FORATTINI, 1973), o que sugere que estes animais estejam bem dispersos e frequentes na área.

São Joaquim do Pontal

De acordo com o setor de Epidemiologia do município, já foram notificados 3 casos autóctones de LTA nesta localidade, nos últimos dois anos, e mais dois casos

na Faz. Monte Alto, há mais de cinco anos, com recidiva de um deles. A localidade de São Joaquim do Pontal é a que apresenta maior proximidade com a área de represamento, sendo a mais próxima da barragem da Hidrelétrica de Canoas I.

Na localidade de SJP, foram identificadas oito espécies diferentes, inclusive cinco com capacidade vetorial. A maior diversidade, na FMA, pode ser explicada pela presença de uma faixa de mata; a equitabilidade foi menor, influenciada pelo predomínio de *Ny. neivai*, especialmente na Fazenda Monte Alto.

Embora tenha se observado menor frequência, abundância e diversidade nos pontos de SJP, que nas outras localidades, foi verificado o predomínio das espécies vetorais, *Ny. neivai*, seguida por *Pi. pessoai*, *Ny. whitmani*, *Pi. fischeri*, *Mg. migonei* e ainda foram identificadas *Br. brumpti* e *Ev. cortelezzii*. Houve predomínio de fêmeas para *Ny. neivai*, com diferença estatística significativa, o que potencializa o risco de transmissão da doença.

Pode-se notar que os índices de diversidade (H) e de equitabilidade (J) variaram nos pontos de coleta em São Joaquim do Pontal. Na Fazenda Monte Alto, a diversidade foi maior que no Patrimônio (com maior urbanização) onde somente uma ou duas espécies foram capturadas.

A maior diversidade observada nos pontos da Fazenda Monte Alto, deu-se, provavelmente, pela proximidade de uma área de um residual de mata nas proximidades da colônia, proporcionando áreas de abrigo e também fonte de alimento para os flebotomíneos, devido à maior presença de animais silvestres e domésticos, estes fatores são atrativos sobre os flebotomíneos, como já foi identificado no trabalho de TEODORO et al. (1993).

No ano de 2004, em SJP, verificou-se o predomínio da espécie *Pi. pessoai* em relação à *Ny. neivai*. É possível que esta diferença possa ser explicada por ter sido este um ano mais favorável, com maiores índices de pluviosidade e umidade relativa, favorecendo os ambientes naturais de matas próximas, e a proliferação de *Pi. pessoai*. Já nos anos seguintes, 2005 e 2006, ocorreram grandes períodos de seca (fevereiro a agosto), o que parece ter favorecido *Ny. neivai*, que está mais adaptada às alterações ambientais.

Porto Almeida

Em Porto Almeida, ocorreu alternância de dominância entre as espécies vetoras mudou de um ano para o outro.

Em 2004, predominou *Pi. pessoai* (45%), seguida por *Mg. migonei* (17%), *Ny. whitmani* (12%) e *Ny. neivai* (11%) e *Pi. fischeri* (3,64%). Durante o ano de 2005, *Ny. neivai* predominou (0,88%), seguida por *Mg. migonei* (0,53%), *Pi. pessoai* (0,52%), *Ny. whitmani* (0,19%), *Pi. fischeri* (0,19%). A maior precipitação em 2004 em relação à de 2005 observada na área poderia explicar essas diferenças na dominância das espécies de um ano para o outro.

No ano de 2006, *Ny. neivai* se destaca (31%), seguida por *Pi. pessoai* (27%), *Ny. whitmani* (19%), e *Pi. fischeri* (1%). Em suma, na localidade de Porto Almeida ocorreu predomínio de espécies vetoras, com maior abundância para *Pi. pessoai* (0,96), seguida por *Ny. neivai* (0,86), *Ny. whitmani* (0,64), *Mg. migonei* (0,55) e *Pi. fischeri* (0,26). Houve uma inversão no ponto de coleta PA-balsa, onde houve o predomínio de *Ny. whitmani*, e em PA-Favoni e PA-Strambeche, onde predominou *Ny. neivai*, nestes dois últimos observou-se a presença de áreas mais degradadas

Este predomínio de *Pi. pessoai*, pode ser explicado, por existirem nesta localidade, pontos de coleta em áreas mais preservadas, com presença de áreas maiores de mata para refúgio dos flebotomíneos. Entre as espécies não vetoras, a mais abundante foi *Br. brumpti* (0,55), seguida por *Br. cunhai* (0,26), *Ex. firmatoi* (0,13), *Brumptomyia sp* (0,09), *Pa. aragaoi* e *Sc. sordellii* (0,04) e *Pa. shannoni* (0,02).

Em uma das áreas do Porto Almeida, Fazenda São José (FSJ) também predominaram as espécies vetoras, com destaque para *Pi. pessoai* (61,75%), seguida por *Ny. neivai* (12,35%), *Mg. migonei* (6,63%), *Ny. whitmani* (6,02%), e *Pi. fischeri* com maior proporção de fêmeas, com diferença estatística significativa para *Ny. whitmani* ($p < 0,05$) e para as outras ($p < 0,0001$) fator que aumenta o potencial de risco da transmissão da doença.

Residências próximas a esta localidade, incluindo a própria sede da fazenda, a capela, onde são realizadas missas, inclusive no período noturno, favorecem o contato da população humana com os vetores, aumentando assim o risco de adquirir a doença. Existe circulação de pessoas na propriedade, entre a área de mata e as colônias, deslocam-se a pé, ou a cavalo nestes pontos, em horários propícios à

atividade vetorial, ou seja, ao entardecer, à noite e ao amanhecer, que se constitui também em fator de risco.

São realizadas várias atividades de manejo nestes pastos, onde são encontrados os bovinos de corte. Próximo a uma área de repouso desses animais, há acúmulo de matéria orgânica, fator de atração aos flebotomíneos .

Nesta região verificou-se a maior abundância e diversidade vetorial de todas as áreas coletadas. Constitui-se, portanto, em uma das áreas de maior risco para a transmissão da doença, considerando-se o residual de mata preservada, mais a presença de animais silvestres variados, entre eles capivaras, gambás, roedores, tatus, canídeos, macacos, entre outros.

Cidade (área urbana), Vila Rural, Pesque-Pague

Na localidade que inclui a cidade e o pesque-pague, foram identificadas 10 espécies, que apresentaram maior diversidade e abundância no matadouro e na vila rural. Todavia, na Vila Rural a equitabilidade foi bem menor, devido à alta predominância de *Ny. neivai*.

No ponto de coleta localizado na cidade de Itambaracá- Matadouro, embora tenham sido coletados poucos exemplares de flebotomíneos, ocorreram dois casos autóctones, o que comprova a capacidade da transmissão da doença, mesmo em condições de baixa densidade vetorial.

Na cidade de Itambaracá foram notificados 5 casos humanos de LTA, nos últimos 2 anos, dois deles em 2007, ocorrendo, portanto, uma discreta expansão na transmissão da doença (informação da Secretaria Municipal de Saúde de Itambaracá).

O que se pode inferir, é que mesmo em condições de baixa densidade do vetor, a transmissão pode ocorrer. Portanto, se faz necessária e urgente a pesquisa da fonte de infecção ativa. Não havia na região nenhum dos animais domésticos com lesões aparentes, mas nas proximidades, existe uma área de mata onde vivem animais silvestres, como, gambás, roedores e aves.

No ponto da cidade-Abastecedor, ocorreram apenas dois exemplares de *Ny. neivai*. Em localidade próxima a este ponto ocorreu a transmissão de um caso autóctone de LTA (informação da Secretaria municipal de Saúde de Itambaracá).

No ponto de coleta localizado na cidade, denominado Chácara-Joel, existe um grande número de animais domésticos, incluindo suínos, caprinos e aves domésticas.

Foi encontrada apenas a espécie *Ny. neivai*, com predominância de exemplares machos. Esta espécie é mais freqüente em áreas mais degradadas, como é o caso do ponto descrito.

No ponto de coleta próximo ao matadouro municipal, ocorreram somente espécies vetoras, com predomínio de *Ny. neivai* (42,86%), seguida por *Pi. pessoai* (35,71%), *Mg. migonei* (14,29%) e *Pi. fischeri* (7,14%). O predomínio de *Ny. neivai*, em áreas degradadas, como já bem caracterizado, ocorreu no local. Houve praticamente equivalência entre machos e fêmeas, exceto em *Pi. pessoai*, com predomínio de fêmeas.

Próximo a este ponto, ocorreram dois casos de LTA, nos últimos três meses. O que significa a presença de uma fonte de infecção ativa, e com a presença dos vetores, mesmo em baixa densidade, houve a transmissão da doença. Também existem no local, fatores de risco que podem propiciar a presença e manutenção dos vetores, como animais domésticos desde suínos e bovinos até cães e gatos, e grande quantidade de matéria orgânica originária do Matadouro Municipal, que pode atrair os vetores.

No pesque-pague da Mata, embora tenha sido observada uma maior ocorrência de espécies não vetoras, *Br. brumpti* (74,0%), *Brumptomyia sp* (2,0%), *Ev. cortelezzii* (6,0%), contra as vetoras *Mg. migonei* (2,0%) e *Ny. neivai* (16,0%); em ambas com predomínio de exemplares fêmeas, o local é propício à ocorrência de vetores, pois existe no local um residual de mata degradada, presença de matéria orgânica, composta por esterco e resíduos de vísceras de peixes, e ainda uma grande freqüência de pessoas para atividades de lazer, inclusive em período noturno. Essas condições podem se constituir em fatores de risco para a doença nesta localidade.

Foram coletadas no ponto Vila Rural Casa 1, VR-C1 somente espécies vetoras, com predomínio de *Ny. neivai* (92,33%), já esperada devido à degradação dos residuais de mata existentes nesta área. Também foram detectadas *Ny. whitmani* (7,18%) e *Pi. pessoai* (0,50%). Ainda existe no local uma pequena área de mata que associada á presença de outros fatores, tais como presença de animais de produção,

como suínos e bovinos, de companhia como presença de cães e gatos, e animais silvestres favorecem o desenvolvimento de flebotomíneos vetores.

As Vilas Rurais no Estado do Paraná, têm sido uma opção para moradias de trabalhadores rurais nas periferias de cidades com potencial agrícola como é o caso de Itambaracá. São micro-propriedades, onde é possível cultivar uma pequena área agrícola e realizar criação de animais em pequena escala. Na localidade amostrada existe um pequeno residual de mata semi-degradada, porém nesta, como em outras localidades similares, existe uma potencialização de risco devido a vários fatores atrativos para os vetores, como fonte de alimentação, produção de matéria orgânica e locais de abrigos remanescentes.

No ponto VR-C3 foi coletada uma espécie vetora *Pi. pessoai*, com predominância de exemplares machos. As coletas foram realizadas próximas a um chiqueiro da propriedade.

No ponto, VR-mata ocorreram espécies vetoras, entre as quais se destacou *Ny. neivai* (69,74%), seguida por *Mg. migonei* (17,76%), *Pi. pessoai* (5,26%), *Pi. fischeri* (1,32%) e *Ny. whitmani* (1,32). Nos exemplares encontrados houve predominância de fêmeas, exceto para *Ny. neivai* que apareceu em proporção equivalente entre os sexos.

Neste pequeno residual de mata já degradada, confirmado pela predominância de *Ny. neivai*, existem alguns elementos atrativos aos vetores, como presença de abrigo, áreas com presença de matéria orgânica, umidade, presença de animais silvestres, como pequenos gambás e roedores, e presença de animais domésticos no entorno, esta atratividade causada por animais domésticos foi verificada no trabalho de TEODORO et al.(1993)

Torna-se uma área de refúgio adequada para os vetores. A situação pode complicar-se, pois nas proximidades além da Vila Rural, está sendo construído um conjunto habitacional. Assim, parece que esta área se constitui em fator de risco para a transmissão da doença.

Médias Mensais e Médias Horárias

Mg. migonei

A distribuição mensal de *Mg. migonei* na localidade de Porto Almeida apresentou picos em agosto, setembro e dezembro de 2007 e agosto de 2005. Nos outros meses, manteve médias mensais que variaram de 0,12 a 0,78 inseto/armadilha, tendo ocorrido em praticamente todos os meses do ano, na cidade de Itambaracá (ITC) foi verificada a maior média nos meses de fevereiro, maio, e setembro de 2005 (1,11). Em São Joaquim do Pontal, com exceção dos meses de novembro e maio, com médias mensais de 1,0, nos demais meses, as coletas foram nulas. Não houve coincidência dos picos mais expressivos entre as localidades.

Estes achados são parcialmente concordantes com estudo realizado por TEODORO et al. (1993), em Terra Boa, noroeste do Estado do PR, na fazenda Palmital, que encontrou maiores densidades de *Mg. migonei* em fevereiro, março, agosto e dezembro. Em outro trabalho de TEODORO et al. (1993), encontrou para *Mg. migonei*, picos em abril, maio, agosto, com maior densidades em janeiro.

As médias mais elevadas para *Mg. migonei* foram observadas nos horário entre 19:00 e 20:00 horas, na armadilha de Shannon branca, mas apresentou atividade desde 18:00 até às 10:00 h da manhã do dia seguinte. Em trabalho realizado por TEODORO et al. (1993), *Mg. migonei* também começou a aparecer a partir das 19:00, com picos das 20-22 h, e de 0:00-3:00 h, quando apresentou o máximo de atividade, decaindo após este horário.

Ny. neivai

Ny. neivai, de um modo geral, pode ser considerada como espécie predominante, apresentou as maiores médias na cidade de Itambaracá, com grande ocorrência da Vila Rural, cujos valores mais elevados se observaram em março e abril de 2004. Outros picos menores ocorreram em julho de 2004 e abril de 2006.

Em São Joaquim do Pontal os valores mensais foram mais homogêneos e com picos menores do que na cidade de Itambaracá. Os picos ocorreram em fevereiro e outubro, embora sem apresentar picos de maior importância em outras épocas do ano, existe uma regularidade na ocorrência desta espécie, o que indica uma adaptação desta, independentemente do clima e da época.

Em Porto Almeida, a maior média para *Ny. neivai* encontrada foi em agosto seguida pelas médias de abril e maio. Como ocorrem picos em várias épocas do ano,

esta espécie parece também estar adaptada nesta localidade. Não houve coincidência dos principais picos entre as três localidades. TEODORO et al (1993) observaram que *Ny. neivai* apresentou picos em julho, maio, outubro e dezembro; já, MASSAFERA et al. (2005), na cidade de Bandeirantes-PR, observaram de março a maio, com pico em abril, coincidindo com o presente estudo.

Para *Ny. neivai*, a maior média foi registrada às 20:00 h na armadilha de Shannon preta, com picos subseqüentes na armadilha de Shannon branca, das 22:00 às 23:00, 23:00 às 24:00, 4:00 às 5:00, 6:00 às 7:00 e 9:00 às 10:00 h, coincidindo em parte com os dados MASSAFERA et al. (2005), no município de Bandeirantes, vizinho à Itambaracá, que observaram atividade de *Ny. neivai* a partir das 18:00 h, com picos às 19:00 e 21:00, reduzindo um pouco o número de espécies, mas permanecendo até 23:00, e mesmo em menor densidade continua a ocorrer, com picos da 3:00 às 5:00 h. TEODORO et al (1993), observaram atividade crescente até 1:00, com oscilações em todo período noturno.

Outra informação divergente, também é a ocorrência desta espécie em horários matinais, das 5:00 às 10:00 h, diferindo de outros trabalhos como MASSAFERA (2005) e TEODORO et al. (1993), alterando o conceito de que a ocorrência deste vetor seria a partir das 18:00 h com atividade até as 23:00 h, levando a um maior cuidado com a prevenção também nestes horários pela manhã.

Todavia, o predomínio de *Ny. neivai* observado em Itambaracá divergiu do encontrado em Bandeirantes, por MASSAFERA et al. (2005), uma vez que estes autores encontraram *Ny. whitmani* como a espécie predominante. AGUIAR et al. (1989), em Jussara-PR, verificaram a predominância de *Ny. neivai*, nos peridomicílios, e na margem e interior da mata de *Ny. whitmani*.

Ny. whitmani

As médias mais elevadas para *Ny. whitmani* foram em Porto Almeida (PA), com picos no ano de 2004, em junho, agosto, setembro e dezembro; outros picos, menores que os anteriores, ocorreram em 2006 nos meses de março e junho. Esta espécie também se apresenta bem adaptada ao ambiente, e apresenta picos de ocorrência em várias épocas do ano, denotando uma adaptação mais antiga.

Observou-se em São Joaquim do Pontal apenas um pico mais expressivo em junho de 2004, coincidindo com o do PA; outros dois picos menores foram observados em fevereiro de 2004 e novembro de 2005. Na cidade de Itambaracá, o maior pico ocorreu em março de 2004; em abril e agosto de 2004 apresentou a segunda maior média, o pico de agosto foi coincidente com um valor elevado de PA .

Em trabalho realizado por TEODORO et al. (1993), em Terra Boa-PR, as densidades para *Ny. whitmani* em maio e julho de 1988, outubro de 1989 com picos em abril e maio e janeiro de 1990, verificaram que esta espécie prevalece no outono e no verão com pico em março., coincidindo parcialmente com a época de pico, no presente estudo. Para MASSAFERA et al. (2005), a maior ocorrência de *Ny. whitmani* em Bandeirantes, foi de março a maio, com pico em abril, e um pequeno pico em novembro, coincidindo também parcialmente com o presente estudo.

A espécie *Ny. whitmani* apresentou atividade a partir das 19:00 h, com picos das 21:00 às 22:00h , 1:00 às 2:00, 6:00 às 7:00 (SHP), 24:00 à 1:00 h , 3:00 às 4:00 , 4:00 às 5:00 e 6:00 às 7:00 (SHB), ocorrendo em ambas até 8:00h da manhã seguinte MASSAFERA et al. (2005), observaram que o período de maior atratividade foi de 20:00-22:00 h, com pico das 20:00-22:00 h.. No trabalho de TEODORO et al. (1993), os maiores picos foram das 2:00 às 3:00, 3:00 às 4:00 e 4:00 às 5:00 h.

Neste caso também, foi identificada atividade matinal dos vetores das 6:00 até às 7:00 h , diferindo dos trabalhos de (TEODORO et al., 1993 e MASSAFERA et al., 2005)

Pi. fischeri

Em São Joaquim do Pontal, as coletas foram nulas. Na localidade de Porto Almeida ocorreu em praticamente todos os meses, com picos mais expressivos em setembro de 2004 e de 2005; outros picos ocorreram em dezembro de 2004, abril de 2005 e março de 2006. Na cidade de Itambaracá, ocorreu nos meses de agosto de 2004 e 2005 e abril de 2006, nos demais meses as coletas foram nulas. No estudo de Teodoro et al (1993), em Jussara-PR, *Pi. fischeri* preponderou na mata, e ocorreu em todos ambientes. Foram observados picos de ocorrência em setembro, janeiro e outubro, apresentando densidades mais elevadas no verão. Esta espécie também apresentou picos em várias épocas do ano, demonstrando uma boa adaptação, como as anteriores.

Pi. fischeri, apresentou picos das 18:00 às 19:00 h, 24:00 à 1:00, 3:00 às 4:00, 4:00 às 5:00, 5:00 às 6:00 e 6:00 às 7:00 h na coleta em armadilha de Shannon Branca (SHB), e também das 22:00 às 23:00 h, 24:00 à 1:00, 2:00 às 3:00, 3:00 às 4:00, 5:00 às 6:00 e 6:00 às 7:00 h em armadilha de Shannon Preta (SHP). TEODORO et al (1993), verificaram, que *Pi. fischeri*, apresentou um crescimento contínuo até 1:00, observando-se oscilações durante o período noturno.

Pi. pessoai

As médias mensais mais elevadas de *Pi. pessoai* ocorreram na localidade de Porto Almeida (PA), com picos em intervalos de 4 a 6 meses (agosto e dezembro de 2004, abril e outubro/2005 e abril de 2006), sendo o maior deles em dezembro de 2004. Em São Joaquim do Pontal (SJP), as médias mais elevadas ocorreram a intervalos de 10 e 12 meses, maio de 2004 e maio de 2005 e em fevereiro de 2006. Na cidade, os valores foram muito reduzidos, com o mais elevado em dezembro de 2004. Não houve sincronismo dos picos entre as três localidades. Assim como as anteriores, esta espécie também apresentou adaptação ao ambiente.

Nos estudos de TEODORO et al. (1993) e MASSAFERA et al. (2005, *Pi. pessoai* apresentou baixa frequência, 0,3% e 2,2% do total, divergindo do atual estudo, onde *Pi. pessoai* correspondeu a 32,37% do total de espécies coletadas.

Pi. pessoai apresentou intensa atividade durante as coletas, apresentando picos das 18:00 às 19:00, 21:00 às 22:00, 24:00 à 1:00, 3:00 às 4:00, 4:00 às 5:00 e 9:00 às 10:00 h (SHB), 20:00 às 21:00, 1:00 às 2:00, 3:00 às 4:00, e 6:00 às 7:00 h (SHP).

Esta grande frequência apresentada, assim como atividades em vários períodos horários indicam um fator de risco em relação a esta espécie, que não tinha sido identificada, nesta área, devido à sua baixa densidade da ocorrência encontrada deste vetor anteriormente.

6.2 Inquérito humano

As coletas do sangue feitas durante a semana e aos finais de semana puderam contemplar a população de uma forma mais homogênea, pois foi possível incluir também as pessoas que trabalhavam durante todos os dias da semana.

Houve uma boa participação da comunidade no intuito de colaboração com a pesquisa, uma vez que em São Joaquim do Pontal, exceto uma família e dois homens, todas as pessoas convidadas concordaram em participar. Na Vila Rural e área do pesque-pague e na periferia da cidade todos abordados aceitaram participar da pesquisa.

Em relação às faixas etárias, observou-se um predomínio de coletas na faixa etária de 31-40 anos (28,28%), seguida da faixa de 41-50 (21,55%), 21-30 (19,53%) 18-20 (12,12%), 51-60 anos (10,44%), 61-70 anos (4,71%) e 70 anos ou mais (3,37%). A faixa de 18 -20 anos (12,12%) contemplou um intervalo de três anos, ao passo que nas demais o intervalo foi de pelo menos 10 anos. Todavia chama a atenção a menor frequência na faixa de 21-30 (19,53%), comparada com a de 31-40 anos (28,28%) e 41-50 anos (21,55%).

A prevalência nos reagentes em RIFI mais elevada e estatisticamente significativa na etnia parda, sobretudo entre os homens em relação à branca talvez possa ser explicada, por esta população também corresponder à maioria especialmente em SJP, e o fato da maior prevalência do sexo masculino, seria por praticarem a pesca com mais frequência que as mulheres, especialmente em horários vespertinos e noturnos.

A prevalência de reagentes anti-leishmânias encontrada na população amostrada de 297 indivíduos (6,73%) foi pouco inferior à encontrada por SILVEIRA et al. (1996) no noroeste do Paraná (8,67%); todavia considerando-se apenas os reagentes sem história pregressa de leishmaniose, a observada no presente estudo foi um pouco mais elevada (5,46%) do que a destes autores (4,01%).

No presente estudo, a prevalência de anticorpos anti-leishmânia mais elevada em mulheres 8,15% em relação à dos homens 5,56%, embora sem significância estatística, contrasta com os dados de SILVEIRA et al. (1996) que encontrou em uma população de 136 moradores de fazendas em municípios de Jussara e Terra Boa, a noroeste do Paraná, com histórico de leishmaniose, uma frequência de 75,7% do sexo masculino e 24,3% no sexo feminino.

Os resultados da presente investigação, ainda contrastam com estes autores, em relação às faixas etárias mais atingidas, pois enquanto no noroeste do Paraná as maiores frequências foram encontradas nas faixas que vão de 10-19 até 50-59 anos

de idade, em torno de 18% cada uma delas, e de apenas 6,6% na faixa de 60-69 anos, no presente estudo, a frequência de casos na faixa de 61-70 anos e de 71 e mais anos foi de 20,0% e 25%; e a prevalência 33,3% e 50,0%, respectivamente. Como os resultados encontrados foram em IgG, e não IgM, que caracterizaria introdução recente, pode-se inferir que estas pessoas da faixa etária mais avançada, tiveram uma exposição mais antiga aos agentes.

A prevalência de reagentes em São Joaquim do Pontal foi mais elevada (8,39%) do que nas duas outras localidades, Porto Almeida (5,81%) e Itambaracá (4,41%).

Embora a diferença entre estas prevalências não seja estatisticamente significativa, em São Joaquim do Pontal, área com maior influência ambiental da construção das hidrelétricas, ainda sobraram muitos remanescentes de matas, onde os vetores podem se abrigar, principalmente próximos aos domicílios, entrando em contato com os moradores à noite, pois a maior prevalência na população feminina da infecção sugere transmissão em ambiente domiciliar.

Na população amostrada, o fato de uma prevalência de soro reagentes encontrada ser relativamente elevada (6,73%) em contraste com os poucos casos encontrados (4) decorre do fato da área ser endêmica, com a existência de leishmânia circulante, associada à presença de vetores, tal como encontrados nas capturas e, portanto, os moradores estariam submetidos a picadas dos flebotomíneos, que se infectados podem lhes transmitir a infecção, tornando-os então reagentes, porém sem doença aparente. Este efeito já foi verificado em outras localidades como em Jussara e Terra Boa (PR) e em Jacarepaguá (RJ) (SILVEIRA et al., 1990; MARZOCHI et al., 1980).

Vale lembrar que RIFI pode apresentar respostas cruzadas entre leishmaniose tegumentar e outras doenças, como a doença de Chagas, como já foi verificado por alguns autores (GUIMARÃES et al., 1974; FURTADO, 1980) e o Paraná foi área endêmica para a doença de Chagas há muitos anos atrás, estas reações cruzadas poderiam estar acontecendo em pessoas de idade mais avançada, em SJP, onde observou-se um maior número de reagente em RIFI, na faixa etária maior que 70 anos.

Segundo FURTADO (1980), os títulos de RIFI diminuem ou desaparecem após o tratamento, ou seja, a resposta ao teste poderia ser usada como forma de controle à cura clínica da doença. No entanto, divergindo do trabalho citado, observamos no presente estudo, dois indivíduos na localidade de SJP que já tiveram LTA, há mais de 10 anos e apresentam títulos de Anticorpos de classe IgG em RIFI 80 e 160, um deles, realizou novo tratamento recentemente, devido à uma suspeita de recidiva da doença, embora sem manifestações de lesões. Outro indivíduo mostrou-se reagente a RIFI, com título de Anticorpos de classe IgG de 160, mesmo pouco tempo após o tratamento com glucantime.

É oportuno lembrar, contrapondo FURTADO (1980), que já foram observados pacientes reagentes em RIFI, mesmo quatro anos após o tratamento (MARZOCHI, 1980), assim como parasitas foram encontrados em lesões tratadas (SCHUBACH et al., 1987).

Uma pessoa no presente trabalho, apresentou comprometimento buco-faríngeo correspondendo a 5% dos reagentes, apresentando, portanto, valores aproximados aos encontrados por SILVEIRA et al. (1996).

Em estudo realizado nas cidades Jussara e Terra Boa no norte do Paraná, 10,3% apresentavam lesões e 2,9% comprometimento buco-faríngeo, no momento da investigação, foi isolada *Leishmania* sp de quatro lesões, uma delas foi identificada com *L.(V.) braziliensis*, pela técnica de anticorpos monoclonais (SILVEIRA et al., 1996).

Em outro estudo realizado em Mariluz (PR), foram investigadas 38 pessoas, 71% do sexo masculino, quatro com lesões cicatrizadas, 10 em cicatrização e 24 com lesões ativas, foi realizada a RIFI em 30 pacientes, sendo que 22 (73%) apresentaram Anticorpos da classe IgG com título ≥ 40 . A *L.(V.) braziliensis* foi isolada de lesões cutâneas no trabalho de LONARDONI (2006).

Os casos reagentes na presente pesquisa ocorreram em pessoas de ambos os sexos e várias faixas etárias, que podem indicar a transmissão intra ou peridomiciliar, como já verificada em outras localidades.

Os fatores de risco identificados foram: a área que a população habitava impactada por ações antrópicas principalmente ligadas à agropecuária, e também está em área de influência de uma hidrelétrica; existência de residuais de matas próximos

aos domicílios, assim como vários animais domésticos de criação, como bovinos, suínos e aves, de companhia como cães e gatos e silvestres como gambás, preás, tatus e capivaras, entre outros. Os moradores têm hábito de pescar, andar em matas e, portanto, ficam mais expostos aos vetores, coletados e identificados em grande abundância e diversidade nas áreas próximas às residuais de matas, e coletados também, embora em menor abundância, em áreas urbanizadas (SILVEIRA et al., 1999; LIMA et al., 2002; CASTRO, 2002).

Para confirmação de diagnóstico e caracterização de espécies parasitas, podem ser usados testes moleculares como a PCR, que também foi realizada no presente trabalho, para a tentativa de caracterização da espécie de *Leishmania* (PAIVA et al., 2006). Todavia no presente estudo, não se obteve sucesso, pois o creme leucocitário correspondente às amostras de soro reagentes para Ac de classe IgG, em RIFI submetidas ao PCR revelaram-se negativas. Poderiam ter sido colhidos outros materiais de eleição como biópsia das lesões, para serem submetidas à PCR, talvez com mais sucesso nos resultados, pois na LTA, os agentes estão presentes nas áreas ativas das lesões.

6.3. Inquérito na população canina

A coleta de sangue foi realizada em 285 animais, destes 73,68% eram machos. Embora tenha sido uma amostra a mesma, quase abrangeu a totalidade da população canina, correspondendo a cerca de 80 -100 % dos animais de acordo com a localidade. Os animais coletados eram domiciliados nos locais onde foi realizada a coleta humana, nas localidades estudadas.

Os animais não apresentavam lesões compatíveis com LTA, e alguns deles eram domiciliados em localidades onde já ocorreram casos da doença, indicando que nessas áreas o cão não tenha papel como reservatório de agentes de Leishmaniose cutânea. Dos animais coletados, 18,6% apresentavam em torno de três anos, mas a idade dos cães variou de 1 a 9 anos, sendo as menores frequências para os animais com menos de um ano ou com mais de sete anos.

Em estudo realizado em Mariluz (PR), também houve predominância de machos, e a idades dos animais foi bastante variável. Dos 126 cães investigados, 75

eram machos, com idade variando de 6 meses a 14 anos (LONARDONI et al., 2005). No entanto a predominância de fêmeas foi obtida em Lomba do Pinheiro (RS), com três casos humanos de LTA, foram coletadas amostras de 200 animais (91 machos) (JESUS et al 2006).

A maior parte dos cães amostrados no presente estudo (86%) não possuía raça definida, ocorreram também outras raças, como pinsher, pastor, rotweiller, poodle e fila.

Das 285 amostras de sangue coletadas em cães, foram reagentes pela RIFI, 5/285 amostras (1,75%), em diluição de 1:40. A diluição 1:40 é considerada como ponto de corte para considerar o animal como reagente, como já observado em outros trabalhos (SAVANI, 1998; ZANZARINI et al., 2005, JESUS et al., 2006, LONARDONI, 2006).

No trabalho de Lomba do Pinheiro (RS), desenvolvido por JESUS et al. (2006) como neste estudo, os animais não possuíam lesões sugestivas de LTA, e somente um dos cães era domiciliado junto a caso positivo de LTA humana, obteve como resultado positivo 7 animais em 200 amostrados (3,5%). No presente estudo foram encontrados 5 animais positivos em 285 coletados (1,75%), sendo, portanto, equivalente à metade da do estudo anterior.

No estudo de Mariluz (PR), dos 126 cães investigados, 24 (19%) apresentaram títulos para Anticorpos da classe IgG ≥ 40 em RIFI, 20 cães tinham lesões sugestivas de LTA, e todos estes foram reagentes em RIFI. Em sete localidades rurais situadas em região autóctone de LTA a noroeste do Estado do PR, foram estudados 67 cães, 14 deles apresentaram lesões, destes, três casos com resultado positivo à pesquisa direta do parasita, e dos 11 remanescentes com lesão, 9 tiveram RIFI reagente. Dos 53 cães que não apresentaram lesões, 25 (47,2%), foram reagentes na RIFI para LTA, com títulos ≥ 40 (ZANZARINI et al., 2005).

A ausência de lesões sugestivas de LTA no presente estudo parece explicar as diferenças nas taxas de prevalência em relação aos dois estudos acima mencionados, embora alguns cães do presente estudo estivessem domiciliados em casas onde ocorreu caso humano de LTA. Assim, os resultados deste trabalho, são mais semelhantes ao de Lomba do Pinheiro (RS), onde os cães investigados também não possuíam lesões sugestivas de LTA (JESUS et al., 2005). Porém a presença de cães

sem lesão e com sorologia reagente para LTA, tem sido citada por vários autores, em localidades como Paracambi e Itaipu (RJ), e nos trabalhos realizados em localidades endêmicas em várias cidades a noroeste do PR (PIRMEZ et al.1988, MADEIRA et al. 2000; SANTOS,et al. 2005; LONARDONI et al.,2006).

Em trabalho realizado no município de São Paulo, foram coletadas amostras de 973 cães errantes que não possuíam lesões sugestivas de LTA, submetidos à RIFI, e todos os resultados foram negativos, o que sugere a inexistência de infecção nestes animais, e sua pouca importância na transmissão desta doença na cidade de São Paulo, onde a *Leishmania sp.*, parece estar circulando em áreas de matas e parques entre mamíferos e vetores silvestres, às quais, os cães errantes não têm acesso (SAVANI,1998).

Outros trabalhos têm identificado a participação de cães no ciclo de transmissão destes parasitos, relacionando a presença de cães infectados com a ocorrência da doença em humanos (FALQUETO et al., 1986; OLIVEIRA-NETO et al.,1988; BARBOSA et al.,1999), mas a baixa prevalência encontrada segundo os resultados de RIFI em outros trabalhos como de JESUS (2006) que encontrou 3,5%, ou nenhuma prevalência como, em estudo na cidade de S.Paulo em grande número de animais (SAVANI,1998), assim como neste estudo, de 1,75%, indicam que o cão tem pouca importância na transmissão da LTA.

A maior parte dos animais reagentes no presente trabalho foi observada em SJP, para os dois testes realizados. Pelo EIE/ ELISA, foram reagentes 47 animais (16,5%), dos quais, 36 machos (76,6%) e 11 fêmeas(23,4) foram reagentes. O teste Elisa demonstrou-se mais sensível na detecção dos cães reagentes à LTA que a RIFI, também utilizada no presente trabalho. Alguns autores já consideram como infectados, cães reagentes em uma das duas técnicas (BARBOSA et al., 1999). Em trabalho realizado comparando RIFI com EIE/ELISA, para detecção de LVA, conclui que o EIE/ELISA forneceu mais resultados falso-positivos, quando se estabeleceu novo ponto de corte a partir de eluatos negativos, e que a RIFI, não deve ser substituída por EIE/ELISA (SILVA, 2005). O uso de pelo menos dois testes sorológicos, podendo ser o RIFI e EIE/ELISA, seria prudente para a detecção da infecção por *Leishmania* segundo KANETO (2001).

Considerando-se a população de cães no presente trabalho, ou seja de 285 animais, foram reagentes para Ac totais pela RIFI (“cutt-off” ≥ 40), 5 animais (1,75%), e através da EIE, foram detectados 47 animais reagentes (16,49%). Embora como já foi discutido acima, pode haver um número maior de falsos positivos, reação cruzada, e o ELISA/ EIE é uma reação mais sensível, enquanto que a RIFI é uma reação mais específica.

Verificou-se uma sensível diferença entre os métodos, e talvez fosse interessante realizar um inquérito em áreas paralelas e com transmissão ativa para comparação dos resultados.

Inquérito sorológico nesta espécie pode ser útil para indicar possíveis cães reagentes a partir de RIFI, e colher material para exames diretos, cultura e PCR para possível identificação da *Leishmania sp*, circulante na área, uma vez que vetores foram identificados em todas as localidades amostradas, assim como notificados casos humanos autóctones.

Todos os cremes leucocitários coletados correspondentes às amostras dos soros reagentes à anticorpos totais na RIFI foram submetidos à PCR, todavia, todas as amostras apresentaram resultados negativos. Como já citado para a população humana, outros protocolos poderiam ser tentados, a partir de material mais indicado como biópsia das lesões, para a detecção da *Leishmania sp* presente na região em estudo.

6.4. Inquérito nos Equídeos

Foram coletadas amostras de sangue de 50 animais 24 fêmeas e 38 machos. O local onde se coletou o maior número foi no Porto Almeida (68%). Em São J. Pontal e vila rural foram igualmente coletadas amostras de 8 animais .

As faixas etárias de maior ocorrência entre os animais coletados foram de 8-9 anos (28%), 6-7 e 10-11 anos (20%), e 12-13 anos (8%), em geral são animais de trabalho e são observados em idades de oito até onze anos quando são mais produtivos.

Entre os equínos amostrados, prevaleceram os animais cruzados, ou sem raça definida, SRD (60%), seguidos pelos mestiços quarto de Milha (30%). Também

foram coletadas amostras de muares (8%) e mestiços manga larga (2%). Também foram coletadas amostras de muares (burros e mulas), bastante utilizados na região

Dos animais coletados, 7/50 (14%) deles apresentaram-se reagentes à RIFI, com título de anticorpos totais ≥ 40 e 43/50 (86%) animais, não reagentes. Cinco destes animais eram de localidades onde havia notificação de caso humano de LTA.

A soro-prevalência encontrada neste trabalho, difere bastante da encontrada por NUNES (2001) em área de transmissão de LTA e LVA, em Assentamento do Incra na Serra da Bodoquena, Estado de Mato Grosso do Sul, onde de 65 animais amostrados em bom estado nutricional e sem lesões aparentes, nenhum se mostrou soro reagente à Ac totais pela RIFI.

6.5. Inquérito Sócio-Econômico e Cultural:

Os questionários foram aplicados a 316 pessoas, em todas as localidades, incluindo São Joaquim do Pontal (SJP), Porto Almeida (PA), Cidade (ITC) e Vila Rural (VR), sendo 155 (49%) do sexo feminino e 166 (52,5%) do sexo masculino, para avaliação dos possíveis fatores de risco em relação à transmissão da leishmaniose tegumentar (LTA), nas localidades amostradas.

Houve predominância da etnia branca, principalmente na população em ITC, com média de 73,2 % entre as localidades, exceto na VR, na qual a frequência da etnia branca foi de 52,6%, A etnia parda aparece em segundo lugar, com maior ocorrência na Vila Rural (31,6%), apresentando-se em média com a frequência de 26,15% em PA e SJP, sendo bem menor em ITC (9,8%). A etnia negra foi a menos numerosa entre as três, apresentando uma frequência média de 14,25% em SJP e VR, e média de 2,7% em ITC e Porto Almeida.

Esta predominância da etnia branca, seguida da parda e negra, também foi verificada em trabalho de inquérito humano realizado por NUNES (2001), com frequências de 63,9%, 27,7% e 8,4%, respectivamente.

Nas localidades estudadas, entre os entrevistados do sexo masculino há predomínio da ocupação com a agricultura na faixa de 25 a 50%, existem também ocupações como diaristas, balseiros, motoristas, administradores, funcionários públicos, comerciantes e aposentados, numa faixa de 3 a 10 %; para o sexo feminino, destaca-se a ocupação com o lar 10 a 30 %, seguida pela ocupação de estudante (10 a

20 %), o trabalho rural, professoras, costureiras e aposentadas apresentaram média de 3,18% a 5,0 % ,e trabalho no comércio e agricultura em torno de 1,2%. Estas ocupações de uma forma geral, também foram encontradas por SANTOS et al (2000) em um trabalho, focalizando fatores sócio econômico-culturais, na localidade de Corte de Pedra no sul da Bahia.

Nas três localidades onde foi desenvolvida a pesquisa, predominam as atividades ligadas à agricultura, e também à pecuária, inclusive em atividades como trabalhadores volantes, e sempre a população está em contato com áreas de matas , pois é uma região onde existem vários remanescentes, ainda que degradados.

A maior parte da população vive em casas de alvenaria com reboco, exceto em S.J. Pontal, onde existem também as casas de alvenaria sem reboco, e casas de madeira em menor quantidade. Predomina a cobertura com telhas de barro, em torno de 80 a 90% em todas as localidades, mas existem as moradias cobertas com telha de amianto (Eternit®) 4 a 10%, e coberturas improvisadas de madeira pintada, e também um fator a ser observado é que as casas não têm forro, o que facilitaria o acesso de vetores.

Em estudo realizado por NUNES (2001), predominaram as telhas de amianto (95,2%), em relação às de barro (4,8%), provavelmente devido à característica provisória, ou de baixa renda do assentamento, este tipo de cobertura, sem forro também facilita o acesso de vetores.

Observa-se no presente estudo, que a maioria das famílias dispõe de banheiro interno nas casas, modificando a tradição das “privadas”, ou “casinhas”, que eram sanitários construídos no exterior das casas, geralmente em madeira, sobre uma fossa séptica. O fato dos sanitários serem no exterior da casa, em conjunto com a matéria orgânica, seria um fator de atração aos vetores, pode-se dizer que, com a construção dos banheiros internamente às casas, este risco diminuiu bastante.

Já no trabalho de NUNES (2001), verifica-se que em grande parte das moradias (49,4%), os sanitários constituem-se em privadas, a maioria com parede e piso de madeira, com fossa embaixo, e cobertura de telha de amianto, ou sem cobertura, o que facilita o acesso dos vetores, principalmente durante o uso crepuscular e noturno.

No presente estudo, a maior parte das casas fazendo-se uma média entre as localidades, possui de quatro a cinco cômodos, e de três a cinco habitantes por casa. Média semelhante foi encontrada no estudo de NUNES (2001) em MS, com maior frequência de quatro a cinco cômodos, e de dois a cinco habitantes por casa. No estudo de Santos et al. (2000), na Bahia, encontraram uma frequência maior para mais de cinco habitantes por casa.

No presente estudo, bovinos e suínos foram mais encontrados nas áreas periurbanas e rurais (de zero até dez animais na média), e mesmo nestas áreas, a maior quantidade de animais é do grupo das aves de postura ou de engorda, em média de 10 até 50 animais. Os equinos aparecem em menor quantidade, de um a três, mesmo na zona urbana da cidade. Os animais de companhia como cães e gatos, também estão presentes em todas as localidades, de zero até três animais em média.

No estudo de NUNES (2001), também foi verificada a presença de bovinos e suínos, com maiores frequências por lotes do assentamento de um até dez animais, equinos também até três animais, aves até 30 animais, e caninos e felinos, em uma média de zero a três animais. No estudo de SANTOS et al. (2000), só ocorreram cães e gatos, encontrados em mais de 50 % das residências, e isto pode ser explicado por se tratar de uma zona urbana e populosa.

A maior parte dos entrevistados, nas localidades, mora em casas com quatro a cinco cômodos, com médias para as localidades de 28,5% e 35,8% respectivamente, apresentando resultados semelhantes, no estudo de NUNES (2001), predominaram as casas com quatro a seis cômodos, e no estudo de SANTOS et al. (2000), de dois a seis cômodos.

Nas localidades, em relação ao número de habitantes por casa, predominam as casas com quatro a seis pessoas, mas podem ser vistas desde uma até nove pessoas por casa. No estudo de NUNES (2001), ocorreu desde uma até cinco pessoas por casa com frequências semelhantes.

A maioria das casas na área periurbana e rural possui um anexo à residência, geralmente, para o abrigo de animais, como galinheiro, chiqueiro ou curral. Na cidade existem poucos anexos, mas podem ser observados galinheiros.

Percebe-se que os homens realizam mais atividades externas como pescar, caçar, entre outras ligadas a reservas florestais e de matas, do que as mulheres,

exceto na Vila Rural , onde as mulheres também realizam, com frequências semelhantes este tipo de atividades

O hábito de fumar e beber é mais frequente entre os homens de São Joaquim do Pontal e Itambaracá. Ambos os hábitos tem frequências semelhantes nos dois sexos, em Porto Almeida e na Vila Rural, é mais frequente entre as mulheres. A bebida e cigarro em excesso, principalmente em locais de pescaria, e outras atividades de lazer, leva a um certo torpor, este estado de insensibilidade poderia fazer com que as pessoas não sentissem as picadas dos vetores, aumentando a exposição desta população.

Verifica-se que a maior parte dos entrevistados, em ambos os sexos, tem condições de ler e escrever, em detrimento de uma pequena parte que não consegue realizar estas atividades.

Observa-se que a maior parte das pessoas entrevistadas não conhece a doença Leishmaniose Tegumentar. Incluindo sua transmissão, tratamento e prevenção, e também poucas pessoas conhecem alguém que já teve ou tem a doença.

Uma pequena amostra dos entrevistados apresenta lesões, cicatrizes ou sintomas sugestivos de LTA. Todos os entrevistados que apresentaram sinais ou sintomas são de origem da cidade de Itambaracá.

Pode-se observar que a renda familiar dos entrevistados, na maior parte, está em torno de um a dois salários mínimos, embora exista uma parcela que apresente uma renda entre três e quatro salários mínimos, também existe uma parcela de pessoas sem renda e desempregados, em geral nas regiões periurbanas e rurais.

Resultado diverso foi encontrado por NUNES (2001), onde a maior parte da população entrevistada estava desempregada.

A maior parte dos entrevistados utiliza os serviços públicos de saúde, como postos de saúde e Hospital público. Uma pequena parte, quando tem problemas de saúde procura atendimento médico particular.

A maior parte das localidades dispõe de coleta de lixo, feita pelo serviço público, exceto em Porto Almeida, nesta localidade o lixo é incinerado (53,85%), ou enterrado (46,15%). Grande parte da população incinera o lixo, mesmo nas áreas onde há coleta regular.

Entre os entrevistados, houve um predomínio na média entre as localidades, de pessoas com primeiro grau incompleto e completo, seguido por pessoas com segundo grau, poucos entrevistados possuíam formação superior, e também poucos não eram capazes de ler ou escrever.

A população de uma forma geral desconhece os aspectos da transmissão da LTA, e como existe um conjunto de fatores de risco, como a presença de espécies vetorais, com atividades inclusive em horários matinais, em todas as localidades; presença de remanescentes de matas, que servem como abrigo aos vetores; de animais domésticos, de matéria orgânica, até pela presença de acúmulo de esterco e esgotos a céu aberto; e ainda não há proteção nas casas,

Assim é necessária uma intervenção na comunidade para realização de um trabalho de educação em saúde objetivando a prevenção da doença. Como sugestão foi indicada a composição de material educativo, como cartazes, livretos e panfletos.

Também foi sugerida a realização de palestras de conscientização, com equipes do serviço de saúde e parceria com as instituições de ensino superior, utilizando-se de métodos áudio-visuais, demonstrando o quanto a doença pode ser grave, através de fotos de pessoas acometidas em estágios avançados da doença, enfatizando-se que se diagnosticada precocemente, a doença tem tratamento gratuito e cura.

Outras medidas podem ser tomadas como:

- Remoção de remanescentes de mata muito próximos aos domicílios, com menos de 300 m, colocações de telas nas portas e janelas, pulverização periódica nas casas com inseticidas, principalmente em períodos quentes, com maior umidade,

- Afastamento de construções e instalações destinadas à animais domésticos como galinheiros, chiqueiros e currais, assim dejetos e matéria orgânica a mais de 300 m da residência.

- Utilizar proteção individual, como repelentes de insetos, ou roupas com proteção em atividades de trabalho, lazer, pescarias, em horários de maior atividade dos vetores, no caso das 18:00 – 23:00 h, até o amanhecer, assim como em locais com presença de animais silvestres, especialmente gambás, roedores, preguiças, entre outros.

- Evitar locais como margens de matas, onde as espécies vetoras são mais abundantes. Procurar o serviço de saúde em qualquer sintoma sugestivo de LTA, como lesões na pele ou mucosas.

7. CONCLUSÕES

No município de Itambaracá, Paraná, na área de influência do complexo Hidrelétrico Canoas I e II foram identificados casos autóctones de LTA em todas as localidades estudadas e os possíveis determinantes na transmissão da doença podem ser:

- ocorreu adaptação dos flebotomíneos vetores aos ambientes peridomiciliares, com o predomínio das espécies implicadas na veiculação dos agentes da LTA nestes ambientes, após desmatamentos provocados por ações antrópicas ligadas à agricultura e pecuária e alterações ambientais provocadas pela construção das hidrelétricas na região;
- existem fatores de atração aos flebotomíneos tais como: animais silvestres (gambás, tatu, macacos e outros) e domésticos (cães, gatos, aves, suínos, bovinos e eqüinos), em todas localidades;
- existência de instalações para criação dos animais, com presença de muita matéria orgânica próximas às residências, em geral a menos de 300 metros.
- as ocupações da população nas localidades são ligadas à agricultura e pecuária, como atividades próximas a remanescentes de mata;
- são realizadas atividades de lazer, como caçar, pescar e nadar em áreas de potencial risco de transmissão;
- casas sem proteção contra a entrada de vetores e estão relativamente próximas à remanescentes de matas, ou instalações para animais domésticos;
- a população em geral desconhece os aspectos da transmissão e prevenção da LTA e não desenvolve ações preventivas em relação ao contato com os flebotomíneos;
- permanência no peridomicílio, principalmente das mulheres, que residem há longo tempo nas localidades.

Em relação às variáveis climáticas: Os fatores climáticos também influenciaram na dinâmica dos vetores, que apresentaram maior abundância e diversidade durante o ano de 2004, quando também se verificou a maior média anual de pluviosidade e umidade relativa do ar.

Em relação à fauna flebotomínea identificou-se que:

- compõe-se de 15 espécies, com predomínio das vetoras de agentes de LTA: *Ny. neivai*, que foi a mais abundante, seguida de *Pi. pessoai*, *Ny. whitmani*, *Mg. migonei* e *Pi. fischeri*;
- a maior riqueza de espécies e abundância foi observada na localidade de Porto Almeida, na Fazenda São José, devido à presença de mata bem preservada;
- as espécies vetoras apresentaram picos de ocorrência em várias épocas do ano, demonstrando que estão bem adaptadas às áreas em estudo;
- em geral, *Ny. neivai* apresentou as maiores médias. Abril destaca-se como um dos meses de frequências mais elevadas para as três localidades. Sua maior média horária foi registrada das 19:00-20:00 h, mas mostrou-se ativa até às 10:00 h da manhã. *Pi. pessoai* foi a segunda mais abundante e *Ny. whitmani*, a terceira, não apresentaram um padrão comum de sazonalidade entre as localidades. Ambas apresentaram atividade a partir das 19:00 h, com o maior pico das 06 – 07 h da manhã; e
- um fator importante que difere de outros estudos, diz respeito à ocorrência dos vetores em horários das 4:00 – 9:00 h da manhã. Portanto, deve ser considerada a prevenção, como o uso de repelentes também nestes períodos.

Em relação aos Inquéritos de soro-prevalência das populações amostradas:

- a prevalência de soro-reagentes humanos a anticorpos da classe IgG, em RIFI, considerando-se os títulos ≥ 40 , foi de 6,73%, sem diferença estatisticamente significativa entre os sexos. Todavia foi bem mais elevada na etnia parda do que na branca, com diferença estatisticamente significativa, sobretudo para os homens. A maior parte dos indivíduos reagentes tem idade acima de 41 anos, e a maior prevalência foi observada na faixa de 71 anos ou mais;

- a localidade de São Joaquim do Pontal apresentou a maior prevalência, seguida Porto Almeida e Itambaracá. Todavia a diferença nas prevalências não foi estatisticamente significativa;
- na população canina amostrada constatou-se a razão machos/fêmeas de 2,8:1,0, com predominância de cães sem raça definida e na faixa etária de 3-4 anos. Apenas cinco cães foram reagentes em RIFI, com título de Ac totais ≥ 40 , resultando em uma soro-prevalência de 1,75%;
- no Ensaio Imuno Enzimático (EIE), 47 cães foram reagentes, resultando soro-prevalência de 16,49 %. A maioria dos animais reagentes foi identificada em São Joaquim do Pontal (SJP), seguida pela Vila Rural e Porto Almeida;
- EIE/ELISA no presente estudo mostrou-se 89,4% mais reagente que a RIFI;
- nos 50 eqüídeos amostrados a razão machos/fêmeas foi de 3,17:1,0, predominaram os animais sem raça definida e com idades de 8-9 anos. Sete animais foram reagentes a Ac totais em RIFI, com título ≥ 40 , resultando em uma prevalência de 14 %; a elevada prevalência de reagentes em eqüídeos sugere a possibilidade de seu emprego como animais sinalizadores na detecção precoce da circulação da leishmânia na área.

Em relação ao inquérito molecular:

- todos cremes leucocitários (CL) correspondentes às amostras dos soros reagentes a anticorpos da classe IgG em humanos e Ac totais em caninos e eqüinos, em RIFI, foram submetidos à PCR e resultaram negativos . Portanto não foi possível determinar a *Leishmania* spp circulante pelo protocolo utilizado;

Sobre o inquérito sócio econômico-cultural e das condições ambientais:

- a maior parte da população entrevistada pertence à etnia branca, com renda em torno de dois a quatro salários mínimos, idade variável, predominando a faixa de 30-50 anos, com ocupações na sua maioria voltadas à atividades agrícolas e pecuárias, com nível de escolaridade de ensino fundamental e médio, em geral habitam casas de alvenaria, com telhas de barro e piso de cimento e possuem anexos à casa, na maior parte, galinheiros e chiqueiros;

- os entrevistados, habitam áreas com matéria orgânica nas proximidades ou próximas a residuais de matas e de vegetação arbustiva;
- muitos realizam atividades de lazer como passeios em matas, pesca e caça, e também tem hábitos de sair à noite;
- em relação à presença de animais, nas áreas urbanizadas predominam cães, gatos e aves e nas rurais, cães, aves, suínos, bovinos e eqüinos;
- a maior parte da população entrevistada, desconhece os aspectos ligados à transmissão e prevenção da LTA. São necessárias, portanto, ações de intervenção nas localidades;
- sugere-se sensibilizar a população em áreas de risco, esclarecendo os aspectos da transmissão, sintomas e prevenção à doença, através de palestras, folhetos e ação local dos órgãos de saúde e parcerias com instituições de ensino;
- deve-se enfatizar a prevenção individual, como o uso de repelentes uso de roupas de mangas compridas e calças, em atividades de trabalho ou lazer, especialmente nos horários de maior atividade dos flebotomíneos a partir das 18:00 h até o amanhecer e a qualquer período do ano;
- como ações ambientais, recomenda-se a remoção de capões de mata muito próximos aos domicílios, telas nas portas e janelas, pulverização periódica nas casas com inseticidas, principalmente em períodos quentes, com maior umidade. Manter afastados galinheiros, chiqueiros e currais, assim como dejetos e matéria orgânica por aproximadamente 250 m da residência.

8. REFERÊNCIAS:

Aguiar GM, Vilela ML, Ferreira VA, Santos, TG. Ecologia dos flebótomos em um recente caso ativo de leishmaniose tegumentar no norte do Estado do Paraná (Diptera:Psychodidae, Phebotominae). Mem Inst Oswaldo Cruz 1989; supl 4:7-8.

Aguiar GM, Medeiros WM. Distribuição regional e habitats das espécies de flebotomíneos do Brasil. In Rangel EF e Laison R, Coordenadores. Flebotomíneos do Brasil..Rio de Janeiro; Fiocruz.; 2003.

Alexander B. Dispersal of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a Colombian coffee plantation. J Med Entomol. 1987; 24 (5) 552-558.

Alexander B, Young DG. Dispersal of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a Colombian focus of *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1992; 87(3): 397-403.

Andrade-Filho JD, Galati EAB, Falcão AL 2007. *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) and *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) geographical distribution and epidemiological importance. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007; 102(4):481-487.

Ashford RW.The leishmaniasis as a emerging and reemerging zoonoses. Int J Parasit. 2000; 30:1269-1281.

Barbosa GMS; Marzochi MCA; Massard CL; Lima GPS; Confort EM; Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar em cães, no município de Paraty, estado do Rio de Janeiro, Brasil. Cad Saúde Pública 1999; 15:61-6.

Barral A; Sampaio DP; Grimaldi JR G; Momen H.; Pratte, DMM; Jesus AR, Almeida R; Badaró Netto MB; Carvalho EM e Johnson-JR WD. Leishmaniasis in

Bahia, Brazil. Evidence that *Leishmania amazonensis* , produces a wide spectrum of clinical diseases. Amer J Trop Med Hyg. 1991; 44:536-46.

Barreto, MP. Observações sobre a biologia, em condições naturais dos fleblótomos do Estado de São Paulo (Díptera, Psychodidae);. [Tese de Concurso de Livre Docência]; São Paulo: Faculdade de Medicina/USP ; 1943.

Barreto AC Cuba C.C.; Vexenat J.A.; Rosa A.C., Mariden P.D.; Magalhães A.V. Características epidemiológicas da leishmaniose tegumentar americana em uma região endêmica de Estado da Bahia. Leishmaniose canina. Rev Soc Bras Med Trop 1984; 17. 59-65.

Brasil. Ministério da saúde –Secretaria de Vigilância em Saúde- Setor de Vigilância Epidemiológica. Atlas de Leishmaniose tegumentar Americana: diagnóstico clínico e diferencial , Editora do Ministério da Saúde 136 p.;2006.

Campbell-Lendrun D; Dujardin JP; Martinez E; Feliciangeli MD; Perez JE; Silans LN; Desjeux P. Domestic and peridomestic transmission of American cutaneous leishmaniasis: changing epidemiological patterns present new control opportunities. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001; (96), 159-162.

Casanova C; Mayo RC; Rangel O,Mascarin LM; Galati EAB & Gomes AC. Natural *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva) infection in the Valley of the Mogi Guaçu River, State of São Paulo, Brazil. Bol Dir Malariol San Amb1995; 35 (suppl.1) 77-84.

Casanova C, Costa AIP, Natal D. Dispersal pattern of the sand fly *Lutzomyia neivai* (Diptera: Psychodidae) in a cutaneous leishmaniasis endemic rural area in Southeastern Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2005; 100 (7): 717-724.

Castro E.A. Aspectos epidemiológicos e parasitológicos da leishmaniose tegumentar em duas regiões do Estado do Paraná, e o papel do cão na manutenção do ciclo das Leishmanias. Curitiba; [tese de doutorado]. Universidade Federal do Paraná.

Castro EA; Thomaz-Soccol, V; Membrive N.; Luz E. Estudo das características epidemiológicas e clínicas de 332 casos de Leishmaniose tegumentar notificados na região norte do Estado do Paraná de 1993 a 1998. Rev Soc Bras Med Trop 2002; 35;445-52.

Consolin J; et al. Flebotomos da área do reservatório da hidroelétrica de Itaipu, Estado do Paraná, Brasil (Díptera, Psychodidae). Cad de Saúde Pública. 1990; 6:86-9.

Costa JML; Vale KC; Cecilia IN; Osaki NKM; Neto EM, Tada MS; França F; Barreto, MC & Marsden, PD. Aspectos psicossociais e stigmatizantes na leishmaniose cutâneo mucosa. Rev Soc Bras Med Trop. 1987; 20:77-82.

Coutinho SG; Marzochi MCA; Souza WJS; Amendoeira MR. Leishmaniose Tegumentar Americana. J Bras Med.1981. 41: 104-19.

Dedet JP. *Leishmania* et leishmanioses du continent américain. Ann Inst Pasteur/ actual 1993; 4 (1): 3-25.

Falqueto A, Coura Jr.;Barros GC; Grimaldi Jr. G.; Sessa PA; Carias VRD;Jesus AC & Alencar, JTA. Participação do cão na transmissão da leishmaniose tegumentar no município de Viana, Estado do Espírito Santo, Brasil. Mem Inst Oswaldo Cruz.1986; 81 (2): 155-63.

Forattini OP. Entomologia médica Faculdade de Hygiene e Saúde Pública: Universidade de São Paulo; 1973.

Forattini OP. Algumas observações sobre biologia de flebótomos (díptera, Psychodidae) em região da bacia do rio Paraná (Brasil) [Tese de Livre –Docência] São Paulo :Faculdade de Saúde Pública da USP; 1954.

Furtado T. Critérios para o diagnóstico de Leishmaniose Tegumentar Americana. Na Bras Dermat. 1980; 52:81-86.

Fundação Nacional de Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica para Leishmaniose Tegumentar Americana. 5ª ed. Brasília (DF); 2000.

Galati EAB, Morfologia e taxonomia- Classificação de Phlebotominae In: Rangel, EF et al., organizadores. Flebotomíneos do Brasil. 1ª ed. Rio de Janeiro. Editora Fiocruz; 2003.

Galati EAB. Morfologia, terminologia de adultos e identificação dos táxons da América. In EF Rangel, R Lainson, Flebotomíneos do Brasil, Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 53-175; 2003b.

Galati EAB, Nunes VLB, Dorval MEC, Cristaldo G, Rocha HC, Gonçalves-Andrade RM, Naufel G. Attractiveness of black Shannon trap for phlebotomines. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001; 96(5): 641-7.

Galati, EAB. Phlebotominae (Díptera, Psychodidae). Biologia, classificação, terminologia, morfologia e identificação de adultos. Apostila do curso de Entomologia Médica- Departamento de Epidemiologia. Faculdade de Saúde Pública, S. Paulo; 193p; 2000.

Galati EAB; Nunes VL, Dorval, MRC; Boggiani PC, Shaw JJ, Cristaldo J; Rocha HC; Andrade, RMG; Oshira ET; CASANOVA, C; Naufel G. Ecological aspects of the phlebotomine fauna from Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul State, Brasil. Programme & Abstracts of the 3rd International Symposium on phlebotomine sandflies. Montpellier, 1999; P-36.

Galati, EAB; Nunes, VL; Dorval MEC; Oshiro ET; Cristaldo G., Espondola MA; Rocha HC & Garcia WB. Estudo dos flebotomíneos (díptera, Psychodidae) em área de leishmaniose tegumentar, no Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. Rev Saúde Pública.1996; 30 (2): 115-28.

Galati EAB. Phylogenetic systematics of Phlebotominae (Díptera, Psychodidae) with emphasis in American groups. Bol Dir Malariol y San Amb.1995; 35 (Suppl.1): 133-142.

Gomes, AC. Perfil epidemiológico da leishmaniose tegumentar no Brasil. An Bras Dermat 1992; 67(Suppl. 2), 55-60.

Gomes AC. Sandy fly vectorial ecology in the State of São Paulo. Mem Inst Oswaldo Cruz .1994; 89: 457-60.

Gomes AC, Galati, EAB. Flebotomíneos de Londrina, Paraná (Brasil) e observações ecológicas sobre algumas espécies. Rev Saúde Pública. 1977; 11:284-287.

Gomes AC, Barata JMS, Rocha &Silva EO, Galati EAB. Aspectos da leishmaniose Tegumentar Americana. Fauna flebotomínica antropófila de matas residuais situadas na região centro-nordeste do Estado de S. Paulo, Brasil. Rev Inst Med Trop São Paulo.1989; 31 (1): 32-9.

Gontijo CMF et al .The finding of one male specimen of *Lutzomyia renei* (Martins, Falcão & Silva, 1957) experimentally infected by leishmania. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1987; 82: 445.

Guimarães MCS; Giovannini VL, Camargo ME; Antigenic standartization for mucocutaneus leishmaniasis immunofluorescence test. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1974; 16:145-8.

Haddow AJ. Studies on the biting-habits and medical importance of East African mosquitos in the genus *Aedes*. I. Subgenera *Aedimorphus*, *Banksinella* and *Nunnius*. Bull Entomol Res. 1960; 50: 759-779.

Hayek LAC, Buzas MA. Surveying Natural Populations. Columbia University Press, New York, p. 347-389; 1997.

Iversson LB, Camargo MR, Villanova A, Reickmann MLAB, Andrade EA, Tolezano JE. Inquérito sorológico para pesquisa de leishmaniose visceral em população canina do Município de São Paulo, Brazil (1979 – 1982). Rev Inst Med Trop São Paulo. 1983; 25: 310-317.

Jesus JR, Araújo FAP, Spalding F, Tiecher F. Avaliação sorológica de anticorpos para *Leishmania* spp, na população canina em região de foco de leishmaniose tegumentar americana na Lomba do Pinheiro, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Parasitol Latinoam.2006; 61:121-125.

Kaneto CN. Aspectos da transmissão da leishmaniose visceral no município de Mirandópolis, região noroeste do Estado de São Paulo [tese de Doutorado]. São Paulo :Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2001.

Laison R, Shaw JJ. Evolution, Classification and geographical distribution. In: Peter W, Killick-Kendrick R, editors. The leishmaniasis in biology and medicine. London: Academic Press; 1987.

Lainson R, Shaw JJ. New World leishmaniasis,. In: COX FEG, Kreier JP, Wakelin D, editors. Topley & Wilson's Arnold. Microbiology and Microbial Infections, Parasitology, London, Sydney, Auckland;. p.313-349; 2005.

Lemos JL, Lima SC, Neto AAP, Casagrande B, Vieira GSC, Ferreta JÁ, Magalhães MJO. Encontro de *Lutzomyia longipalpis*, na área de implantação da Usina

Hidrelétrica Capim Branco I, na bacia do rio Araguari, no Município de Uberlândia, Minas Gerais- Brasil. *Caminhos da Geografia*; 12(11):186-198; 2004.

Lima AP, Minelli L, Comunello E, Teodoro U. Distribuição da leishmaniose tegumentar por imagens de sensoriamento remoto orbital, no Estado do Paraná, sul do Brasil. *An Bras Dermatol*. 2002; 77:681-92.

Lonardoni MVC; Silveira TGV; Alves WA; Maia-Elkoury ANS; Membrive UA; Membrive NA; Rodrigues G, Reis N; Zanzarini PD; Ishikawa E; Teodoro U. Leishmaniose tegumentar americana e canina no município de Mariluz, Estado do Paraná, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2006; 22(12): 2713-2716

Luz E, Membrive N, Castro EA, Dereure J, Prationg F, Dedet A, Pandey A, Soccol VT. *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) as vector of *Leishmania* (V.) *braziliensis* in Paraná State, southern Brazil. *An Trop Med Parasit*. 2000; 94:623-631.

Madeira MF, Serra CMB, Uchoa CMA, Duarte R, Cruz DAM, Perdomo, CC. Leishmaniose canina: avaliação sorológica de 310 cães na região de Itaipu, Rio de Janeiro. *Cad Saúde pública*. 2000; 16:568.

Marcondes CB, Lozovei AL, Vilela JH. Distribuição geográfica de flebotomíneos do complexo *Lutzomyia intermedia* (Lutz & neiva, 1912) (Diptera, Psychodidae). *Rev. Soc Bras Med Trop*. 1998; 31(1):51-58.

Marcondes CB. Redescription of *Lutzomyia* (*Nissomyia*) *intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) and resurrection of *L. neivai* (Pinto, 1926) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1996; 91:457-462.

Marzochi MCA, Coutinho SG, Sabroza PC, Souza WJS. Reação de imunofluorescência indireta e intradermoreação para leishmaniose tegumentar

americana em moradores na área de Jacarepaguá (Rio de Janeiro). Estudo comparativo entre 1974 e 1978. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1980; 22:149-155.

Marzochi MCA, Marzochi KBF, Carvalho RW. Leishmanioses tegumentar e visceral no Brasil Antropozoonoses emergentes e perspectivas de controle. Cad Saúde Pública. 1994; 10 Supl 2: 359-75.

Maroli M, Feliciangeli MD, Arias J. Metodos de captura, conservacion y montaje de los flebotomos (Diptera: Psychodidae).Informe Técnico. OPS/HCP/HCT/95/97, 72pp. 1997

Marzochi MCA. Leishmanioses no Brasil. As leishmanioses tegumentares. JBM 1992; 63 (5/6):82 – 104.

Massafera R, Silva AM, Carvalho AP, Santos DR, Galati EAB, Teodoro U. Fauna de flebotomíneos do município de Bandeirantes, no Estado do Paraná. Rev Saúde Pública 2005; 571-75.

Morrison AC, Ferro C, & Tesh R. Dispersal of the sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera Psychodidae) at an endemic focus of American visceral leishmaniasis in Colombia . J Med Ent. 1993; 30 (2):427-35.

Moura RC S. Programa de educação em saúde e vigilância epidemiológica associado à expansão da obra de complementação da UHE Tucuruí. ELETRONORTE; 1998.

Moura RCS. Elevação do nível d'água operacional do reservatório da UHE Tucuruí para a cota 74,00 m - Plano de ações ambientais - Diagnóstico de saúde dos municípios a jusante. ELETRONORTE, 2001.

Muniz LHG, Rossi RM, Neitzke HC, Monteiro WM, TeodoroW. Estudo dos hábitos alimentares de flebotomíneos em área rural no sul do Brasil. Rev Saúde Pública. 2006 .40 (6): 1087-1093.

Neves VFLC. Características da transmissão da leishmaniose tegumentar americana no Estado de São Paulo, Brasil. [dissertação de mestrado] São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP;1999.

Nunes VLB. Condicionantes para a transmissão de leishmanioses em assentamento agrícola do Incra e adjacências, Planalto da Bodoquena, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, 1998-1999. [Tese de doutorado] São Paulo:Faculdade de Saúde Pública da USP; 2001.

Oliveira FAZ, Heukelbach J, Moura RCS, Ariza L, Ramos Jr. NA, Gomide M. Grandes represas e seu impacto em saúde pública : efeitos a montante (Impact of large dams on Public Health I: upstream effects).Cad Saúde Coletiva.2006; 14 (4): 575 - 596.

Oliveira-Neto MP, Pirmez C, Rangel E, Schubach A, Grimaldi Jr. G. An outbreak of american cutaneous Leishmaniasis (*Leishmania braziliensis braziliensis*) in a periurban area of Rio de Janeiro City, Brazil: clinical and epidemiological studies. Mem Inst Osvaldo Cruz. 1988; 83:427-35.

Paiva BR, Passos LN, Falqueto A, Malafronte RS, Andrade JR HF.Single step polymerase chain reaction (PCR) for the diagnosis. Rev Inst Med Trop S Paulo 2004; 46(6): 335-338.

Paiva BR, Secundino NFC, Nascimento JC, Pimenta EAB, Andrade Junior HF, Malafronte RS. Detection and identification of *Leishmania* species in field-captured phlebotomine sandflies based on mini-exon gene PCR. Acta Tropica 2006; 99: 252-259.

Pessôa SB, Coutinho JO. Infecção natural e experimental dos flebótomos pela *Leishmania braziliensis* no Estado de São Paulo. Hospital .1941; 20: 25-35.

Pinheiro MFB. Problemas sociais e institucionais na implantação de Hidrelétricas: seleção de casos recentes no Brasil e casos relevantes em outros países [dissertação de mestrado].Campinas: Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas; 2007.

Pirmez C, Coutinho SG, Marzochi MCA, Grimaldi Jr G. Canine American cutaneous leishmaniasis: a clinical and immunological study on dogs naturally infected with *Leishmania braziliensis* in an endemic area of Rio de Janeiro, Brazil. Am J Trop Med Hyg. 1988; 38:52-8.

Pita-Pereira, D, Alves CR; Souza MB; Brasil RP; Bertho AL; Barbosa AF, et al. Identification of naturally infected *Lutzomyia intermédia* and *Lutzomyia migonei* with *Leishmania (Viannia) braziliensis* in Rio de Janeiro (Brazil) revealed by a PCR multiplex non-isotopic hybridization assay. Trans R Trop Med Hyg. 2005; 99:905-13.

Queiroz RG, Vasconcelos IA, Vasconcelos AW, Pessoa FA, Souza RN, David JR. Cutaneous leishmaniasis in Ceará state in northeastern Brazil: incrimination of *Leishmania braziliensis* in Baturité municipality. Am J Trop Med Hyg. 1994; 50(6):693-8.

Rangel E, Laison R. Ecologia das Leishmanioses. In Rangel EF e Laison R, Coordenadores .Flebotomíneos do Brasil .Rio de Janeiro: Fiocruz,. p.291-311; 2003.

Roberts DR, Hsi BP. An index of species abundance for use with mosquito surveillance data. Environ Entomol.1979; 8(6): 1007-13.

Santos GPL, Sanavria A, Marzochi MCA, Santos EGOB, Silva VL, Pacheco RS et al. Prevalência da infecção canina em áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar americana, no município de Paracambi, Estado do Rio de Janeiro, no período entre 1992 e 1993. Rev Soc Bras Med Trop. 2005; 38:161-6.

Santos JB, Lauana L, Souza CS, Macedo UO. Fatores sócio econômicos e atitudes em relação à prevenção domiciliar da Leishmaniose Tegumentar Americana, em área endêmica no sul da Bahia. Cad. Saúde Pub. 2000;16 vol 16 (3): 701-708.

Santos SO, Arias J, Ribeiro AA, Hoffmann MP, Freitas RA, Malacco MAF. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American visceral leishmaniasis. Med Vet Entomol. 1998; 12: 315-7.

Schubach A, Marzochi M, Araújo ML, Conceição NF.. Healed lesion of cutaneous leishmaniasis- a positive culture for *Leishmania sp*, the scar tissue years after cure. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1987; 82:187.

Savani ESMM. Inquérito sorológico sobre leishmaniose tegumentar Americana em cães errantes do município de São Paulo, 1995-1996. [dissertação de mestrado] São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 1998.

Savani ESMM. Aspectos da transmissão de leishmanioses no assentamento Guaicurus, Planalto da Bodoquena, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, 2002-2003. [tese de doutorado] São Paulo:Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2004.

Savani ESMM; Galati EAB; Camargo MCGO; D'Auria SRN; Damasceno JT; Balduino AS. Inquérito sorológico sobre leishmaniose tegumentar americana em cães errantes no Estado de São Paulo, Brasil. Rev Saúde Pública. 1999; 33(6):629-31.

Service MW. Mosquito Ecology. Field Sampling Methods. 2ed. Chapman & Hall; 1993.

Sherlock IA, Importância Médico Veterinária. Flebotomíneos do Brasil./ In Rangel EF e Laison R, Coordenadores Flebotomíneos do Brasil Rio de Janeiro: Fiocruz,. p.15-21; 2003.

Silva RM. Estudo comparativo entre os métodos elisa e imunofluorescência indireta na análise de amostras de sangue de cães provenientes de municípios endêmicos e enzoóticos para leishmaniose visceral americana [tese de Doutorado] São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2005.

Silveira TGV, Arraes SMAA, Pereira DS, Lonardoni MVC, Dias MLGG, Ramos, M, Bertolini DA, Fressati R, Misuta NM. Avaliação da reação de imunofluorescência indireta para leishmaniose tegumentar americana em pacientes da região noroeste do Estado do Paraná. Rev Unimar. 1990 a; 12:177-188.

Silveira TGV, Teodoro U, Arraes SMAA, Lonardoni MVC, Dias, MLCG, Shaw JJ, Ishikawa EAY, Lainson R. An autochthonous case of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Leishmania) amazonensis* Lainson e Shaw. 1972 from the north of Parana state Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1990b; 85 475-6.

Silveira TGV, Teodoro U,; Lonardoni MVC, Guilherme ALF, Toledo MJO, Ramos M, Arraes SMAA, Bertolini DA, Spinoza RT, Barbosa OC. Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose Tegumentar em área endêmica do Estado do Paraná, Brasil. Cad Saúde Pública. 1996; 12(2): 89-93.

Silveira TGV; Arraes SMAA; Bertolini DA; Teodoro U.; Lonardoni MVC; Roberto ACBS, et al. Observações sobre o diagnóstico laboratorial e a epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana no Estado do Paraná, sul do Brasil, Rev Soc Bras Med Trop. 1999; 32:413-23.

Silveira FT, Ishikawa EA, Souza AA, Lainson R. An outbreak of cutaneous leishmaniasis among soldiers in Belem, Para State, Brazil, caused by *Leishmania (Viannia) lindenbergi* n. sp. A new leishmanial parasite of man in the Amazon region. J Parasite. 2002; 9(1):43-50.

Teodoro U, Santos DR, Santos AR, Oliveira O, Poiani LP, Silva A.M, Neitzke HC, Monteiro WM, Lonardoni MC, Silveira TGV. Informações preliminares sobre flebotomíneos no norte do Paraná. Rev Saúde Pública. 2006; 40(2).

Teodoro U, Alberton D, Kühl JB, Santos ES, Santos D, Santos AR et al. Ecologia de *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* em área urbana do município de Maringá, Paraná. Rev Saúde Pública. 2003; 37(5) 651-656.

Teodoro U, La Salvia V, Lima EM, Spinosa RP, Misuta NM, Versignassi TG, Ferreira MEMC. Leishmaniose Tegumentar Americana: flebotomíneos na área de transmissão no Norte do Paraná, Brasil. Rev Saúde Pública. 1999; 25:(2) 129-133.

Teodoro U, La Salvia V, Lima EM, Spinosa RP, Barbosa OC, Costa MEM, Lonardoni MVC. Observações sobre o comportamento de flebotomíneos em ecótopos florestais e extraflorestais, em área endêmica de leishmaniose tegumentar americana, no norte do Estado do Paraná, sul do Brasil. Rev Saúde Pública. 1993; v.27 (4) 129-133.

Tetteh IK, Frempong E, Awuah E. An analysis of the environmental health impact of the Barekese Dam in Kumasi, Ghana. J Environ Manag. 2004; 72(3): 189 - 194.

Tubaki RM; Menezes RM; Cardoso Jr, RP, Bergo ES. Studies on entomological monitoring: mosquito species frequency in riverine habitats of the Igarapava Dam, Southern Region, Brazil. Rev Inst Med Trop S Paulo. 2004 46(4): 223 - 229.

Walsh JF, Molyneux DH, Birley MH. Deforestation: effects on vectorborne disease. *Parasit.* 1993; 106, Supl: S55-S75.

Walton BC. American Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *The leishmaniasis*. Vol. II. London: Academic Press. 1987.

Werner D. Psycho-social stress and the construction of a flood-control dam in Santa Catarina, Brazil. *Human Organization* 1985; 44 (2):161 - 167, 1985.

World Commission on Dams. Dams and development: a new framework for decisionmaking. London and Sterling: Earthscan Publications, 2000.

World Health Organization (WHO). Manual environmental management for mosquito control with especial emphasis on malaria vectors. Offset publication. Geneva, 66:288p, 1982

World Health Organization (WHO). Lutte contre les leishmanioses. Rapport d'un comité OMS d'Experts. *Organization Mondiale de la santé. Série de Rapports Techniques* 1990; 793:1-176.

World Health Organization (WHO). 2004. Leishmaniasis disease information. Who /TDR 2004.

World Health Organization. Human health and dams: the World Health Organization's submission to the World Commission on Dams (WCD). Geneva: World Health Organization, 39p; 2000.

[WWW.paranacidades.gov.pr](http://www.paranacidades.gov.pr). Município de Itambaracá-Pr. Características geográficas e físicas. Histórico. Acesso em 15/07/2006.

Yamana T. The impacts of dams and reservoirs on Public Health. Report nº.1096.2004. Disponível em: <<http://web.mit.edu/eltahir/www/Makana/ppt/>>

merowe_health.ppt>.Acesso em: jul. 2007.

Zanzarini PD, Santos DR, Santos AR; Oliveira O, Poiani LP, Lonardoni MVC, Teodoro U, Silveira TGV. Leishmaniose tegumentar americana canina em municípios do norte do Estado do Paraná, Brasil. 2005. Cad Saúde Pública. 2005; 21 (6): 1957-1961.

ANEXOS

ANEXO 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Título da Pesquisa: *Estudo Epidemiológico da LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA (LTA) e de fatores determinantes para a sua transmissão no município de Itambaracá, Estado do Paraná, Brasil, em áreas limítrofes de regiões alagadas e impactadas pelo complexo hidrelétrico Canoas I e II (Divisa dos Estados PR e SP), no período de 2005 - 2006*

Sou professora das Faculdades Luiz Meneghel de Bandeirantes, Paraná e aluna do curso de Pós Graduação em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Sob a orientação da professora Eunice A. Bianchi Galati estamos realizando uma pesquisa na região de Itambaracá, que será tema de minha tese de Doutorado, sobre uma doença chamada de leishmaniose, mais conhecida como “ferida brava”, porque aparece como feridas na pele e às vezes na boca e nariz. Também pode ocorrer em cães e cavalos.

As feridas são difíceis de sarar sem um tratamento correto, que é feito com injeções de remédio próprio para a doença, aplicadas pelo posto de saúde.

Esta doença é causada por parasitas muito pequenos, só possíveis de serem visto no microscópio, que penetra no sangue pela picada de um mosquito conhecido como “birigui”, “mosquito palha” ou “asa dura”.

Quando a fêmea do mosquito pica um animal que tem os parasitas no sangue e depois pica uma pessoa, ela pode transmitir a doença ou não para esta pessoa. E, só é possível saber se ela foi contaminada pelos parasitas se for feito um exame do seu sangue. Isto é importante saber, porque estes parasitas, às vezes, não causam a ferida na hora da picada, mas podem ficar no corpo e depois de alguns anos, aparecem as feridas na pele, na boca ou no nariz, deixando cicatrizes profundas ou deformações nas partes afetadas.

Para realização desta pesquisa, faremos coletas de insetos em alguns lugares, para ver se ocorrem os mosquitos que transmitem esta doença.

Para sabermos se as pessoas estão ou já foram infectadas pelos parasitas teremos que colher uma amostra de 10ml de sangue de veia delas, que provocará um certo desconforto, mas nenhum risco.

Também colheremos sangue dos cães e cavalos. Das pessoas que tiverem feridas difíceis de curar, teremos que colher material destas feridas para saber se o parasita da ferida brava está presente. Se houver feridas em animais, o material também deverá ser colhido.

Também iremos fazer algumas perguntas sobre dados pessoais do(a) Senhor(a) e como o Sr.(a) vive.

A coleta de sangue ou do material das feridas se for o caso, será feita por pessoas treinadas, com material descartável, não oferecendo nenhum risco de passar doenças.

Não haverá custo para o(a) Sr(a) para a realização dos exames, e o Sr.(a) receberá o resultado.

Somente ao Senhor ou à Senhora será entregue o resultado dos exames. Para a publicação da pesquisa, o resultado do seu exame somente será divulgado na forma de número, ou seja, não aparecerá o seu nome, nem o seu endereço. Usaremos os resultados para divulgar o trabalho, mas seu nome nunca será citado.

Caso encontremos a doença no Senhor (a) estaremos indicando um local para que seja tratado. A sua participação é muito importante pois os resultados irão permitir que façamos muitas coisas para prevenir a doença.

Assim, convido o(a) Senhor(a) para participar desta pesquisa. Caso concorde em participar da pesquisa, pedimos a gentileza de responder a algumas questões e assinar o termo, em anexo.

Se não desejar participar da pesquisa não haverá problema algum e mesmo participando o(a) Sr(a) estará livre para desistir a qualquer momento.

Esclarecemos que os resultados serão úteis para orientar as pessoas sobre a prevenção da doença, encaminhar os casos detectados para tratamento no posto de saúde local e desenvolver ações de educação e prevenção contra essa grave doença, evitando que se transmita em nosso meio.

Caso o Sr.(a.) queira obter mais informações sobre a pesquisa encontram-se abaixo nossos endereços e telefones.

Desde já, agradecemos a sua participação.

Eu, abaixo descrito e assinado, declaro que fui esclarecido(a) sobre a pesquisa e concordo em participar da mesma, respondendo a questões que forem formuladas e autorizo a retirada de material biológico do meu corpo, sangue, e se necessário, fragmento de lesão(ões) para o diagnóstico de leishmaniose.

Nome: _____

Endereço: _____

Cidade: _____ Estado: _____

Documento: _____

Data: ____/____/____ Itambaracá - PR

Assinatura

MARIZA FORDELONE ROSA CRUZ
Profa Msc Adjunta/Doutoranda FSP/USP
Faculdade Estadual Luiz Meneghel- UNESPAR
Departamento de Med. Veterinária
Br 369 / Km 2 Tel: (43) 542-8040
End. (Res).R. Alcides S. Guerra, 215
Tel. (Res) (43) 542-2286- Bandeirantes Pr
E-mail: fordello @ usp.Br

EUNICE A BIANCHI GALATI
Professora Doutora
Faculdade de Saúde Pública-USP
Departamento de Epidemiologia
Av. Dr. Arnaldo, 715, São Paulo
Tel. (11) 3066 7786.
E-mail: egalati@usp.br

ANEXO 2

QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO – LEISHMANIOSE N.____**CADASTRO DOS MORADORES LOCALIDADE:** _____

01. Lote n.____Casa ____02. Data ____/____/____ 03. Entrevistador_____

04. Nome: _____

05. Endereço: _____

06. Sexo: M() F() 07. Cor: _____ 08. Data

Nascimento: ____/____/____

09. Filiação:

Pai _____

Mãe _____

10. Relação com o chefe da família:

Próprio () Esposo (a) () Filho (a) () Enteadado (a) () Neto (a) () Genro ()

Nora () Pai () Mãe () Empregado (a) () Outro vínculo () _____

11. Tempo de residência: _____ 12. Local de origem: _____

13. Ocupação Principal: _____

14. Ocupação secundária/extra: _____

15. Horários de trabalho: _____

16. Locais de trabalho: mata () pasto () capoeiras () plantações ()

margem rio/ córregos () currais () pocilgas () aviários () piscicultura ()

outros () _____

17. Local onde costuma fazer necessidades fisiológicas:

Banheiro: dentro casa () Fora de casa () Outro () especificar: _____

Privada de fossa: no quintal () sobre curso d'água ()

A céu aberto em : quintal () plantação () mata () cerrado () mato ()

18. Local onde costuma tomar banho:

Banheiro: dentro casa () fora de casa ()

Rio () Riacho () Rego d'água () Lagoa () Açude () outro () _____

19. Atividades de lazer:

Caça () horário : _____ Locais: _____

Pesca () horário : _____ Locais: _____

Caminhadas próx. matas () horário : _____ Locais: _____

Passeios / matas/ cachoeiras () horário : _____ Locais: _____

Acampamentos/ rancho () horário : _____ Locais: _____

Atividades esportivas: futebol () vôlei () natação () outros () _____

horário : _____ Locais: _____

20. Localização da residência :

Próximo a : córregos () matas () curral () chiqueiro () galinheiro () água
céu aberto () minas () açude () fossas () capoeiras, mato () outros () ____

21. Hábitos alimentares:

Alimentos	Regular	As vezes	Esporadicamente	Nunca	Quantidade /diária
Carnes /peixe					
Aves e ovos					
Cereais/ Pães					
Frutas/ doces					
Verduras/legumes					
Leite e derivados					
Cigarro /fumo					
Álcool					

Aspectos clínicos:

22. Apresenta cicatriz compatível com leishmaniose tegumentar pregressa?

Não () Sim () Onde? _____ Número: _____

23. Apresenta cicatriz compatível com leishmaniose tegumentar?

Não () Sim () Onde? _____ Número: _____

24. Apresenta manifestação clínica compatível com leishmaniose visceral?

Não () Sim () Quais? _____

25. Alguma pessoa da família ou amigos já tiveram sintomas de leishmaniose?

Não () Sim () Quem? _____

26. Se houver sintomas compatíveis com leishmaniose, qual possível local de

infecção?Pescaria () Caçada () Passeios () Prática esportes () Outros ()

horário : _____ Locais: _____

27. Outras pessoas que freqüentaram as mesmas localidades apresentaram sintomas?

Não () Sim () Quem? _____

28. Tinha conhecimento de como se transmite a leishmaniose?

Não () Sim () Como? _____

29. Tinha conhecimento de como se previne e trata a leishmaniose?

Não () Sim () Como? _____

30. Tem conhecimento de como proteger a casa ?

Não () Sim () Como? _____

31. Tem informação sobre algum local onde alguém contraiu a doença?

Não () Sim () Onde? _____

ANEXO 3

QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO

CADASTRO DAS RESIDÊNCIAS E DA PROPRIEDADE N. _____

01. Localidade: _____ 02. Data: ____/____/____ 03. Entrevistador : _____

04. Proprietário: _____

05. Endereço: _____

06. Condição da casa:

Própria () Alugada () Cedida () Compartilhada () _____

07. N. de Cômodos da casa: _____ 08. N. de pessoas: _____

09. Faixa etária anos (colocar o n. entre parentes):

até 01 () 01-05 () 05-12 () 12- 18 () 18-35 () 35-60 () 60 ou + ()

10. Nomes/idade:

11. N. de pessoas por dormitório: _____

12. Material da casa:

Alvenaria com reboco () Alvenaria sem reboco () Lona Plástica ()

Pau-a-pique () Madeira () Misto () _____

Telhado: telhas de barro () Amianto () Palha () Lona plástica ()

Madeira ()

Forramento: Laje () Com forro madeira () Sem forro ()

Com frestas () Sem frestas () Telas nas janelas/portas : Com () Sem ()

Piso alvenaria () piso madeira () piso terra () outro : () _____

Banheiro: material () banheiro madeira () privada/fossa madeira ()

13,Localização casa:

Próximo: matas () plantação () qual: _____ capoeira () mato ()

Pomar/arvores frutíferas: () tipos de árvores: _____

Próximo: chiqueiro () galinheiro () canil () esterqueira () estábulo ()
tulha ()

Próximo a: córrego () riacho () rego d'água () represa () mina () poço ()

14. Tipo de iluminação:

Luz elétrica () origem _____ Lampião a gás () Lamparina ()

Lampião a querosene () Vela () Outro () especificar: _____

15. Aparelhos eletrônicos:

Geladeira () Rádio () Freezer () TV () Liquidificador () Fogão a gás ()

Outro () Especificar: _____

16. Meios de Comunicação:

Telefone em casa () Telefone Comunitário () Telefone Celular ()

Rádio Amador () Outro () Especificar: _____

17. Meios de locomoção:

Bicicleta () Caminhão () Trator () Carro () Moto () ônibus ()

Carroça () Outro () Especificar : _____

18. Presença de anexos domiciliares:

Anexos/material	Piso	parede	Cobertura
Galinheiro			
Pocilga			
Abrigo Carneiro			
Abrigo eqüinos			
Paio			
Barracão			
Tulha			
Privada fossa			
Outro (especificar)			

19. Área da Propriedade em hectares (_____)

20. Animais domésticos: Quantidade

Bovino ()

Eqüinos ()

Suíno ()

Ovino ()

Caprino ()

Aves ()

Caninos ()

Felinos ()

Outros ()

Especificar:_____

21. Principais culturas: Quantidade em sacas por ano

Milho ()

Arroz ()

Feijão : tipo_____()

Soja ()

Algodão ()

Mandioca ()

Outro: ()

Especificar: _____

22. Possui Pomar: sim () não ()

Citar as árvores frutíferas:

23. Possui Horta: sim () não ()

CONDIÇÕES DE SANEAMENTO DOMICILIAR E PERIDOMICILIAR

24. Abastecimento de água:

Rede () Poço caseiro () Poço artesiano () Mina () Açude ()

Poço semi-artesiano () cisterna () Córrego () rio () represa ()

Outro: Especificar _____ ()

Maneira armazenamento de água: _____

25. Como a água chega até a casa:

Canalizada interna completa () Coleta em casa vizinha () Poço ()

Torneira/entrada ou /terreno () Coleta no rio, açude ou fonte () chafariz ()

Outro: Especificar: _____

26. Destino dos dejetos:

Banheiro interno () Privada de fossa () Exposto a céu aberto ()

Outro: Especificar _____ ()

27. Destino do Lixo:

Incineração () Exposto a céu aberto () Enterrado () Coletado ()

Outro: especificar : _____

28. Tratamento de água: sim () Especificar: _____ não ()

29. Local de lavar utensílios :

30: Local de lavar roupas :

SITUAÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA (CHEFE DA FAMÍLIA)

Nome: _____

Sexo: M () F () 29. Idade () 30. cor _____

31. Escolaridade

	Chefe	Cônjuge	Filhos	Outros
Analfabeto	()	()	()	()
1º grau incompleto	()	()	()	()
1º grau completo	()	()	()	()
2º grau incompleto	()	()	()	()
2º grau completo	()	()	()	()
3º grau incompleto	()	()	()	()
3º grau completo	()	()	()	()

32. Pode ler por exemplo uma revista ou um jornal

sim () não ()

33. Atividade econômica:

Emprego: () Especificar: _____

Vive de Renda () Especificar: _____

Aposentado: () Desempregado: ()

34. Renda Familiar:

< 1 SM () = 1 SM () > 1 SM () = 2 SM () = 8 SM () = 10 SM ()

= 20 SM () > 20 SM () outro: Especificar: _____

35. Pessoas que contribuem para a renda familiar:

36. Em caso de doenças procura:

Hospital () Posto de Saúde () Benzedeira () Farmácia ()

Outro: Especificar: _____

37. Participação de Grupos comunitários:

cooperativa () Especificar: _____

Grupo religioso () Especificar: _____

Associação () Especificar: _____

Outro: () Especificar: _____

ANEXO 4**FICHA DE IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS PARA COLETA DE SANGUE**

FICHA n. _____ Espécie: _____

Localidade: _____ Data: _____

Amostra N. _____ e N _____

Raça: _____ Sexo: M () F () Idade: _____

Cor da pelagem: _____

Sinais particulares: _____

Proprietário

: _____

Endereço:

Nome do animal: _____

Obs: _____

FICHA DE IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS PARA COLETA DE SANGUE

FICHA n. _____ Espécie: _____

Localidade: _____ Data: _____

Amostra N. _____ e N _____

Raça: _____ Sexo: M () F () Idade: _____

Cor da pelagem: _____

Sinais particulares: _____

Proprietário

: _____

Endereço: _____

Nome do animal: _____

Obs: _____

ANEXO 5**TERMO DE CONSENTIMENTO PARA COLETA DE MATERIAIS
BIOLÓGICOS DE ANIMAIS:**

Estudo Epidemiológico da LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA (LTA) e de fatores determinantes para a sua transmissão no município de Itambaracá, Estado do Paraná, Brasil, em áreas limítrofes de regiões alagadas e impactadas pelo complexo hidrelétrico Canoas I e II (Divisa dos Estados PR e SP), no período de 2005 - 2006

Eu, abaixo descrito e assinado, autorizo a retirada de materiais biológicos (sangue, lesões ou outros), dos animais de minha propriedade, necessários para o desenvolvimento da pesquisa sobre Leishmaniose em nossa região, autorizando que o material seja usado em métodos de diagnóstico da doença.

Nome: _____

Idade: Sexo: Cor: Idade:

Endereço: _____

Cidade: Estado:

Documento: _____

Data: ____ / ____ / ____ Itambaracá - PR

Assinatura

ANEXO 6**TERMO DE CONSENTIMENTO PARA COLETA ENTOMOLÓGICA:**

Eu, abaixo descrito e assinado, autorizo a coleta entomológica (de flebotomíneos), em propriedade sobre a minha responsabilidade, através da colocação de armadilhas ou outras formas que se fizerem necessárias, para o desenvolvimento da pesquisa sobre Leishmaniose em nossa região, autorizando que o material seja usado em métodos de identificação dos vetores desta doença.

Nome: _____

Idade: _____ Sexo: _____ Cor: _____ Idade: _____

Endereço: _____

Cidade: _____ Estado: _____

Documento: _____

Data: ____/____/____ Itambaracá - PR

Assinatura

MARIZA FORDELONE ROSA CRUZ

Aluna de Pós Graduação

Faculdade de Saúde Pública, USP

Av. Dr. Arnaldo, 715, São Paulo, SP

01246-904

Tel.

Eunice A Bianchi Galati

Professora Doutora

Departamento de Epidemiologia

Faculdade de Saúde Pública-USP

Tel. (11) 3066 7786.

E-mail: egalati@usp.br

ANEXO 7

CÁLCULO DO ÍNDICE DE ABUNDÂNCIA DAS ESPÉCIES (IAE) E ÍNDICE DE ABUNDÂNCIA DAS ESPÉCIES PADRONIZADO (IAEP)

O índice de abundância das espécies (IAE), é calculado após obtenção do ranking de cada espécie, em cada ecótopo. O ranking é estabelecido em cada ecótopo, ou seja, ponto de captura. Em cada ecótopo, numera-se as espécies em ordem crescente, sendo que aquela a receber o número 1 é a espécie mais abundante, 2 a seguinte e assim sucessivamente, se houver empate entre duas ou mais espécies, estas recebem o número médio entre elas. Após estabelecer o ranking em cada ecótopo, realiza-se a somatória de cada espécie, considerando-se todos os ecótopos.

Para o cálculo do IAE (Índice de abundância das espécies), é necessário tabular todos os ecótopos em uma planilha no programa EXCELL, nas linhas nominando-se as espécies, e nas colunas os ecótopos. Primeiro realiza-se o ranking, tabulando a quantidade total de cada espécie, somando-se machos e fêmeas, capturados em cada ecótopo, no final da tabela é necessário inserir uma coluna para a somatória dos ranking de cada espécie. O segundo passo é contar o número de ecótopos (caselas), que não houve ocorrência das espécies, e obter-se a somatória em uma coluna no final da tabela. O terceiro passo é obter-se o valor de C, que é o maior ranking (quantidade) obtido na tabela, considerando-se todas as espécies. O valor de K, é igual ao número de ecótopos, que no trabalho, foi igual a 21. Com todos os valores calculados, é necessário então aplicar-se a fórmula:

IAE= índice de abundância das espécies : **$IAE = a + Rj/K$**

Após cálculo do IAE, calcula-se o IAEP (Índice da abundância das espécies padronizado). **$IAEP = C - IAE/C - 1$**

Onde: Rj = somatória do ranking de cada espécie

K= Número de ecótopos

A= número de caselas vazias x C

C= maior ranking obtido, considerando todos os ecótopos.

ANEXO 8

CALCULO DO ÍNDICE DE DIVERSIDADE DE SHANNON (H), E INDICE DE EQUITABILIDADE DE PIELOU (J)

O índice de Shannon (H), indica a diversidade das espécies, quanto maior o índice, maior a diversidade, ou seja, maior o número de espécies encontrado, na área coletada.

$$H = - \sum \text{freqx} (\log \text{freqx})$$

O índice de Pielou (J), indica a equitabilidade entre as espécies coletadas, ou seja, mais semelhante é a quantidade coletada das espécies presentes. Quanto menor o índice J, maior o equilíbrio entre as quantidades das espécies encontradas, melhor seria a equitabilidade.

$$J = H / \log_{\text{nat}}(s) \quad s = \text{espécies}$$

ANEXO 9 - FIGURAS

Figura 1: Vista Aérea da cidade de Itambaracá, área central , praça da Igreja Matriz – Itambaracá – 2007

Figura 2: Localização do Estado no Paraná na Região sul do Brasil

Figura 3: Mapa do Estado do PR, com a localização da 18ª Regional de Saúde, onde está o Município de Itambaracá.

Figura 4: Localização do Município de Itambaracá, no conjunto dos municípios da 18 Regional de Saúde-Norte do Paraná.

Figura 5: Localização do Município de Itambaracá, em relação ao complexo Hidrelétrico Canoas I (7) e Canoas II (8) (setas)

Figura 6 : Mapa de Itamaracá visualizando as áreas de coleta , Região Central, Periférica e Rural

- **Cidade e Vila Rural**
Porto Almeida
São Joaquim do Pontal

Figura 7: Vista Parcial de Canoas I

Figura 8: Vista Parcial- Rio Paranapanema

Figuras 9 e 10: Armadilha Automática Luminosa- tipo CDC

Figuras 11 e 12: Aspiração em barraca de Shannon modificada branca e preta

Figuras 13 e 14 : Coleta de sangue humana

Figuras 15 e 16: Coleta de sangue em caninos

Figuras 17 e 18 : Coleta de sangue em eqüinos

Figuras 19 e 20: Aplicação de questionários

Figuras 21 e 22: Lesões ativas da LTA.

Figuras 23 e 24: Lesões cicatrizadas de LTA pós-tratamento.

Figura 25: Mapa de localização dos pontos de captura em São Joaquim do Pontal.(SJP)

Figura 26- Mapa de localização dos pontos de captura em Porto Almeida

Figura 27- Mapa de localização dos pontos de captura em Itamaracá (urbana), Vila Rural e Pesque-pague

ANEXO 10

Protocolo de Extração de DNA Genômico- Kit Promega

III. Protocols for Genomic DNA Isolation

We have tested the purification of genomic DNA from fresh whole blood collected in EDTA-, heparin- and citrate-anticoagulant tubes, and have detected no adverse effects upon subsequent manipulations of the DNA, including PCR (3). Anticoagulant blood samples may be stored at 2–8°C for up to two months, but DNA yield will be reduced with length of storage.

The protocol in Section III.A has been designed and tested for blood samples up to 3ml in volume. The protocol in Section III.B has been designed and tested for blood samples up to 10ml in volume. The yield of genomic DNA will vary depending on the quantity of white blood cells present. Frozen blood may be used in the following protocols, but yield may be lower than that obtained using fresh blood, and additional Cell Lysis Solution may be required.

Caution: When handling blood samples (Sections III.A, B and C), follow recommended procedures at your institution for biohazardous materials or see reference 2.

A. Isolation of Genomic DNA from Whole Blood (300µl or 3ml Sample Volume)

Materials to Be Supplied by the User

- sterile 1.5ml microcentrifuge tubes (for 300µl blood samples)
- sterile 15ml centrifuge tubes (for 3ml blood samples)
- water bath, 37°C
- isopropanol, room temperature
- 70% ethanol, room temperature
- water bath, 65°C (optional; for rapid DNA rehydration)

1. For 300µl Sample Volume: Add 900µl of Cell Lysis Solution to a sterile 1.5ml microcentrifuge tube.

For 3ml Sample Volume: Add 9.0ml of Cell Lysis Solution to a sterile 15ml centrifuge tube.

2. Gently rock the tube of blood until thoroughly mixed; then transfer blood to the tube containing the Cell Lysis Solution. Invert the tube 5–6 times to mix.
3. Incubate the mixture for 10 minutes at room temperature (invert 2–3 times once during the incubation) to lyse the red blood cells. Centrifuge at 13,000–16,000 × g for 20 seconds at room temperature for 300µl sample. Centrifuge at 2,000 × g for 10 minutes at room temperature for 3ml sample.
4. Remove and discard as much supernatant as possible without disturbing the visible white pellet. Approximately 10–20µl of residual liquid will remain in the 1.5ml tube (300µl sample). Approximately 50–100µl of residual liquid will remain in the 15ml tube (3ml sample).

If blood sample has been frozen, repeat Steps 1–4 until pellet is white. There may be some loss of DNA from frozen samples.

Note: Some red blood cells or cell debris may be visible along with the white blood cells. If the pellet appears to contain only red blood cells, add an additional aliquot of Cell Lysis Solution after removing the supernatant above the cell pellet, and then repeat Steps 3–4.

5. Vortex the tube vigorously until the white blood cells are resuspended (10–15 seconds).

IMPORTANT!

...Blood must be collected in EDTA-, heparin- or citrate-anticoagulant tubes to prevent clotting.

Completely resuspend the white blood cells to obtain efficient cell lysis.

6. Add Nuclei Lysis Solution (300µl for 300µl sample volume; 3.0ml for 3ml sample volume) to the tube containing the resuspended cells. Pipet the solution 5–6 times to lyse the white blood cells. The solution should become very viscous. If clumps of cells are visible after mixing, incubate the solution at 37°C until the clumps are disrupted. If the clumps are still visible after 1 hour, add additional Nuclei Lysis Solution (100µl for 300µl sample volume; 1.0ml for 3ml sample volume) and repeat the incubation.
7. **Optional:** Add RNase Solution (1.5µl for 300µl sample volume; 15µl for 3ml sample volume) to the nuclear lysate and mix the sample by inverting the tube 2–5 times. Incubate the mixture at 37°C for 15 minutes, and then cool to room temperature.
8. Add Protein Precipitation Solution (100µl for 300µl sample volume; 1.0ml for 3ml sample volume; see Note in margin) to the nuclear lysate and vortex vigorously for 10–20 seconds. Small protein clumps may be visible after vortexing.
9. Centrifuge at 13,000–16,000 × g for 3 minutes at room temperature for 300µl sample volume. Centrifuge at 2,000 × g for 10 minutes at room temperature for 3ml sample volume.

A dark brown protein pellet should be visible. If no pellet is observed, refer to Section IV.
10. For 300µl sample volume, transfer the supernatant to a clean 1.5ml microcentrifuge tube containing 300µl of room temperature isopropanol. For 3ml sample volume, transfer the supernatant to a 15ml centrifuge tube containing 3ml room temperature isopropanol.
11. Gently mix the solution by inversion until the white thread-like strands of DNA form a visible mass.
12. Centrifuge at 13,000–16,000 × g for 1 minute at room temperature for 300µl sample. Centrifuge at 2,000 × g for 1 minute at room temperature for 3ml sample. The DNA will be visible as a small white pellet.
13. Decant the supernatant and add one sample volume of room temperature 70% ethanol to the DNA. Gently invert the tube several times to wash the DNA pellet and the sides of the microcentrifuge tube. Centrifuge as in Step 12.
14. Carefully aspirate the ethanol using either a drawn Pasteur pipette or a sequencing pipette tip. The DNA pellet is very loose at this point and care must be used to avoid aspirating the pellet into the pipette. Invert the tube on clean absorbent paper and air-dry the pellet for 10–15 minutes.
15. Add DNA Rehydration Solution (100µl for 300µl sample volume; 250µl for 3ml sample volume) to the tube and rehydrate the DNA by incubating at 65°C for 1 hour. Periodically mix the solution by gently tapping the tube. Alternatively, rehydrate the DNA by incubating the solution overnight at room temperature or at 4°C.
16. Store the DNA at 2–8°C.

Note: If additional Nuclei Lysis Solution was added in **Step 6**, add a total of 130µl Protein Precipitation Solution for 300µl sample volume and 1.3ml Protein Precipitation Solution for 3ml sample volume at **Step 8**.

Note: At **Step 10**, some supernatant may remain in the original tube containing the protein pellet. Leave this residual liquid in the tube to avoid contaminating the DNA solution with the precipitated protein.

ANEXO 11

Protocolo do Ensaio Imuno Enzimático (EIE)- Kit Biomanguinhos

**EIE-LEISHMANIOSE CANINA-
BIO-MANGUINHOS**

ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE) PARA DIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE
CANINA
(MATERIAL FORNECIDO PARA 384 REAÇÕES)

Instituto de Tecnologia
em Imunobiológicos
Bio-Manguinhos

PRINCÍPIO DO TESTE:

Este ensaio consiste na reação de soros de cães com antígenos solúveis e purificados de *Leishmania* (complexo *L. donovani*) obtidos a partir de cultura "in vitro", que são previamente adsorvidos nas cavidades de microplacas/strips (fase sólida). A seguir adicionam-se, devidamente diluídos, os soros controle do teste e as amostras a serem analisadas, que possuindo anticorpos específicos, vão se fixar aos antígenos. Na etapa seguinte, ao se adicionar uma anti-globulina de cão marcada com a enzima peroxidase, esta se ligará aos anticorpos caso estejam presentes.

Para evidencição da reação, utiliza-se uma substância cromógena (tetrametilbenzidina-TMB) que pela ação da peroxidase com o peróxido de hidrogênio forma um composto de coloração azul turquesa que ao adicionar-se o ácido sulfúrico que interrompe a reação, passa a apresentar uma coloração amarela, em caso positivo (reagente). Nas cavidades que não houver anticorpos específicos, não haverá desenvolvimento de cor o que caracteriza uma reação negativa (não reagente).

ESQUEMA DO TESTE:

REAGENTE

NÃO REAGENTE

MATERIAL FORNECIDO:

Identificação	Componentes	Apresentação
R-01	Diluyente de Amostra/Conjugado [5X]	1 Fr. 90 mL
R-02	Lectina de leite	1 Fr. 10 g
R-03	Tampão de Lavagem [20X]	1 Fr. 120 mL
R-04	Diluyente do Substrato	1 Fr. 60 mL
R-05	Cromógeno (TMB)	1 Fr. 0,70 mL
R-06	Substrato (H ₂ O ₂)	1 Fr. 0,20 mL
R-07	Ácido Sulfúrico 2M	1 Fr. 30 mL
R-08	Controle Positivo	1 Fr. 0,25 mL
R-09	Controle Negativo	1 Fr. 0,25 mL
R-10	Conjugado	1 Fr. 0,40 mL
R-11	Molduras/strips duplas sensibilizadas	04/24
	Folhas Adesivas	08
	Manual de Instruções de Uso	01

MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO:

- Vidraria básica em geral (tubos, pipetas, provetas, etc)
- Água destilada
- Micropipetas mono e multicanais e ponteiras
- Barquetes
- Estufa a 37°C
- Luvas descartáveis
- Hipoclorito de sódio ou água sanitária
- Espectrofotômetro para leitura microplacas, com filtro de 450nm,
- Lavador automático ou sistema de vácuo com pente de lavagem e/ou pipeta pasteur
- Balança semi-analítica
- Caso utilize amostras em papel de filtro: picotador de 6mm e agitador rotacional

CONSERVAÇÃO E ESTOCAGEM DO MATERIAL:

Manter entre 2 e 8°C: R-01, R-02, R-03, R-04, R-05, R-06, R-07

Manter à - 20°C: R-08, R-09, R-10, R-11

Todos os componentes do teste, devem ser guardados nas temperaturas indicadas desde o ato do recebimento do conjunto, permanecendo estáveis pela validade definida na caixa principal do conjunto.

OBS.: A temperatura de transporte com bobinas de gelo reciclável, permitem que o conjunto se mantenha em condições adequadas, durante 24-36 horas.

CUIDADOS E PRECAUÇÕES:

Este conjunto diagnóstico contém produtos biológicos e químicos, podendo representar uma fonte de infecção. Portanto, ao manusear qualquer um dos reagentes desse conjunto, observe as precauções necessárias. A qualidade dos resultados obtidos com este conjunto diagnóstico depende do cumprimento das boas práticas de laboratório, tais como:

- As amostras de soro ou plasma assim como os controles podem conter agentes infecciosos e devem ser manipulados com cuidado.
- Homogeneizar as amostras e controles antes de usar.
- Utilizar equipamento de proteção individual (EPI), tais como: luvas descartáveis, jalecos e protetor facial.
- Desprezar ponteiras, luvas, vidrarias, frascos, strips etc, em solução de hipoclorito de sódio a 1-2% ou água sanitária.
- Nunca misturar componentes de lotes diferentes
- Para evitar interferências, nunca tocar com os dedos a parte de cima das strips
- Cada strip só pode ser utilizada uma única vez.
- As soluções contendo TMB e/ou peroxidase são irritantes para pele e mucosas e não devem entrar em contato com metais.
- Não usar os reativos após sua data de validade.
- Utilize frascos e vidrarias rigorosamente limpos, pois resíduos de detergentes e/ou substâncias oxidantes poderão interferir na reação.

PROCEDIMENTO DO TESTE PARA AMOSTRAS DE SORO

1 - Preparo do diluente de amostras/conjugado:

Nº strips duplas	Nº de reações	R-01 (5X)	R-02 (pesar)	H ₂ O destilada
1	Até 16	3 mL	0,3 g	12 mL
2	Até 32	6 mL	0,6 g	24 mL
3	Até 48	8 mL	0,8 g	32 mL
4	Até 64	10 mL	1,0 g	40 mL
5	Até 80	12 mL	1,2 g	48 mL
6	Até 96	14 mL	1,4 g	56 mL

- 2 - Diluir em tubos 5 μL dos controles e das amostras de soros de cães a serem analisadas, previamente homogeneizadas, em 500 μL do diluente de amostra /conjugado (1:100).
- 3 - Distribuir 100 μL dos controles já diluídos da seguinte forma: na coluna 1 fileira "A" e "B" o controle positivo, na "C" e "D" o controle negativo, na "E" e "F" somente o diluente de amostra/conjugado (sem soro) que servirá de controle do conjugado. Nos outros orifícios, distribuir 100 μL das amostras testes, já diluídas nos respectivos orifícios correspondentes (seguir protocolo).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CP	Amostra 3	Amostra 11	Amostra 19	Amostra 27	Amostra 35	Amostra 43	Amostra 51	Amostra 59	Amostra 67	Amostra 75	Amostra 83
B	CP	Amostra 4	Amostra 12	Amostra 20	Amostra 28	Amostra 36	Amostra 44	Amostra 52	Amostra 60	Amostra 68	Amostra 76	Amostra 84
C	CN	Amostra 5	Amostra 13	Amostra 21	Amostra 29	Amostra 37	Amostra 45	Amostra 53	Amostra 61	Amostra 69	Amostra 77	Amostra 85
D	CN	Amostra 6	Amostra 14	Amostra 22	Amostra 30	Amostra 38	Amostra 46	Amostra 54	Amostra 62	Amostra 70	Amostra 78	Amostra 86
E	SS	Amostra 7	Amostra 15	Amostra 23	Amostra 31	Amostra 39	Amostra 47	Amostra 55	Amostra 63	Amostra 71	Amostra 79	Amostra 87
F	SS	Amostra 8	Amostra 16	Amostra 24	Amostra 32	Amostra 40	Amostra 48	Amostra 56	Amostra 64	Amostra 72	Amostra 80	Amostra 88
G	Amostra 1	Amostra 9	Amostra 17	Amostra 25	Amostra 33	Amostra 41	Amostra 49	Amostra 57	Amostra 65	Amostra 73	Amostra 81	Amostra 89
H	Amostra 2	Amostra 10	Amostra 18	Amostra 26	Amostra 34	Amostra 42	Amostra 50	Amostra 58	Amostra 66	Amostra 74	Amostra 82	Amostra 90

CP = Controle Positivo CN = Controle Negativo SS = Sem soro

- 4 - Selar os strips com a folha adesiva e incubar a 37°C por 30 minutos.
- 5 - Preparo do tampão de lavagem:

Nº strips duplas	Nº de reações	R-03 (20X)	H ₂ O destilada
1	Até 16	2 mL	38 mL
2	Até 32	3 mL	57 mL
3	Até 48	4 mL	76 mL
4	Até 64	5 mL	95 mL
5	Até 80	7 mL	133 mL
6	Até 96	8 mL	152 mL

- 6 - Descolar cuidadosamente a folha adesiva, aspirar o conteúdo e lavar 6 vezes com tampão de lavagem (200 μL /orifício). Aguarde 30 a 60 segundos entre cada lavagem.
- 7 - Diluir o conjugado no diluente de amostra/conjugado, preparado anteriormente. Preparo do conjugado:

Nº strips duplas	Nº de reações	R-01 diluído	R-10
1	Até 16	5 mL	5 μL
2	Até 32	5 mL	5 μL
3	Até 48	10 mL	10 μL
4	Até 64	10 mL	10 μL
5	Até 80	15 mL	15 μL
6	Até 96	15 mL	15 μL

- 8 - Homogeneizar bem e distribuir 100 μL da diluição do conjugado em cada orifício dos strips.
- 9 - Selar e incubar os strips conforme descrito no item 4 e aspirar e lavar conforme descrito no item 6.
- 10 - Preparar o substrato alguns minutos antes do uso, preferencialmente em frasco escuro.
- 11 - Preparo do substrato:

Nº strips duplas	Nº de reações	R-04	R-05	R-06
1	Até 16	2,5 mL	25 μL	5 μL
2	Até 32	4,0 mL	40 μL	8 μL
3	Até 48	6,0 mL	60 μL	12 μL
4	Até 64	8,0 mL	80 μL	16 μL
5	Até 80	10,0 mL	100 μL	20 μL
6	Até 96	12,0 mL	120 μL	24 μL

- 12 - Distribuir 100 μL do substrato rapidamente em todos os orifícios.

13 - Incubar a temperatura ambiente, ao abrigo da luz, durante 30 minutos.

165

14 - Bloquear a reação adicionando 50 µL de ácido sulfúrico 2M em todos os orifícios. Em seguida, proceda a leitura.

LEITURA:

Ligar o Espectrofotômetro para microplacas, equipado com filtro de 450nm para leitura e sem a utilização de filtro de referência (620-630nm). Após alguns minutos para estabilização do feixe de luz, zerar o aparelho no ar (sem a microplaca) e em seguida, iniciar a leitura da microplaca de teste.

OBS: Caso a leitura seja feita com filtro de 450nm tendo como referência outro de 620-630nm, todas as densidades óticas (DO) ficarão abaixo do esperado, prejudicando o cálculo do Cut-Off e causando a ocorrência de resultados falso-positivos no ensaio.

- Cálculo do Cut-Off: $CO = \bar{X}CN \times 2$

CO = Cut-Off

$\bar{X}CN$ = Média da densidade ótica dos orifícios do Controle Negativo

OBS: O operador deverá observar os controles do teste, considerando que a DO obtida para o controle do conjugado (ss) não poderá ser superior a 1,5 x DO obtida para o soro controle negativo.

RESULTADOS:

AMOSTRAS REAGENTES = As que apresentarem densidade ótica igual ou superior ao Cut-Off.

AMOSTRAS NÃO REAGENTES = As que apresentarem densidade ótica inferior ao Cut-Off.

Obs.1: Recomendamos a repetição das amostras que apresentarem densidade ótica na "faixa cinza", considerada neste teste, entre o valor obtido para o Cut-Off e o valor obtido com a multiplicação deste por 1,2.

Obs.2: Mantendo-se as Amostras na "faixa cinza", após a repetição, recomendamos a utilização de outras metodologias para confirmação deste resultado, que deverá ser designado como indeterminado.

CO		
AMOSTRAS NÃO REATIVAS	FAIXA CINZA	AMOSTRAS REATIVAS

PROCEDIMENTO DO TESTE PARA AMOSTRAS COLHIDAS EM PAPEL FILTRO:

1 - Preparo do diluente de amostras/conjugado:

Nº strips duplas	Nº de reações	R-01 (5X)	R-02 (pesar)	H ₂ O destilada
1	Até 16	3 mL	0,3 g	12 mL
2	Até 32	6 mL	0,6 g	24 mL
3	Até 48	8 mL	0,8 g	32 mL
4	Até 64	10 mL	1,0 g	40 mL
5	Até 80	12 mL	1,2 g	48 mL
6	Até 96	14 mL	1,4 g	56 mL

2 - Em tubos previamente descontaminados, limpos e secos, colocar 2 picotes (6mm) de cada amostra coletada em papel de filtro Whatman nº1 ou 1 picote (6 mm) para papel filtro Klabin 80, nos tubos correspondentes.

3 - Adicionar 400 µL de diluente de amostra/conjugado, por tubo, para as amostras coletadas em papel Whatman nº1 ou 500 µL para amostras coletadas em papel Klabin 80.

4 - Colocar a estante de tubos em agitador rotacional para eluir as amostras coletadas em papel de filtro. Deixar os tubos em leve agitação por 1 hora.

5 - Diluir em tubos, 5µL dos soros controle positivo e negativo, previamente homogeneizados, em 500 µL do diluente de amostra/conjugado (1:100).

6 - Distribuir 100 µL dos controles e das amostras eluídas da seguinte forma: na coluna 1 fileira "A" e "B" o soro controle positivo, na "C" e "D" o controle negativo, na "E" e "F" somente o diluente de amostra/conjugado (sem soro) que servirá de controle do conjugado. Nos outros orifícios, distribuir 100 µL das amostras teste já eluídas, nos respectivos orifícios correspondentes (seguir protocolo).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CP	Amostra 3	Amostra 11	Amostra 19	Amostra 27	Amostra 35	Amostra 43	Amostra 51	Amostra 59	Amostra 67	Amostra 75	Amostra 83
B	CP	Amostra 4	Amostra 12	Amostra 20	Amostra 28	Amostra 36	Amostra 44	Amostra 52	Amostra 60	Amostra 68	Amostra 76	Amostra 84
C	CN	Amostra 5	Amostra 13	Amostra 21	Amostra 29	Amostra 37	Amostra 45	Amostra 53	Amostra 61	Amostra 69	Amostra 77	Amostra 85
D	CN	Amostra 6	Amostra 14	Amostra 22	Amostra 30	Amostra 38	Amostra 46	Amostra 54	Amostra 62	Amostra 70	Amostra 78	Amostra 86
E	SS	Amostra 7	Amostra 15	Amostra 23	Amostra 31	Amostra 39	Amostra 47	Amostra 55	Amostra 63	Amostra 71	Amostra 79	Amostra 87
F	SS	Amostra 8	Amostra 16	Amostra 24	Amostra 32	Amostra 40	Amostra 48	Amostra 56	Amostra 64	Amostra 72	Amostra 80	Amostra 88
G	Amostra 1	Amostra 9	Amostra 17	Amostra 25	Amostra 33	Amostra 41	Amostra 49	Amostra 57	Amostra 65	Amostra 73	Amostra 81	Amostra 89
H	Amostra 2	Amostra 10	Amostra 18	Amostra 26	Amostra 34	Amostra 42	Amostra 50	Amostra 58	Amostra 66	Amostra 74	Amostra 82	Amostra 90

CP = Controle Positivo CN = Controle Negativo SS = Sem soro

7 - Selar os strips com a folha adesiva e incubar a 37°C por 30 minutos.

8 - Preparo do tampão de lavagem:

Nº strips duplas	Nº de reações	R-03 (20X)	H ₂ O destilada
1	Até 16	2 mL	38 mL
2	Até 32	3 mL	57 mL
3	Até 48	4 mL	76 mL
4	Até 64	5 mL	95 mL
5	Até 80	7 mL	133 mL
6	Até 96	8 mL	152 mL

9 - Descolar cuidadosamente a folha adesiva, aspirar o conteúdo e lavar 6 vezes com tampão de lavagem (200 µL /orifício). Aguarde 30 a 60 segundos entre cada lavagem.

10 - Preparo do conjugado:

Nº strips duplas	Nº de reações	R-01 (diluído)	R-10
1	Até 16	5 mL	5 µL
2	Até 32	5 mL	5 µL
3	Até 48	10 mL	10 µL
4	Até 64	10 mL	10 µL
5	Até 80	15 mL	15 µL
6	Até 96	15 mL	15 µL

11 - Homogeneizar bem e distribuir 100µL da diluição do conjugado em cada orifício dos strips.

12 - Selar e incubar os strips conforme descrito no item 7 e aspirar e lavar conforme descrito no item 9.

13 - Preparar o substrato alguns minutos antes do uso, preferencialmente em frasco escuro.

14 - Preparo do substrato:

Nº strips duplas	Nº de reações	R-04	R-05	R-06
1	Até 16	2,5 mL	25 µL	5 µL
2	Até 32	4,0 mL	40 µL	8 µL
3	Até 48	6,0 mL	60 µL	12 µL
4	Até 64	8,0 mL	80 µL	16 µL
5	Até 80	10,0 mL	100 µL	20 µL
6	Até 96	12,0 mL	120 µL	24 µL

15 - Distribuir 100 µL do substrato rapidamente em todos os orifícios.

16 - Incubar a temperatura ambiente, ao abrigo da luz, durante 30 minutos.

17 - Bloquear a reação adicionando 50 µL de ácido sulfúrico 2M em todos os orifícios. Em seguida, proceda a leitura.

LEITURA:

- Ligar o Espectrofotômetro para microplacas, equipado com filtro de 450 nm, e após alguns minutos para estabilização do feixe de luz, zerar o aparelho no ar e iniciar a leitura.

- Cálculo do Cut-Off: $CO = \bar{X}CN \times 3$

CO = Cut-Off

$\bar{X}CN$ = Média da densidade ótica dos orifícios do Controle Negativo

OBS: O operador deverá observar os controles do teste, considerando que a DO obtida para o controle do conjugado (ss) não poderá ser superior a 1,5 x DO obtida para o soro controle negativo.

RESULTADOS:

AMOSTRAS REAGENTES = As que apresentarem densidade ótica igual ou superior ao Cut-Off.

AMOSTRAS NÃO REAGENTES = As que apresentarem densidade ótica inferior ao Cut-Off.

Obs.1: Recomendamos a repetição das amostras que apresentarem densidade ótica na "faixa cinza", considerada neste teste, entre o valor obtido para o Cut-Off e o valor obtido com a multiplicação deste por 1,2.

Obs.2: Mantendo-se as Amostras na "faixa cinza", após a repetição, recomendamos a utilização de outras metodologias para confirmação deste resultado, que deverá ser designado como indeterminado.

CO		
AMOSTRAS NÃO REATIVAS	FAIXA CINZA	AMOSTRAS REATIVAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Cuba, C.A.; Marsden, P.H.D.; Barreto, C.; Rocha, R.; Sampaio, R.R. & Patzloff, L., 1980. Diagnóstico parasitológico e imunológico de Leishmaniose tegumentar americana. Biol. Of sanit. Param., 89: 195-208.
2. Knorvall G. Purification of Staphylococcal Protein A using Immunosorbents. Scand. J. immunol. 2 (1973) 31-36.
3. Bradford, M.M. A rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein utilizing the principle of Protein-Dye. Binding Analytical Biochemistry, 72: 1976.
4. Lyster, H.C.; Forrester, T.F. Immunofluorescence Methods in Virology Course. No.8231-c Center for Disease Control.
5. Hudson L.; Hay F.C. Practical Immunology. Oxford London Edinburg Melbourne Blackwell Scientific Publications (1976).
6. Lowry, O. H.; Resebrough, N.J.; Farr, A.L.; and Randall, R.J. J. Biol. Chemical 193,265-275.
7. Nakane, P.K.; Kawavi, A. Peroxidase. Labeled Antibody a new Method of Conjugation. J. Histochem Cytochem; 22(12): 1974.
8. Tsang, V.C.N.; Peralta, J.M.; Simons, A.R. Enzyme Kiked Immunoelctrotransfer blot Techniques (EITB) for studying the specificites of antigens and antibodies separated by gel electrophoresis - Meth. Enzymol., 92 377-391, 1983.
9. Jolley, M.E. Antigen Detection by Particle Concentration Fluorescence Immunoassay. Pandex (Research Report) 3: FEB.
10. Mancini, G.; Carbonara, A.O.; Heremans, J.F. Immunochemical Quantitation of Antigens by Single Radial Immunodiffusion. Immunochemistry, 2: 235-254, 1965.
11. (WHO) Tehe Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Bull. Wld.HLTh. Org., 54: 129-139, 1976.
12. Wisdon, G.B. Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem., 22/8:1243-1255.
13. Tale, F.A.F.; Balado, R.F. Inzimo-Immunoensayo-Acta Bioquim. Clin. Latinoamericana, 4: 191-194, 1977.
14. Angulo, G.P.; Vela, M.C.M. El Metodo ELISA - Tecnicas y Aplicacion Laboratorio, 65 (385): 59-77, 1978.
15. Voller, A. The Enzyme Linked Immunosorbent Assay. Microbiological Associates Vol 2 no. 1 Feb 1978.
16. Langone, J.J. Applications of Immobilized Protein A in Immunochemical Techniques J. Immunol. Meth, 55: 277-296.

17. Montoya, A.; Castell, J.V. Long Term Storage of Peroxidase-Labelled Immunoglobulins for use in enzyme immunoassay. *J. Immun. Meth.*, 99: 13-20, 1978
18. Mac Crindle, C.; Sch Wenzer, K.; Jolley, M.E. Particle Concentration Fluorescence Immunoassay. A new immunoassay technique for quantification of human immunoglobulins in serum. *Clin.Chem.* 31(9): 1487-90, 1985
19. Guimarães, M.C.S. Exames de Laboratório: Sensibilidade, Especificidade, Valor Preditivo Positivo. *Rev. Socied. Bras. Med. Trop.* 18(2): 117-120, 1985.

ASSISTÊNCIA AOS USUÁRIOS:

Orientações técnicas adicionais a respeito deste produto, poderão ser obtidas junto a:
Fundação Oswaldo Cruz / Bio-Manguinhos / Departamento de Reativos para Diagnóstico
Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP: 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ
CGC: 33.781.055/0015-30
Tel: (0XX21) 3882-9393/9340/94110XX21) 2561-0277
SAC: 0800210310
www.bio.fiocruz.br

Edição: Agosto 2002