

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS
DOUTORADO EM PESQUISA CLÍNICA

LÚCIA REGINA DO NASCIMENTO BRAHIM PAES

**DISTRIBUIÇÃO ESPAÇOTEMPORAL DOS CASOS HUMANOS DE
LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NOTIFICADOS NO ESTADO DO
RIO DE JANEIRO DE 2001 A 2013 E ASSOCIAÇÃO COM VARIÁVEIS CLÍNICAS
E POPULACIONAIS**

Rio de Janeiro

2016

TESE PCDI-INI

L.R.N.BRAHIM-PAES

2016

**DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E TEMPORAL DOS CASOS HUMANOS DE LTA
NOTIFICADOS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO DE 2001 A 2013 E
ASSOCIAÇÃO COM VARIÁVEIS CLÍNICAS E POPULACIONAIS**

LÚCIA REGINA DO NASCIMENTO BRAHIM PAES

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para obtenção do grau de Doutor em Ciências, sob a orientação da Prof.^a Dr.^a Cláudia Maria Valete Rosalino e da Prof.^a Dr.^a Elizabeth Ferreira Rangel.

Rio de Janeiro

2016

LÚCIA REGINA DO NASCIMENTO BRAHIM PAES

**DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E TEMPORAL DOS CASOS HUMANOS DE LTA
NOTIFICADOS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO DE 2001 A 2013 E
ASSOCIAÇÃO COM VARIÁVEIS CLÍNICAS E POPULACIONAIS**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Orientadores: Prof.^a Dr.^a Cláudia Maria Valete Rosalino e da Prof.^a Dr.^a Elizabeth Ferreira Rangel

Aprovada em ___ / ___ / ____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^o Dr.^o Mauro Célio de Almeida Marzochi (Presidente)
INI/FIOCRUZ

Prof.^o Dr.^o Armando de Oliveira Schubach (Membro e Revisor)
INI/FIOCRUZ

Prof.^a Dr.^a Fátima Conceição-Silva (Membro)
IOC/FIOCRUZ

Prof.^a Dr.^a Maria Inês Fernandes Pimentel (Membro)
INI/FIOCRUZ

Prof.^a Dr.^a Aline Fagundes da Silva (Membro)
IOC/FIOCRUZ

Prof. Dr. Marcelo Rosandiski Lyra (Suplente)
INI/FIOCRUZ

DEDICATÓRIA

Aos homens que pensam num futuro melhor para toda a humanidade e, em especial
meu marido Luiz Eduardo e meus filhos Marcelo e Fernanda.

AGRADECIMENTOS

Agradeço acima de tudo a Deus, que guiou meus caminhos e cuja vontade, muitas vezes, não compreendida por mim, me trouxe até aqui. A cada amanhecer, pude sentir suas bênçãos derramadas sobre mim, fazendo com que eu seguisse em frente nesta jornada. Ainda que todos meus pedidos fossem atendidos, não poderia imaginar melhor forma de viver todas as experiências e oportunidades maravilhosas que Ele me proporcionou.

À minha família, pelo carinho, por toda torcida, orações, preocupações e apoio. Aos meus pais (*in memoriam*) pelo exemplo e inspiração de vida, pela nobreza de alma, pelos ensinamentos e demonstrações de que não importa o quanto difícil possa ser a trajetória que com dignidade, honestidade e muita luta alcançaremos os nossos ideais.

À minha estimada orientadora e amiga Dr.^a Cláudia Maria Valete-Rosalino por ter me conduzido tão sabiamente neste trabalho e por todos os bons momentos de trocas de idéias e conhecimentos. Agradeço pela confiança, por ter me ajudado e apoiado em todas as condições para o desenvolvimento deste estudo. Sua valorização à interdisciplinaridade tornou o aprendizado mais amplo. A minha mais sincera admiração e gratidão a esta pessoa, com tamanha dedicação à pesquisa.

À minha orientadora Dr.^a Elizabeth Ferreira Rangel pelo apoio e parceria para a realização desta pesquisa.

Ao Coordenador do Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do INI, Dr. Armando de Oliveira Schubach, que contribuiu sobremaneira para a viabilização deste trabalho. Agradeço pela sua disponibilidade, que somou na qualidade da pesquisa e do conhecimento. Seus incentivos, possibilitaram a fluidez do trabalho, facilitando o alcance das metas. Sendo incapaz de frustrar nossas idéias, me guiou e ensinou sempre a prática do desapego, “o ótimo é inimigo do bom”.

A todos os pesquisadores com os quais pude conviver nesse período, e que contribuíram para realização desta pesquisa, em especial: Dr. Mauro Marzochi, Dr.^a Fátima Madeira, Dr.^a Maria Inês Pimentel, Dr.^a Aline Fagundes, Dr. Marcelo Rosandiski Lyra, Dr.^a Fátima Conceição Silva, Dr.^a Ana Cristina Martins, Dr. João

Moreira cujas colaborações para o desenvolvimento deste trabalho foram de grande relevância.

Aos companheiros do ambulatório Benivaldo Terceiro, Mateus Bom Braga , Frederico Bom Braga, João Gustavo Reis, Tania Torraca, Fernanda Braga, Renata Barcelos, Débora Bezerra, Ellen Castro, Madelon Novato, Ana Ruas, Cláudia Duarte, Liliane Antonio pelo companheirismo, trabalho em equipe e muitas risadas sadias.

A Márcia Lucena, amiga e companheira de trabalho cujos conselhos e orientações me fizeram amadurecer e ver as pessoas e a vida com outros olhos. Mostrou que com equilíbrio e sabedoria 01nos tornamos confiantes e mais certos na condução dos obstáculos e adversidades. Com você, pessoa de tanta Luz, tudo fica mais fácil.

A Ananda Dutra, amiga e companheira, cuja generosidade não tem tamanho, que por várias vezes abriu mão de seu precioso tempo, para me ajudar sem medir esforços, e em todas as etapas deste trabalho demonstrou um verdadeiro espírito de equipe

À Dr.^a Raquel Vasconcellos, que consegue nos fazer enxergar a estatística de uma maneira mais simples, por sua didática impressionante. Agradeço pela disposição em sanar todas as nossas dúvidas.

A Mônica Magalhães, sempre pronta a orientar e tirar todas as dúvidas, agradeço pela colaboração e ensinamento no geoprocessamento.

A Bruno Moreira de Carvalho, amigo que me guiou e esclareceu dúvidas, pelo apoio e disponibilidade, sem medir esforços. Pela demonstração de que “sempre somos capazes, não importa o quanto difícil possa ser”.

A Priscilla Sá, de secretária de curso a amiga, pessoa de um profissionalismo ímpar, sempre disposta a ajudar, sua memória incontestável

A Marli Blois, Rosana Blois, Michele Moreira, Tatiana Carvalho que acolhem os profissionais e pacientes, pelo suporte e por fazer com que todos se sintam especiais.

A Nivalda, amiga e parceira que sempre tornou meu dia mais agradável, quantas vezes foi me levar um café para ficar mais disposta.

Ao Evaldo, por todo cuidado, simpatia e presteza com toda nossa equipe.

Este trabalho não teria sido possível sem o apoio do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI-Fiocruz) e em particular da Pós-Graduação em Pesquisa Clínica e Doenças Infecciosas , assim como o apoio financeiro da CAPES, CNPq, Faperj e do próprio INI. A todos, meus agradecimentos.~

Em especial,

Aos meus filhos amados, que são a alegria da minha vida, são minha própria vida: Marcelo Brahim Paes meu orgulho, pequeno grande homem, sempre com palavras doces e sábias para me tranquilizar e,

A Fernanda Brahim Paes que nos surpreende a cada dia com suas palavras, combustível suficiente para superar qualquer obstáculo.

Ao Luiz Eduardo de Carvalho Paes, meu marido, amigo, companheiro, paciente, mestre, sábio, tradutor, dicionário, generoso, marceneiro, engenheiro, eletricitista, carpinteiro, exemplo, orgulho, parceiro... Meu AMOR, agradeço a Deus por você existir.

~

“Se queres conhecer o passado, examina o presente que é o resultado; se queres
conhecer o futuro, examina o presente que é a causa.”
Confúcio (Kung-fu-tzu)

“Nossos conhecimentos fizeram-nos céticos; nossa inteligência, empedernidos e
cruéis. Pensamos em demasia e sentimos bem pouco.
Mais do que máquinas, precisamos de humanidade. Mais do que de inteligência,
precisamos de afeição e doçura.
Sem essas duas virtudes, a vida será de violência e tudo será perdido.”
Charlie Chaplin

BRAHIM, LRN. **Distribuição espacial e temporal dos casos humanos de LTA notificados no estado do Rio de Janeiro de 2001 a 2013 e associação com variáveis clínicas e populacionais.** Rio de Janeiro, 2016. 107 f. Tese [Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz.

RESUMO

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma antroponose com alto coeficiente de detecção e capacidade de produzir deformidades, sendo a leishmaniose cutânea (LC) sua manifestação clínica mais frequente e a leishmaniose mucosa (LM) sua manifestação grave. O antimonialto de meglumina (AM) administrado na dose de 10-20mg Sb⁵⁺/kg/dia intramuscular (IM) durante 20 a 30 dias, é o tratamento de escolha. No Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI), a dose de 5mg Sb⁵⁺/kg/dia IM ou AM por via intralésional (IL) têm se demonstrado efetivos. O objetivo deste estudo foi analisar a distribuição espaço-temporal dos casos humanos de LTA notificados no estado do Rio de Janeiro (RJ) entre 2001 a 2013 e verificar a associação com variáveis clínicas e populacionais. Esta tese é composta por dois artigos. **Artigo 1:** Estudo ecológico dos casos de LTA notificados de 2001 a 2013 para avaliar a letalidade, a incidência de recidiva e a proporção da forma mucosa tardia nos casos de LTA tratados no INI. Dos 777 tratados no INI, 753 (96,9%) foram tratados com AM, sendo 692 (89,1%) com esquemas alternativos (9,9% IL e 79,2% 5mg Sb⁵⁺/kg/dia IM). Alguns pacientes necessitaram de 1 a 3 cursos adicionais de tratamento, totalizando totalizando 997 cursos de tratamento, sendo 85,2% com AM em esquemas alternativos. Letalidade foi 0,1%, incidência de recidiva foi 5,8%, e proporção de LM tardia foi 0,25%. Como desfecho final, dos 777 pacientes, 95,9% curaram, 0,1% morreram e 4,0% abandonaram o tratamento. Os resultados sugerem que os esquemas alternativos, com AM, em dosagem reduzida, têm proporcionado baixa letalidade sem aumentar a incidência de recidivas ou evolução tardia para LM. **Artigo 2:** Comparação da distribuição espacial e temporal dos casos notificados de LC com os casos de LM no Rio de Janeiro entre 2001 e 2011 para verificar a dinâmica da ocorrência de casos de LC para LM. Foram calculadas e georreferenciadas por município as taxas de incidência (TI) de LC e LM, com elaboração de mapas temáticos das taxas da doença por ano. Para avaliar a dependência temporal entre as séries de LC e LM no Estado do RJ e nos municípios com maior número de casos de LTA no período investigado, RJ e Angra dos Reis, foi realizado modelo de regressão binomial negativa. TI mais altas de LC e LM foram observadas até 2006. Os casos de LC e LM aumentaram anualmente de forma concomitante no estado do RJ e em Angra dos Reis, mesmo quando controlado pela TI de LC do ano anterior. O município do RJ apresentou uma TI anual menor após a ocorrência de alta TI de LM nos dois anos anteriores. Conclusão: A associação temporal observada entre LC e LM sugere que: ou as lesões mucosas já se encontravam incipientes desde o início da manifestação da LC, ou a espécie de *Leishmania* circulante no Estado do RJ é capaz de produzir lesões mucosas precocemente.

Palavras chave: Leishmaniose tegumentar americana; leishmaniose cutânea, leishmaniose mucosa; terapia antimonial; letalidade; recidiva da forma mucosa.

BRAHIM, LRN. **Spatial and temporal distribution of human cases of LTA reported in the state of Rio of Janeiro 2001-2013 and association with clinical and population variables.** Rio of Janeiro, 2016. 107 f. Thesis [Doctorate in Clinical Research in Infectious Diseases] – National Institute of Infectious Diseases Evandro Chagas, Oswaldo Cruz Foundation.

ABSTRACT

American tegumentary leishmaniasis (ATL) is an anthroponosis with high detection coefficient and ability to produce deformities, with cutaneous leishmaniasis (CL) being its most frequent clinical manifestation and mucosal leishmaniasis (ML), its severe manifestation. Meglumine antimoniate (MA) given at a dose of 10-20mg Sb5 + / kg / day intramuscular (IM) for 20 to 30 days is the treatment of choice. At the National Institute of Infectology Evandro Chagas (INI), the dose of 5mg Sb5 + / kg / day IM or AM by intralesional (IL) has been shown to be effective. The objective of this study was to analyze the spatiotemporal distribution of human cases of ATL reported in the state of Rio de Janeiro (RJ) from 2001 to 2013 and verify the association with clinical and population variables. This thesis consists of two articles. Article 1: Ecological study of cases of ATL reported from 2001 to 2013 to evaluate the lethality, incidence of relapse and proportion of the late mucosal form in cases of ATL treated in the INI. Of the 777 treated patients at INI, 753 (96.9%) were treated with MA, 692 (89.1%) with alternative regimens (9.9% IL and 79.2% 5mg Sb5 + / kg / day IM). Some patients required 1 to 3 additional courses of treatment, totaling 997 courses of treatment, with 85.2% with MA in alternative regimens. Lethality was 0.1% incidence of relapse was 5.8%, and proportion of late ML was 0.25%. As a final outcome, of the 777 patients, 95.9% cured, 0.1% died and 4.0% discontinued treatment. The results suggest that alternative regimens, with MA, at reduced dosage, have provided low lethality without increasing the incidence of relapses or delayed evolution for ML. Article 2: Comparison of the spatial and temporal distribution of the reported cases of CL with cases of LM in Rio de Janeiro between 2001 and 2011 to verify the dynamics of the occurrence of cases of CL for ML. The CL and LM incidence rates (IR) were calculated and georeferenced, with thematic mapping of disease rates per year. In order to evaluate the temporal dependence between the CL and ML series in the State of RJ and in the municipalities with the highest number of ATL cases in the investigated period, RJ and Angra dos Reis, a negative binomial regression model was used. The highest CL and ML IR were observed up to 2006. The cases of CL and ML increased annually concomitantly in the state of RJ and Angra dos Reis, even when controlled by the IR of the LC of the previous year. The municipality of RJ presented a lower annual IR after the occurrence of high IR of ML in the two previous years. Conclusion: The temporal association observed between CL and ML suggests that: either the mucosal lesions were already incipient since the onset of CL, or the circulating Leishmania species in the State of RJ is capable of producing mucosal lesions early.

Keywords: American tegumentary leishmaniasis; cutaneous leishmaniasis; mucosal leishmaniasis; antimonial therapy; lethality; relapse of mucosal form.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Situação endêmica mundial da leishmaniose cutânea, 2012. _____	197
Figura 2 - Mapa da distribuição de LTA por município, no Brasil 2008 _____	19
Figura 3 - Formas amastigotas presentes nos vertebrados e formas promastigotas presentes nas culturas in vitro e nos invertebrados. _____	233
Figura 4 – Esquema geral do ciclo biológico dos parasitos do gênero Leishmania. _____	25
Figura 5 – Flebotômíneo durante o repasto sanguíneo _____	27
Figura 6 - Leishmaniose mucosa - perfuração de septo nasal anterior com infiltração mucosa, áreas de ulceração e crostas amareladas. _____	31
Figura 7- Leishmaniose mucosa - infiltração com granulação de palato mole, pilares tonsilares anteriores e posteriores e úvula _____	32
Figura 8 - Classificação das Modalidades das Leishmanioses no Brasil _____	32
Figura 9 - Lesão típica de leishmaniose: úlcera oval de bordas elevadas e fundo granuloso. _____	33
Figura 10 - Lesão típica de leishmaniose cutânea disseminada. _____	34
Figura 11 - Leishmaniose cutânea difusa _____	35
Figura 12 - Leishmaniose forma recidiva cútis: Lesão com cicatrização central e bordas infiltradas meses após tratamento com antimoníato de meglumina. _____	355

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	15
1.1 - Leishmanioses Tegumentares no Mundo	16
1.2 - Leishmanioses no Brasil	18
1.3 - Leishmanioses no Rio de Janeiro	20
1.4 - O Agente Etiológico e seu Ciclo Evolutivo	23
1.5 - Transmissores de Leishmanioses	26
1.6 - Apresentação Clínica da Leishmaniose Tegumentar	30
1.7 - Diagnóstico e Tratamento da leishmaniose tegumentar americana	36
1.8 - Geotecnologias	42
2 - JUSTIFICATIVA	45
3 - OBJETIVOS	49
3.1 - Objetivo Geral	49
3.2 - Objetivos Específicos	49
4 - ARTIGOS CIENTÍFICOS	50
Artigo 1:	50
Artigo 2:	57
5 - CONCLUSÕES	90
6 - REFERÊNCIAS BIBLOGRÁFICAS	91

ABREVIATURAS

AM – Antimoniato de Meglumina

BHI – Brain and Heart infusion (Infusão de cérebro e coração)

CEP – Comitê de Ética em Pesquisa.

CID – Código Internacional de Doenças

DATASUS – Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

GPS – Sistema de Posicionamento Global

HIV – Virus da Imunodeficiência Humana

IM - Intramuscular

IL – Inlesional

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia

INI – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas

IDRM – Intradermorreação de Montenegro

LaPClinVigLeish – Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses

LC – Leishmaniose cutânea

LCD – Leishmaniose cutânea disseminada

LCL – Leishmaniose cutânea localizada

LD – Leishmaniose difusa

LM – Leishmaniose mucosa

LRC – Leishmaniose recidiva cútis

LTA – Leishmaniose tegumentar americana

LTL – Laboratório de Transmissores de Leishmaniose

LV – Leishmaniose visceral

LVA – Leishmaniose visceral americana

MS – Ministério da Saúde

NNN – MacNeal, Novy e Nicolle

OMS – Organização Mundial da Saúde

OPAS – Organização Panamericana de Saúde

PV-LTA – Programa de Vigilância de Leishmaniose Tegumentar Americana

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

RJ - Rio de Janeiro

SIG – Sistema de Informações Geográficas

SINAM – Sistema Nacional de Agravos de Notificação

SPSS – Statistical Package for the Social Sciences (Pacote Estatístico para as Ciências Sociais)

SVS – Secretaria de Vigilância em Saúde

VADS – Vias Aéreas e Digestivas Superiores

WHA – World Health Assembly (Assembleia Mundial da Saúde)

WHO – World Health Organization (Organização Mundial da Saúde)

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença infecciosa, não contagiosa, causada por diferentes espécies de protozoários do gênero *Leishmania*, que acomete pele e mucosas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013) e está entre as doenças infecciosas mais importantes do mundo, devido ao seu alto coeficiente de detecção e capacidade de produzir sequelas (OMS, 2015). Apesar desta relevância, ainda é classificada como doença negligenciada. É classicamente definida como zoonose, na qual mamíferos silvestres atuam como hospedeiros naturais. Nestas circunstâncias, o ser humano é um hospedeiro acidental quando invade florestas primárias, onde os mamíferos, reservatórios de diferentes espécies de *Leishmania* e seus respectivos vetores, os flebotomíneos, estão presentes (ASHFORD, 2000).

Fatores como destruição de habitats, mudanças no padrão demográfico das cidades, costumes, nível sócio-econômico, qualidade dos serviços de saúde e educação isoladamente ou em associação, aproximam hospedeiros definitivos, intermediários, vetores e parasitos, determinando mudanças no nível endêmico ou epidêmico de doenças infecciosas (PATZ et al, 2000; DASZAK et al, 2001; MCMICHAEL, 2004; MACPHERSON, 2005).

A expansão das leishmanioses deve ser observada como o resultado da adaptação dos flebotomíneos em ambientes alterados, onde humanos, animais domésticos e silvestres estão disponíveis como fontes de alimentação alternativas (RANGEL, 1995; TRAVI et al, 2002; RANGEL & LAINSON, 2003; XIMENES et al, 2007; ALESSI et al, 2009).

Além dos conhecidos fatores biológicos associados à transmissão das leishmanioses (vetor, hospedeiro e parasito) e os fatores fisiogeográficos (relevo, vegetação e clima), as condições socioeconômicas das populações que vivem em áreas de risco vêm assumindo papel importante. Entretanto, as ações antrópicas no ambiente destacam-se como fatores de igual magnitude. Os contínuos desmatamentos das florestas, a construção de empreendimentos hidrelétricos, as migrações, a implantação de grandes projetos agrícolas, as guerras civis e atividades militares são elementos que têm amplificado esse cenário. Alguns

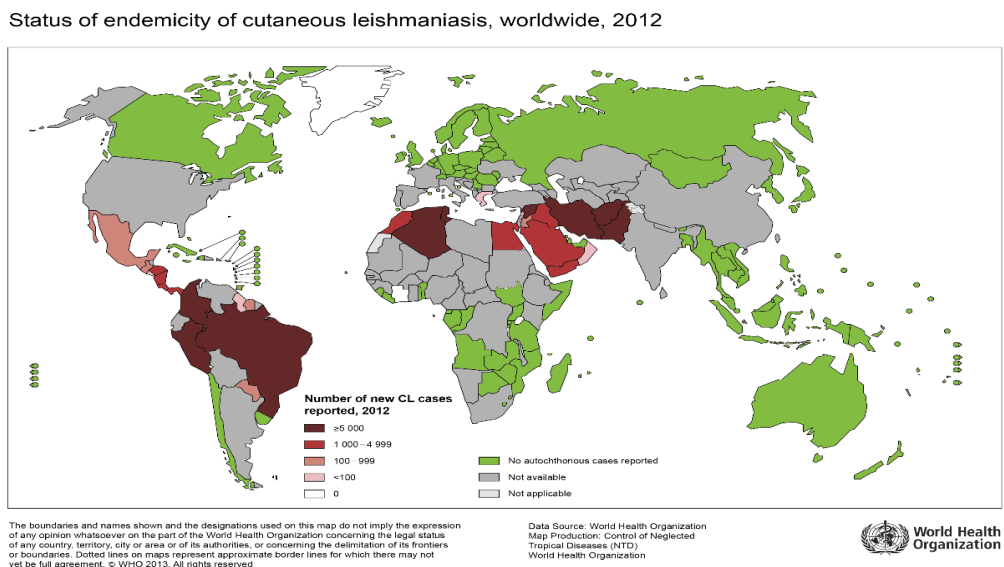
especialistas dizem que essa expansão geográfica ocorre devido ao “caos ecológico” causado e motivado pelas ações humanas, possibilitando assim um contato mais próximo e estreito com os vetores de patógenos humanos dentre eles, os flebotomíneos, vetores das leishmanioses (SHAW, 2007). Este processo, relacionado com a expansão geográfica da doença em décadas passadas, fez com que as leishmanioses fossem consideradas como zoonoses emergentes ou, em algumas situações, reemergentes (ASHFORD, 2000).

1.1 - Leishmanioses Tegumentares no Mundo

Uma análise recente mostra que mais de 98 países e territórios são endêmicos para a LTA. Ela afeta principalmente a população pobre da África, Ásia e América Latina, e está associada à desnutrição, condições precárias de habitação, deslocamento da população e falta de recursos. Os dez países com as maiores incidências de casos de leishmaniose cutânea (LC) e que juntos representam 70 a 75% da sua incidência global são: Afeganistão, Argélia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Etiópia, Irã, Peru, Sudão e Síria (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2012). No entanto, acredita-se que os casos de leishmanioses no mundo são subnotificados, pois apenas 33 países adotam a notificação compulsória da doença (WHO/TDR, 2004b). Em registro oficial são estimados 12 milhões de doentes, com 350 milhões de indivíduos vivendo em áreas de risco (WHO/CID/Leish/2010).

Em 2012, o Brasil era um dos países que apresentavam número ≥ 5000 de casos novos de LC (Figura 01) (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2012).

Figura 1 – Situação endêmica mundial da leishmaniose cutânea,2012.



Fonte:http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Leishmaniasis_CL_2_013.
26/08/2015

No continente Americano, as leishmanioses visceral e tegumentar distribuem-se desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina, incluindo, pelo menos, 22 países, e representam um problema de saúde pública (Ministério da Saúde, 2013).

Na 16ª Assembleia Mundial de Saúde (2007) emitiu-se a resolução WHA 60.13 sobre o controle das leishmanioses (WHA, 2007). Algumas medidas foram recomendadas no sentido de reforçar os programas nacionais de controle, conduzir estudos epidemiológicos mais precisos, melhorar o intercâmbio de informações e ações entre países, para promover a vigilância e o controle da leishmaniose, e melhorar o diagnóstico e a prevenção. Na ocasião também foram indicadas algumas ações prioritárias como: desenvolvimento de novos medicamentos; reforço nas pesquisas para o controle de vetores, reservatórios e proteção do ser humano; melhoria dos métodos diagnósticos; e melhoria do acesso da população sob risco aos sistemas e saúde.(CONCEIÇÃO-SILVA & ALVES, 2014)

Muitos anos se passaram, no entanto ainda nos deparamos com os mesmos problemas. As leishmanioses, sobretudo a forma visceral (leishmaniose visceral – LV), têm se expandido para novas regiões, e casos de LTA e doença visceral têm

sido diagnosticados em visitantes de regiões onde a transmissão da doença é relatada (ALVAR et al, 2012; CONCEIÇÃO-SILVA & ALVES, 2014).

1.2 - Leishmanioses no Brasil

No Brasil, a leishmaniose tegumentar americana (LTA) constitui uma das afecções dermatológicas que merece maior atenção, pelo risco de deformidades que pode causar no ser humano (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013). No Brasil, a LTA representa um dos agravos da Lista Nacional de Doenças e Agravos de Notificação Compulsória e apresenta ampla distribuição geográfica com registro de casos em todas as regiões brasileiras. A autoctonia foi confirmada em todos os estados brasileiros em 2003, com ampla dispersão, tendo intensa concentração de casos em algumas áreas, e casos isolados em outras (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013). Cerca de 39 milhões de indivíduos habitam em áreas endêmicas de LTA, sendo estimados 20.000 casos/ano (BRASIL MS/SVS, 2006a; BRASIL MS/SVS, 2013).

As taxas de incidência e prevalência da doença variam entre os estados, sendo menores em zona temperada, como em Santa Catarina (SÃO THIAGO & GUIDA, 1990; STEINDEL et al, 1997). Na década de 80, foram notificados 105.988 doentes com LTA no país, a maioria (aproximadamente 80%) procedente das regiões Norte e Nordeste (Brasil MS/SVS, 2013) (Figura 02). Entre 1985 a 2005, foi observada uma média anual de 28.568 casos autóctones registrados e coeficiente de detecção médio de 18,5 casos/100.000 habitantes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013), sendo que em 1995, foram registrados 35.748 doentes, sendo a incidência de 22,94 casos/100.000 habitantes (BRASIL MS/SVS, 2013). Entretanto no período de 2002 a 2009 foi verificada no Brasil uma diminuição constante nos coeficientes de prevalência na leishmaniose tegumentar (BEDOYA-PACHECO et al, 2011), com a notificação de 112.659 casos de LTA entre 2006 e 2010 (BRASIL MS/SVS, 2013) (Figura 02). Em 2005 observou-se a notificação de 26.525 doentes em todo território nacional, com uma incidência de 14,44 casos/100.000 habitantes (BRASIL MS/SVS, 2013), reduzindo, em 2011, para um número total de casos de LTA de 15.731, com uma incidência de 11,1 casos por 100.000 habitantes (DATASUS, 2015). Em 2013,

foram realizadas 18.226 notificações, com o Pará apresentando o maior número absoluto de casos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013; PORTAL DA SAÚDE, 2014).

Figura 2 - Mapa da distribuição de LTA por município, no Brasil.



Fonte: SINAN, 2008.

Ainda com essa diminuição, a LTA é um problema de saúde pública no Brasil, maior do que em qualquer outro país do Hemisfério Ocidental. Os ciclos de transmissão da doença são diferenciados entre áreas endêmicas. Isso é consequência não apenas da sua expansão territorial, mas também dos distúrbios ambientais causados pela ação antrópica, das variáveis relacionadas ao parasito, aos vetores e aos ecossistemas naturais (ASHFORD et al, 1992). O Programa de Vigilância de Leishmaniose Tegumentar Americana (PV-LTA) da SVS, associando indicadores de densidade de casos humanos de leishmaniose tegumentar (número de casos de LTA por km²) e variáveis sócio-ambientais, descreve 24 círculos de produção da LTA de importância epidemiológica no Brasil, representando 75% do

total de casos registrados em 2004, distribuídos em 1.926 municípios (BRASIL MS/SVS, 2007).

Quanto aos padrões epidemiológicos, atualmente, pode-se dizer que, no Brasil, a LTA apresenta três padrões epidemiológicos característicos de transmissão (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013):

1º Silvestre – Neste padrão, a transmissão ocorre em área de vegetação primária e é, fundamentalmente, uma zoonose de animais silvestres, que pode acometer o ser humano quando este entra em contato com o ambiente silvestre, onde esteja ocorrendo enzootia;

2º Ocupacional e Lazer – Este padrão de transmissão está associado à exploração desordenada da floresta e derrubada de matas para construção de estradas, usinas hidrelétricas, instalação de povoados, extração de madeira, desenvolvimento de atividades agropecuárias, de treinamentos militares e ecoturismo;

3º Rural e periurbano em áreas de colonização – Este padrão está relacionado ao processo migratório, ocupação de encostas e aglomerados em centros urbanos associados a matas secundárias ou residuais.

As áreas de assentamentos em crescente número no país possibilitam contato mais estreito da população humana com os flebotomíneos vetores, podendo ocasionar o surgimento de surtos e epidemias (MS/SVS, 2007). Se os seres humanos atuarem como um reservatório, a intensa migração humana de áreas endêmicas rurais para a periferia de áreas urbanas pode estar contribuindo para a urbanização da doença (AGUDELO et al, 2002).

1.3 - Leishmanioses no Rio de Janeiro

O Rio de Janeiro é uma das 27 unidades federativas do Brasil. Situa-se na porção leste da região Sudeste e ocupa uma área de 43.696,054 km². O estado do Rio do Janeiro faz parte do bioma da Mata Atlântica brasileira e tem, em seu relevo,

montanhas e baixadas localizadas entre a Serra da Mantiqueira e Oceano Atlântico, destacando-se pelas paisagens diversificadas. O estado é formado por duas regiões morfológicamente distintas: a baixada e o planalto. O clima é tropical Atlântico e sua população estimada é de 16.010.429 habitantes

Predominam no estado do Rio de Janeiro os climas tropical (baixadas) e tropical de altitude (planalto). Na Região Metropolitana do Rio de Janeiro, domina o clima tropical semi-úmido, com chuvas abundantes no verão, que é muito quente, e invernos secos, com temperaturas amenas. A temperatura média anual é de 22°C a 24°C e o índice pluviométrico fica entre 1.000 a 1.500 milímetros anuais. Nos pontos mais elevados da região serrana, limite entre a Baixada Fluminense e a Serra Fluminense, observa-se o clima tropical de altitude, mas com verões um pouco quentes e chuvosos e invernos frios e secos. A temperatura média anual é de 16°C. Na maior parte da Serra Fluminense, o clima também é tropical de altitude, com índice pluviométrico elevado, se aproximando dos 2.500 mm anuais em alguns pontos, com verões variando entre quentes e amenos e na maioria das vezes, chuvosos, e invernos frios e secos. Nas Baixadas Litorâneas, a Região dos Lagos, o clima é tropical marítimo, com média anual de cerca de 24°C com verões moderadamente quentes, mas amenizados devido ao vento do mar e invernos amenos.

Apenas um ano após ter sido comprovada a transmissão de leishmaniose tegumentar no Velho Mundo, por flebótomos (SERGENT et al, 1921), um jovem cientista do Instituto Oswaldo Cruz, Henrique Aragão (1922), pode atribuir a uma espécie de flebótomo a transmissão da LTA no Continente Americano. Ele assinalou a associação entre a alta densidade de flebótomos e a presença da doença na localidade Águas Férreas, no bairro de Laranjeiras, da cidade do Rio de Janeiro, e incriminou *Lu. intermedia* como vetor potencial de *Leishmania (V.) braziliensis*, ao produzir no focinho de um cão uma úlcera contendo formas amastigotas consequentes à inoculação de triturado de exemplares desse flebótomo naturalmente infectado (HENRIQUE ARAGÃO, 1922).

Em 1947, quando da ocorrência de um surto de leishmaniose tegumentar em Magé, *L. intermedia* foi incriminada como responsável pela disseminação da doença (GUIMARÃES, 1985; GUIMARÃES & BUSTAMANTE, 1954). De 1969 a 1974, a LTA foi constatada em várias áreas do Estado do Rio de Janeiro sob a forma de

pequenos focos sem, contudo, haver sido esclarecido qual flebotomíneo estaria participando do mecanismo de transmissão (MENEZES, 1976; 1974). Com a epidemia ocorrida em 1974 no bairro de Jacarepaguá, na cidade do Rio de Janeiro, foram capturados 47.761 flebotomos, tendo *L. intermedia* predominado e a segunda mais frequente a *L. migonei* com 92,7% do total de exemplares (FIOCRUZ, 1974). Mais uma vez, em 1979, durante um surto da doença na Ilha Grande, no Estado do Rio de Janeiro, foi verificada a prevalência de *Lutzomyia intermedia* (59,47%) sobre as demais espécies identificadas (ARAÚJO FILHO, 1978).

No Estado do Rio de Janeiro, diversos surtos de LTA se sucederam em várias localidades e municípios, gerando focos em diferentes áreas de colonização antiga ou de desmatamentos recentes, cujos estudos epidemiológicos sempre relataram a predominância de *L. intermedia*, no intra e/ou peridomicílio, demonstrando sua capacidade de adaptação ao ambiente frequentado por seres humanos e por animais domésticos, além do encontro deste vetor naturalmente infectado por *Leishmania (Viannia) braziliensis* (OLIVEIRA-NETO et al, 2000; MENESES et al, 2002; PITA-PEREIRA et al, 2005). A incriminação de *L. intermedia* como vetor local da doença foi ratificada em 1984, quando este foi encontrado naturalmente infectado por *Leishmania braziliensis* em Jacarepaguá, Rio de Janeiro (RANGEL et al, 1984). Em algumas áreas de transmissão no ambiente florestal ou casas bem próximas a estes ambientes, o parasito também foi isolado e caracterizado no vetor *Lutzomyia migonei* (RANGEL & LAINSON, 2009; CARVALHO, 2011; CARVALHO et al, 2014; CARVALHO et al, 2015).

O registro de casos de LTA aumentou progressivamente da década de 80 até 2007, principalmente na zona oeste da cidade, onde estão localizados bairros densamente ocupados e em franca expansão. Nessas áreas são observados vários tipos de ocupação: condomínios de classe média/alta, loteamentos regulares e irregulares e “invasões” por populações de baixa renda. A maioria dos residentes da zona oeste, no entanto, apresenta baixa renda e baixo nível de escolaridade, além de viverem sob precárias condições de saneamento e habitação (KAWA & SABROZA, 2002).

No Centro-Sul do Estado do Rio de Janeiro foi observado que as pessoas não são infectadas pela sua recente chegada numa área de risco, sugerindo que podem ocorrer mudanças no meio ambiente, como a migração humana e animal, e

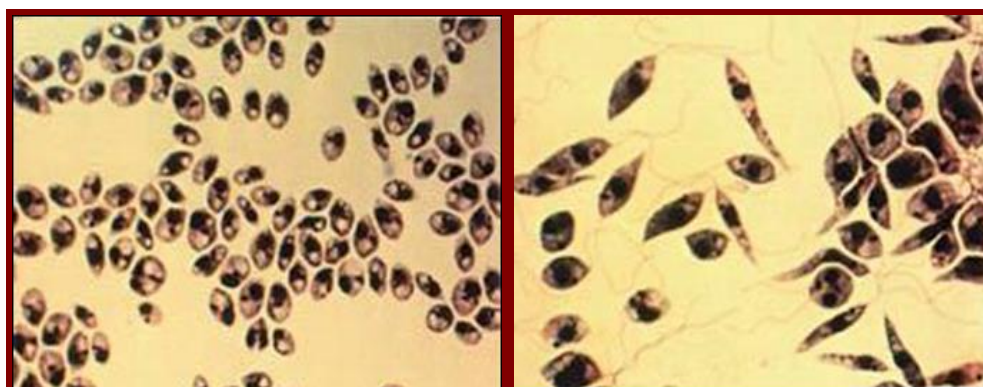
mudanças na vegetação, na fauna, do inseto vetor ou no padrão epidemiológico da doença (BUSTAMANTE et al, 2009). O primeiro caso autóctone de leishmaniose cutânea difusa causada por *Leishmania (L.) amazonensis* no Estado do Rio de Janeiro foi detectada em seu litoral sul, na região da Baía de Ilha Grande, que compreende os municípios de Mangaratiba, Paraty e Angra dos Reis, e é chamada de Costa Verde, devido à proximidade do litoral com as montanhas da Serra do Mar (AZEREDO-COUTINHO et al, 2007; CARVALHO et al, 2014; CARVALHO et al, 2015).

A partir de 2007 a doença vem tendo um decréscimo em todas as localidades no Estado do Rio de Janeiro (RELATÓRIO SVS, 2015). Em 2013 o Rio de Janeiro foi um dos estados com menor número absoluto (25 casos) no Brasil (PORTAL SAÚDE, 2014).

1.4 - O Agente Etiológico e seu Ciclo Evolutivo

Os parasitos do gênero *Leishmania* (ROSS, 1903) (Protozoa: Trypanosomatidae) são protozoários flagelados, digenéticos e heteroxênicos, apresentam duas principais formas distintas: (1) a promastigota (com flagelo livre), presente no inseto vetor e (2) a amastigota (com flagelo rudimentar intracelular) presente nos hospedeiros vertebrados (Figura 3).

Figura 3: Formas amastigotas presentes nos vertebrados e formas promastigotas presentes nas culturas *in vitro* e nos invertebrados.



Formas amastigotas

Formas promastigotas

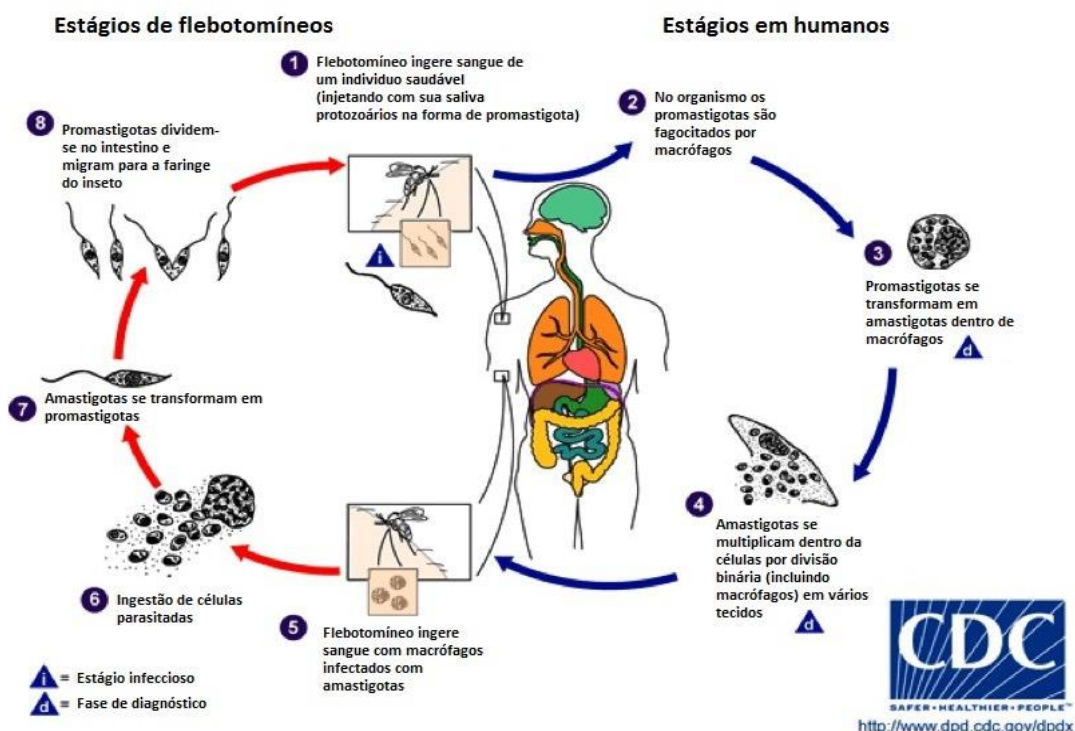
Fonte: <http://slideplayer.es/slide/4619935/>

O gênero *Leishmania* é dividido taxonomicamente em dois subgêneros: *Leishmania* (SAF´JANOVA, 1982) que engloba as espécies do Velho e Novo Mundo e *Viannia* (LAINSON e SHAW, 1987), que engloba espécies encontradas somente no Novo Mundo.

No Brasil verifica-se a incidência de sete das doze espécies de *Leishmania* neotropicais que acometem o homem, e que são associadas às diferentes manifestações cíclicas das leishmanioses (KILLICK-KENDRICK, 1999). No País já foram identificadas sete espécies dermatrópicas de *Leishmania* associadas à LTA, seis do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania*, sendo elas: *Leishmania (Viannia) braziliensis*; *L. (V.) lainsoni*; *L. (V.) naiffi*; *L. (V.) shawi*; *L.(V.) guyanensis*; *L. (V.) lindenbergi* e *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (BRASIL MS/SVS, 2013).

O ciclo evolutivo da *Leishmania* nos hospedeiros é bem definido (CHANG et al, 1985). Durante o repasto sanguíneo no vertebrado infectado, o vetor ingere o sangue contendo macrófagos parasitados com amastigotas. No intestino médio do inseto ocorre a ruptura dos macrófagos e as amastigotas se diferenciam nas formas promastigotas. Nesta fase, ocorre a multiplicação parasitária durante o processo da digestão sanguínea, seguindo-se a migração e colonização nas diferentes porções do trato digestivo do inseto. Inicialmente, os parasitos podem alojar-se na parte posterior, no piloro (seção peripilária, espécies do subgênero *Viannia*) ou ainda, no intestino médio (seção suprapilária, espécies do subgênero *Leishmania*) para, em seguida, migrarem para a porção anterior do tubo digestivo, onde novamente ocorre a multiplicação celular (MARTINS, 2008). A transmissão dos parasitos ocorre quando as fêmeas do vetor infectadas realizam novo repasto sanguíneo, regurgitando formas promastigotas metacíclicas (encontrada na probóscida do inseto vetor), posteriormente fagocitadas por macrófagos do hospedeiro, onde se transformam em amastigotas, multiplicando-se no interior de vacúolos parasitóforos (WALTERS, 1993; PIMENTA et al, 2003) (Figura 4).

Figura 4 – Esquema geral do ciclo biológico dos parasitos do gênero *Leishmania*.



Fonte: <http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html> 07/04/16

Consideramos como reservatórios mantenedores, aqueles mamíferos capazes de se infectar e manter infecções estáveis por uma determinada espécie de parasito. Reservatórios amplificadores são aqueles que, além de manter, apresentam um perfil de infecção que garante a transmissibilidade desse parasito (ROQUE et al, 2010).

Os reservatórios das espécies de *Leishmania* são principalmente mamíferos silvestres pertencentes às ordens Carnívora, Rodentia, Marsupialia, Edentata, Primata e Artiodactyla. O gênero *Didelphis* é aquele com maior dispersão no continente, sendo provavelmente, por seu caráter sinantrópico, um dos mamíferos mais investigados no que diz respeito à infecção por *Leishmania* spp., ainda que sejam escassos os estudos de acompanhamento de infecções naturais e/ou experimentais (SCHALLING et al, 2007; QUINNELL & COURTENAY, 2009). Estes mamíferos participam do ciclo primário de transmissão, servindo como fonte de infecção para flebotomíneos, mantendo assim o ciclo silvestre (LAINSON & SHAW

1998). Contudo, sugere-se que alguns animais domésticos (cães e equinos), em determinadas situações, sejam responsáveis pela manutenção dos ciclos peridoméstico e urbano da LTA, onde as espécies de flebotomíneos vetores estariam adaptadas ao ambiente domiciliar e/ou peridomiciliar (RANGEL et al, 1990; RANGEL, 1995; BRASIL MS/SVS, 2013). Em cada sistema reservatório, as espécies desempenham diferentes papéis na manutenção da parasitose, o que significa que o papel de cada componente deve ser sempre considerado único dentro de uma determinada escala espaço-temporal (ROQUE & JANSEN, 2014). A complexidade da interação hospedeiro/reservatório-parasito se dá, sobretudo, em razão do caráter dinâmico e imprevisível dessa unidade biológica, em constante mudança, em virtude das alterações do meio ambiente e do processo coevolutivo dos componentes dessa interação (ROQUE, 2009). É neste contexto que se destaca a importância de reservatórios para *Leishmania* spp. na manutenção dos ciclos de transmissão desses parasitos na natureza, e seu papel na epidemiologia dessa zoonose no continente americano (ROQUE & JANSEN, 2014).

1.5 - Transmissores de Leishmanioses

Os flebotomíneos são insetos pertencentes à Ordem Díptera, Subordem Nematocera, Família Psychodidae, Subfamília Phlebotominae, sendo comprovadamente os únicos vetores naturais dos protozoários parasitas do gênero *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), agentes etiológicos das leishmanioses (LAINSON & SHAW, 2005; RANGEL & LAINSON, 2009; WHO, 2010;). No Mundo, dentre, aproximadamente, 900 espécies descritas de flebotomíneos, em torno de 70 são relacionadas à transmissão de leishmanioses (WHO, 2010). Já nas Américas, existem cerca de 500 espécies de flebotomíneos descritas atualmente, sendo que, pouco mais de 30 dessas são incriminadas ou suspeitas de transmitirem leishmanioses humanas (LAINSON & SHAW, 2005). No Brasil, os flebotomínios são conhecidos por diversos nomes populares, que variam de acordo com a região: mosquito palha, birigui, asa dura, asa branca, cangalhinha, anjinho, tatuquira, dentre outros (WHO/TDR, 2004b) (Figura 5).

Figura 5 – Flebotomíneo durante o repasto sanguíneo



Fonte: <https://www.google.com.br/imagens/leishmaniose>

Não há um consenso universal sobre a classificação taxonômica dos flebotomíneos. A maioria dos estudos publicados nas últimas décadas adota a classificação onde todos os vetores das leishmanioses de mamíferos são agrupados em dois gêneros: *Phlebotomus* para o Velho Mundo (Seccombe et al, 1993) e *Lutzomyia* para o Novo Mundo (YOUNG e DUNCAN, 1994). Esta proposta taxonômica não considera relações evolutivas entre as espécies, incluindo gêneros reconhecidamente parafiléticos (grupo de descendentes de um ancestral comum em que estão incluídos vários descendentes desse ancestral, mas não todos eles) e polifiléticos (grupos de espécies que descendem de ancestrais diferentes) (READY, 2011), porém ainda é adotada pela conveniência em agrupar espécies de acordo com sua importância médica. A revisão taxonômica mais recente proposta por Galati (2003) foi baseada na filogenia do grupo, o que resultou em uma grande reorganização dos táxons neotropicais em 22 gêneros, 20 subgêneros, 3 grupos e 28 séries de espécies. Provavelmente, devido à complexidade da classificação mais

atual e sua restrição as espécies do Novo Mundo, esta ainda não é amplamente aceita no meio científico. Portanto, por não haver consenso em torno de uma proposta taxonômica para os flebotomíneos, os grupos de investigadores podem optar por uma ou outra classificação em seus trabalhos científicos.

Os flebótomos, além de vetores naturais de alguns agentes etiológicos de *Leishmania* e outros tripanosomatídeos, são também vetores de bactérias do gênero *Bartonella* e arbovírus. Desta maneira, são considerados potenciais vetores para uma diversidade de parasitos. Em decorrência disto, há questionamentos sobre a interferência do desenvolvimento dos diferentes patógenos entre si. Como por exemplo, se os vírus patógenos comuns em flebotomíneos, podem ou não afetar o desenvolvimento de tripanossomatídeos no organismo destes vetores (SHERLOCK, 2003; SHAW et al, 2003; READY, 2013)

A competência vetorial de uma espécie de flebotomíneo é determinada pela aptidão de *Leishmania* em sobreviver, se multiplicar e diferenciar dentro do trato digestivo, de modo que seja transmitida aos vertebrados. Tal processo depende de fatores intrínsecos do flebotomíneo, os quais irão determinar sua capacidade de ser susceptível ou refratário ao desenvolvimento das diferentes espécies de *Leishmania*. Tais fatores sugerem a existência de um processo de co-evolução entre as espécies de *Leishmania* e seus vetores (PIMENTA et al, 2003).

Os flebotomíneos apresentam hábitos noturnos, embora algumas espécies possam se mostrar ativas mesmo durante o dia. Quando não se encontram em atividade, refugiam-se em locais escuros, úmidos e abrigados, como fendas de rochas, paredes ou troncos de árvores. Os insetos adultos alimentam-se de substâncias açucaradas encontradas na natureza como seivas vegetais (MOORE et al, 1987; ALEXANDER & USMA, 1994), néctar (SHERLOCK & SHERLOCK, 1961; 1972) e mel de afídeos (KILLICK-KENDRICK, 1978; WALLBANKS et al, 1991). Diversas espécies de *Leishmania* podem ser transmitidas aos mamíferos, inclusive ao homem, somente através das fêmeas, que desenvolveram a hematofagia durante o seu período reprodutivo em sua busca por alimento e, por conseguinte, podem ocasionalmente, ingerir a *Leishmania* e transmiti-la dando continuidade ao ciclo evolutivo. As fêmeas podem usar como fonte de sangue todas as ordens de vertebrados, havendo espécies mais ecléticas do que outras quanto às preferências alimentares (BARRETO, 1943; FALQUETO, 1995). Por exemplo, no caso da

espécie *Lutzomyia (Nyssomyia) flaviscutellata*, esta é fortemente atraída por roedores, ao passo que sua atração pelo homem não é muito grande (SHAW et al, 1972).

No Brasil, as principais espécies de flebotomíneos envolvidas na transmissão da LTA são: *Lutzomyia (Nyssomyia) flaviscutellata*; *Lu. (N.) whitmani*; *Lu. (N.) umbratilis*; *Lu. (N.) intermedia*; *Lu. (Psychodopugus) wellcomei* e *Lu. migonei* (BRASIL MS/SVS 2010). O papel vetorial de cada uma destas espécies depende da espécie de *Leishmania* presente no intestino do vetor e, portanto, configuram-se diversos tipos de ciclos de transmissão. Destes, segundo FOUQUE et al. (2007), destaca-se a transmissão de:

"*L. (V.) braziliensis*, que é encontrada em todas as unidades federativas e tem como principais vetores *Lu. (P.) wellcomei*; *Lu. (N.) whitmani*; *Lu. (N.) intermedia* e *Lu. migonei*.

L. (V.) guyanensis, restrita à região amazônica, que tem como vetor *Lu. (N.) umbratilis*

Leishmania (L.) amazonensis, responsável por casos graves de leishmaniose cutâneo-difusa em áreas úmidas da Amazônia Legal, principalmente nos estados do Pará e Maranhão e atualmente também presente nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste, denotando um evidente processo de expansão geográfica, que é transmitida por *Lu. (N.) flaviscutellata* (BRASIL MS/SVS, 2013). Recentes registros sugerem que *Lu. (N.) flaviscutellata* pode apresentar mudanças no seu comportamento, uma vez que foi recentemente encontrada naturalmente infectada por outro parasito, *L. (V.) guyanensis*, situação até então não observada" (FOUQUE et al, 2007).

Nas últimas décadas, a epidemiologia das leishmanioses vem apresentando mudanças devido às alterações ambientais, causadas pelo homem ou por processos naturais (DUJARDIN, 2006). Neste contexto, algumas espécies de flebotomíneos já foram reportadas em ambientes modificados, tais como *Lu. intermedia*, *Lu. whitmani*, *Lu. flaviscutellata* e *Lu. longipalpis*. A expansão das leishmanioses deve ser observada como o resultado da adaptação dos flebotomíneos aos ambientes alterados, onde humanos, animais domésticos e silvestres estão disponíveis como fontes de alimentação alternativas (XIMENES et al, 2007; ALESSI et al, 2009).

1.6 - Apresentação Clínica da Leishmaniose Tegumentar

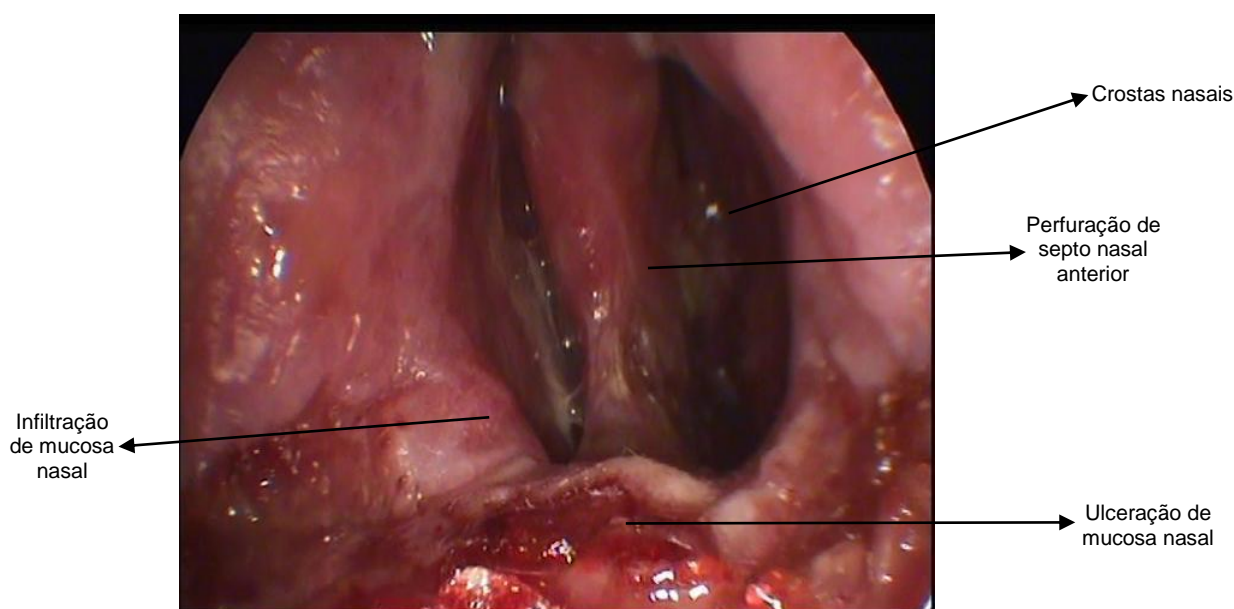
A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma afecção dermatológica que merece atenção, pelo risco de deformidades que pode produzir no ser humano (GRIMALDI et al, 1989). No homem, a LTA ocorre em diversas faixas etárias e ambos os sexos. Entretanto, 90% dos casos no Brasil são em pessoas maiores de 10 anos e 74% do sexo masculino (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

Em média, o período de incubação da doença no ser humano é de 2 meses, podendo apresentar períodos mais curtos (2 semanas) ou mais longos (cerca de 2 anos) (MARSDEN & JONES, 1985; COSTA et al, 1986). A lesão elementar mais característica da leishmaniose cutânea (LC) é a úlcera, que evolui a partir de uma pápula, que pode ou não cicatrizar espontaneamente. As lesões ulceradas são solitárias ou pouco numerosas, arredondadas ou ovais, com borda elevada (em moldura), limites bem definidos e base infiltrada, com granulação grosseira, eritematosa e de consistência firme e se localizam, na maior parte dos casos, nas áreas expostas da pele, principalmente nos membros inferiores. Úlceras fagedênicas, ectimatóides, esporotricóides ou circundadas por “pápulas satélites” também são descritas. Em alguns casos a lesão pode assumir aspecto ulcerovegetante, vegetante, verrucoso, papuloso ou em placa. Geralmente indolores, estas lesões podem estar acompanhadas de linfangite ou de linfadenite regional. A presença de secreção purulenta, dor ou eritema perilesional sugere infecção secundária, o que é relativamente comum. Os principais agentes responsáveis por tais infecções secundárias são bactérias (*estreptococos*, *estafilococos*, *pseudomonas* e *micobactérias - Avium celulare*) e alguns fungos. Do ponto de vista histopatológico, as lesões de LC caracterizam-se pela reação inflamatória do tipo crônico granulomatoso, com intensa infiltração linfoplasmocitária (Quintella et al, 2012).

Classicamente, a doença se manifesta sob duas formas: leishmaniose cutânea (LC) e leishmaniose mucosa (LM). A forma mucosa da leishmaniose pode ser causada por disseminação hemática das leishmânias inoculadas na pele para as mucosas nasal, orofaringe, palato, lábios, língua, laringe e, excepcionalmente, traquéia e árvore respiratória superior e se desenvolver vários anos após a cicatrização da lesão cutânea (JONES et al, 1987). No Brasil entre 3 a 5% dos

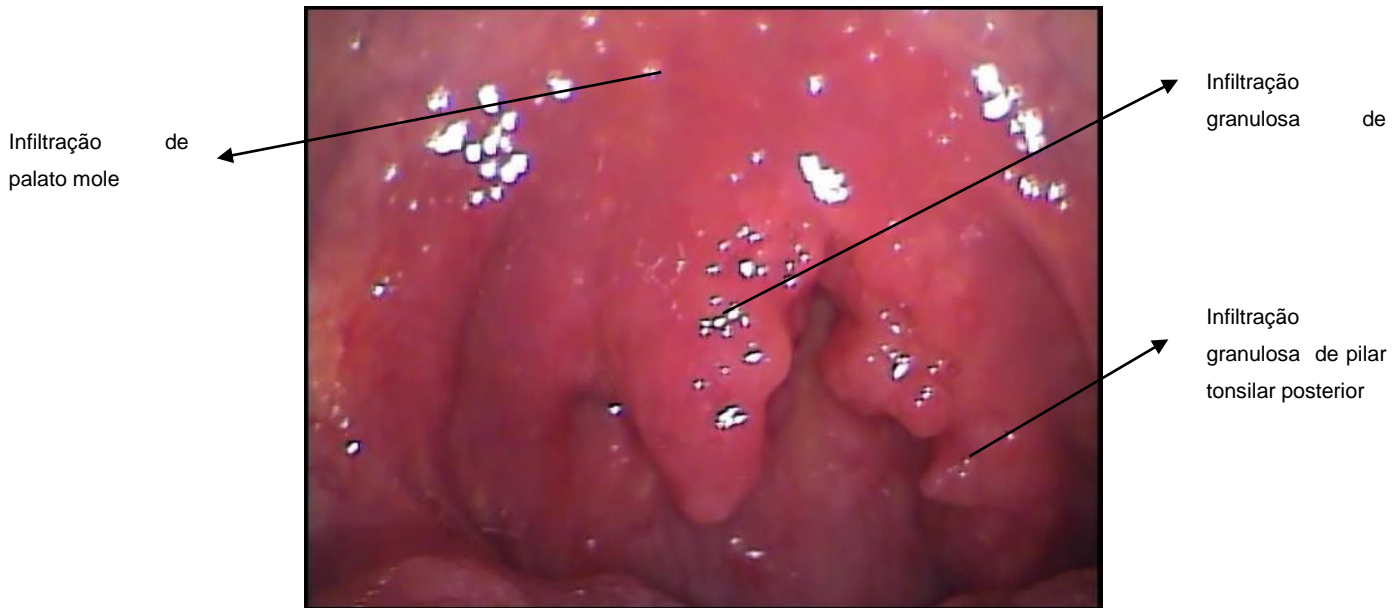
pacientes com LTA apresentam forma mucosa ou mucocutânea (BRASIL 2013) A mucosa nasal, isolada ou associada a outras localizações, está envolvida na quase totalidade dos casos de LM (Figuras 7 e 8). Os locais de predileção são a mucosa do septo cartilaginoso, das paredes laterais, do vestíbulo nasal e da cabeça do corneto inferior. As queixas mais comuns no acometimento nasal são obstrução, epistaxe, rinorréia e crostas. Quando o acometimento ocorre na faringe a queixa mais comum é a odinofagia e quando na laringe, as queixas são rouquidão e tosse (MOTA e MIRANDA, 2011). Acredita-se que as lesões mucosas, quando não tratadas, sejam progressivas, apesar da existência de alguns relatos de possíveis curas espontâneas destas lesões (MARSDEN et al 1986; PAREDES & BARRIO, 2011). Mesmo quando tratadas, podem deixar sequelas como retração da pirâmide nasal, perfuração do septo nasal ou do palato, destruição da úvula etc (SCHUBACH, 1990; MOREIRA, 1994), que podem interferir no processo da deglutição, respiração, voz e fala, necessitando de reabilitação (RUAS & SOUZA, 2005). A ordem de frequência de aparecimento de acordo com os sítios anatômicos são, cavidade nasal, oral, faringe e laringe (RUAS et al, 2014; COSTA et al, 2015).

Figura 6 - Leishmaniose mucosa - perfuração de septo nasal anterior com infiltração mucosa, áreas de ulceração e crostas amareladas.



Fonte: Debora Bezerra [Tese de doutorado], 2016, Instituto Nacional de Infectologia.

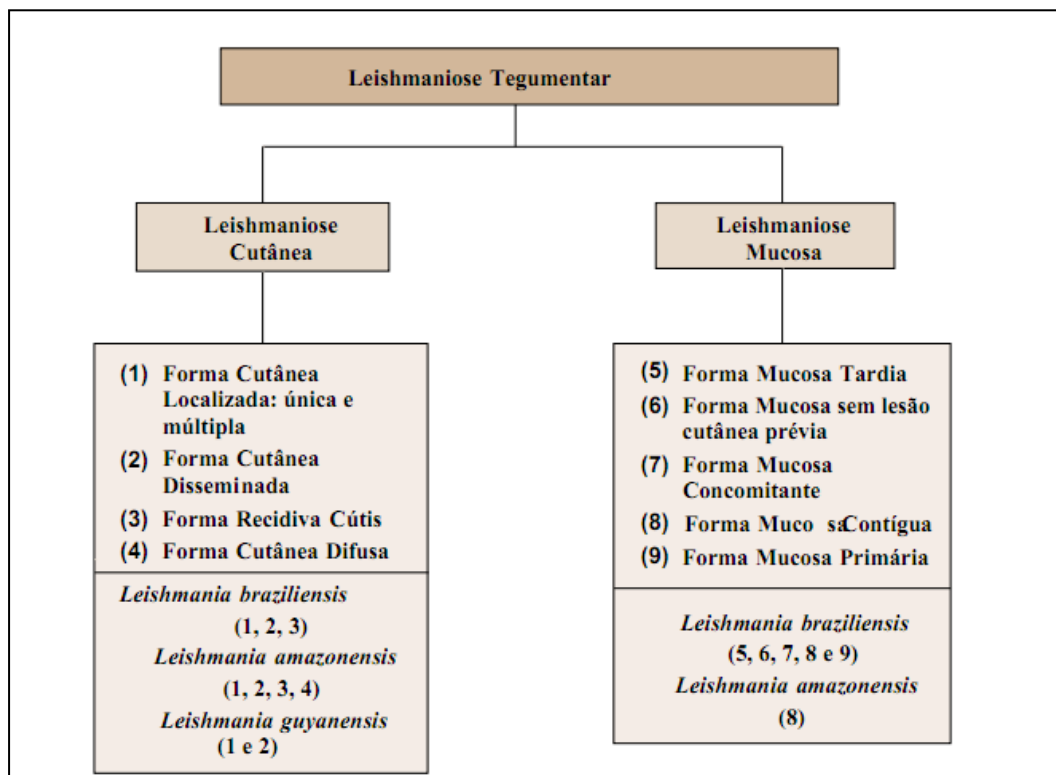
Figura 7- Leishmaniose mucosa - infiltração com granulação de palato mole, pilares tonsilares anteriores e posteriores e úvula



Fonte: LapClinVigileish 2015

Em 1994, Marzochi & Marzochi preconizaram uma classificação fundamentada em aspectos clínicos e evolutivos da LTA (Figura 8).

Figura 8 - Classificação das Modalidades das Leishmanioses no Brasil



Fonte: Marzochi & Marzochi (BRASIL 2016)

Na LTA as formas clínicas são classificadas como: (1) cutânea localizada: única e múltipla; (2) cutânea disseminada; (3) recidiva cutis e (4) cutânea difusa (BRASIL 2016)

Leishmaniose cutânea localizada única ou múltipla (LCL)– são lesões únicas ou múltiplas, em áreas expostas próximas ao sítio de inoculação do parasito. A lesão típica e classicamente descrita é a úlcera com bordas elevadas em moldura, fundo plano e superfície granulosa. Surge no local uma pápula eritematosa atingindo poucos milímetros de diâmetro. Em poucos dias forma-se pápula mais consistente, que aumenta de tamanho, com o crescimento progressivo, infiltração e finalmente necrose central, que então se recobre por crosta (AZEREDO-COUTINHO & MENDONÇA, 2014) (Figura 9).

Figura 9 - Lesão típica de leishmaniose: úlcera oval de bordas elevadas e fundo granuloso.



Fonte: Marcelo Lyra [Tese de doutorado], 2013 - LapClinVigleish/INI/Fiocruz.

Leishmaniose cutânea disseminada (LD): É relativamente rara, podendo ser observada em até 2% dos casos. Caracteriza-se pela presença de lesões múltiplas, geralmente mais de 10, em regiões não contíguas do corpo, podendo chegar a centenas. A apresentação inicial é uma úlcera, como na LCL e, num período variável

de dias a semanas, desenvolvem-se numerosas pápulas foliculares ou acneiformes, pústulas, lesões verrucosas, que podem ou não sofrer necrose central e formar crostas. A mucosa das vias aéreas superiores pode estar acometida em qualquer fase da doença, precedendo ou acompanhando quadro cutâneo ou mesmo após terapia. Vários fatores sugerem que a disseminação hemática dos parasitos seja o mecanismo envolvido na patogênese da leishmaniose disseminada (AZEREDO-COUTINHO & MENDONÇA, 2014) (Figura 10).

Figura 10 - Lesão típica de leishmaniose cutânea disseminada.

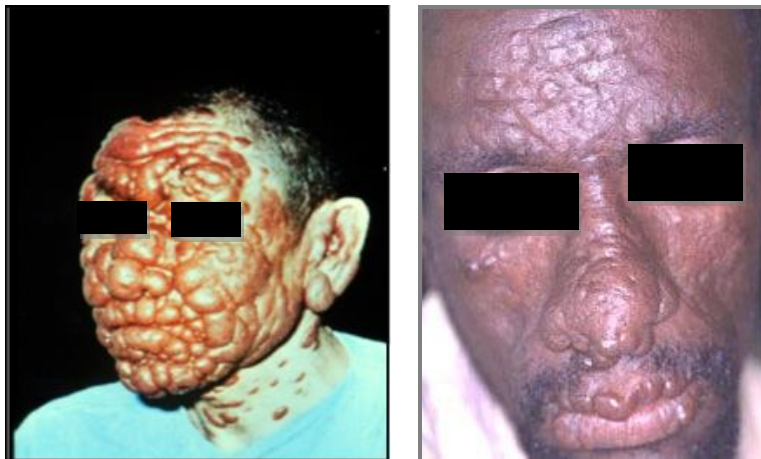


Fonte: Daniel Costa [Dissertação de mestrado] 2014, LapClinVigleish/INI/Fiocruz

Leishmaniose cutânea difusa (LCD) ou anérgica: Inicia-se, frequentemente, na infância como uma lesão ulcerada, evoluindo ou não para a cicatrização. Tem sua localização em áreas expostas, como face, membros superiores e inferiores. No Brasil, a forma cutânea difusa é causada pela *L. (L.) amazonensis* e constitui uma forma clínica rara, porém grave, ocorrendo em pacientes com anergia e deficiência específica na resposta imune celular contra antígenos de *Leishmania*. Inicia-se de forma lenta sem manifestar sintomas, com lesão única e com resposta ruim ao tratamento, e com a formação de placas e múltiplas nodulações não ulceradas recobrendo grandes extensões cutâneas. A resposta ao tratamento é deficiente ou

ausente e, geralmente, a IDRМ apresenta-se negativa (AZEREDO-COUTINHO & MENDONÇA, 2014) (Figura 11).

Figura 11 - Leishmaniose cutânea difusa



Fonte: <https://www.google.com.br>

Leishmaniose recidiva cútis (LRC): Ocorre um quadro de recidiva da LCL, meses ou anos após a resolução da LCL, espontaneamente, ou sob tratamento específico. Surgem pápulas, eritema, descamação, tubérculos ou nódulos, geralmente na periferia da cicatriz da lesão anterior, indicando atividade da doença. Nestes casos a resposta ao teste de Montenegro nos pacientes é exacerbada, além da formação de reação granulomatosa tuberculoide tecidual. A persistência de parasitos viáveis no local da lesão após a cicatrização com terapia específica é relatada na leishmaniose humana (AZEREDO-COUTINHO & MENDONÇA, 2014) (Figura 12).

Figura 12 - Leishmaniose forma recidiva cútis: Lesão com cicatrização central e bordas infiltradas meses após tratamento com antimoniato de meglumina.



Fonte: Marcelo Lyra [Tese de doutorado], 2013 - LapClinVigleish/INI/Fiocruz.
A leishmaniose mucosa pode ser classificada em (MARZOCHI & MARZOCHI, 1994; AZEREDO-COUTINHO & MENDONÇA, 2014):

Leishmaniose mucosa tardia: é verificada a presença de cicatriz ou história de lesão cutânea prévia, e costuma ocorrer de um a cinco anos após o surgimento da lesão cutânea, embora existam relatos de sua ocorrência após décadas, com lesões nas mucosas da face, mais frequentemente na mucosa nasal.

Leishmaniose mucosa concomitante: quando há lesão cutânea e mucosa ativas simultaneamente.

Leishmaniose mucosa contígua: quando a lesão mucosa ocorre por contiguidade a uma lesão cutânea adjacente.

Leishmaniose mucosa primária: lesão por inoculação direta por aposição, ocorrendo a picada do inseto vetor diretamente na mucosa, como lábios ou mucosa genital.

Leishmaniose mucosa de origem indeterminada: ocorre quando a LM apresenta-se clinicamente de forma isolada, com ausência de lesão cutânea ativa e não é possível detectar nenhuma outra evidência de LC prévia. Tais formas estariam provavelmente associadas às infecções subclínicas ou lesões pequenas, não ulceradas, de evolução rápida, que teriam passado despercebidas e curadas, sem deixar cicatrizes perceptíveis (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

1.7 - Diagnóstico e Tratamento da leishmaniose tegumentar americana

O diagnóstico da LTA compreende a associação entre dados epidemiológicos, clínicos, laboratoriais [evidenciação do parasito (*imprint*, histopatologia, cultivo, imunohistoquímica e reação em cadeia da polimerase - PCR) e provas imunológicas (IDRM e sorologia) (COSTA, 2014).

Os espécimes clínicos coletados para o diagnóstico parasitológico podem ser obtidos a partir de escarificação (no caso de lesão cutânea), biópsia das lesões ou punção (também em caso de lesão cutânea). No exame parasitológico direto é realizada a pesquisa direta de formas amastigotas, em lâminas com material obtido

por escarificação ou com fragmento de lesão de impressão (*imprint*), pela técnica de Giemsa ou Leishman. O exame parasitológico indireto visa o isolamento do agente infeccioso em meios de cultura apropriados, como por exemplo, cultivo em meio Mac Neal, Novy e Nicolle (cultivo NNN), Schneider ou Brain and Heart infusion (BHI). O isolamento em cultivo *in vitro* (meios de cultivo) é um método de confirmação de agente etiológico que permite a posterior identificação da espécie de *Leishmania* envolvida (BRASIL, 2013).

No exame histopatológico, a identificação da forma amastigota nem sempre é possível, ocorrendo em 14 a 63,7% dos casos. Os marcadores histopatológicos utilizados para o diagnóstico de LTA são: concentração de macrófagos, degeneração da matriz extracelular e granuloma tuberculóide (QUINTELLA et al, 2012; COSTA et al, 2014). A imuno-histoquímica é um método de análise dos tecidos, que busca identificar características moleculares das doenças. Se refere ao processo de localizar antígenos (proteínas) em tecidos, explorando o princípio da ligação específica de anticorpos a antígenos no tecido biológico. Tem diversas aplicações, a exemplo do diagnóstico de doenças inflamatórias, infecciosas e neoplasias (REIS, 2015).

No que se refere aos exames imunológicos, temos a intradermoreação de Montenegro (IDRM), que se baseia na visualização da resposta da hipersensibilidade celular retardada. A IDRM geralmente persiste positiva após o tratamento ou cicatrização da lesão cutânea tratada ou curada espontaneamente, podendo negatizar nos indivíduos fraco-reatores e nos precocemente tratados (BRASIL, 2013).

Outros testes imunológicos a serem considerados são os testes sorológicos, que detectam anticorpos anti-*Leishmania* circulantes no soro dos pacientes, sendo que, normalmente, os títulos encontrados são baixos. Nas lesões ulceradas por *L. (V.) braziliensis* a sensibilidade à imunofluorescência Indireta (IFI) está em torno de 70% no primeiro ano da doença, enquanto que nas lesões por *L. (V.) guyanensis* a sensibilidade é menor. Alguns pacientes são persistentemente negativos (BRASIL, 2013).

Dentre os exames moleculares a reação em cadeia da polimerase (PCR) é um método que vem sendo amplamente utilizado para fins de pesquisa e deve ser incluído no diagnóstico de rotina para LTA, especialmente para os casos em que a

identificação pelos métodos convencionais foram negativas (FAGUNDES et al, 2010). Este método se baseia na amplificação seletiva de sequências específicas de ácido nucleico, permitindo a identificação do DNA parasitário. Pode ser utilizado tanto qualitativamente (diagnóstico por PCR) quanto quantitativamente, na medição da carga parasitária (COSTA et al, 2014)

A LM é, frequentemente, confundida com lesões benignas ou malignas que acometem o tecido mucoso (Figura 13). Além disto, os métodos tradicionais apresentam dificuldade na identificação a presença do agente etiológico. Por isto, há a necessidade de utilização de diversos métodos para confirmação diagnóstica, como sorologia, cultura e métodos moleculares (DANESHBOD et al, 2011).

Embora seja benigna, a leishmanios tegumentar pode levar a quadros clínicos mais graves quando não tratada, com o acometimento das mucosas naso-buco-faríngeas e conseqüências psicológicas, sociais econômicas sérias para esses indivíduos e suas famílias (CECHINEL 2009). Sendo assim, o diagnóstico precoce e o tratamento adequado podem evitar a cronificação da LTA e, conseqüentemente, os danos que podem ser causados (bio-psico-sociais), incluindo a morte (CECHINEL 2009).

Desde 1945, os antimoniais pentavalentes têm sido escolhidos como os medicamentos de primeira opção no tratamento das diversas formas de leishmaniose sendo geralmente 10 vezes menos tóxicos em células de mamíferos, quando comparados aos antimoniais trivalentes (tártaro emético), utilizados primeiramente por Vianna em 1912 (RATH et al, 2003). A estrutura química e o mecanismo de ação dos antimoniais permanecem pouco compreendidos. É provável que o antimônio pentavalente (Sb^{+5}) seja uma pró-droga, sendo convertido a antimônio trivalente (Sb^{+3}) no meio intracelular. Após administração endovenosa (EV) ou intramuscular (IM), o antimoniato de N-metil-glucamina é rapidamente absorvido e, praticamente, 90% do antimônio pentavalente é excretado nas primeiras 48 horas, pelos rins. Entretanto, os compostos trivalentes ligam-se mais aos tecidos e em geral às hemácias, e sua eliminação está relacionada a uma fase de excreção lenta, que pode durar várias semanas, e que é provavelmente a maior responsável pela ação anti-*Leishmania*. Esta fração trivalente, apesar de ser mais tóxica para o organismo, se mostrou mais potente contra as formas promastigotas e amastigotas no interior dos macrófagos. Até o momento não se sabe ao certo a

quantidade de antimônio que fica concentrado na pele e na mucosa (LYRA, 2013).

No Brasil, o fármaco de primeira escolha para o tratamento da LTA é o antimoniato de N-metil-glucamina (Glucantime) (AM), recomendado pelo Ministério da Saúde, na dose de 10-20 mg Sb⁵⁺/kg/dia durante 20 dias consecutivos para LC e de 20 mgSb⁵⁺/kg/dia durante 30 dias consecutivos para a LM (BRASIL, 2013). Este fármaco é considerado eficaz, porém, possui alta toxicidade, podendo trazer impactos negativos para o paciente. O antimonial pentavalente parece causar efeitos adversos, mais frequentemente, em pacientes acima de 50 anos (DINIZ et al, 2012). Os efeitos adversos, mais frequentes, do tratamento da LTA com AM são: clínicos, como dores musculoesqueléticas, alterações gastrointestinais e cefaléia de leves a moderadas; alterações eletrocardiográficas, como prolongamento do intervalo QT, alteração de repolarização ventricular; alterações isquêmicas; e extrasístoles bigeminadas, polimorfos e polifocais; e alterações laboratoriais, com aumentos leves a moderados das enzimas pancreáticas e hepáticas. (LYRA et al. 2016) Efeitos adversos que levem a descontinuidade do tratamento são relativamente incomuns (COSTA et al, 2003; OLIVEIRA LF et al, 2011). No entanto, prolongamento do intervalo QT corrigido acima de 0,5 segundos sinaliza a possibilidade de arritmia cardíaca grave e fatal (WHO, 2010). A ocorrência de morte súbita, devido, principalmente, a arritmias cardíacas, tem sido descrita durante o tratamento com o AM. A gravidade das alterações e a ocorrência de morte súbita estão, geralmente, relacionados a esquemas terapêuticos com doses diárias acima de 20 mg/Sb+5/Kg/dia, sendo que o mecanismo da toxicidade cardíaca aos antimoniais pentavalentes permanece obscuro (COSTA et al, 2003). Considerando a frequência destes efeitos adversos, os pacientes devem ser monitorados com relação às funções hepáticas, renais, pancreáticas e cardíacas durante o tratamento.

Estudos comparativos entre a dose preconizada pelo Ministério da Saúde e doses mais baixas de AM, vêm sendo realizados aplicados no Instituto Nacional de Infectologia, comprovando a manutenção da efetividade e a diminuição da toxicidade do medicamento com menores doses (SAHEKI, 2013; LYRA, 2013; SCHUBACH, 2005). Nestes estudos, são utilizadas doses de 5 mg Sb⁵⁺/kg/dia, por um período consecutivo de 30 dias ou em três séries de 10 doses com um intervalo de 10 dias entre as aplicações para a LC, e de 5 mg Sb⁵⁺/kg/dia, sendo contínuo até a cura com no máximo 120 doses ou em séries de 10 doses com o intervalo de 10 dias

entre elas, também com máximo de 120 doses, para a LM (OLIVEIRA et al, 1996; OLIVEIRA et al, 1997; SCHUBACH et al, 2005). Entretanto, não existe consenso sobre a eficácia e aplicabilidade deste esquema em outras áreas do país.

O critério de cura é clínico, e definido pelo Ministério da Saúde como “epitelização das lesões ulceradas, regressão total da infiltração e eritema, até três meses após conclusão do esquema terapêutico” (BRASIL, 2013). Após esse período, caso não ocorra a cicatrização completa, recomenda-se um novo ciclo de AM. Ressalva-se, no entanto, a possibilidade de prolongar o acompanhamento clínico por até seis meses, nos casos com evidência de cicatrização progressiva, sem necessidade de reintroduzir tratamento. No caso de insucesso após um novo tratamento, será considerada falha terapêutica e deverá ser introduzido um medicamento de segunda escolha, anfotericina B ou pentamidina (BRASIL, 2013).

É possível que as diferenças na resposta terapêutica ao AM, apresentadas por indivíduos infectados em áreas de transmissão de *L. (V.) braziliensis*, possam ser explicadas por variações, ainda não bem estudadas, dentro da mesma espécie e em parte, por problemas metodológicos que impedem a comparação sistemática das diferentes experiências terapêuticas (ROMERO et al, 2001). Outros fatores, como o tempo de evolução das lesões e a resposta à IDR (ANTONIO, 2012), a resposta imunológica do indivíduo (ROMERO et al, 2001; MENDONÇA et al, 1988; CONCEIÇÃO-SILVA et al, 1990), certas particularidades da farmacodinâmica e farmacocinética do antimônio (BERMAN et al, 1990; MARSDEN, 1985) e a presença de resistência inerente do parasito ao antimônio (HADIGHI et al, 2006) podem influir na resposta terapêutica. O fenômeno da persistência parasitária na LTA nos faz refletir sobre os objetivos do tratamento e sobre a necessidade ou não de eliminar definitivamente o parasito para atingir a cura clínica (SCHUBACH et al, 1998; SCHUBACH et al, 2001; MENDONÇA et al, 2001). O tratamento da LTA deve alcançar dois objetivos: a cicatrização das lesões cutâneas e a prevenção do envolvimento das mucosas tardiamente. A indicação de doses altas de antimônio (BERMAN et al, 1982) baseia-se em evidências de que poderia haver indução de resistência com o uso de subdoses (GROGL et al, 1992). Entretanto, estudos clínicos no Rio de Janeiro, com seguimento prolongado de pacientes, têm sugerido que, tanto o uso de esquemas regulares com doses baixas (5mg Sb⁵⁺/kg/dia) por via sistêmica (SCHUBACH, 1990; OLIVEIRA-NETO et al, 1996; OLIVEIRA-NETO

et al, 1997c; OLIVEIRA-NETO et al, 1997b; OLIVEIRA-NETO et al, 2000; SCHUBACH et al, 2002; SCHUBACH et al, 2005) quanto à terapia intralesional com antimoniato de meglumina (OLIVEIRA-NETO et al, 1997a), podem constituir esquemas eficazes, alcançando percentuais de cura semelhantes àqueles obtidos com doses mais elevadas, além de menor toxicidade, maior facilidade de execução e menor custo (HARMS et al, 1991; SHARQUIE, 1995; CLAROS et al, 1996; TALLAB et al, 1996).

Pacientes menores de cinco anos de idade foram significativamente mais propensos à falha terapêutica (PALACIOS, 2001). Entre os fatores relacionados ao insucesso terapêutico, os tratamentos irregulares demonstram ser significativos (RODRIGUES et al, 2006), bem como a negatividade ao teste cutâneo com antígenos de *Leishmania* (PASSOS et al, 2000). A cada 10 milímetros de aumento na resposta à intradermoreação de Montenegro, reduz em 26% na ocorrência de falha terapêutica (ANTONIO, 2012). O momento em que o tratamento foi instituído também pode interferir na resposta terapêutica. Lesões recentes, não ulceradas, ou com menos de 2 meses de evolução, precocemente tratadas com AM apresentaram maior taxa de falha terapêutica quando comparadas a lesões ulceradas mais antigas (UNGER et al 2009; ANTONIO, 2012). A ocorrência de lesões concomitantes-distantes, definidas como o aparecimento de mais de uma lesão em diferentes segmentos do corpo (cabeça, membros superiores, tronco e membros inferiores) no espaço de 15 dias, bem como a infecção por *Leishmania (V.) braziliensis*, foram consideradas fortemente associadas com falha terapêutica em um estudo caso-controle desenvolvido no Peru com 79% de falha ao estibogluconato de sódio usado na dose padronizada de 20mg Sb⁵⁺/kg/dia por 20 dias (VALENCIA et al, 2012). Parece haver polimorfismo genético entre amostras isoladas de *Leishmania (V.) braziliensis* de pacientes antes do tratamento e depois do insucesso terapêutico, sugerindo uma possível diferenciação da estrutura da população parasitária original que poderia estar envolvida nos mecanismos de resistência ao tratamento ou reativação das lesões na LTA (BAPTISTA et al, 2012).

Pacientes que apresentarem recidiva das lesões ou evolução das formas clínicas, devem reiniciar a investigação diagnóstica e dar início a um novo tratamento. Os medicamentos de segunda linha empregados são a anfotericina B e pentamidina, indicados quando há ausência de resposta ao antimonial pentavalente

após dois cursos de tratamento completos. A anfotericina B pode ser considerada como primeira opção no tratamento de gestantes (BRASIL, 2013).

1.8 - Geotecnologias

O estudo dos impactos gerados pelas mudanças globais permeia, invariavelmente, temas multidisciplinares. A interseção entre as disciplinas Ecologia e Epidemiologia é de especial relevância para estudos referentes à saúde humana. As doenças infecciosas envolvem, necessariamente, interações ecológicas entre pelo menos duas espécies: patógeno e hospedeiro, muitas vezes com a participação de uma terceira espécie, o vetor. Para o entendimento deste complexo sistema de interações, um fator surge como importante determinante do risco de transmissão destas doenças ao homem: o espaço. O termo epidemiologia espacial surge, então, para representar os estudos sobre as causas e consequências da heterogeneidade espacial em doenças infecciosas (OSTFELD et al, 2005).

Atualmente, as geotecnologias têm sido usadas para mapear e estudar a superfície terrestre e se encontram bem difundidas. Nos últimos anos, têm acrescentado valiosa contribuição no controle e predição de doenças transmitidas por vetores especialmente malária, dengue, doença de Lyme e leishmanioses, além de permitir gerar hipóteses etiológicas referentes à origem das doenças em diferentes populações (MEDRONHO & WERNECK, 2009). Estes estudos, objetivam caracterizar e monitorar os perfis espaciais e temporais dessas doenças e, conseqüentemente, identificar padrões epidemiológicos, através do detalhamento da relação dessas doenças com o espaço onde elas se reproduzem, o que traduz-se em informações que podem ser ferramentas de valor para a implantação de medidas de controle (GURGEL et al, 2005; BARCELLOS et al, 2007; KALLURI et al, 2007).

A teoria de Pavlovsky é uma fundamentação teórica para as diversas metodologias de análises espaciais de ocorrência de doenças infecciosas que permeiam a literatura científica atualmente, e consiste em três observações básicas: 1) doenças infecciosas tendem a ser limitadas geograficamente; 2) esta variação espacial surge das variações nas condições físicas e/ou biológicas que sustentam o patógeno, seus vetores e reservatórios; 3) se estas condições abióticas e bióticas

podem ser delimitadas em mapas, então, tanto áreas de risco contemporâneas quanto futuras podem ser previstas (OSTFELD et al, 2005). Estas metodologias permitem, além de uma melhor descrição da distribuição das espécies participantes dos ciclos de transmissão, a detecção de padrões, que facilitam a compreensão do fenômeno observado, e leva à projeções futuras de áreas ou épocas mais receptivas à ocorrência de doenças (OSTFELD et al, 2005; SCHEINER, 2009; PULLAN et al, 2012).

Para a análise relativa a distribuição espacial da LTA são consideradas duas categorias:

- O circuito espacial que entende-se como uma região extensa, complexa e contínua, sendo seus limites pouco definidos. No circuito espacial definido a partir de um elevada concentração de casos em um período determinado, observa-se que na maior parte das vezes, os casos de leishmaniose se sobrepõem a mais de um município, não constituindo uma área homogênea, mas sim áreas com diferentes gradientes de densidade de casos. Os circuitos são decorrentes de processos sócio-ambientais particulares e dinâmicos, podendo apresentar tendência à expansão ou retração, em função das características dos seus determinantes (NASSER et al, 2009; RODRIGUES et al, 2013; MOLLALO et al, 2015).
- O polo é uma unidade espacial mais restrita, dinâmica, pulsátil e, caracteriza-se como um núcleo de grande densidade que se evidencia no interior do circuito, sendo seus limites poucos definidos.

Do ponto de vista epidemiológico, um pólo sinaliza uma área de transmissão intensa e contínua, possivelmente com características diferenciadas do restante de sua região, destacando-se por sua densidade intensa de casos, em contraste com as áreas vizinhas (NASSER et al, 2009; RODRIGUES et al, 2013; MOLLALO et al, 2015).

Para trabalhar em nível local, utiliza-se o conceito de localidade como uma unidade territorial mínima, georeferenciada, sem limites políticos administrativos, autoreconhecida pela comunidade e pelo serviço do poder público local. A análise pela Unidade de Vigilância Local é utilizada para viabilizar a comparação da divisão

territorial e os ajustamentos das bases territoriais dos Setores Censitários (KAWA et al 2010; KAWA & SABROSA, 2002; NASSER et al, 2009; RODRIGUES et al, 2013; MOLLALO et al, 2015).

As informações epidemiológicas relativas aos lugares de transmissão de LTA apresentam um grande problema, que é a dificuldade de caracterização da população exposta ao risco. Embora para doenças focais a unidade mais elementar de análise seja a localidade, informações para este nível ainda não estão disponíveis no sistema para todos os anos e municípios, levando-se a considerar as informações de base municipal como aquelas de menor nível de agregação (NASSER et al, 2009; RODRIGUES et al, 2013; MOLLALO et al, 2015).

Neste nível de agregação, considera-se que a maior parte da população reside em áreas urbanas e os locais de transmissão se distribuem de modo não uniforme pela área, pode-se considerar que grande número de pessoas, de fato, não estão expostas ao risco de adquirir a LTA. Nesta situação, os coeficientes de incidência, ou de detecção, não expressam a força de transmissão mas refletem a proporção de expostos (KAWA et al, 2010; KAWA & SABROSA, 2002; NASSER et al, 2009; RODRIGUES et al, 2013; MOLLALO et al, 2015).

Vita et al (2016) realizaram um estudo para analisar a distribuição espaço-temporal da leishmaniose tegumentar no estado do Rio de Janeiro entre 2004-2013 utilizando as variáveis consideradas relevantes para a epidemiologia da doença, tais como forma clínica, sexo, etnia, faixa etária e progressão da doença em estudos descritivos com dados secundários notificados utilizados a partir do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), Ministério da Saúde, Brasil, sobre diagnóstico confirmado. Para ajudar o cálculo dos coeficientes de detecção e de mortalidade, foram utilizados os dados populacionais do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Foram analisados 1.470 casos de LTA, sendo que a maior incidência da doença foi observada (351 casos) em 2005. Houve uma diminuição no número de casos de LTA, no estado do Rio de Janeiro, com base no coeficiente de detecção de 1,44/100.000 habitantes em 2004, diminuindo para 0,20/100.000 habitantes em 2013. A região metropolitana (843 casos) e o município do Rio de Janeiro (740 casos) concentraram o maior número de casos. A LTA se manifestou mais frequentemente na forma cutânea (1292/87,89%), em indivíduos do sexo masculino (922/62,72%), de cor branca (731/49,72%), e na faixa etária de 20 -

39 anos (477/32,44%). Os dados também revelaram sete mortes (0,47%) (Vita et al., 2016).

2 - JUSTIFICATIVA

No Brasil, no período de 1995 a 2014 verificou-se uma média anual de 25.763 casos novos registrados de LTA e coeficiente de detecção médio de 14,7 casos/100 mil habitantes, sendo que em 1995 foi registrado o coeficiente mais elevado, de 22,94 casos/100 mil habitantes (BRASIL, 2013). No entanto, após 2005 foi observada uma queda de, aproximadamente, 20% da incidência de LTA (KARAGIANNIS-VOULES et al, 2013).

Em particular, no Estado do Rio de Janeiro, a maior incidência de LTA, entre 2004-2013, ocorreu em 2005 (351 casos) e, marcadamente após este ano, foi observado um decréscimo de 85.07% no número de casos de LTA, passando de 1.44/100.00 habitantes em 2004 para 0.20/100.00 habitantes em 2013.

A evolução de LC para LM ainda apresenta lacunas de conhecimento que necessitam ser elucidadas. Tanto a teoria da disseminação hemática quanto linfática ainda devem ser comprovadas. Acredita-se que a LM seja uma forma secundária da LC, devido à disseminação de parasitos por via hemática e que possa ocorrer até vários anos após a cicatrização da lesão cutânea primária (BRASIL, 2013; CONCEIÇÃO-SILVA & ALVES, 2014). A forma mucosa costuma ocorrer de 2 a 5 anos após a lesão cutânea, mas até nosso conhecimento, não foram realizados estudos temporo-espaciais que comprovem estes relatos.

O leque terapêutico para o tratamento da leishmaniose é restrito. Os medicamentos, atualmente utilizados, não são considerados ideais para o combate da doença. São medicamentos considerados tóxicos, de uso parenteral, cuja forma de ação é ainda pouco compreendida. A falta de investimentos na pesquisa de novos fármacos resulta do fato de a leishmaniose ser considerada uma doença negligenciada, por acometer, predominantemente, populações menos favorecidas economicamente, residentes em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, não despertando o interesse do setor farmacêutico (LYRA, 2014).

No Brasil, o AM é o medicamento de primeira linha para o tratamento da LTA e é distribuído gratuitamente na rede pública de saúde. Os três medicamentos mais utilizados, para o tratamento de LTA são o AM, em primeira instância, e em caso de insucesso, a anfotericina B e a pentamidina. Todos são considerados eficazes, porém, são de uso parenteral+ e acarretam efeitos adversos frequentes, às vezes graves, o que implica em suspensão do tratamento e, eventualmente, em óbito. Assim sendo, durante o tratamento, os pacientes devem ter monitoradas as funções hepática, renal, pancreática e cardíaca (BRASIL, 2013; WHO, 2010; OLIVEIRA et al, 2011; SCHUBACH et al, 2014)

Embora o AM seja preconizado na dose de 20 mg Sb⁵⁺/kg/dia desde os anos 1980 (WHO, 1984), alguns tratados brasileiros de infectologia (ZAMITH, 1976) e de dermatologia (SAMPAIO 1981) sugeriam o uso de uma ampola diária. Durante várias décadas o uso de uma ampola diária foi adotado no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI), Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. Um estudo retrospectivo, em pacientes tratados com uma ampola diária entre 1967 e 1982, permitiu calcular a dose recebida em mg Sb⁵⁺/kg/dia. Em função do peso de cada paciente, tal dose variou de 3,8 a 22,3 mg Sb⁵⁺/kg/dia (OLIVEIRA-NETO et al, 1996). A partir de então, padronizou-se a dose de 5 mg Sb⁵⁺/kg/dia por 30 dias, intramuscular (IM) ou intravenosa (IV), inicialmente para o tratamento da LC (OLIVEIRA-NETO et al, 1997a; OLIVEIRA-NETO et al, 1997b; VASCONCELLOS et al, 2010a) e posteriormente, para o tratamento da LM (SCHUBACH et al, 2014; OLIVEIRA-NETO et al, 2000; CATALDO, 2016). Adicionalmente, o tratamento com AM por via intralesional (IL) vem sendo utilizado para o tratamento da LC (OLIVEIRA-NETO et al 1997c; DUQUE et al, 2016), particularmente, no caso de pacientes com contraindicação ao tratamento sistêmico ou após interrupção deste pelo surgimento de efeitos adversos, ou para tratar lesões de LC reativadas (VASCONCELLOS et al, 2010b; VASCONCELLOS et al 2012). Com esses esquemas alternativos tem sido observada uma eficácia em torno de 70%, semelhante à relatada para a dose convencional de 20 mg Sb⁵⁺/kg/dia, com um mínimo de efeitos adversos (OLIVEIRA-NETO et al, 1997c; TUON et al, 2008; VASCONCELLOS et al, 2012; SILVA et al, 2016).

O tratamento da LC deve possibilitar alcançar a cicatrização definitiva das lesões cutâneas e a prevenção do envolvimento das mucosas tardiamente. Para

atender esses dois objetivos, os primeiros estudos sobre esquemas terapêuticos alternativos, desenvolvidos ao longo dos anos 1980, incluíram um longo follow-up dos pacientes e foram publicados mais de uma década depois (OLIVEIRA-NETO et al, 1997a; OLIVEIRA-NETO et al, 1997b; OLIVEIRA-NETO et al, 1997c; SCHUBACH et al, 2005).

Apesar da experiência positiva com tratamentos alternativos no Rio de Janeiro, especificamente no INI, utilizando a baixa dosagem, o uso de tais esquemas, em outras regiões, não tem sido implementado. Uma hipótese contrária a que adotamos no INI, pois não concordamos, é que os tratamentos incompletos ou com subdoses de Sb^{5+} estejam relacionados ao desenvolvimento de resistência aos antimoniais, sendo fatores de risco para o desenvolvimento de LM (BRASIL, 2013; GROGL 1992; MARSDEN 1986).

No entanto, no Brasil, entre 2001 e 2013 foram notificados 337.336 casos de LTA, com 1.522 óbitos, o que significa uma letalidade de 4,51/1.000 casos (BRASIL, 2016). Em 2010, a OMS reconheceu que a LC não é uma condição ameaçadora à vida, que as complicações graves são pouco frequentes e a evolução para a forma mucosa é limitada à algumas situações. Por conseguinte, tratamentos mais seguros deveriam ser preferidos, mesmo que o nível de evidência para sua indicação ainda seja baixo (WHO, 2010). Em 2013, a Organização Panamericana de Saúde (OPAS) atualizou e adaptou as recomendações da OMS à organização dos serviços de saúde nas Américas e enfatizou a necessidade de incorporar as evidências científicas disponíveis em cada país nos programas nacionais de controle (OPAS, 2013).

O tratamento de escolha da LTA, com doses altas de AM, é associado a altas taxas de mortalidade, recidivas e evolução para formas de lesões mucosas em função de diferentes aspectos, como a adesão ao tratamento, efeitos colaterais, entre outros. Dados diferentes e positivos são relatados no Rio de Janeiro, onde o tratamento é feito com dose baixa de AM (tratamento alternativo), pelo Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas/INI/FIOCRUZ.

Este estudo busca fortalecer as evidências dos resultados obtidos no INI e tem como principal benefício a possibilidade de subsidiar a utilização de doses mais baixas de antimônio, potencialmente menos tóxicas e de menor custo, sugerindo

que os tratamentos alternativos com doses baixas de AM, utilizados por anos no RJ, possam ser utilizados em todo território nacional.

Os esquemas de tratamento com baixas dose de AM para tratamento de LTA parecem ser particularmente úteis, em pacientes portadores de comorbidades e idosos atualmente com restritas opções terapêuticas.

No artigo 1 avaliamos o impacto dos tratamentos alternativos com AM na letalidade, na taxa de recidiva e na proporção de forma mucosa tardia nos casos de LTA notificados pelo INI entre 2001 e 2013.

No artigo 2 relatamos a distribuição espacial e temporal dos casos de LC e LM, ao longo de 11 anos (2001-2011), no Estado do Rio de Janeiro, e nos municípios do Rio de Janeiro e de Angra dos Reis, além de avaliar relação temporal entre os caso de LC e LM.

Espera-se que este estudo temporal e espacial com dados de notificação de casos de LTA contribua para a compreensão da evolução da LC para LM, assim como a análise da letalidade, das taxas de recidiva e de evolução de LC para LM relacionadas aos tratamentos de LTA, contribua para a comparação dos diferentes tratamentos praticados no Brasil e no RJ.

3 - OBJETIVOS

3.1 - Objetivo Geral

Analisar a distribuição espacial e temporal dos casos humanos de LTA notificados no estado do Rio de Janeiro de 2001 a 2013 e verificar a associação com variáveis clínicas e populacionais.

3.2- Objetivos Específicos

- Comparar letalidade, taxas de recidiva, e de evolução para LM dos casos de LTA tratados no INI com os casos notificados no Rio de Janeiro, na Região Sudeste e no Brasil
- Descrever a distribuição espacial e temporal dos casos de LTA no estado do Rio de Janeiro
- Comparar a distribuição espacial e temporal dos casos de LC com os casos de LM no Estado do Rio de Janeiro

4 - ARTIGOS CIENTÍFICOS

Os resultados desta tese serão apresentados no formato de artigos científicos submetidos. Nesta seção estão anexados dois artigos da seguinte forma:

Artigo 1: Neste estudo, comparamos a frequência de letalidade, recidiva e evolução para forma mucosa do tratamento de casos notificados de leishmaniose cutânea com dose de 20mg Sb+5/kg/dia no Brasil com o de 5mg Sb+5/kg/dia utilizado em um Centro de Referência no Rio de Janeiro, ao longo de treze anos.

Artigo 2: Neste estudo comparamos a distribuição espacial e temporal dos casos de LC com os casos de LM no Estado do Rio de Janeiro.

ARTIGO 1

Este artigo corresponde ao primeiro objetivo específico desta tese. Neste artigo avaliamos a letalidade, a taxa de recidiva e a proporção de forma mucosa tardia nos casos de LTA notificados no Brasil, na região Sudeste, no estado do Rio de Janeiro e no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) / Fiocruz, entre 2001 e 2013. O comportamento desses indicadores sugere que os esquemas alternativos com antimoniato de meglumina utilizados no INI têm acarretado uma baixa letalidade e assegurado a cura por tempo prolongado.

Low dose systemic or intralesional meglumine antimoniate treatment for American tegumentary leishmaniasis results in low lethality, low incidence of relapse, and low late mucosal involvement in a referral centre in Rio de Janeiro, Brazil (2001-2013)

Lucia Regina Brahim^{1,6/*}, Cláudia Maria Valete-Rosalino^{1,2}, Liliâne de Fátima Antônio¹, Maria Inês Fernandes Pimentel^{1,4}, Marcelo Rosandiski Lyra¹, Luiz Eduardo de Carvalho Paes^{1,3}, Ananda Dutra da Costa¹, Iracema Forni Vieira¹, Cristina Maria Giordano Dias⁴, Maria Cristina de Oliveira Duque^{1,5}, Mauro Celio de Almeida Marzochi¹, Armando de Oliveira Schubach¹

¹Fundação Oswaldo Cruz-Fiocruz, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

²Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Otorrinolaringologia e Oftalmologia, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

³Fundação Oswaldo Cruz-Fiocruz, Instituto Oswaldo Cruz, Laboratório de Pesquisas em Leishmanioses, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

⁴Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro, Vigilância Epidemiológica, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

⁵Secretaria Municipal de Saúde de Timóteo, Timóteo, MG, Brasil

⁶Fundação Oswaldo Cruz-Fiocruz, Instituto Oswaldo Cruz, Laboratório Interdisciplinar de Vigilância Entomológica em Díptera e Hemiptera, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

BACKGROUND American tegumentary leishmaniasis (ATL) is a non-lethal parasitic disease that presents with cutaneous (CL) and mucosal (ML) clinical forms. ATL treatment aims at healing the lesions and preventing the development of the late mucosal form. Systemic meglumine antimoniate (MA) therapy with 10-20 mg Sb⁵⁺/kg/day is the first choice of treatment. However, alternative therapies using 5 mg Sb⁵⁺/kg/day or intralesional (IL) MA are the usual regimens at the National Institute of Infectious Diseases (NIID), Rio de Janeiro, Brazil.

OBJECTIVES To evaluate lethality and the incidence of relapse and development of late ML in CL patients treated at NIID from 2001 until 2013.

METHODS Data were recovered from records of all ATL patients diagnosed during that period.

FINDINGS Out of 777 patients, 753 were treated with MA (96.9%). Of those, 89.1% received alternative therapy of 9.9% IL and 79.2% systemic 5 mg Sb⁵⁺/kg/day. Some patients required 1-3 additional courses of treatment, thus making a total of 997 courses; 85.2% of them were subjected to alternative therapies. Lethality was 0.1%, relapse incidence 5.8%, and late ML incidence 0.25%. As a final outcome for the 777 patients, 95.9% were cured, 0.1% died and 4.0% were not able to follow-up.

MAIN CONCLUSIONS Alternative MA schedules resulted in low lethality without increase of relapse or late ML incidence.

Key words: American tegumentary leishmaniasis - meglumine antimoniate - lethality - relapse - mucosal leishmaniasis

In Brazil, American tegumentary leishmaniasis (ATL) is a parasitic disease of compulsory notification with registered autochthonous cases in all states. ATL is caused by different dermatotropic species of the *Leishmania* genus and transmitted by insects of the Phlebotominae family. *Leishmania (Viannia) braziliensis* is the most frequent and most wide-spread etiological agent in the Brazilian territory. In most cases, ATL caused by *L. (V.) braziliensis* can affect the skin [cutaneous leishmaniasis (CL)] where-

as in less than 5% of ATL patients, there is involvement of the mucosa of the upper aerodigestive tract [mucosal leishmaniasis (ML)] (Blum et al. 2012, MS/SVS 2017). It is believed that ML is a secondary form of ATL, caused by dissemination through the blood, and that it can occur several years after healing of the primary cutaneous lesion (Conceição-Silva & Alves 2014, MS/SVS 2017).

According to the Brazilian Ministry of Health, meglumine antimoniate is the first-choice drug for ATL treatment in all endemic areas in this country except where *L. (V.) guyanensis* predominates (MS/SVS 2017). Meglumine antimoniate 1.5 g (Glucantime™, Sanofi Aventis Farmacêutica Ltda, São Paulo, Brazil) is marketed in 5 mL vials containing 405 mg of antimony (Sb⁵⁺) and it is freely available in the public health network. The recommended dosage for CL treatment is 15 mg Sb⁵⁺/kg/day for 20 days and for ML treatment is 20 mg Sb⁵⁺/kg/day for 30 days. In both cases, the drug must be administered via intramuscular (IM) or intravenous

doi: 10.1590/0074-02760160478

Financial support: CNPq, FAPERJ.

AOS is the recipient of fellowships from CNPq and FAPERJ, Brazil; CMVR is the recipient of fellowship from FAPERJ, Brazil; MCAM is the recipient of fellowship from CNPq, Brazil.

* Corresponding author: lucia.brahim@ini.fiocruz.br

Received 1 November 2016

Accepted 23 June 2017

online | memorias.ioc.fiocruz.br

(IV) route and, in the case of poor initial response, the treatment should be repeated for another 30 days. If this course of treatment also fails, the use of amphotericin B (desoxycholate or liposomal forms) or pentamidine is recommended as a second choice (MS/SVS 2017). In Brazil, the therapeutic response to meglumine antimoniate is variable depending on the region, even at the recommended doses. However, antimony resistance is not a national public health problem, and 50% to 100% of re-treated patients show a favourable outcome (Tuon et al. 2008, MS/SVS 2017). The three used drugs are considered effective, but are parenterally administered and sometimes cause serious adverse effects resulting in treatment discontinuation and occasionally in death. Patients' hepatic, renal, pancreatic, and cardiac functions must therefore be monitored during treatment (WHO 2010, Oliveira et al. 2011, Schubach & Conceição-Silva 2014, MS/SVS 2017).

Although the calculation of meglumine antimoniate dose in mg Sb⁵⁺/kg/day has been recommended since the 1980s, some textbooks on infectious diseases (Zamith 1976) have suggested the use of one daily vial. Until the 1980s, the use of one daily vial was adopted by the Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (NIID), Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro (Schubach et al. 2005). A retrospective study regarding patients treated with one daily vial between 1967 and 1982 calculated the range of the received dose from 3.9 to 28.7 mg Sb⁵⁺/kg/day, depending on the weight of the patients (Schubach et al. 2005). Since the late 1980s, meglumine antimoniate 5 mg Sb⁵⁺/kg/day IM or IV administered for 30 days constituted the standard CL treatment (Oliveira-Neto et al. 1997a, b, Vasconcellos et al. 2010) and ML treatment at NIID (Oliveira-Neto et al. 2000, Schubach & Conceição-Silva 2014). Additionally, we have used intralesional (IL) meglumine antimoniate for CL treatment, particularly for patients with contraindication to systemic therapy or after treatment discontinuation because of adverse effects or in the treatment of relapsed CL lesions (Oliveira-Neto et al. 1997c, Vasconcellos et al. 2012). These alternative schedules have shown a similar effectiveness to that reported for the 20 mg Sb⁵⁺/kg/day conventional dose (76.5%), but with less adverse effects (Oliveira-Neto et al. 1997c, Tuon et al. 2008, Vasconcellos et al. 2012, da Silva et al. 2016).

Although clinical trials that evaluate antimonial regimens are necessary (Olliaro et al. 2013), they have been rare. In our literature review, we identified one trial in Bolivia that compared IL meglumine antimoniate with other local treatments for CL caused by *L. (V.) braziliensis* (Soto et al. 2013). However, the authors of this study did not include a control group treated with standard antimonial schedule (20 mg Sb⁵⁺/kg/day); to establish the sample size they utilised the 80% efficacy result of our previous study (Oliveira-Neto et al. 1997c); and as a "placebo group" they assumed a 10% spontaneous cure rate, as described in Guatemala (Herwaldt et al. 1992). Additionally, the only available study was our own previously published small trial that compared the effects of 5 mg Sb⁵⁺/kg/day systemic meglumine antimoniate treatment, with 20 mg Sb⁵⁺/kg/day in CL treatment (Oliveira Neto et al. 1997b).

Recently, we concluded a single-blind, non-inferiority, randomised controlled trial including 72 patients from Rio de Janeiro that compared an alternative 5 mg Sb⁵⁺/kg/day dose with the standard 20 mg Sb⁵⁺/kg/day dose. In the modified intention-to-treat analysis, clinical cure was observed in 77.8% of participants treated with the alternative dose and in 94.4% of the patients treated with the standard dose. However, in the standard dose group we observed more serious adverse events a greater number of adverse events, and a greater number of serious adverse events per participant, in addition to more drug discontinuations, compared to the alternative dose group. Therefore, these results suggest that the alternative dose treatment may be an option especially when toxicity is a concern. Interestingly, 85.7% of all the patients who were originally allocated to the alternative dose antimony group and were followed up after an initial poor therapeutic response were cured after one additional treatment with IL meglumine antimoniate or IM 5 mg Sb⁵⁺/kg/day (Saheki et al. 2017).

In addition to the epithelialisation of the lesions, CL treatment should enable the healing of definitive cutaneous lesions and the prevention of late mucous membranes involvement. Our early studies on alternative therapeutic schedules with meglumine antimoniate performed during the 1980s included long monitoring of patients regarding absence of re-activation of cutaneous lesions and of late mucosal involvement and were published more than a decade later (Oliveira-Neto et al. 1997a, b, c, Schubach et al. 2005).

In Brazil, between 2001 and 2013, 1,522 deaths out of 337,336 ATL patients were reported, a lethality rate of 4.51 / 1,000 cases (MS 2015). Because ATL per se is not a lethal disease, it is possible that several of these deaths are due to unsuccessful treatment. Despite lethality related to ATL and the positive experience with alternative treatments in Rio de Janeiro, the use of such therapeutic schedules has not been implemented in other regions, because of the assumption that incomplete treatment or the use of Sb⁵⁺ sub-doses may be related to the occurrence of resistance to antimonials or may be a risk factor for ML development (Blum et al. 2012, MS/SVS 2017). Fortunately, in 2010 the WHO recognised that CL is not a life-threatening condition, that serious complications are not frequent, and that progression to the mucosal form is limited to certain situations. Therefore, safer treatments should be preferred, even if the amount of evidence for their indication is still low (WHO 2010). In 2013, the Pan American Health Organization (PAHO) updated and adapted the WHO recommendations for health service organisation in the Americas and highlighted the need to incorporate the scientific evidence available in each country to the national control programs (OPAS 2013). Recently, the Brazilian Ministry of Health adopted the IL treatment as one option for CL treatment (MS/SVS 2017), implementing the technique recommended by NIID (Duque et al. 2016), as the first option for CL treatment (MS/SVS 2017).

In the present study, we assessed lethality related to meglumine antimoniate therapy and delayed events,

such as the incidence of relapse and late development of ML in the ATL cases diagnosed by NIID, likely due to inadequate therapeutic regimens.

MATERIALS AND METHODS

Study design and data - Data was collected from ATL patients from Rio de Janeiro, Brazilian Southeast Region and Brazil (Figure), diagnosed between 2001 and 2013, in three databases: (1) Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (NIID) - Patient database of a retrospective cohort of the 777 ATL cases identified in the Laboratory of Clinical Research and Surveillance in Leishmaniasis/NIID/Fiocruz, Rio de Janeiro; (2) Rio de Janeiro State - Epidemiological Surveillance Database of the State Health Secretariat of Rio de Janeiro (ASINFO/SVEA/SVS/SES-RJ); (3) Brazilian Southeast Region and Brazil - Notifiable Diseases Information System (SINAN), Ministry of Health, Brazil.

The indices from the cohorts were evaluated only in the database of NIID patients and were calculated as percentages: "incidence of relapse" (% of naive patients first treated at NIID for the same clinical form and then relapsed after the treatment); "incidence of mucosal leishmaniasis" (% of patients treated for CL at NIID that developed into ML); "lethality" (% death); "prevalence of relapse" (% of patients that relapsed after treatment); and "prevalence of mucosal leishmaniasis" (% of ML cases).

In addition, we assessed the lethality, the relapse prevalence and prevalence of ML in the Rio de Janeiro State, Southeast Region and Brazil to examine whether the alternative schedules with meglumine antimoniate used at NIID could adversely compromise these indices in relation to other states in the Southeast Region, where such alternative schemes are not used. The indices "lethality", "prevalence of relapses" and "prevalence of mucosal leishmaniasis" regarding the Rio de Janeiro State were retrieved from the ASINFO/SVEA/SVS/SES-RJ

database, and those from the Southeast Region and from Brazil were retrieved from the SINAN database and were calculated for every 1,000 cases of ATL. In the estimate, the following data obtained in the fields # 33, 39 and 56 of the notification form of the ASINFO/SVEA/SVS/SES-RJ and SINAN databases were considered: (i) "Lethality": positive notification for "death by ATL" or "death by other causes" in field # 56 - "Case evolution"; (ii) "Prevalence of relapse": positive notification for "relapse" in field # 39 - "Entry type"; (iii) "Prevalence of mucosal leishmaniasis": positive notifications for "yes" in "mucosal lesion" in field # 33 - "Presence of cutaneous and mucosal lesion".

Therapy - At NIID, as a rule, the first choice of therapy was IM or IV meglumine antimoniate 5 mg Sb⁵⁺/kg/day (for 30 days for CL and up to 120 days for ML), or IL meglumine antimoniate for CL, as previously described (Schubach & Conceição-Silva 2014, Duque et al. 2016). Meglumine antimoniate schedule for patients included in an arm of a clinical trial during the same study period was IM 20 mg Sb⁵⁺/kg/day for 20 days (Saheki et al. 2017). Amphotericin B or pentamidine were administered according to the recommendations of the Brazilian Ministry of Health guidelines (MS/SVS 2017).

In other sites in Rio de Janeiro State, Southeast Region and Brazil, we assumed that, as a rule, the first choice of treatment was IM or IV meglumine antimoniate 10 - 20 mg Sb⁵⁺/kg/day for a duration of 20 - 30 days, as recommended by the Brazilian guidelines (MS/SVS 2017).

Ethics - This study was approved by the Committee of Ethics in Research of the Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (#CAAE 17222113.2.0000.5262).

RESULTS

Between 2001 and 2013, 777 ATL patients were treated at NIID: 669 (86.1%) were from the State of Rio de Janeiro, 24 (3.1%) from other states of the southeast region, 37 (4.8%) from the Brazilian North Region, 41 (5.3%) from the Northeast Region, 3 (0.4%) from the Center-West Region, 2 (0.2%) cases from French Guiana and 1 (0.1%) from Israel.

These 777 patients comprised of 581 (74.8%) CL and 196 (25.2%) ML cases, corresponding to 76.2% of the ML cases diagnosed in Rio de Janeiro State in the same period.

At NIID, meglumine antimoniate was the first-choice drug and was administered to 753 (96.9%) patients. Of those, 692 (89.1%) were treated with an alternative therapeutic schedule: 615 (79.2%) patients received IM or IV 5 mg Sb⁵⁺/kg/day, and 77 (9.9%) were treated with IL meglumine antimoniate. The 20 mg Sb⁵⁺/kg/day standard dose was used in 61 (7.8%) patients. Amphotericin B (desoxycholate or liposomal forms) was the drug of choice for the initial treatment of 17 (2.2%) patients with contraindication to meglumine antimoniate. In cases of poor therapeutic response or that relapsed after an apparent good initial response, one to three additional courses of treatment were necessary thus making a total of 997 treatment courses in the 777 patients (Table 1). Considering all 220 retreatments, the time interval between courses of treatment (1-2, 2-3 and 3-4) ranged from one day to 39 months, with a median of 3.6 months.



Map of Brazil, highlighting the Southeast Region, the State of Rio de Janeiro, and the location of the Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (NIID) in the city of Rio de Janeiro.

TABLE I
Number of treatments applied in American tegumentary leishmaniasis cases notified by the National Institute of Infectious Diseases, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil, between 2001-2013, according to the used therapeutic scheme

Therapeutic scheme	Treatment number				total n (%)
	1st n (%)	2nd n (%)	3rd n (%)	4th n (%)	
Intralesional meglumine antimoniate	77 (9.9)	37 (24.5)	6 (12.0)	2 (10.5)	122 (12.2)
Meglumine antimoniate 5 mg Sb ⁵⁺ /kg/day	615 (79.2)	85 (56.3)	22 (44.0)	6 (31.7)	728 (73.1)
Meglumine antimoniate 20 mg Sb ⁵⁺ /kg/day	61 (7.8)	1 (0.7)	1 (2.0)	1 (5.2)	64 (6.4)
Amphotericin B	17 (2.2)	19 (12.5)	19 (38.0)	8 (42.1)	63 (6.3)
Pentamidine	3 (0.4)	7 (4.6)	-	2 (10.5)	12 (1.2)
Other	4 (0.5)	2 (1.4)	2 (4.0)	-	8 (0.8)
Total	777 (100)	151 (19.4)	50 (6.4)	19 (2.4)	997 (128.3)

n (%): absolute number of cases (percentage).

TABLE II
Lethality, prevalence of relapses and prevalence of mucosal leishmaniasis (ML) for every 1,000 cases of American tegumentary leishmaniasis (ATL) notified between 2001-2013 at Rio de Janeiro State, Southeast Region, and Brazil

	Lethality	Relapse prevalence	ML prevalence	Number of notified ATL cases
Rio de Janeiro State	4.94	61.75	90.68	2,834
Southeast Region	13.46	58.22	112.18	31,412
Brazil	4.51	44.34	62.51	337,336

Sources: Notifiable Diseases Information System (SINAN), Brazilian Ministry of Health; and Advisory Services for Epidemiological and Environmental Surveillance of Rio de Janeiro (ASINFO/SV/EA/SVS/SES/RJ).

Of the 175 relapsed cases diagnosed in Rio de Janeiro State in the same period, 144 (82.3%) were attended at NIID, corresponding to 18.5% of the 777 patients treated. Out of these 144 relapsed cases, 99 (68.8%) were admitted at the NIID with already relapsed lesions after a previous treatment received in another health service and 45 (31.2%) naive patients relapsed after the first treatment received at NIID.

As a rule, patients with poor therapeutic response or those that relapsed received one to three more courses of IM or IV 5 mg Sb⁵⁺/kg/day or IL meglumine antimoniate, or amphotericin B. Most patients required re-treatment with meglumine antimoniate 5 mg Sb⁵⁺/kg/day; however only 6 (31.7%) of the 19 patients required the fourth treatment, while 8 (42.1%) of these patients required the use of amphotericin B. Only three patients were re-treated with the standard dose of 20 mg Sb⁵⁺/kg/day. Overall, meglumine antimoniate was the drug most frequently used (914 - 91.7% - out of the 997 courses of treatment), followed by amphotericin B in 63 (6.3%), whereas other drugs including pentamidine, fluconazole or itraconazole were used in the remaining 20 cases (2%) (Table I).

One (0.1%) female CL patient out of the 777 ATL individuals treated at NIID, who was 43 years old and had hypertension and type II diabetes, stopped antimonial therapy 20 mg Sb⁵⁺/kg/day due to asymptomatic hyperlipasemia and died soon after interruption of therapy due

to diabetic ketoacidosis associated with sepsis. Forty-five ATL patients treated with IM or IV 5 mg Sb⁵⁺/kg/day or IL meglumine antimoniate relapsed (incidence of relapse = 5.8%): 36 CL patients relapsed between one and 60 months (median = seven months) after the end of the treatment, and 9 ML patients between one and 36 months (median = five months). Two other CL patients developed ML (incidence of ML = 0.25%): one was treated with meglumine antimoniate 5 mg Sb⁵⁺/kg/day via intramuscular route and developed ML after 13 months, and the other received IL meglumine antimoniate and developed ML after one month.

As a final outcome for the initial 777 patients, 745 (95.9%) were cured, one (0.1%) died and 31 (4%) abandoned follow-up.

The lethality, prevalence of relapse and prevalence of mucosal leishmaniasis from Rio de Janeiro State, Southeast Region and Brazil were calculated for every 1,000 cases of ATL and are shown in (Table II).

DISCUSSION

Since the late 1980s, meglumine antimoniate via IL or 5 mg Sb⁵⁺/kg/day, via IM or IV, was the standard treatment for ATL patients at NIID, and these alternative schedules have been effective with minimum adverse effects (Oliveira-Neto et al. 1997a, b, c, Oliveira-Neto et al. 2000, Vasconcellos et al. 2010, 2012, Schubach

& Conceição-Silva 2014). In the last three decades, the conventional treatment with meglumine antimoniate 20 mg Sb⁵⁺/kg/day has not been commonly used at NIID for ATL treatment (Schubach & Conceição-Silva 2014), independently of the Brazilian Region or State of origin of these patients (Antônio et al. 2014). During the 13 years of the study period, only 6.4% of the patients were treated with meglumine antimoniate 20 mg Sb⁵⁺/kg/day, and for of the vast majority of these individuals, the use of this dose was required due to their participation in clinical trials for CL (Saheki et al. 2017) or for ML (ongoing).

Here, we evaluated the following indices related to the therapy with meglumine antimoniate in cases of ATL reported by NIID: lethality, incidence of relapse and development of ML. The first one is usually a consequence of the toxicity of meglumine antimoniate, and the other two are delayed events that may be attributed to inadequate therapeutic regimens. Because NIID is a centre where the most serious and complicated cases from several Brazilian Regions are referred to, we hypothesized that we would observe high lethality; however, high lethality was not observed. In addition, if the alternative schedules of meglumine antimoniate were ineffective, we would expect to find high incidence of relapse and development of late ML.

Although the prevalence of relapsed patients treated at NIID represents the absolute majority of such cases diagnosed in Rio de Janeiro, the incidence of relapse among patients initially treated at NIID, for the same clinical form, did not differ from that reported in other studies. A previous study examining CL patients treated at NIID with 5 mg Sb⁵⁺/kg/day meglumine antimoniate for 30 days, between January 1989 and December 2009, showed that in 14% of the cases there was a poor therapeutic response to meglumine antimoniate (there was no healing after the initial treatment) (Antônio et al. 2014). In some other series of cases with patients treated with alternative schedules of meglumine antimoniate the incidence of poor therapeutic response varied between 16 and 20%. Most of those patients were monitored from 1 to 14 years and, of those, all the patients that remained were cured (Oliveira-Neto et al. 1997a, b, c, Vasconcellos et al. 2010, 2012). These findings were similar to those reported by others (19% to 58%) (Deps et al. 2000, Teixeira et al. 2008) and support the effectiveness of low-dose (5 mg Sb⁵⁺/kg/day) and IL treatment with meglumine antimoniate.

In Brazil, therapeutic failure is defined as a poor therapeutic response to two consecutive schedules of meglumine antimoniate 10 to 20 mg Sb⁵⁺/kg/day as a standard dose for CL. If the second treatment fails, it is recommended to use amphotericin B or pentamidine (MS/SVS 2017). However, at NIID, we generally treat patients with poor initial therapeutic response or who relapse after an apparent good initial therapeutic response with IM or IV 5 mg Sb⁵⁺/kg/day or IL meglumine antimoniate, once or twice before attempting treatment with another drug. Amphotericin B was the second mostly used drug. However, its use as a therapeutic option increased from 2.2% in the first to 42.1% in the fourth treatment course. There was a rare requirement for the use of a third drug, such as pentamidine (1.2%) (Pimentel et al. 2011).

Of note, during the 13 years of this study, the absolute majority of ML cases diagnosed in Rio de Janeiro were treated at NIID. Despite that, only 0.25% of the patients initially treated for CL developed ML. At NIID, all ATL patients, regardless of mucous membranes complaint, are systematically evaluated by endoscopic methods that allow early diagnosis and treatment of mucosal lesions, including patients erroneously referred to initially as CL cases (Costa et al. 2014). This may explain why the concomitant form (simultaneous presence of cutaneous and mucosal lesions) is the most common form of ML at NIID and consequently, in Rio de Janeiro State. Other authors reported that the late mucosal form is the most frequent (MS/SVS 2017). It is possible that incipient mucosal lesions, not identified and not treated early, could evolve to mucosal lesions diagnosed later.

As a rule, lethality, prevalence of relapse, and prevalence of ML calculated for the State of Rio de Janeiro were similar to those of the Southeast Region where Rio de Janeiro is located. NIID reported about 1/4 of the ATL cases reported in the State of Rio de Janeiro, including the absolute majority of the more complicated cases (such as prevalent relapses and ML cases). Therefore, we hypothesize that the alternative schedules with meglumine antimoniate used at NIID did not adversely compromise these indices of the State of Rio de Janeiro in relation to the other states in the Southeast Region, where such alternative schemes are not used.

In contrast, the three indices were higher in the Southeast Region than in Brazil. These indices probably reflect both the treatment of more severe cases in reference centres with better diagnosis conditions and the better epidemiologic surveillance services of that Region for the notification of cases. In another publication, which data of ATL notification from different Brazilian Regions were included, from 2002 to 2009, it was observed that areas with lower prevalence of infection such as the Southeast Region presented higher prevalence of ML. It was suggested that the lower prevalence of ML in old endemic areas with high infection prevalence may be explained by better adaptation between the host, the parasite, and the vector (Bedoya-Pacheco et al. 2011).

Our findings suggest that the alternative schedules with meglumine antimoniate used in NIID resulted in low lethality, without increase of the incidence and the prevalence of relapse or the development of late ML at NIID and in the whole State of Rio de Janeiro.

AUTHORS' CONTRIBUTION

LRB, AOS and CMVR - Conception and design of the study; LRB, AOS, CMVR, LFA, MIFP, CMGD and MRL - acquisition of the data; LRB, AOS, CMVR, LFA, MIFP, IFV, LECP and ADC - analysis of the data; LRB, AOS, LFA, LECP, MCOB and MIFP - interpretation of the data and drafting of the manuscript; LRB, AOS, CMVR, LFA, MIFP, CMGD, MCOB, MRL and MCAM - critical revision for important intellectual content.

REFERENCES

- Antônio LF, Fagundes A, Oliveira R, Pinto P, Vasconcellos EFC, Bedoya-Pacheco SJ, et al. Montenegro skin test and age of skin lesion as predictors of treatment failure in cutaneous leishmaniasis. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2014; 56(5): 375-80.

- Bedoya-Pacheco SJ, Araujo-Melo MH, Valet-Rosalino CM, Pimentel MIF, Conceição-Silva F, Schubach AO, et al. Endemic tegumentary leishmaniasis in Brazil: correlation between level of endemicity and number of cases of mucosal disease. *Am J Trop Med Hyg.* 2011; 84(6): 901-5.
- Blum J, Lockwood DN, Visser L, Harms G, Bailey MS, Caumes E, et al. Local or systemic treatment for New World cutaneous leishmaniasis? Re-evaluating the evidence for the risk of mucosal leishmaniasis. *Int Health.* 2012; 4(3): 153-63.
- Conceição-Silva F, Alves CA. Leishmanioses do Continente Americano. 1st ed. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2014. 511 pp.
- Costa DCS, Palmeiro MR, Moreira JS, Martins ACC, Silva AF, Madeira MF, et al. Oral manifestations in the American tegumentary leishmaniasis. *PLoS ONE.* 2014; 9(11): 1-7.
- da Silva RE, Toledo Jr A, Senna MC, Rabello A, Cota G. Intralesional meglumine antimoniate for the treatment of localised cutaneous leishmaniasis: a retrospective review of a Brazilian referral centre. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2016; 111(8): 512-6.
- Deps PD, Viana MC, Falqueto A, Dietze R. Avaliação comparativa da eficácia e toxicidade do antimonio de N-metil-glucamina e do estibogluconato de sódio BP88 no tratamento da leishmaniose cutânea localizada. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2000; 33(6): 535-43.
- Duque MCO, Vasconcelos EFC, Pimentel MIF, Lyra MR, Bedoya-Pacheco SJ, Marzochi MCA, et al. Standardization of the technique for the treatment of cutaneous leishmaniasis with meglumine antimoniate via the intralesional route. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2016; 49(6): 774-6.
- Herwaldt B, Arana B, Navin T. The natural history of cutaneous leishmaniasis in Guatemala. *J Infect Dis.* 1992; 165(3): 518-27.
- MS - Ministério da Saúde [Internet]. Sistema de Informação de Agravos de Notificação SINAN. 2001-2013 [access on 28 Apr 2015]. Available from: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/>.
- MS/SVS - Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar [electronic resource]. Brasília: SVS/MS; 2017. 190 pp. Available from: http://www.dive.sa.gov.br/conteudos/publicacoes/17_0093_M_e_C.pdf.
- Oliveira LF, Schubach AO, Martins MM, Passos SRL, Oliveira RV, Marzochi MCA, et al. Systematic review of the adverse effects of cutaneous leishmaniasis treatment in the New World. *Acta Trop.* 2011; 118(2): 87-96.
- Oliveira-Neto MP, Mattos M, Pirmez C, Fernandes O, Gonçalves-Costa SC, Souza CF, et al. Mucosal leishmaniasis ("espúndia") responsive to low dose of N-methyl glucamine (Glucantime) in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2000; 42(6): 321-5.
- Oliveira-Neto MP, Schubach A, Mattos M, Gonçalves-Costa SC, Pirmez C. A low dose antimony treatment in 159 patients with American cutaneous leishmaniasis. Extensive follow-up studies (up to 10 years). *Am J Trop Med Hyg.* 1997a; 57(6): 651-5.
- Oliveira-Neto MP, Schubach A, Mattos M, Gonçalves-Costa SC, Pirmez C. Treatment of American cutaneous leishmaniasis: a comparison between low dosage (5mg/kg/day) and high dosage (20mg/kg/day) antimony regimens. *Pathol Biol.* 1997b; 45(6): 496-9.
- Oliveira-Neto MP, Schubach A, Mattos M, Gonçalves-Costa SC, Pirmez C. Intralesional therapy of American cutaneous leishmaniasis with pentavalent antimony in Rio de Janeiro, Brazil - an area of *Leishmania (V) braziliensis* transmission. *Int J Dermatol.* 1997c; 36(6): 463-8.
- Olliaro P, Vaillant M, Arana B, Grogl M, Modabber F, Magill A, et al. Methodology of clinical trials aimed at assessing interventions for cutaneous leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013; 7(3): e2130.
- OPAS - Organización Panamericana de la Salud. Leishmaniasis en las Américas: recomendaciones para el tratamiento. Washington (DC): OPAS; 2013. 43 pp.
- Pimentel MI, Baptista C, Rubin EF, Vasconcelos EFC, Lyra MR, Salgueiro MM, et al. American cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis* resistant to meglumine antimoniate, but with good response to pentamidine: a case report. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2011; 44(2): 254-6.
- Saheki MN, Lyra MR, Bedoya-Pacheco SJ, Antônio LF, Pimentel MIF, Salgueiro MM, et al. Low versus high dose of antimony for American cutaneous leishmaniasis: a randomized blind non-inferiority trial in Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS ONE.* 2017; 12(5): e0178592.
- Schubach AO, Conceição-Silva F. Estado da Arte no tratamento da leishmaniose tegumentar Americana no Brasil. In: Conceição-Silva F, Alves CA, editors. Leishmanioses do Continente Americano. 1st ed. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2014. p. 391-412.
- Schubach AO, Marzochi KB, Moreira JS, Schubach TM, Araújo ML, Vale AC. Retrospective study of 151 patients with cutaneous leishmaniasis treated with meglumine antimoniate. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2005; 38(3): 213-7.
- Soto J, Rojas E, Guzman M, Verduguez A, Nena W, Maldonado M, et al. Intralesional antimony for single lesions of Bolivian cutaneous leishmaniasis. *Clin Infect Dis.* 2013; 56(9): 1255-60.
- Teixeira AC, Paes MG, Guerra JO, Prata A, Silva-Vergara ML. Failure of both azithromycin and antimony to treat cutaneous leishmaniasis in Manaus, AM, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2008; 50(3): 157-60.
- Tuon FF, Amato VS, Graf ME, Siqueira AM, Nicodemo AC, Amato-Neto V. Treatment of New World cutaneous leishmaniasis - a systematic review with a meta-analysis. *Int J Dermatol.* 2008; 47(2): 109-24.
- Vasconcelos EFC, Pimentel MIF, Schubach AO, Oliveira RVC, Azeredo-Coutinho RB, Conceição-Silva F, et al. Intralesional meglumine antimoniate for treatment of cutaneous leishmaniasis patients with contraindication to systemic therapy from Rio de Janeiro (2000 to 2006). *Am J Trop Med Hyg.* 2012; 87(2): 257-60.
- Vasconcelos EFC, Schubach AO, Valet-Rosalino CM, Coutinho RS, Conceição-Silva F, Salgueiro MM, et al. American tegumentary leishmaniasis in older adults: 44 cases treated with an intermittent low-dose antimonial schedule in Rio de Janeiro, Brazil. *J Am Geriatr Soc.* 2010; 58(3): 614-6.
- WHO - World Health Organization. Control of the leishmaniasis. WHO Technical Report Series. Report No. 949. Geneva: WHO; 2010. 186 pp.
- Zamith VA. Leishmaniose tegumentar Americana. In: Veronesi R, editor. Doenças infecciosas e parasitárias. 6th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1976. p. 701-11.

ARTIGO 2

Este artigo corresponde aos objetivos específicos números 2 e 3 desta tese. Neste artigo comparamos a distribuição espaço-temporal dos casos de LC com os casos de LM no Estado do Rio de Janeiro.



Comparison of the spatial and temporal distribution of cutaneous and mucosal leishmaniasis in the state of Rio de Janeiro between 2001 and 2011.

Journal:	<i>Memórias do Instituto Oswaldo Cruz</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Brahim, Lúcia; 1Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses de Oliveira, Raquel; Fundacao Oswaldo Cruz Magalhães, Mônica; FIOCRUZ, Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde - ICICT Pimentel, Maria Ines; Evandro Chagas National Institute of Infectology, Laboratory of Surveillance for Leishmaniasis Lyra, Marcelo; Evandro Chagas National Institute of Infectology, Laboratory of Surveillance for Leishmaniasis Carvalho-Paes, Luiz; Fundacao Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz Costa, Ananda; 1Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses Giordano Dias, Cristina; Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro - SES, Subsecretária de Vigilância em Saúde; Residencial, Brahim, Anisia; Fundacao Oswaldo Cruz, Farmanguinhos21 Marzochi, Mauro ; Evandro Chagas National Institute of Infectology, Laboratory of Surveillance for Leishmaniasis Carvalho, Bruno; Instituto Oswaldo Cruz, Laboratório Interdisciplinar de Vigilância Entomológica em Díptera e Hemiptera Schubach, Armando; Evandro Chagas National Institute of Infectology, Laboratory of Surveillance for Leishmaniasis; Evandro Chagas National Institute of Infectology, Laboratory of Surveillance for Leishmaniasis Valete-Rosalino, Cláudia; 1Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses
Keyword:	American, tegumentary, leishmaniasis,, cutaneous leishmaniasis, mucosal

<https://mc04.manuscriptcentral.com/mioc-scielo>

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

	leishmaniasis, georeferencing
Theme:	Leishmaniasis Tegumentary American, Georeferencing

SCHOLARONE™
Manuscripts

For Review Only

<https://mc04.manuscriptcentral.com/mioc-scielo>

1
2
3 **Comparison of the spatial and temporal distribution of cutaneous and**
4 **mucosal leishmaniasis in the state of Rio de Janeiro between 2001 and**
5 **2011.**
6
7
8

9
10 **Running title:** Distribution of tegumentary *leishmaniasis*
11

12 Lucia Regina Brahim^{1,2}, Raquel de Vasconcellos Carvalhaes de Oliveira³, Monica de Avelar F.
13 M. Magalhães⁴, Maria Inês Fernandes Pimentel¹, Marcelo Rosandiski Lyra¹, Luiz Eduardo de
14 Carvalho Paes^{1,5}, Ananda Dutra da Costa¹, Cristina Maria Giordano Dias⁶, Anisia Darc no
15 Nascimento Brahim⁷, Bruno Moreira de Carvalho², Mauro Celio de Almeida Marzochi¹,
16 Armando de Oliveira Schubach¹, Cláudia Maria Valete-Rosalino^{1,8*}
17

18
19 ¹Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Laboratório de
20 Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses, Rio de Janeiro, RJ, Brasil
21

22 ²Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Laboratório Interdisciplinar de Vigilância
23 Entomológica em Díptera e Hemiptera, Rio de Janeiro, RJ, Brasil
24

25 ³Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Laboratório de
26 Epidemiologia Clínica, Rio de Janeiro, RJ, Brasil
27

28 ⁴Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em
29 Saúde, Rio de Janeiro, RJ, Brasil
30

31 ⁵Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Laboratório de Pesquisas em
32 Leishmanioses, Rio de Janeiro, RJ, Brasil
33

34 ⁶Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro, Vigilância Epidemiológica, Rio de Janeiro,
35 RJ, Brasil
36

37 ⁷Fundação Oswaldo Cruz, Farmanguinhos, Vice Direção de Gestão do Trabalho, Núcleo de
38 Promoção da Saúde, Rio de Janeiro, RJ, Brasil
39

40 ⁸Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Otorrinolaringologia e Oftalmologia,
41 Rio de Janeiro, RJ, Brasil
42

43 *Corresponding author: lucia.brahim@ini.fiocruz.br
44
45

46 **Sponsorships:** This study was partially funded by the National Council for
47 Research and Technological Development (CNPq) and Carlos Chagas Filho
48 Foundation for the Research Support of the State of Rio de Janeiro (FAPERJ).
49 AOS is the recipient of fellowships from CNPq and FAPERJ, Brazil. CMVR was
50 the recipient of fellowships from FAPERJ, Brazil. MCAM is the recipient of
51 fellowships from CNPq, Brazil.
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

ABSTRACT

OBJECTIVE: To compare the spatio-temporal distribution of cutaneous leishmaniasis (CL) cases with mucosal leishmaniasis (ML) cases in the state of Rio de Janeiro (RJ) between 2001 and 2011. **METHOD:** The incidence rates (IR) of CL and ML were calculated for the cases notified between 2001-2011 in the Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Information System of Notifiable Diseases) for RJ, and for the municipalities of Rio de Janeiro and Angra dos Reis, with georeferencing and construction of thematic maps. A negative binomial regression model was used to assess the temporal dependency between CL and ML. **RESULTS:** Higher IR of CL and ML were observed up to 2006. The cases of CL and ML increased annually concomitantly in the state of RJ and in Angra dos Reis, even when they were controlled by the CL rates of the previous year. The municipality of Rio de Janeiro presented smaller annual CL IR after the occurrence of high ML IR in the two previous years. **CONCLUSION:** The temporal association observed between CL and ML suggests that: either the mucosal lesions were already incipient from the beginning of CL manifestation, or the *Leishmania* species circulating in RJ is able to produce early mucosal lesions.

Keywords: American tegumentary leishmaniasis, cutaneous leishmaniasis, mucosal leishmaniasis; georeferencing

Introduction

American tegumentary leishmaniasis (ATL) is an anthroponosis considered important because of its high detection coefficient and because it may cause deformities. *Leishmania (Viannia) braziliensis* is the species that more frequently causes ATL in Brazil (MS/SVS, 2017). In the state of Rio de Janeiro, ATL is almost exclusively caused by this *Leishmania* species and it occurs in areas where phlebotomine vectors of peridomestic habits, such as *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia migonei*, predominate (MS/SVS, 2017).

<https://mc04.manuscriptcentral.com/mioc-scielo>

1
2
3 Frequently, the infection occurs in domestic dogs, horses and eventually
4 in domestic cats (MS/SVS, 2017). To date, there is no conclusive information on
5 the involvement of wild and synanthropic animals with *L. (V.) braziliensis* in the
6 state of Rio de Janeiro (Marzochi et al, 2014). *L. (V.) braziliensis* could therefore
7 be being introduced in modified environments located in new areas of the
8 Brazilian Southeast Region, through infected humans or their domestic animals.
9 They would act as infection sources for sand flies adapted to the environment
10 around the houses (Marzochi et al, 2014, Bedoya-Pacheco et al, 2011). Human
11 secondary cases of cutaneous leishmaniasis (CL) would happen and
12 consequently mucosal leishmaniasis (ML) cases would occur. The last ones
13 would happen in the inverse ratio to the degree of endemicity (Bedoya-Pacheco
14 et al, 2011).

15
16 To our knowledge, only one autochthonous case of *L. (Leishmania)*
17 *amazonensis* (Azeredo-Coutinho et al, 2007) and two unusual cases of cutaneous
18 leishmaniasis (CL) caused by *L. (L.) infantum* (Lyra et al, 2015) were described
19 in the state of Rio de Janeiro. The incubation period of the disease in humans
20 generally ranges from two weeks to two months (MS/SVS, 2017) and the
21 patient, even when treated, can house *L. (V.) braziliensis*, which may be viable
22 in skin cultures from lesion scars up to 12 years after clinical healing (Schubach
23 et al, 1998). This could turn the human being into a potential source of infection
24 for the vector. The long and variable incubation period could also hamper the
25 epidemiological analyses of correlation between the occurrence or the
26 introduction of new cases and the possible outbreak of secondary cases of CL
27 and ML.

28
29 CL is the most frequent manifestation of ATL, with exclusively cutaneous
30 lesions that tend to heal, due to preserved cellular immunity, with a well-
31 modulated specific cellular response and predominance of T helper type 1
32 cytokines. CL ulcerated lesions, usually one or a few, are predominantly
33 rounded or oval, with coarse granular bottom, well defined raised borders
34 (frame-like), and infiltrated base, erythematous and of firm consistency,
35 located, in most cases, in the skin exposed areas, mainly in the lower limbs
36 (MS/SVS, 2017).

37
38 On the other hand, ML, whose main etiological agent is *L. (V.)*
39 *braziliensis*, represents the hyperergic pole of the disease, with exacerbated T
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

helper type 1 immune response, promoting tissue destruction in places with antigenic particles. ML is a severe manifestation of ATL and its pathogenesis is not yet fully understood. The classical ML form is secondary to CL, and may manifest concomitantly with the initial cutaneous lesion or, weeks, years or even decades after its healing. The mucosal lesion may be secondary to blood or lymphatic dissemination of *Leishmania* inoculated primarily in the skin to the mucous membranes of the upper airways and upper digestive tract. ML evolves with partial tissue destruction due to exacerbated inflammatory response. The nasal mucosa is where most of the lesions caused by *L. (V.) braziliensis* in ML are found, particularly the cartilaginous nasal septum and the most anterior portion of the nasal cavities, such as the vestibule, inferior conchae and, by contiguity, the nasal floor. The nasal mucosa, isolated or associated with other locations, is involved in 91.3% of the ML cases, followed by the mouth (37.9%), pharynx (31.4%) and larynx (30.1%) (MS/SVS, 2017; Costa et al, 2014; Lessa et al, 2007).

It has been reported that in 50% of the cases of CL patients that evolve into ML this occurs in the first two years after cutaneous lesion healing, while in 90% it occurs within 10 years (MS/SVS, 2017). In Brazil, ML cases represent 3 to 6% of notified ATL cases, although in some municipalities the number exceeds 25% (Bedoya-Pacheco et al, 2011; MS/SVS, 2017; Vita et al, 2016). The hypothesis that a better parasite-host adaptation can be responsible for the lower number of ML cases in areas of older endemics, such as the Brazilian North and Northeast Regions, has been suggested (Bedoya-Pacheco et al, 2011). The Laboratory of Clinical Research and Surveillance in Leishmaniasis of the Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases-Fiocruz (LaPClinVigiLeish/INI/FIOCRUZ), in the municipality of Rio de Janeiro, is responsible for the treatment of most ML patients notified in the RJ state (Brahim et al. 2017). Studies in that institution have revealed that, in the state of Rio de Janeiro, the concomitant mucosal form (simultaneous presence of cutaneous and mucosal lesions) is the most common manifestation of ML (37.9% cases), followed by ML of undetermined origin (with no previous history of CL or without suggestive cutaneous scars) with 26.7% cases and, in the third place, the late mucosal form (with previous history of CL or suggestive

1
2
3 cutaneous scars) with 25.2% cases (Costa et al, 2014). The latter is considered
4 the most frequent manifestation in several regions of Brazil (Jirmanus et al 2012).

5
6 In Brazil, an annual mean of 25,763 new ATL cases was reported from
7 1995 to 2014 and the average detection coefficient was 14.7 cases/100.000
8 inhabitants. In 1995 the highest coefficient (22.94 cases/100.000 inhabitants
9 was registered (MS/SVS, 2017). However, after 2005 there was a drop of the
10 incidence rate of approximately 20% (Karagiannis-Voules et al, 2013).

11
12
13
14 Particularly, in the state of Rio de Janeiro, the highest incidence rate of
15 ATL between 2004-2013 was observed in 2005 (351 cases), and after that year
16 there was a reduction of 85.07% in ATL incidence rate, decreasing from
17 1.44/100.000 inhabitants in 2004 to 0.20/100.000 inhabitants in 2013. CL
18 prevailed with 87.90% cases, followed by ML cases (11.83%) and non-
19 classified forms (0.27%). During that period (2004-2013), in the state of Rio de
20 Janeiro, there was a reduction of 86.46% of CL incidence (from 1.25/100.000
21 inhabitants in 2004 to 0.13/100.000 inhabitants in 2013), and of 75% in ML
22 cases (from 0.18/100.000 inhabitants in 2004 to 0.04/100.000 inhabitants in
23 2013). The municipality of Rio de Janeiro, state capital, concentrated the
24 highest number of the cases in that period (740 total cases, with incidence of
25 0.74/100.000 inhabitants in 2004 and of 0.05/100.000 inhabitants in 2013),
26 followed by the municipality of Angra dos Reis (104 total number of cases, with
27 incidence of 0.19/100.00 inhabitants in 2004 and no cases in 2013) (Vita et al,
28 2016).

29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
The analysis of ATL spatial and temporal distribution could help to
understand the dynamics of the disease. However, there are few studies with
this analysis in Brazil (Karagiannis-Voules et al, 2013; Jirmanus et al, 2012;
Schriefer et al, 2009) and particularly in Rio de Janeiro (Vita et al, 2016; Kawa,
2002). To date, there is no study on the spatial and temporal distribution of CL
and ML cases. The objective of the present study was to compare the spatial
and temporal distribution of CL cases with ML cases in the state of Rio de
Janeiro and the municipalities of Rio de Janeiro and Angra dos Reis, between
2001 and 2011.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Materials and Methods

Study area

The state of Rio de Janeiro is one of the 27 federative units in Brazil. It is located in the eastern portion of the Southeast region and occupies an area of 43.696.054 km². The state of Rio do Janeiro is part of the biome of the Brazilian Atlantic Forest, with mountains and lowlands located between the mountainous Serra da Mantiqueira and the Atlantic Ocean, composing diversified landscapes. The state is formed by two morphologically distinct regions, the lowland and a plateau, and has a tropical climate (IBGE, 2016). (Figure 1).

The municipality of Rio de Janeiro is the capital of the state and the second largest conurbation in Brazil. It occupies an area of 1.200.179 Km², and is divided into 160 neighborhoods, grouped into 33 administrative regions and seven district councils. The western region concentrates the most populous neighborhoods in the municipality, and it has a high population growth, although not all with a similar development, which causes inappropriate agglomerations and segregations (IBGE 2016). Rio de Janeiro municipality has a tropical Atlantic climate, and the average annual temperature is 23.8°C. Since it is a coastal city, the effect of the proximity to the sea is noticeable, resulting in relatively small thermal amplitudes. The annual average of maximum monthly temperatures is 27.3 °C, and of minimum monthly temperatures is 21°C (INMET2016). (Figure 1).

The municipality of Angra dos Reis is located in the south of the state of Rio de Janeiro, in the Green Coast Region, 158 km away from the state capital. It has an area of 825.082 Km², at an average altitude of six meters, and comprises 365 islands (IBGE, 2016). Its current importance comes from the Angra dos Reis port, which is one of the busiest in the country and also because the only nuclear power plants in operation in Brazil are in the municipality. It is also one of the highest known tourist places of the state and of the country. Most of the city is surrounded by hills, and about 36% of the population lives in slums, located in the hills or mangrove areas, which places the municipality in the tenth place among the Brazilian cities, regarding the proportion of households in slums in the country (IBGE 2010). According to data from the Brazilian National Institute of Meteorology, the minimum absolute

1
2
3 temperature registered in Angra dos Reis, since 1961, was 9.4°C on August 12,
4 1988, and the maximum absolute temperature was 39.3°C on February, 12,
5 1966. The mean of the maximum temperatures was 27°C and the mean of the
6 minimum temperatures was 19.4 °C for the same period (INMET, 2016) (Figure
7 1).
8
9
10
11
12

13 **Population and ATL notification data**

14
15
16 This is an ecologic study, based on the notification data of ATL cases in
17 the state of Rio de Janeiro, from the Information System of Notifiable Diseases
18 (Sistema de Informação de Agravos de Notificação-SINAN), obtained at the Rio
19 de Janeiro State Health Department (SES RJ), considering municipal population
20 data obtained in the 2001 and 2011 censuses and the intercensity projections
21 from 2002 to 2010 of the Brazilian Institute of Geography and Statistics
22 (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2016).
23
24
25

26 This data allowed to calculate the incidence rate of CL by 100.000
27 inhabitants (number of new CL cases in the year/population of the municipality x
28 100.000) and of ML (number of new ML cases in the year/population in the
29 municipality x 100.000).
30
31
32
33
34
35

36 **Map of CL and ML occurrence in the Municipalities of the state of** 37 **Rio de Janeiro (2001 - 2011)**

38
39 The incidence rates were set in the Geographic Information System
40 (SIG) and were georeferenced by municipality. Thematic maps of disease rate
41 per year were constructed to help to detect ATL dispersion patterns in the state
42 of Rio de Janeiro and the spatial and temporal analysis of CL and ML
43 occurrence. The software used was ArcGis 10.4 made available by the
44 Geoprocessing Nucleus/ Institute for Health Communication and Scientific and
45 Technological Information (Núcleo de Geoprocessamento/ Instituto de
46 Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde - ICICT -
47 FIOCRUZ).
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57

58 **Statistical Analysis**

59
60
<https://mc04.manuscriptcentral.com/mioc-scielo>

1
2
3 1 year between both clinical forms. The municipality of Rio de Janeiro was the
4 only municipality in the state that had CL and ML cases throughout all years of
5 the study period. The Green Coast Region was the only one in the state of Rio
6 de Janeiro with CL and ML cases in all its municipalities, including Angra dos
7 Reis.
8
9

10 11 12 13 - State of Rio de Janeiro

14 Figure 4 shows the temporal evolution of ATL clinical forms in the state
15 of Rio de Janeiro, from 2001 to 2011. There is an increased incidence of CL
16 from 2001 to 2006, with peaks in 2002, 2005 and 2006, and increase in ML
17 incidence from 2002 to 2006 and from 2008 to 2009.
18
19

20 The negative binomial regression models A (AIC=122.11, $\beta_1=6.4519$,
21 $p=0.108$), B (AIC=111.18, $\beta_1=2.9828$, $p=0.518$) and D (AIC=106.4, $\beta_1=-2.4487$,
22 $p=0.523$) did not present significant coefficients for the explanation of CL
23 incidence rate.
24
25

26 Model C (AIC=112.45) showed that ML incidence rate ($\beta_1=10.0610$,
27 $p<0.001$) tends to increase concomitantly with CL annual incidence rate, even
28 when controlled by the CL rate of the previous year ($\beta_2=0.5020$, $p=0.004$). The
29 model C had a good fit according to the deviance function ($p=0.1831$).
30
31

32 The CL incidence rate values predicted by 100,000 inhabitants by model
33 C are shown in Figure 5.
34
35

36 37 38 39 - Municipality of Rio de Janeiro

40 Figure 6 shows the temporal evolution of ATL clinical manifestation
41 forms in the municipality of Rio de Janeiro, from 2001 to 2011. It is possible to
42 observe an increase in CL incidence in 2002 and from 2004 to 2006, while there
43 was ML incidence increase in 2002, from 2004 to 2006, in 2008 and in 2011.
44
45

46 The negative binomial regression model B did not present significant
47 coefficient (AIC=92.223, $p=0.685$) in the explanation of CL incidence rate. The
48 models C (AIC=97.56) and D (AIC= 87.58) were considered the best models,
49 due to their low AIC values, when compared to model A (AIC=98.75).
50
51

52 Model C showed that ML rate ($\beta_1=6.9927$, $p=0.0231$) tends to increase
53 concomitantly with CL rate of the same year, even when controlled by the CL
54 rate of the previous year ($\beta_2=0.3052$, $p=0.3039$). Model D showed that the
55
56
57
58
59
60

1
2
3 The minimum, maximum and median of the time elapsed between the
4 observation of CL cases and the observation of ML cases were obtained for the
5 state of Rio de Janeiro from 2001 to 2011.
6
7

8 An exploratory analysis of the series by line charts was performed to
9 describe the temporal evolution of the cases for the temporal analysis of CL and
10 ML incidence coefficients. All analyses were conducted for the state of Rio de
11 Janeiro and for the municipalities of Rio de Janeiro and Angra dos Reis.
12
13

14 A negative binomial regression model was used to assess the temporal
15 dependency between the series. Considering the small number of ML cases,
16 we used the count of CL cases as outcome variable with offset to model the
17 incidence rates. Four regression models were adjusted using CL and ML rates
18 lagged in previous years as explanatory variables: model A – ML rate of the
19 previous year; model B – ML rate of the two previous years; model C- ML rate
20 for the year of study controlled by the CL rate of the previous year and model D
21 – ML rate of the two previous years controlled by CL rate of the previous year.
22 The model was interpreted by the coefficients and by the estimation of CL
23 predicted values of the best adjusted model.
24
25

26 The model with smaller Akaike information criterion (AIC) was considered
27 the best model. The fitness of the final model was assessed by the residual
28 deviance function.
29
30

31 P-values<0.05 indicated significant values in the statistical tests.
32

33 The analyses were performed in the MASS library of the R software
34 version 3.2.3.
35

36 37 38 39 40 41 42 43 **Ethics Statement**

44 This Project was approved by the Ethics in Research Committee of
45 Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (CAAE
46 17222113.2.0000.5262).
47
48
49
50

51 52 53 **Results**

54 The CL and ML incidence rates from 2001 to 2011 are presented in
55 thematic maps (Figures 2 and 3). It is possible to observe that ML cases
56 occurred in the same year or up to 5.5 years after the CL cases, with median of
57
58
59
60

1
2
3 highest the rate of ML of the two previous years ($\beta_1=-8.3269$, $p=0.032$) the
4 lowest the incidence of CL in the year of study, even when controlled by CL rate
5 of the previous year ($\beta_2=1.139$, $p=0.001$). Models C and D had good fit
6 according to the deviance function ($p=0.1609$, $p=0.1597$, respectively).
7
8 However, model D was considered the one with the best fit, because of the
9 lowest AIC value.
10

11
12 The values predicted for CL incidence rate by 100.000 inhabitants
13 estimated by models C and D are shown in figure 7.
14
15

16 17 18 - Municipality of Angra dos Reis

19
20 Figure 8 shows the temporal evolution of ATL clinical manifestation
21 forms in the municipality of Angra dos Reis, from 2001 to 2011. Greater
22 incidence of CL between 2001 and 2006 is observed, with incidence reduction
23 from 2007 on, while ML incidence had periods of greater values in 2001, 2002,
24 2005 and 2009, with periods with no ML cases between 2006-2007 and 2010-
25 2011.
26
27

28
29 The negative regression models B (AIC=71.735, $\beta_1=0.3248$, $p=0.364$)
30 and D (AIC=67.526, $\beta_1=-0.65552$, $p=0.087$) did not present significant
31 coefficients in the explanation of CL incidence rate.
32

33
34 Model A (AIC=79.516, $\beta_1=0.7111$, $p=0.015$) showed that the highest the
35 ML rate in the previous year, the highest the CL in the study year. Model C
36 (AIC=79.525, $\beta_1=0.08818$, $p=0.783$) showed that ML rate ($\beta_1=11.8321$, $p<0.001$)
37 tends to increase concomitantly to CL rate in the study year, even when
38 controlled by CL rate of the previous year ($\beta_2=0.07424$, $p=0.002$).
39
40

41
42 Models A and C had good fit according to the deviance function
43 ($p=0.2091$ and $p=0.1522$, respectively) and with similar AIC.
44
45

46
47 The values predicted for CL incidence rate by 100,000 inhabitants, based
48 on models A and C are in figure 9.
49
50

51 52 Discussion

53
54 Based on this study, we observed that the state of Rio de Janeiro and
55 the two municipalities evaluated in it presented a higher incidence of CL and ML
56 up to 2006, with a decline from 2007 on. It was also possible to observe that
57 there was a temporal dependence on the occurrence of cases of the two clinical
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

forms (CL and ML) in the municipalities of Angra dos Reis and Rio de Janeiro, and in the state of Rio de Janeiro. In most localities the annual incidence rates of CL and ML increase concomitantly even when adjusted by the values of the incidence rates of CL of the previous year.

ATL distribution with CL incidence increase, followed by subsequent periods without notifications of this clinical form, as observed in some municipalities of the state of Rio de Janeiro, such as for example, the North and Northeast regions of the state, can be explained by the variation on the number of susceptible individuals in a location. In the state of Rio de Janeiro, from 2001 to 2013, ML represented 9.07% of all ATL cases, with a ratio of 10 CL: 1 ML. It was suggested that in areas with lower infection prevalence, such as the Brazilian Southeast Region, the proportion of the mucosal form is increased, indicating the influence of the level of endemicity in the form of the clinically manifested disease. The low proportion of the mucosal form in old endemic areas and with high infection prevalence could be the consequence of a better adaptation between host, parasite and vector (Bedoya-Pacheco et al, 2011). The low susceptibility to the disease in a community or group (cases treated and healed, spontaneous healing, sub-clinical infections) occurs due to the acquisition of long lasting resistance of previously infected individuals. Thus, only when a subsequent accumulation of susceptible individuals occurs, by the birth of new individuals, a threshold enough to start an epidemic is reached. Migration may also be responsible for the variation of the susceptible pool of individuals, either by the immigrants getting in touch with the parasite of the region into which they displace, or because the infected immigrants carry a parasite into an area in which individuals are susceptible. Particularly, new cases of human CL can be secondary to the introduction of infected people or domestic animals, sick or not, into a new geographic vulnerable area (presence of vectors and susceptible persons). This introduces different aspects on the disease epidemiology and on leishmaniasis clinical severity (ecologic characteristics, circulating *Leishmania* spp., and population characteristics) including the risk of ML (Marzochi et al, 2014; Delgado et al, 2008).

Although the cutaneous rate increases concomitantly with the annual mucosal rate, when controlled by the previous cutaneous rate in the state of Rio de Janeiro, a singular behavior is observed in the municipality of Rio de Janeiro.

<https://mc04.manuscriptcentral.com/mioc-scielo>

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

The annual cutaneous rate depends on ML incidence rate of the two previous years. High ML values in a year result on the reduction of CL rates two years later, regardless the CL values of the previous year. The municipality of Rio de Janeiro displays a differentiated situation regarding other municipalities of the state of Rio de Janeiro. There are two forests in Rio de Janeiro city considered as potential big reservoirs of parasites and vectors, where ATL would find an adequate and favorable environment for its development. These forests are the Tijuca Forest, the greatest tropical forest in an urban area in the world, and the Pedra Branca State Park (KAWA & SABROZA, 2002). However, CL and ML cases, as well as the presence of phlebotomine vectors are not reported in the surroundings of the Tijuca Massif, where the original arboreal vegetation was almost entirely substituted by reforestation with exotic species. CL and ML cases are only originated in peri-urban areas of the Pedra Branca State Park, where the primary vegetation still survives. In 1922 the first epidemic in the Tijuca Massif was registered in Rio de Janeiro municipality. After fifty years without new cases, in 1973 there was an ATL epidemic in the slopes of the Pedra Branca Massif, in the Western Region of the municipality of Rio de Janeiro, a place where ATL transmission is still active, with occurrence of sporadic cases and outbreaks (Kawa et al., 2010). To date, no wild transmission cycle involving *L. (V.) braziliensis* was described in those areas, only the presence of infected domestic dogs, horses and cats, associated with the presence of Phlebotominae adapted to the modified environments. The demographic increase, associated with a migratory flow from the interior of the state of Rio de Janeiro and from other Brazilian states (Brito, 2016), favored a new urbanization dynamics. It allowed the entry of susceptible population groups or those with ATL into modified environments, already with a high vector density, favoring and widening the transmission of the endemics in those areas (Kawa & Sabroza, 2002; Marzochi et al, 2014), without the necessity of the existence of a specific reservoir (Haydon et al, 2002).

In the period from 2001 to 2013, INI/FIOCRUZ was responsible for the treatment of 27.4% of all CL cases, and of 76.2% of ML cases (Brahim et al. 2017). As INI/FIOCRUZ is a reference center for ATL treatment in the state of Rio de Janeiro, with one of the few otorhinolaryngology services in the country specialized in ML diagnosis and treatment, there may be cases wrongly notified

<https://mc04.manuscriptcentral.com/mioc-scielo>

1
2
3 as autochthonous of Rio de Janeiro municipality; many people come from other
4 municipalities or states to receive treatment and state as their addresses those
5 of their relatives living in the municipality (Brahim et al. 2017). Additionally,
6 considering that a period of several months or years may elapse between
7 infection and the development of a mucosal lesion, the address of the patient at
8 the time of the diagnosis may be different from the area where he really
9 acquired the infection (Schriefer et al, 2009). Data from INI/FIOCRUZ show that
10 about 15% of the treated patients report, as a possible area of infection, other
11 Brazilian states (Costa et al, 2014; Antonio et al, 2014; Brahim et al 2017;
12 Braga et al. 2017). It is thus possible that those notified cases have different
13 characteristics regarding the parasite or human host usually found in the state
14 of Rio de Janeiro. Therefore, the failure in identifying the probable municipality
15 of infection in the notification form can hamper the study of the temporal
16 association between CL and ML cases, in both the municipality and the state of
17 Rio de Janeiro. In other municipalities, such as Angra dos Reis, the temporal
18 association is more evident. Even though, it was possible to observe a temporal
19 association with concomitant increase of the incidence of both clinical
20 manifestations in the same year, in the three investigated regions.
21
22

23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33 On the other hand, the concomitant increase of CL and ML annual
34 incidence rates observed in the state of Rio de Janeiro, as well as in other
35 localities, is in agreement with the higher incidence of concomitant ML in the
36 state of Rio de Janeiro, although late ML is reported as the most frequent form
37 in Brazil (Costa et al, 2014). ML physio-pathogenesis is still not well-known
38 (Amato et al, 2008). It has not been established whether the time elapsed
39 between CL and ML manifestations is the consequence of the persistence of
40 the parasite in the host with subsequent triggering of the mucosal disease
41 (Amato et al, 2008), or if it is possible that incipient mucosal lesions, not early
42 identified or treated during CL active phase, may evolve to clinically evident
43 mucosal lesions considered then as late. The difficulty of patients to access
44 health care units or their lack of financial resources to go to treatment referral
45 centers to receive appropriate ATL monitoring can be associated with the
46 development of ML. On the other hand, the long time elapsed between the
47 beginning of the symptoms and the diagnosis of mucosal manifestation of ATL
48 may reflect the limited training of the physicians for the early diagnosis of ML.
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

The general medical practitioners are not always trained to adequately approach nasal complaints and the ear, nose and throat specialists frequently limit their intervention to conducting a nasal biopsy, which in the case of ML may be inconclusive (Lessa et al, 2007). The late diagnosis could also be partially explained by the delay of the patient in looking for medical care. However, since chronic nasal obstruction is a complaint that directly interferes in the quality of life and labor capacity of the individual, it is not probable that the delay occurs because of late search for treatment. In fact, ML patients usually report previous treatment for chronic rhinitis for long periods of time, without a defined etiological diagnosis (Diniz et al, 2011). At INI/FIOCRUZ, all ATL patients, regardless of mucosal complaints, are systematically examined by endoscopic methods, which allow early diagnosis and treatment of the mucosal lesions. The better diagnosis conditions and thorough search of early mucous membranes lesions can explain the higher incidence of concomitant ML in patients with incipient mucosal lesions and wrongly forwarded as having CL. Additionally, the cases of late ML treated at INI/FIOCRUZ had not usually been diagnosed and treated at the time of active CL in this institution, and therefore were not submitted to endoscopic examination of the mucous membranes in that occasion (not published data). It is possible, therefore, that those metastatic mucosal lesions were already present at the time of active CL, and that the adoption of routine endoscopic examination of the mucous membranes causes a decrease of the incidence of the late ML form, which, slowly evolving during several years, ends by leading to deformities, often irreversible. However, the reason why individuals infected with *Leishmania* can present mucosal involvement is not fully known (Lessa et al, 2007). Although the main agent involved in ML is *L. (V.) braziliensis*, other species have already been described, usually because of the proximity of the cutaneous lesion to mucous membranes: *L. (L.) amazonensis*, *L. (V.) guyanensis* and *L. (V.) panamensis* (Delgado et al, 2008; Brito, 2006). The association of the infection by *L. (V.) braziliensis* with this form of the disease suggests that, in addition to the host, other factors related to the parasite are relevant for the development of the mucosal disease. It is possible that leishmaniasis clinical manifestation depends on factors inherent to the parasite, on the natural resistance of the host and on the magnitude of the immunological response (Lessa et al, 2007). Studies

<https://mc04.manuscriptcentral.com/mioc-scielo>

1
2
3 indicate that the population of *L. (V.) braziliensis* circulating in the state of Rio
4 de Janeiro presents an homogenous genetic pattern with little variability
5 (Oliveira et al, 2013; Cupolillo et al, 2003), and there seems to be no
6 association between *Leishmania* genotypic patterns and ATL clinical
7 manifestations (Baptista et al, 2009, Braga et al 2017). However, different ATL
8 clinical manifestations were previously associated with *Leishmania (V.)*
9 *braziliensis* subpopulations, distributed among different locations in the Brazilian
10 state of Bahia (Schriefer et al, 2009). It is possible, therefore, that different
11 *Leishmania* species and subpopulations present different temporal associations
12 between CL and ML; to estimate the true ratio between CL and ML, long-term
13 prospective studies with systematic endoscopic mucous membranes evaluation
14 would be necessary even in asymptomatic patients.

15
16
17 Concluding, a temporal association between CL and ML cases was
18 observed, with a concomitant increase of the incidence of both clinical forms in
19 most of the localities of the state of Rio de Janeiro. This temporal association
20 observed in the state raises the hypothesis that: either the mucosal lesions
21 were already incipient from the beginning of CL manifestation, or the
22 *Leishmania* species circulating in the state of Rio de Janeiro is able to produce
23 early mucosal lesions.

24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 **Acknowledgements**

38
39 This work was partially funded by Carlos Chagas Filho Foundation for
40 Research Support of Rio de Janeiro State (FAPERJ) and the National Council
41 for Research and Technological Development (CNPq), Brazil. Marcia Andreia
42 Sales da Costa, Luiz Torres Homem (INI/FIOCRUZ) and Marcelo Alves Coelho
43 Junior (INI/FIOCRUZ) for support and graphic design.

44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 **References**

51 AMATO, V.S.; TUON, F.F.; BACHA, H.A.; et al. Mucosal leishmaniasis. Current
52 scenario and prospects for treatment. *Acta Trop.* 105(1):1–9; 2008.
53 ANTONIO, L. .F.; FAGUNDES, A.; OLIVEIRA, R.V.C.; PINTO, P.G.; BEDOYA-
54 PACHECO, S.J.; VASCONCELLOS, C.F.E. et al. Montenegro Skin Test
55 and Age of Skin Lesion As Predictors of Treatment Failure in Cutaneous
56
57
58
59
60

<https://mc04.manuscriptcentral.com/mioc-scielo>

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- Leishmaniasis. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 56(4):375–80; 2014.
- AZEREDO-COUTINHO, R.B.G.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; SCHUBACH, A.O.; CUPOLILLO, E.; QUINTELLA, L.P.; MADEIRA, M.F. et al. First report of diffuse cutaneous leishmaniasis and *Leishmania amazonensis* infection in Rio de Janeiro State, Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg. 101(7):735–772; 2007.
- BAPTISTA, C.; SCHUBACH, A.O.; MADEIRA, M.F.; LEAL, C.A.; PIRES, M.Q.; OLIVEIRA, F.S.; et al. *Leishmania* (Viannia) *braziliensis* genotypes identified in lesions of patients with atypical or typical manifestations of tegumentary leishmaniasis: Evaluation by two molecular markers. Exp Parasitol. 121(4):317–322; 2009.
- BEDOYA-PACHECO, S.J.; ARAUJO-MELO, M.H.; VALETE-ROSALINO, C.M.; PIMENTEL, M.I.F.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; SCHUBACH, A.O. et al. Endemic tegumentary leishmaniasis in Brazil: Correlation between level of endemicity and number of cases of mucosal disease. Am J Trop Med Hyg. 84(6):901–905; 2011.
- Braga, T G ; Schubach, A O ; Madeira, M F ; Valete-Rosalino, C M ; Pimentel, M I F ; Pacheco, R S . Genotypic profiles of *Leishmania* (Viannia) *braziliensis* strains from cutaneous leishmaniasis patients and their relationship with the response to meglumine antimoniate treatment: a pilot study. Parasite, aceito 2017
- Brahim LR, Cláudia Maria Valete-Rosalino CM, Antônio LF, Pimentel MIF, Lyra MR, Paes LEC, et al. Low dose systemic or intralesional meglumine antimoniate for American tegumentary leishmaniasis results in low lethality, low incidence of relapses, and low late mucosal involvement in a referral centre in Rio de Janeiro, Brazil (2001-2013). Memorias Inst Oswaldo Cruz. 1-6; 2017 (em impressão)
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 1.ª Edição. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília – Manual de Vigilância da leishmaniose tegumentar americana. DF 2017.
- BRITO, F. O. deslocamento da população brasileira para as metrópoles. Estudos avançados.(57):221–236; 2006.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- COSTA D.C.S.; PALMEIRO M.R.; MOREIRA J.S.; MARTINS A.C.D.C.; SILVA A.F.; DE FÁTIMA MADEIRA M.F.; et al. Oral manifestations in the American tegumentary leishmaniasis. *PLoS One*. 9(11):1–7; 2014.
- CUPOLILLO, E.; BRAHIM, L.R.; TOALDO, C.B.; OLIVEIRA-NETO, M.P.; BRITO M.E.F.; FALQUETO A. et al. Genetic polymorphism and molecular epidemiology of *Leishmania (Viannia) braziliensis* from different hosts and geographic areas in Brazil. *J Clin Microbiol* . 41(7):3126–32; 2003.
- DELGADO, O.; SILVA, S.; CORASPE, V.; RIVAS, M.A.; RODRIGUEZ-MORALES, A.J.; NAVARRO, P. et al. Cutaneous leishmaniasis imported from Colombia to Northcentral Venezuela: Implications for travel advice. *Travel Med Infect Dis.*(6):376–379; 2008.
- DINIZ, J.L.C.P.; COSTA, M.O.R.; GONÇALVES, D.U. Mucocutaneous leishmaniasis: Clinical markers in presumptivediagnosis. *Braz J Otorhinolaryngol*. 77(3):380–384; 2011.
- GARCIA, A.L.; PARRADO, R.; ROJAS, E. et al. Leishmaniasis in Bolivia: comprehensive review and current status. *Am J Trop Med Hyg* .;80(5):704–711; 2009.
- GUERRA, J.A.O.; PRESTES, S.R.; SILVEIRA, H.; COELHO L.I.A.R.C.; GAMA P.; MOURA A.; et al. Mucosal leishmaniasis caused by *leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Viannia) guyanensis* in the Brazilian Amazon. *PLoS Negl Trop Dis*. 5(3):1–5; 2011.
- INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. Gráficos de observações registradas [2008]. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/html/observacoes.php?lnk=Gr%E1ficos>. Acesso em: 10 Abr 2016.
- Haydon DT1, Cleaveland S, Taylor LH, Laurenson MK. Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerg Infect Dis*. 2002 Dec;8(12):1468-73.
- JIRMANUS, L.; GLESBY, M.J.; GUIMARAES, L.H.; LAGO, E.; ROSA, M.E.; MACHADO, P.R. et al. Epidemiological and Clinical Changes in American Tegumentary Leishmaniasis in an Area of *Leishmania (Viannia) braziliensis* Transmission Over a 20-Year Period. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 86(3):426–33; 2012.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- KARAGIANNIS-VOULES, D.A.; SCHOLTE, R.G.C.; GUIMARÃES, L.H.; et al. Bayesian Geostatistical Modeling of Leishmaniasis Incidence in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis.* 7(5):1–11; 2013.
- KAWA, H.; SABROZA P.C Espacialização da leishmaniose tegumentar na cidade do Rio de Janeiro. *Cad Saúde Pública*; 18(3): 853-865; 2002.
- Kawa, H.; Sabroza P.C, Oliveira RM, Barcellos C. Production of transmission foci for cutaneous leishmaniasis: the case of Pau da Fome, Rio de Janeiro, Brazil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 26(8):1495-1507, 2010
- LESSA, M.M.; LESSA, H.A.; CASTRO, T.W.N.; OLIVEIRA, A; SCHERIFER, A.; MACHADO, P. et al. Mucosal leishmaniasis: Epidemiological and clinical aspects. *Braz J Otorhinolaryngol.* 73(6):843–7; 2007.
- LYRA, M.R.; PIMENTEL, M.I.F.; MADEIRA, M.F.; ANTONIO, L.F.; LYRA, J.P.M.; FAGUNDES, A.S. et al. First report of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* in an urban area of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev do Inst Med Trop São Paulo.* 57(5):451–454; 2015.
- MACHADO-COELHO, G.L.L.; ASSUNÇÃO, R.; TEIXEIRA, W. American cutaneous leishmaniasis in Southeast Brazil. *International Journal of Epidemiology.* 28:982–989; 1999.
- Marzochi MCA, Marzochi KBF, Fagundes A, Conceição-Silva F. A questão do controle das leishmanioses no Brasil. In: Conceição-Silva F & Alves CR (Org.). *Leishmanioses do continente americano*, pages 431-463, ISBN: 978-85-7541-439-2, Editora Fiocruz, 2014
- OLIVEIRA, F.S.; VALETE-ROSALINO, C.M.; PACHECO, S.J.B.; COSTA, F.A.C.; SCHUBACH, A.O.; PACHECO, R.S. American tegumentary leishmaniasis caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis*: assessment of parasite genetic variability at intra- and inter-patient levels. *Parasit Vectors.* (6)0:1-8; 2013.
- SCHRIEFER, A.; GUIMARÃES, L.H.; MACHADO, P.R.L.; LESSA, M.; LESSA, H.A.; LAGO E. et al. Geographic clustering of leishmaniasis in northeastern Brazil. *Emerging Infectious Diseases.* 15(6):871–876;2009.
- Schubach A, Marzochi MC, Cuzzi-Maia T, Oliveira AV, Araujo MJ, Oliveira AL, Pacheco RS, Momen H, Conceição-Silva F, Coutinho SG, Marzochi KB.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Cutaneous scars in American tegumentary leishmaniasis patients: a site of *Leishmania (Viannia) braziliensis* persistence and viability eleven years after antimonial therapy and clinical cure. *Am. J. Trop Méd Hyg* 1998, 58: 844-827.

Schubach TM, Figueiredo FB, Pereira SA, Madeira MF, Santos IB, Andrade MV, Cuzzi T, Marzochi MC, Schubach A: American cutaneous leishmaniasis in two cats from Rio de Janeiro, Brazil: first report of natural infection with *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2004, 98: 165-167. 10.1016/S0035-9203(03)00040-3.

VITA G.F.; PEREIRA M.A.V.C; FERREIRA I; SANAVRIA A.; BARBOSA C.G.; AURNHEIMER R.C.M. et al. Status of the american tegumentary leishmaniasis in the State of Rio de Janeiro, Brazil , from 2004 to 2013. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* 55(1):1-8; 2016.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Figure 1: Map of Brazil, evidencing the State of Rio de Janeiro and its Regions, the municipalities of Angra dos Reis and Rio de Janeiro and the localization of the Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases- Oswaldo Cruz Foundation.

Figure 2 – Distribution of cutaneous leishmaniasis incidence in the state of Rio de Janeiro, Brazil, from 2001 to 2011. ICICT / Fiocruz, 2017.

Figure 3 – Distribution of the incidence of mucosal leishmaniasis in the state of Rio de Janeiro, Brazil, from 2001 to 2011. ICICT / Fiocruz, 2017.

Figure 4 – Temporal evolution of the incidence rates according to tegumentary leishmaniasis clinical manifestations in the state of Rio de Janeiro, Brazil, from 2001 to 2011. INI/FIOCRUZ, 2017.

Figure 5 – Prediction of cutaneous leishmaniasis rates (/100,000) in the state of Rio de Janeiro, Brazil, by the negative binomial models, from 2001 to 2011. INI/FIOCRUZ, 2017.

Model C: Cutaneous rate= Mucosal rate+ Cutaneous rate of the previous year

* Predicted values of rates not calculated due to the dependency of mucosal leishmaniasis incidence rate of the previous years

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Figura 6- Temporal evolution of the incidence rates according to tegumentary leishmaniasis clinical manifestations in the municipality of Rio de Janeiro, Brazil, from 2001 to 2011. INI/FIOCRUZ, 2017.

Figure 7- Prediction of cutaneous leishmaniasis rate(/100,000) in the municipality of Rio de Janeiro, Brazil, by the negative binomial models, from 2001 to 2011. INI/FIOCRUZ, 2017.

Model C: Cutaneous rate= Mucosal rate + Cutaneous rate of the previous year.

Model D: Cutaneous rate= Mucosal rate of the 2 previous years + Cutaneous rate of the previous year

* Predicted values of rates not calculated due to the dependency of mucosal leishmaniasis incidence rate of the previous years

Figure 8- Temporal evolution of the incidence rates according to tegumentary leishmaniasis clinical manifestations in the municipality of Angra dos Reis, Brazil, from 2001 to 2011. INI/FIOCRUZ, 2017.

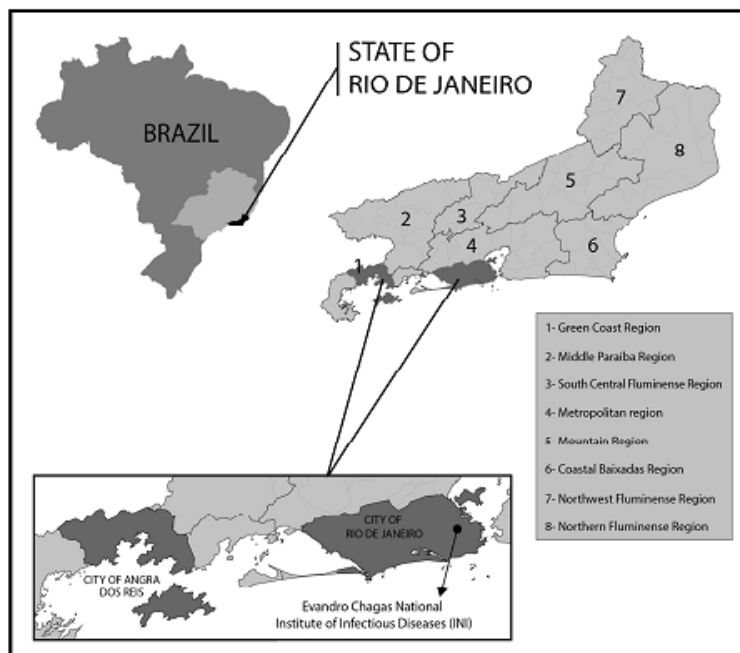
Figure 9 - Prediction of cutaneous leishmaniasis rates (/100,000) in the municipality of Angra dos Reis, Brazil, from 2001 to 2011. INI/FIOCRUZ, 2017.

Model A: Cutaneous rate= Mucosal rate of the previous year,

Model C: Cutaneous rate= Mucosal rate + Cutaneous rate of the previous year.

* Predicted values of rates not calculated due to the dependency of mucosal leishmaniasis incidence rate of the previous years

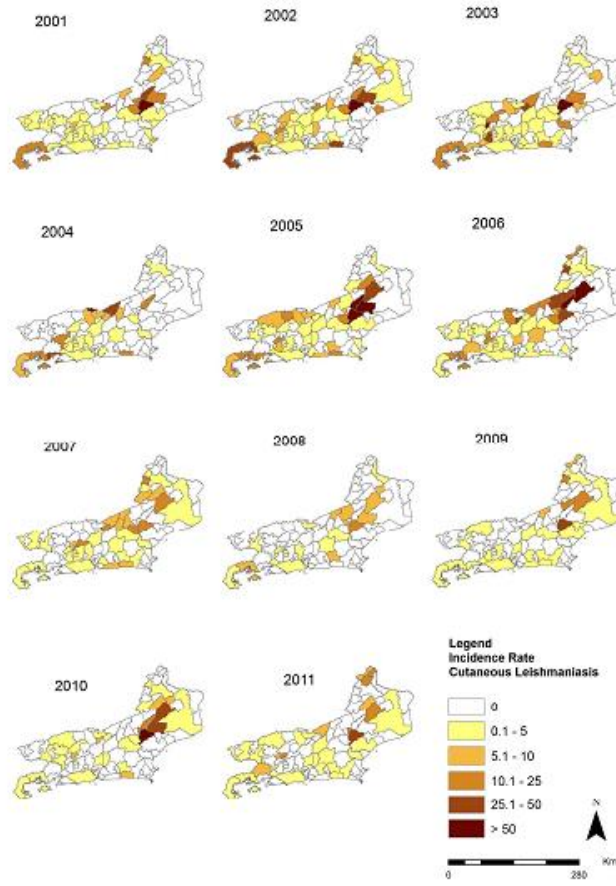
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



423x372mm (96 x 96 DPI)

<https://mc04.manuscriptcentral.com/mioc-scielo>

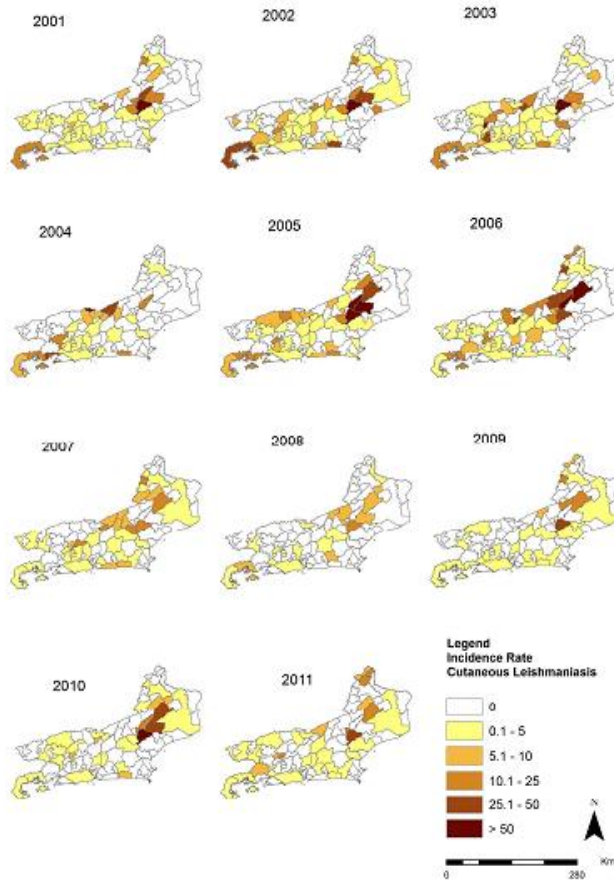
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



656x928mm (96 x 96 DPI)

<https://mc04.manuscriptcentral.com/mioc-scielo>

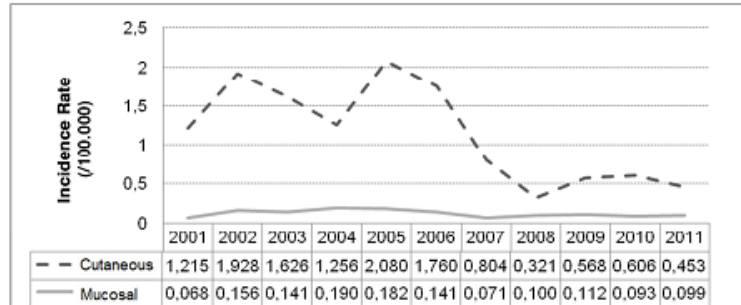
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



656x928mm (96 x 96 DPI)

<https://mc04.manuscriptcentral.com/mioc-scielo>

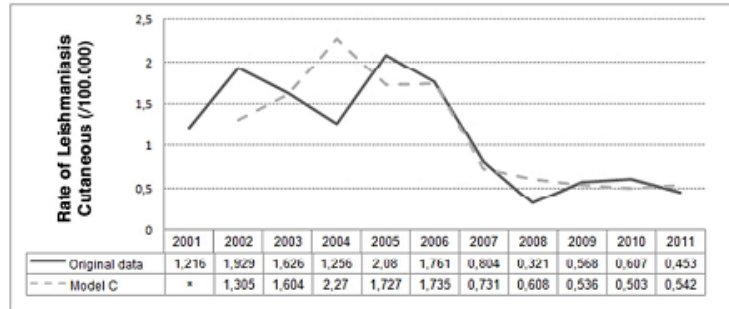
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



241x98mm (96 x 96 DPI)

Review Only

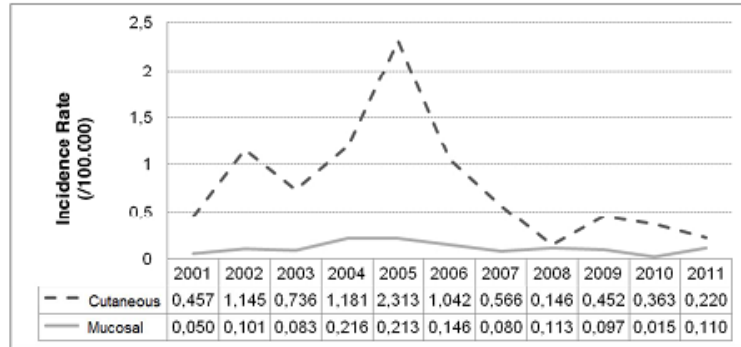
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



185x80mm (96 x 96 DPI)

Review Only

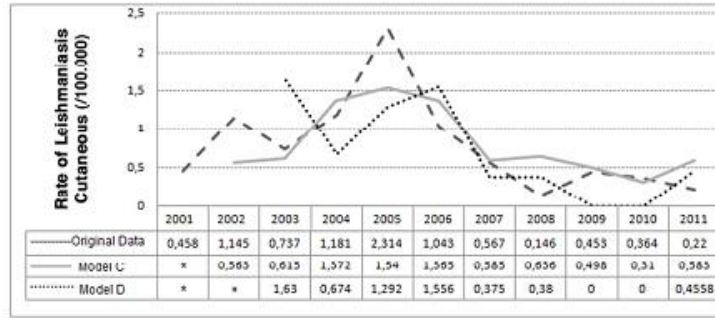
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



247x118mm (96 x 96 DPI)

Review Only

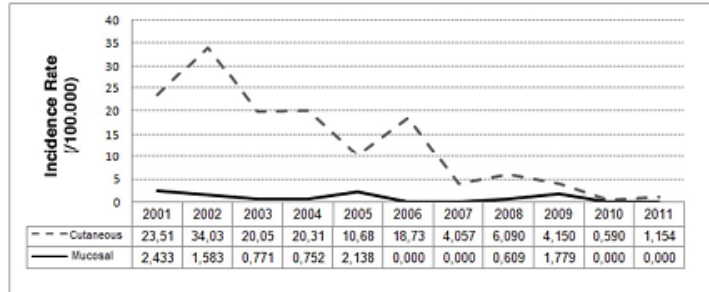
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



192x85mm (96 x 96 DPI)

Review Only

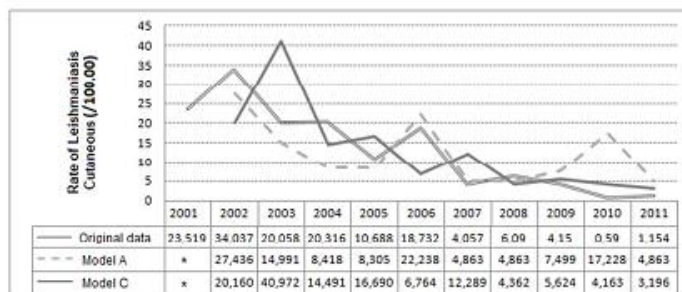
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



193x82mm (96 x 96 DPI)

Review Only

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



190x80mm (96 x 96 DPI)

Review Only

5 - CONCLUSÕES

1) Os esquemas alternativos com antimoniato de meglumina utilizados no INI – Fiocruz proporcionaram baixa letalidade e asseguraram a cura por tempo prolongado.

2) No geral, a distribuição de LTA no Estado do Rio de Janeiro não foi constante, se manifestando em alguns municípios como surtos de LC acompanhados de ausência de casos de LC e surgimento de casos de LM. A taxa de incidência de LTA no município do Rio de Janeiro se manteve constante ao longo dos 11 anos investigados, tanto para LC quanto para LM. No município de Angra dos Reis a incidência de LC se manteve constante até 2006, com redução a partir de 2007, enquanto a incidência de LM apresentou períodos de maior incidência, seguidos de períodos sem casos de LM.

3) Em alguns municípios do Estado do Rio de Janeiro existe uma associação temporal entre LC e LM, com casos de LC antecedendo até um ano o aparecimento de LM, explicando porque neste Estado a forma mucosa concomitante é a mais frequente.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUDELO L.A et al. **Presence of American leishmaniasis vectors surrounding the City of Medellín, Colombia.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 97, n. 5, p. 641-642, 2002.
- AGUILAR C.M.; RANGEL E.F; GRIMALDI G.; MOMEM H. **Human, canine and equine leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis* in endemic area in the State of Rio de Janeiro.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz 82(1): 143; 1987.
- ALESSI C.A.C; GALATI E.A.B.; ALVES J.R., CORBEITT C.E.P. **American cutaneous leishmaniasis in the Pontal of Paranapanema-SP, Brazil: ecological and entomological aspects.** Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo 51(5):277-282; 2009.
- ALEXANDER B., USMA M.C. **Potential sources of sugar for the phlebotomine sandfly *Lutzomyia youngi* (Diptera: Psychodidae) in a Colombian coffee plantation.** Ann Trop Med Parasitol Oct; 88(5):543-9; 1994.
- ALVAR, J.; IVÁN D.; VÉLEZ, C.B.; MERCÉ H.; PHILIPPE D.; JORGE C.; JEAN J.; AND MARGRIET DEN BOER. **"Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence"**. PloS one 7, no. 5 2012.
- ANTONIO L.F. **Resposta à Intrademorreação de Montenegro e ocorrência de falha terapêutica na forma cutânea de leishmaniose tegumentar americana: um estudo de caso controle.** Dissertação de Mestrado IPEC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2012.
- ARAÚJO-FILHO N.A. **Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana na Ilha Grande, Rio de Janeiro: Estudos sobre a infecção humana, reservatórios e transmissores.** [Disertação de Mestrado] Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro. 147 pp; 1978.
- ARAGÃO, H.B. **Transmissão da leishmaniose no Brasil pelo *Phlebotomus intermedius*.** Brasil Médico 36: 129–130. 1922.
- ASHFORD R.W., DESJEUX P., DEDT P. **Estimation of population at risk of infection and number of cases of Leishmaniasis.** Parasitol Today 8(3): 104-105; 1992.
- ASHFORD, RW. **The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses.** Internacional Journal for Parasitology, v. 30, p. 1269-1281; 2000.
- AZEREDO-COUTINHO R.B.G., CONCEIÇÃO-SILVA F., SCHUBACH A., CUPOLILLO E., QUINTELA L.P et al. **First report of diffuse cutaneous leishmaniasis and *Leishmania amazonensis* infection in Rio de Janeiro State, Brazil.** Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 101: 735-737; 2007.

- AZEREDO-COUTINHO R.B.G., MENDONÇA S.C.F. Formas Clínicas das Leishmanioses Tegumentar nas Américas. In: Conceição-Silva F. **Leishmanioses do continente Americano**. 1 ed. [Rio de Janeiro] : Editora Fiocruz; 2014.
- BAPTISTA C, SCHUBACH A.O., MADEIRA M.F., MIRANDA L.F.C., PINTO A.G.S., BARROS J.H.S. et al. **Evaluation of genetic polymorphism of *Leishmania (V.) braziliensis* isolates obtained from the same patient before and after therapeutic failure or reactivation of cutaneous lesions**. J Trop Med. 808132, 5 p. 2012.
- BERMAN J.D., CHULAY J.D., HENDRICKS L.D., OSTER C.N. **Susceptibility of clinically and sensitive and resistant *Leishmania* to Pentavalent antimony in vitro**. Am J. Trop Med Hyg. 31:459-65. 1982.
- BEZERRA D.C.O. **Estudo comparativo entre as emissões otoacústicas e audiometria de altas frequências na verificação da toxicidade coclear pelo antimoniato de meglumina nos pacientes com Leishmaniose Tegumentar Americana**. [Tese de Doutorado] – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, 2016
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de vigilância da Leishmaniose tegumentar Americana**. 2. ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde; 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. [homepage na Internet] **Sistema de Informação de Agravos de Notificação - SINAN**. 2010 [acesso em 28 abr 2015] Disponível em: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb>
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2.^a Edição. Série A. **Normas e Manuais Técnicos**. Brasília – Manual de Vigilância da leishmaniose tegumentar americana. DF 2013.
- CAMARGO R.A., TUON F.F., SUMI D.V., GEBRIM E.M., IMAMURA R., NICODEMO C. **Mucosal Leishmaniasis and Abnormalities on Computed Tomographic Scans of Paranasal Sinuses**. Am. J. Trop. Med. Hyg., 83(3), 2010, pp. 515–518
- CARVALHO M.R., LIMA B.S., MARINHO-JUNIOR J.F., SILVA F.J., VALENGA H.F., ALMEIDA F.A., et al. **Phlebotomine sandfly species from an American visceral leishmaniasis area in the Northern Rainforest region of Pernambuco State, Brazil**. Cad Saude Publica 2007;23(5): 1227-32.
- CARVALHO M.R., VALENGA H.F., SILVA F.J., PITA-PEREIRA D., ARAUJO P.T, BRITTO C., et al. **Natural *Leishmania infantum* infection in *Migonemyia migonei* (Franga, 1920) (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil**. Acta Trop 2010;116(1):108-10.

- CARVALHO R.W. **Fauna de flebotomos (Diptera, Psychodidae) na Ilha do Araujo, Município de Paraty, Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.** [Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária] - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 1993.
- CARVALHO B.M., DIAS, C.M.G., RANGEL E.F.R. **Phlebotomine sand flies (Diptera,Psychodidae) from Rio de Janeiro State, Brazil: Species distribution and potential vectors of leishmaniasis.** Revista Brasileira de Entomologia 58(1): 77-87, 2014.
- CARVALHO, B.M.; MAXIMO, M., COSTA, W.A., SANTANA, A.L.F., COSTA, S.M., CECHINEL M.P. **Fatores Associados aos Desfechos Desfavoráveis do Tratamento da Leishmaniose Tegumentar: uma análise de situação na região sudeste, 2002 a 2006** [Dissertação de Mestrado] Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2009.
- CHANG K.P et al. Biology of Leishmania and Leishmaniose. In: K-P Chang, RS Bray (eds.). **Leishmaniasis.** Elsevier, London. P.1-30; 1985.
- CLAROS P.; WIENBERG P.; GONZALEZ M.A.; CLAROS A.; CLAVERIA M.A.; LOPEZ P. **Intralesional treatment of cutaneous leishmaniasis: a report of two cases.** Acta Otorrinolaringol Esp 47: 67 - 70; 1996
- CONCEIÇÃO-SILVA F.; DOREA R.C.; PIRMEZ C.; SCHUBACH A.O.; COUTINHO S.C. **Quantitative study of Leishmania braziliensis braziliensis resective T cells in peripheral blood and in the lesions of patients with American mucocutaneous leishmaniasis.** Clin Exp Immunol 79: 221-226; 1990.
- COSTA D.C.S. **Caracterização Clínica e Laboratorial das Manifestações Orais da Leishmaniose Tegumentar Americana.** Rio de Janeiro. [Dissertação de Mestrado em Doenças Infecciosas]. Instituto de Pesquisas Clínicas Evandro Chagas – IPEC / FIOCRUZ - Rio de Janeiro; 2014.
- COSTA D.C.S.; PALMEIRO M.R.; MOREIRA J.S.; MARTINS A.C.D.C.; SILVA A.F.; DE FÁTIMA MADEIRA M.F.; et al. **Oral manifestations in the American tegumentary leishmaniasis.** PLoS One. 9(11):1–7; 2014.
- COSTA J.M.L; MARSDEN P.D.; LLANOS-CUENTAS E.A.; NETTO E.M.; CARVALHO E.M.; BARRAL A. et al. **Disseminated cutaneous leishmaniasis in a field clinic in Bahia, Brazil: A report of eight cases.** Am J Trop Med Hyg 89: 319-23; 1986.
- COSTA, J.M.L.; GARCIA, A.M.; RÊBELO, J.M.M.; GUIMARÃES, K.M.; GUIMARÃES, R.M.; NUNES, P.M.S. **Óbito durante tratamento da leishmaniose tegumentar americana com stibogluconato de sódio bp 88® (Shandong xinhua).** Brasília: Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 36(2): 295-298; 2003.

- CUPOLILLO E.; BOITÉ M.C; PORROZZI R. Considerações sobre a Taxonomia do Gênero Leishmania. In: Conceição-Silva F. **Leishmanioses do continente Americano**. 1 ed. [Rio de Janeiro] : Editora Fiocruz; 2014.
- CUPOLILLO E.; GRIMALDI G.J.R.; MOMEN H. **Genetic diversity among Leishmania (Viannia) parasites**. Ann Trop Med Parasitol 91: 617-626; 1997.
- DANESHBOOD, Y; AHMAD O; MEHDI D; SADEGH S; SHAHRZAD N; AZITAA. et al. **Cytologic Diagnosis of Mucosal Leishmaniasis**. Arch Pathol Lab Med Apr; 135, 478-482; 2011.
- DASZAK P.; CUNNINGHAM A.A.; HYATT A.D. **Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife**. Acta Tropica 78: 103-116; 2001.
- DESJEUX P. **Information on the epidemiology and control of the leishmanioses by country or territory**. WHO/LEISH/91.30 Geneva: CTD/TRY, WHO; 1991.
- DESJEUX P. **Leishmaniasis**. Public Health Aspects and Control. Clin Dermatol 14: 417-423; 1996.
- DUJARDIN J.C. **Risk factors in the spread of leishmaniasis: towards integrated monitoring?** Trends Parasitol. 22(1): 4-6; 2006.
- DUQUE M.C.O., VASCONCELLOS E.F.C., PIMENTEL M.I.F., LYRA M.R., BEDOYA-PACHECO S.J., MARZOCHI M.C.A., et. al. **Standardization of the technique for the treatment of cutaneous leishmaniasis with meglumine antimoniate via the intralesional route**. Rev Soc Bras Med Trop. 2016
- FAGUNDES A; SCHUBACH A; PAULA C.C; BOGIO A; ANTONIO L.F; SCHIAVONI P.B. at al. **Evaluation of polymerase chain reaction in the routine diagnosis for tegumentary leishmaniasis in a referral centre**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (impresso). 105, 109-112; 2010.
- FIOCRUZ - Fundação Oswaldo Cruz. **Relatorio do grupo de trabalho coordenador das atividades de estudo e controle da Leishmaniose Tegumentar Americana na area de atuagao do posto Samuel Libanio, Jacarepagua**. Rio de Janeiro; 1974.
- FOUQUE F.; PASCAL G.; ISSALY J.; CARINCI R.; GANTIER J.C.; RAVEL C. et al. **Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) associated with changing patterns in the transmission of the human cutaneous leishmaniasis in French Guiana**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 102, n. 1, p. 35-40, fev; 2007.
- GALATI E.A.B. Classificagao de Phlebotominae. In: Rangel E.F.; LAINSON R, editores. **Flebotomineos do Brasil**. Rio de Janeiro: Ed. FIOCRUZ. p. 23-52. 2003

- GROGL M.; THOMASON T.N.; FRANKE E.D. **Drug resistance in leishmaniasis: its implication in systemic chemotherapy of cutaneous and mucocutaneous disease.** Am J Trop Med Hyg. 47 : 117 – 126; 1992.
- GUIMARÃES FN. **Estudo de um foco de leishmaniose mucocutânea na baixada fluminense (Estado do Rio de Janeiro).** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 53: 1-11; 1955.
- GUIMARAES FN & BUSTAMANTE FM. **A aplicação domiciliária de DDT como base de profilaxia das leishmanioses. Estudos de um foco de leishmaniose muco-cutânea cinco anos depois da aspersão periódica com aquele inceticida.** Ver. Bras. Malariol., 6: 127-130; 1954.
- GURGEL H.; BAVIA M.E.; MADUREIRA T.C.D.D; DA SILVA C.E.P; MADUREIRA FILHO C.; RIOS R.B et al. **A contribuição do NDVI para o estudo epidemiológico da Leishmaniose Visceral Americana, no interior da Bahia.** Anais XII SBSR. P.2673-2680; 2005.
- HADIGHI R.; MOHEBALI M.; BOUCHER P.; HAJJARAN H.; KHAMESIPOUR A.; OUELLETTE M. **Unresponsiveness to glucantime treatment in Iranian cutaneous leishmaniasis due to drug-resistant Leishmania tropica parasites.** Plos Med. 3 (5): 162; 2006
- HARMS G.; CHEHADE A.K; DOUBA M.; ROEPKE M.; MOUAKEH A.; ROSENKAIMER F et al. **A randomized trial comparing a pentavalent antimonial drug and recombinant interferon- gamma in the local treatment of cutaneous leishmaniasis.** Trans R Soc Trop Med Hyg 85: 214 - 216;1991.
- INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. **Gráficos de observações registradas [2008].** Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/html/observacoes.php?lnk=Gr%E1ficos>. Acesso em: 10 Abr 2016.
- JONES T.C.; JOHNSON W.D.; BARRETTO A.C et al. **Epidemiology of American cutaneous leishmaniasis due to Leishmania braziliensis braziliensis.** The Journal of infectious diseases 1987; 156(1): 73-83.
- KALLURI S.; GILRUTH P.; ROGERS D.; SZCZUR M. **Surveillance of arthropod vector-borne infectious diseases using remote sensing techniques: A review.** PLos Pathogens 3(10): e116. doi:10.1371/journal.ppat.0030116; 2007.
- KAWA H.; SABROZA P.C.; OLIVEIRA R.M.; BARCELLOS C. **A produção do lugar de transmissão da leishmaniose tegumentar: o caso da Localidade Pau da Fome na cidade do Rio de Janeiro, Brasil.** Cad Saúde Pública; 26(8): 1495-1507; 2010.
- KAWA H.; SABROZA P.C. **Espacialização da leishmaniose tegumentar na cidade do Rio de Janeiro.** Cad Saúde Pública; 18(3): 853-865; 2002.

- KILLICK-KENDRICK R. **Recent advances and outstanding problems in the biology of phlebotomine sandflies.** A Review. Acta Trop. Dec; 35 (4); 297-313; 1978.
- KILLICK-KENDRICK R. **Anti-feeding effects of synthetic pyrethroids against phlebotomine sand flies and mosquitoes and the prospects of controlling canine leishmaniasis with deltamethrin-impregnated ProctorBand (Scalibar®).** Canine leishmaniasis an update Ann Proceedings on the International Canine Leishmaniasis Forum Barcelona Espanha, 1999.
- LAINSON R.; SHAW J.J. New World leishmaniasis – The Neotropical Leishmaniaspecies. In: COLLUER L; BALOWS A.; SUSSMAN M; TOPLEY & WILSON`S. **Microbiology and Microbial Infections.** Vol 5, Parasitology. Londres: Editora Topley & Wilson`s. p. 241-266; 1998.
- LAINSON R.; SHAW J.J. Evolution, classification and geographical distribution. In: PETERS W.; KILLICK-KENDRICK R., eds. **The Leishmaniasis in Biology and Epidemiology.** Vol 1. London: Academic Press, 1-120; 1987.
- LAINSON R. **The American leishmaniasis: some observation on their ecology and epidemiology.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 77, p. 569-596, 1983.
- LESSA M.M. et al. **Mucosal leishmaniasis: epidemiological and clinical aspects.** Rev Bras Otorrinolaringol. 2007 Nov-Dec; 73 (6): 843-847.
- LYRA M.R. **Ensaio Clínico Fase III para Leishmaniose Tegumentar Americana forma cutânea. Equivalência entre esquemas da alta e da baixa dose de Antimoniato de Megumina.** [Tese de Doutorado em Doenças Infecciosas]. Instituto de Pesquisas Clínicas Evandro Chagas – IPEC/FIOCRUZ - Rio de Janeiro; 2013.
- LYRA M.R.; PASSOS S.R.L.; PIMENTEL M.I.F.; BEDOYA-PACHECO S.J; VALETE-ROSALINO C.M.; VASCONCELLOS E.C.F.; ANTONIO L.F. **Pancreatic Toxicity As An Adverse Effect Induced By Meglumine Antimoniate Therapy In A Clinical Trial For Cutaneous Leishmaniasis.** Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo. p 58-68, 2016.
- MACPHERSON A.N.L. **Human behaviour and the epidemiology of parasitic zoonoses.** Int. J. Parasitol. 35: 1319-1331; 2005.
- MARSDEN P.D.; JONES T.C. Clinical manifestations, diagnosis and treatment of leishmaniasis. p 183-198. In: K-P. CHANG and R. S. BRAY (eds.). **Leishmaniasis.** Elsevier, London; 1985.

- MARSDEN P.D.; NETTO E.M.; BADARO R.; CUBA C.A et al. **Apparent cure of a difficult treatment problem in a patient with mucosal leishmaniasis.** Am J Trop Med Hyg. 1986; 35(2): 449.
- MARTINS M.S.A. **Estudo sobre algumas populações brasileiras de (*Lutzomyia longipalpis*)** (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae:Phlebotominae): Morfologia, Morfologia e Hábitos Alimentares. [Dissertação de Mestrado]. Universidade Federal de Viçosa – Minas Gerais, 2008.
- MARZOCHI M.C.; COUTINHO S.G.; DE SOUZA W.J.; DE TOLEDO L.M.; GRIMALDI JÚNIOR G.; MOMEN H. et al. **Canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil.** Clinical, parasitological, therapeutical and epidemiological findings (1977-1983). Mem Inst Oswaldo Cruz. Jul-Sep;80(3):349-57; 1985.
- MARZOCHI MCA, MARZOCHI KBF. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil: emerging anthroozoonosis and possibilities for their control. Cad Saude Publ.; 10 (supl 2): 359 –375; 1994
- MARZOCHI M.C; MARZOCHI K.B; CARVALHO R.W. **Visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro.** Parasitol Today. Jan; 10 (1):37-40; 1994
- MCMICHAEL A.J. **Environmental and social influences on emerging infectious diseases: past, present and future.** Phil. Trans. R. Soc. Lond. B 359: 1049-1058; 2004.
- MÉDICOS SEM FRONTEIRAS (Médecins Sans Frontières – MSF). Campanha de Acesso a Medicamentos Essenciais e Grupo de Trabalho de Drogas para Doenças Negligenciadas. **Desequilíbrio Fatal: A Crise em Pesquisa e Desenvolvimento de Drogas para Doenças Negligenciadas.** DND, 1-32 ; 2001.
- MENDONÇA M.G; DE BRITO M.E; RODRIGUES E.H; BANDEIRA V.; JARDIM M.L.; ABATH F.G. **Persistence of leishmania parasites in scars after clinical cure of American cutaneous leishmaniasis: is there a sterile cure?** J Infect Dis 189: 1018-1023. 2004.
- MENDONÇA S.C; SOUZA W.J; NUNES M.P; MARZOCHI M.C; COUTINHO S.G. **Indirect immunofluorescence test in New World leishmaniasis: serological and clinical relationship.** Mem Inst Oswaldo Cruz 83: 347-355; 1988.
- MENEZES J.A., REIS V.L.L., VASCONCELOS J.A. Pequeno surto de leishmaniose tegumentar americana em Macuco (Cordeiro-RJ). Rev Soc Bras Med Trop; 8:143-51; 1974
- MENEZES JA. **Leishmaniose tegumentar no Estado do Rio de Janeiro. Inquéritos por intradermoreação.** [Dissertação de Mestrado]. Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 108 pp; 1976

- MENESES C.R.V; AZEVEDO A.C.R; COSTA S.M; COSTA W.A; RANGEL E.F. **Ecology of American cutaneous leishmaniasis in the state of Rio de Janeiro, Brazil.** J. Vector Ecol. 27(2): 207-214,; 2002.
- MOLLALO A., ALIMOHAMMADI A., SHIRZADI M.R; MALEK M.R. Geographic Information System-Based Analysis of the Spatial and Spatio-Temporal Distribution of Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis in Golestan Province, North-East of Iran. **Zoonoses and public health**, v. 62, n. 1, p. 18-28, 2015.
- MOORE J.S.; KELLY T.B; KILLICK-KENDRICK R.; KILLICK-KENDRICK M.; WALLBANKS K.R; MOLYNEUX D.H. **Honeydew sugars in wild-caught Phlebotomous ariasi detected by high performance liquid chromatography (HPLC) and gás chromatography (GC).** Med Vet Entomol Oct; 1 (4): 427-34; 1987.
- MOREIRA J.S. **Estudo da Laringite Leishmaniótica.** [Dissertação de Mestrado] Rio de Janeiro: Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro; 1994.
- MOTA L.A.A; MIRANDA R.R. **Manifestações dermatológicas e otorrinolaringológicas na Leishmaniose.** Arq. Int. Otorrinolaryngol. 2011; 15(3): 376-381.
- MOTTA A.C.F; LOPES M.A; CARLOS-BREGNI R.; DE ALMEIDA, O.P; ROSELINO, A.M. **Oral Leishmaniasis: a clinicopathological study of 11 cases.** Oral Diseases. 2007; 13: p. 335-340
- NASSER J.T; DONALISIO M.R; VASCONCELOS C.H. **Distribuição espacial dos casos de leishmaniose tegumentar americana no município de Campinas, Estado de São Paulo, no período de 1992 a 2003.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop, v. 42, n. 3, p. 309-314, 2009.
- OLIVEIRA A.G.L et al. **Influence of the nutritional status in the clinical and therapeutical evolution in adults and elderly with American Tegumentary Leishmaniasis.** Acta Trop. 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.06.005>.
- OLIVEIRA-NETO M.P, SCHUBACH A.O., MATTOS M., PIRMEZ C., GONÇALVES-COSTA S.C. **Treatment of American cutaneous leishmaniasis: a comparison between low dosage (5mg/kg/day) and high dosage (20mg/kg/day) antimony regimens.** Pathologie Biologie 1997b; 45 (6): 496-499.
- OLIVEIRA- NETO M.P., MATTOS M., PIRMEZ C., FERNANDES O., GONÇALVES-COSTA S.C., SOUZA C.F., GRIMALDI J.R.G. **Mucosal leishmaniasis ("espundia") responsive to low dose of N - methyl glucamine (Glucantime) in Rio de Janeiro, Brazil.** Rev Inst Med Trop ao Paulo. 2000; 42 (6): 321 - 325.
- OLIVEIRA-NETO M.P., SCHUBACH A.O., ARAUJO M.L., PIRMEZ C. **High and low doses of antimony (Sb^v) in American cutaneous leishmaniasis.** A five

years follow-up study of 15 patients. Memórias Inst Oswaldo Cruz. 1996; 91 (2): 207- 209.

OLIVEIRA-NETO M.P; SCHUBACH A.O; MATTOS M.; DA COSTA S.C; PIRMEZ C. **Intralesional therapy of American cutaneous leishmaniasis with pentavalent antimony in Rio de Janeiro, Brazil - an area of Leishmania (V.) braziliensis transmission.** Int J Dermatol. 1997c; 36: 463 - 468.

OLIVEIRA-NETO M.P; SCHUBACH A.O; MATTOS M.; DA COSTA S.C; PIRMEZ C. **A low dose antimony treatment in 159 patients with American cutaneous leishmaniasis.** Extensive follow-up studies (up to 10 years). Am J Trop Med Hyg. 57 (6): 651 - 655; 1997a.

OLIVEIRA-NETO M.P; MATTOS M.S; PEREZ M.A; DA-CRUZ A.M; FERNANDES O; MOREIRA J et al. **American tegumentary leishmaniasis (ATL) in Rio de Janeiro State, Brazil:** main clinical and epidemiologic characteristics. Int. J. Dermatol. 39: 506-514; 2000.

OMS. Organização Mundial de Saúde. **The disease and its epidemiology.** Disponível em: http://www.who.int/leishmaniasis/disease_epidemiology/en/print.html, acessado em 02/09/2012

OMS. Organização Mundial da saúde. **Leishmaniasis.** Disponível em : http://www.who.int/gho/neglected_diseases/leishmaniasis/en/,2015

OSTFELD R.S; GLASS G.E; KEESING F. **Spacial epidemiology (or reemerging) discipline.** Trends in Ecology and Evolution 20(6): 328-336, 2005

PACHECO R.S & CARVALHO-COSTA F.A. **Diversidade genética em parasitos do gênero *leishmania*:** uma abordagem molecular. In: Conceição- Silva F. Leishmanioses do continente Americano. 1 ed. [Rio de Janeiro]: Editora Fiocruz; 2014.

PALACIOS R; OSORIO L.E; GRAJALEW L.F; OCHOA M.T. Treatment failure in children in a randomized clinical trial with 10 and 20 days of meglumine antimonate for cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania Viannia* species. Am J Trop Med Hyg. 64(3-4): 187-193; 2001.

PAREDE F.L.R; BARRIOS J.E.B. **Nasal mucosa Leishmaniasis in a 66 years old patient, with 40 years of living outside of endemic area.** Case report Acta de Otorrinolaringología & Cirugía de Cabeza y Cuello. 39(1) 39-42; 2011.

PASSOS V.M; BARRETO S.M; ROMANHA A.J; KRETTLI A.U; VOLPINI A.C; LIMA-E-COSTA M.F. **American cutaneous leishmaniasis: use of a skin test as a predictor of relapse after treatment.** Bull World Health Organ. 78 (8): 968 – 974; 2000.

- PATZ J.A; THADDEUS K.G; GELLER N; VITTOR A.Y. **Effects of environmental change on emerging parasitic diseases.** Int. J. Parasitol. 30: 1395-1495; 2000.
- PIMENTA FP, NÁGILA FC, BLANCO EEN. Interação Vetor-hospedeiro. In: RANGEL E.F e LAINSON R. (edts). **Flebotomíneos do Brasil.** Fiocruz. pp: 275-289; 2003.
- PITA-PEREIRA D.; ALVES C.R; SOUZA M.B; BERTHO A.L; BRITTO C.F. **Identification of naturally infected *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia migonei* with *Leishmania (Viannia) braziliensis* in Rio de Janeiro (Brazil) revealed by a PCR multiplex non-isotopic hybridisation assay.** Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 99:905-13; 2005.
- QUINTELLA L.P; PASSOS S.R.L; MIRANDA L.H.M; CUZZI T; BARROS M.B.L; VALLE A.C.F; GALHARDO M.C.G; MADEIRA M.F; CARVALHO M.H.G.F; SCHUBACH A.O. **Proposal of a histopathological predictive rule for the differential diagnosis between American tegumentary leishmaniasis and sporotrichosis skin lesions.** Br J Dermatol. 167: 837 – 846; 2012
- QUINNELL R.J. & COURTENAY O. **Transmission, reservoir host and control of zoonotic visceral leishmaniasis.** Parasitology, 136 (14): 1.934; 2009.
- RANGEL E.F; AZEVEDO A.C; ANDRADE C.A; SOUZA N.A; WERMELINGER E.D. **Studies on sandfly fauna (Diptera: Psychodidae) in a foci of cutaneous leishmaniasis in Mesquita, Rio de Janeiro State, Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 85, p. 39-45; 1990.
- RANGEL E.F.; LAINSON R. (organizadores). **Flebotomíneos do Brasil.** Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. 368 pp.; 2003.
- RANGEL E.F.; LAINSON R. Ecologia das Leishmanioses: Transmissores de Leishmaniose Tegumentar Americana. In: RANGEL E.F.; LAINSON R. **Flebotomíneos do Brasil.** Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. p. 291-310; 2003.
- RANGEL E.F.; LAINSON R. **Proven and putative vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil:** aspects of their biology and vectorial competence. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 104(7): 937-954; 2009.
- RANGEL E.F. **Transmission of American Cutaneous Leishmaniasis in peridomestic foci in Rio de Janeiro State and other similar situations compared to the classical epidemiology in Amazon region.** Tropical Disease, Society and the Environment. Relatórios de Conferências 2: 103-110; 1995.
- RATH S.; TRIVELIN L.A.; IMBRUNITO T.R.; TOMAZELA D.M.; JESÚS M.N.; MARZAL P.C. **Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte.** São Paulo (Campinas): Química Nova, vol. 26 (4): 550-555, 2003.

- READY P.D. **Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agentes.** Annual Reviews in Entomology, 58: 227- 250, 2013
- READY P.D. **Should sand fly taxonomy predict vectorial and ecological traits?** J Vector Ecol. 36 (Supl 1): S17-22; 2011.
- REGO T.A.N.C. et al. **Leishmaniasis transmission in an ecotourism area: potential vectors in Ilha Grande, Rio de Janeiro State, Brazil.** Parasites & Vectors, 6: 325, 2013.
- REIS J.G.C. **Aspectos clínicos e laboratoriais da tuberculose laríngea,** Rio de Janeiro, 2015, 106 folhas. [Tese de Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.
- RODRIGUES A.M., HUEB M., SANTOS T.A.R.R., FONTES C.J.F. **[Factors associated with treatment failure of cutaneous leishmaniasis with meglumine antimoniate].** Rev Soc Bras Med Trop. 39(2): 139-145; 2006.
- RODRÍGUEZ E-M; DÍAZ F; PÉREZ M-V. **Spatio-temporal clustering of American Cutaneous Leishmaniasis in a rural municipality of Venezuela.** Epidemics 5: 11–19; 2013.
- ROMERO G.A.S; HUEB M; D'OLIVEIRA JR A; SCHUBACH A.O. **Simpósio sobre tratamento das leishmanioses.** Rev Soc Bras Med Trop. 34: 58 – 68; 2001.
- ROQUE A.L.R; JANSEN A.M. Hospedeiros e reservatórios de *leishmania sp.* e sua importância na manutenção dos ciclos de transmissão nos ambientes silvestre e sinantrópicos. In: Conceição-Silva F. **Leishmanioses do continente Americano.** 1 ed. [Rio de Janeiro] : Editora Fiocruz; 2014.
- ROQUE A.L.R. **Avaliação do Potencial de Pequenos Mamíferos e Importância de Animais Domésticos na Manutenção dos Ciclos de Transmissão de Tripanossomatídeos: *Trypanossoma cruzi* , *Leishmania infantum* e *Leishmania braziliensis*.** [Tese de Doutorado]. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz 2009.
- RUAS A.C.N et al. **Voice Disorders in Mucosal Leishmaniasis..**PLOS ONE. 2014; 9(7).
- RUAS A.C.N; SOUZA L.A.P. **Disfonia na tuberculose laríngea.** Rev CEFAC. 2005; 7(1): 102-7.
- SAF´JANOVA V.M. Classification of the genus *Leishmania* Ross 1903. Chapter 11. In: **The Leishmaniasis. Protozoology, part 7.** Academy of Sciences, USSR All Union Society of Leningrad p 95-101; 1982.
- SAHEKI M.N. **Ensaio Clínico não Inferioridade, randomizado, controlado, cego, de antimoniato de meglumina em dose baixa versus dose alta para Leishmaniose Cutânea Americana no Rio de Janeiro, Brasil.** [Dissertação

de Mestrado em Doenças Infecciosas]. Instituto de Pesquisas Clínicas Evandro Chagas – IPEC / FIOCRUZ - Rio de Janeiro; 2013.

SALOMON O.D; ACARDI S.A; LIOTTA D.J; FERNANDEZ M.S; LESTANI E; LOPEZ D et al. **Epidemiological aspects of cutaneous leishmaniasis in the Iguazu falls area of Argentina.** Acta Trop 2009;109:5-11.

SALOMON O.D; QUINTANA M.G; BEZZI G; MORAN M.L; BETBEDER E; VALDEZ D.V. **Lutzomyia migonei as a putative vector of visceral leishmaniasis in La Banda, Argentina.** Acta Trop 2010;113(1):84-7.

SCHALLING H.D et al **Didelphis marsupialis (common opossum): a potencial reservoir host for zoonotic leishmaniasis in the metropolitan region of Belo Horizonte (Minas Gerais, Brazil).** Vector Borne and Zoonotic Diseases, 7(3): 387-393, 2007

SCHUBACH A.O; CUZZI-MAYA T; OLIVEIRA A.V; SARTORI A; DE OLIVEIRA-NETO M.P et al. **Leishmanial antigens in the diagnosis of active lesions and ancient scars of American tegumentary leishmaniasis patients.** Mem Inst Oswaldo Cruz 96: 987- 996. 2001.

SCHUBACH A.O; MIEKELEY N; MORTARI S.R.; MOREIRA J.S; CONCEIÇÃO-SILVA F; SALGUEIRO M.M et al. **Estudos sobre o metabolismo de antimônio e de suas espécies químicas no tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana com baixas doses de antimônio.** Rev Soc Bras Med Trop. 35: 102-103; 2002.

SCHUBACH A.O [Tese de doutorado]. **Estudo da evolução da leishmaniose tegumentar americana em pacientes tratados.** Medicina Tropical. Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, p. 141. 1990

SCHUBACH A.O; MARZOCHI K.B; MOREIRA J.S; SCHUBACH T.M; ARAUJO ML, et al. **Retrospective study of 151 patients with cutaneous leishmaniasis treated with meglumine antimoniate.** Rev Soc Bras Med Trop 38: 213-217. 2005

SCHUBACH A.O.; HADDAD F.; OLIVEIRA-NETO M.P.; DEGRAVE W.; PIRMEZ C.; GRIMALDI G.J. et al. **Detection of *Leishmania* DNA Polymerase Chain Reaction in Scars of Treated Human Patients.** J Infec Dis. Sep; 178 (3): 911-914. 1998

SCHUBACH A.O; MARZOCHI M.C; CUZZI-MAYA T; OLIVEIRA A.V; ARAÚJO M.L; OLIVEIRA A.L et al. **Cutaneous scars in American tegumentary leishmaniasis patients: a site of Leishmania (Viannia) braziliensis persistence and viability eleven years after antimonial therapy and clinical cure.** Am J Trop Med Hyg 58: 824 – 827, 1998.

- SECCOMBE A.K; READY P.D; HUDDLESTON L.M. **A catalogue of Old World phlebotomines and flies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae)**. Occasional Papers on Systematic Entomology, 8: 1-57, 1993
- SERGEANT E.D; SERGEANT E.T; PARROT L; DONATIEL A; BEGUET M. **Transmission du clou de Biskra par le phlébotome (*Phlebotomus papatasi* Scop)**. C.R. Acad. Sci, 173:1030-1032; 1921.
- SHARQUIE KE. **A new intralesional therapy of cutaneous leishmaniasis with hypertonic sodium chloride solution**. J Dermatol 22: 732- 737; 1995.
- SHAW J.J; LAINSON R; WARD R.D; **Leishmaniasis in Brazil**. VII. Further observations on the feeding habitats of *Lutzomyia flaviscutellata* (Mangabeira) with particular reference to its biting habits at different heights. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 66: 718-723; 1972.
- SHAW J.J; TRAVASSOS DA ROSA A.P; SOUZA A; CRUZ AC. Transmissão de Outros Agentes: Os Flebotomíneos Brasileiros como Hospedeiros e Vetores de Determinadas Espécies. In: RANGEL EF; LAINSON R. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz,. p. 337-352; 2003.
- SHAW J.J. **The leishmaniasis – survival and expansion in a changing world**. A minireview. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 102, n. 5, p. 541-547; 2007.
- SHERLOCK I.A. & SHERLOCK V.A. **Tentativa de Transmissão de Leishmania donovani pela picada de Lutzomyia longipalpis, entre cães**. Rev Soc Bras Med Trop 6: 35-39; 1972.
- SHERLOCK I.A & SHERLOCK V.A. Sobre e infecção experimental de Phlebotomus longipalpis pela Leshmania donovani. *Rer. Bras de Biologia*. 21: 409-418; 1961.
- SHERLOCK, IA. A importância dos Flebotomíneos. In: Rangel, E. F.; Lainson, R. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz,. p. 15-22; 2003.
- SILVA R.E., TOLEDO J.R.A., SENNA M.C., RABELLO A., COTA G. Intralesional meglumine antimoniate for the treatment of localised cutaneous leishmaniasis: a retrospective review of a Brazilian referral centre. **Mem Inst Oswaldo Cruz. 111(8): 512-516; 2016.**
- STEILDEL M; SHAW J.J; ISHIKAWA I.A.Y; CARVALHO PINTO C.J; TOMAS H.K; GRISARD E.C et al. **Leishmania species identification from autochthonous cases of human cutaneous leishmaniasis in Santa Catarina state, southern Brazil**. Mem Inst Oswaldo Cruz. 117; 1997.
- TALLAB T.M; BAHAMDAM K.A; MIRDAD S; JOHARGI H; MOURAD M.M; IBRAHIM K, et al. **Cutaneous leishmaniasis: schedules for intralesional treatment with sodium stibogluconate**. Int J Dermatol 35: 594 - 597; 1996.
- TIBAYRENC M.; KJELBERG F.; AYALA F.J. **A clonal theory of parasitic protozoa: the populations structures of Entamoeba, Giardia, Leishmania, Naegleria,**

Plasmodium, Triachomonas and Trypanosoma and their medical and taxonomical consequences. Proc Natl Acad Sci 87: 2414-2418; 1990.

TRAVI B.L; ADLER G.; LOZANO M.; CADENA H.; MONTOYA-LERMA J. **Impact of Habitat Degradation on Phlebotomine** (Diptera: Psychodidae) of Tropical Dry Forests in Northern Colômbia. J. Med. Entomol. 39(3): 451-456, 2002.

TRAVI BL, VÉLEZ ID, BRUTUS L, SEGURA I, JARAMILO C, MONTOYA J. **Lutzomyia evansi, an alternate vector of leishmania chagasi in a Colombian focus of visceral leishmaniasis.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. Sep-Oct; 84 (5):676-7; 1990.

TUON, F. F; AMATO, V. S; GRAF, M. E; SIQUEIRA, A. M; NICODEMO, A. C. and NETO, V. A (2008). **Treatment of New World cutaneous leishmaniasis – a systematic review with a meta-analysis.** International Journal of Dermatology, 47: 109–124.

UNGER A., O'NEAL S., MACHADO P.R.L., GUIMARÃES L.H., MORGAN D.J., SCHRIEFER A. et al. **Association of Treatment of American Cutaneous Leishmaniasis Prior to Ulcer Development with High Rate of Failure in Northeastern Brazil.** Am. J. Trop. Med. Hyg., 80(4), pp. 574 –579; 2009.

VALENCIA C., ARÉVALO J., DUJARDIN J.C., LLANOS-CUENTAS A., CHAPPUIS F., ZIMIC M. **Prediction score for antimony treatment failure in patients with ulcerative leishmaniasis lesions.** PLOS Neglect Trop Dis. 6 (6): 1656; 2012.

VASCONCELLOS E.C.F., PIMENTEL M.I.F., VALETE-ROSALINO C.M., LYRA M.R., SALGUEIRO M.M., SAHEKI M.N. et al. **[Effectiveness and safety of intralesional treatment with meglumine antimoniate in patients with the cutaneous presentation of American tegumentary leishmaniasis].** Rev Soc Bras Med Trop. 43(Suppl II): 52-55; 2010b

VASCONCELLOS E.C.F., PIMENTEL M.I.F., SCHUBACH A.O., OLIVEIRA R.V.C., AZEREDO-COUTINHO R.B., CONCEIÇÃO-SILVA F, et al. **Intralesional Meglumine Antimoniate for Treatment of Cutaneous Leishmaniasis Patients with Contraindication to Systemic Therapy from Rio de Janeiro (2000 to 2006).** Am J Trop Med Hyg. 87(2): 257-260; 2012.

VITA G.F., ANGÉLICA M. DA V., PEREIRA C., FERREIRA I., SANAVRIA A. et al. **Status of the American Tegumentary Leishmaniasis in the State of Rio de Janeiro , Brazil , from 2004 to 2013.** 55(1): 1–8; 2016.

WALLBANKS K.R; MOORE J.S; BENNETT L.R; SOREN R; MOLYNEUX D.H; CALIN J.M et al. **Aphid derived sugar in the neotropical sandfly Lutzomyia peruensis.** Trop Med and Parastol; 42: 60-62; 1991.

WALSH J.F; MOLYNEUX D.H; BIRLEY M.H. **Deforestation:** effects on vector-borne disease. Parasitology. 106 Suppl: S55-75, 1993.

- WALTERS L.L. **Leishmania differentiation in natural and unnatural sand fly hosts.** J Euk Microbiol 40: 196-206; 1993.
- WHA. WORLD HEALTH ASSEMBLY. **Resolution from the 16^o. World Health Assembly,** 21 maio 2007. Disponível em: <www.who.int/neglected_diseases/mediacentre/WHA_60.13_Eng.pdf>. Acesso em 11 de maio de 2012.
- WHO/TDR. World Health Organization/Tropical Disease Research. [homepage na Internet]. **Leishmaniasis Disease Information.** 2010. [acesso em 24 mar 2010] Disponível em: <http://www.who.int/tdr/diseases/leish/diseaseinfo.htm>.
- WHO/TDR. World Health Organization/Tropical Disease Research. [homepage na Internet]. **Report of the Scientific Working Group Meeting on Leishmaniasis.** 2004a. [acesso em 24 mar 2010]. Disponível em: http://www.who.int/tdr/publications/publications/pdf/swg_leish.pdf.
- XIMENES M.F; SILVA V.P; QUEIROZ P.V; REGO M.M; CORTEZ A.M; BATISTA L.M et al. **Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) e Leishmanioses no Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil – Reflexos do Ambiente Antrópico.** Neotrop. Entomol. 36(1):128-137; 2007.
- YOUNG D.G; DUNCAN M.A. **Guide to the identification and geographic distribution of the *Lutzomyia* sand flies in México, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae).** Memoirs of the American Entomological Institute, Gainesville: Associated Publishers American Entomological Institute, n. 54; 1994.