
DISTRIBUIÇÃO DE CASOS DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR NO MUNICÍPIO DE RIO PRETO DA EVA, AMAZONAS, BRASIL

Luanda de Paula Figueira, Fabiane Veloso Soares, Maricleide de Farias Naiff, Súsi Simas da Silva, Tháís Tibery Espir, Francimeire Gomes Pinheiro e Antonia Maria Ramos Franco

RESUMO

Foram analisados os aspectos clínicos e epidemiológicos de 90 pacientes com leishmaniose tegumentar americana (LTA) no município de Rio Preto da Eva, estado do Amazonas, Brasil, entre os anos de 2005 e 2012. Todos os pacientes apresentavam lesões cutâneas cujas cepas isoladas foram caracterizadas por eletroforese de isoenzimas e identificadas como *Leishmania (Viannia) guyanensis* (n=80), *Leishmania (V.) naiffi* (n=3) e *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (n=7). A maior parte dos pacientes era do sexo masculino (70%) e a faixa etária com maior número de casos foi de 11 a 20 anos (31,7%). Em relação à ocupação, a maioria era constituída por agricultores ou caseiros (37,7%). Um percentual de 95% dos casos de LTA era proveniente de focos endêmicos de zonas rurais. O Assentamento Iporá, localizado no km 127 da AM 010, apresentou o maior número de casos (33,3%). Concluímos que a LTA é uma parasitose endêmica de importância no município de Rio Preto da Eva, ocorre principalmente ao longo da rodovia AM 010 e, nos pacientes analisados, a aquisição da infecção ocorreu, majoritariamente, por meio de contato com o ciclo silvestre de transmissão, ressaltando-se, porém, a possibilidade de transmissão da doença no intra e peridomicílio.

DESCRITORES: Leishmaniose tegumentar; *Leishmania*; Amazonas.

ABSTRACT

Distribution of cases of cutaneous leishmaniasis in the city of Rio Preto da Eva, Amazonas, Brazil

We analyzed the clinical and epidemiological characteristics of 90 patients with Cutaneous Leishmaniasis (CL) in Rio Preto da Eva, Amazonas state, Brazil, between 2005 and 2012. All patients had skin lesions, whose isolates were characterized by isoenzyme electrophoresis and

1 Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM, Brasil.

Endereço para correspondência: Dra. Antonia Maria Ramos Franco. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Av. André Araújo, 2.936, Petrópolis, CEP 69060-001 Manaus, AM, Brasil. E-mail: afranco@inpa.gov.br

Recebido para publicação em: 31/1/2013. Revisto em: 9/1/2014. Aceito em: 24/4/2014.

identified as *Leishmania (Viannia) guyanensis* (n=80), *Leishmania (V.) naiffi* (n=3) and *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (n=7). Most patients were male (70%) and the age group with the highest number of cases was 11 to 20 years old (31.7%). In terms of occupation, most were farmers or home caretakers (37.7%). Around 95% of cases of CL were from rural areas of endemic foci and the settlement known as Iporá, located at KM 127 of the AM 010 road, had the highest number of cases (33.3%). We conclude that American Tegumentary Leishmaniasis is a parasitic disease endemic in Rio Preto da Eva (Amazonas State), occurring mainly along the 010 AM Highway, and that infection was mainly acquired through contact with the sylvatic transmission cycle, although the possibility of disease transmission peridomiciliary was also analysed.

KEY WORDS: Cutaneous Leishmaniasis; *Leishmania*; Amazonas.

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A leishmaniose é uma infecção causada por protozoário intracelular que se manifesta nas formas cutânea, mucocutânea e visceral, dependendo da virulência, espécie do parasito e da resposta imune do hospedeiro (2, 16).

O estado do Amazonas, Brasil, é uma região endêmica para leishmaniose tegumentar americana (LTA). Em 2011, apresentou uma incidência de 64,5 casos por 100.000 habitantes (34). São cinco as espécies relacionadas à infecção neste estado: *L. (L.) amazonensis*, *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) lansoni* e *L. (V.) guyanensis*, sendo a última espécie a mais prevalente, uma vez que contribui com mais de 80% dos casos (6, 7, 10, 19, 27, 29).

A identificação das espécies de *Leishmania* que circulam em determinada região, principalmente onde as diferentes formas clínicas ocorrem simultaneamente, é muito importante para o conhecimento ecológico e epidemiológico da infecção e para o planejamento de estratégias de controle da leishmaniose (1, 4, 7, 16). Portanto, este estudo teve como objetivo analisar aspectos clínicos e epidemiológicos de 90 pacientes com LTA, atendidos em uma Unidade Básica de Saúde e no Hospital do município de Rio Preto da Eva, estado do Amazonas, entre os anos de 2005 e 2012.

MATERIAL E MÉTODOS

Casos clínicos

Pacientes com suspeita de LTA foram examinados para o diagnóstico da infecção, tendo sido atendidos no Hospital Thomé de Medeiros Raposo e na Unidade Básica de Saúde Manoel Rumão, em Rio Preto da Eva, Amazonas. O estudo foi desenvolvido de acordo com os requisitos do Conselho Nacional de Saúde, Resolução 196/96, sendo aprovado pelo comitê de ética em pesquisas envolvendo seres humanos do INPA sob o nº 193/2008.

Exames parasitológicos e isolamento parasitário

Todos os pacientes foram submetidos a exame direto por escarificação da borda das lesões cutâneas para pesquisa de amastigotas em lâminas, utilizando-se

corante panóptico e microscopia óptica. O material escarificado da borda das lesões também foi semeado em meio de cultivo ágar sangue NNN (Neal, Novy & Nicolle) e, posteriormente, expandido em meio líquido Schneider completo (pH 7,2 contendo 10% de soro fetal bovino inativado) para a preparação de massa parasitária utilizada na caracterização bioquímica e criopreservação.

Caracterização bioquímica

As cepas isoladas foram caracterizadas pela técnica de eletroforese de isoenzimas em gel de agarose, conforme protocolo descrito por Cupolillo (8), utilizando-se oito sistemas enzimáticos: Malato Desidrogenase (MDH, E.C.1.1.1.37), Isocitrato Desidrogenase (IDH, E.C.1.1.1.42) com substrato NAD e NADP, Enzima Málica (ME, E.C.1.1.1.40), Glicose-6-fosfato Desidrogenase (G6PDH, E.C.1.1.1.49), 6-Fosfogluconato Desidrogenase (6PGDH, E.C.1.1.1.44), Aconitato Hidratase (ACON, E.C.4.2.1.3) e Hexoquinase (HK, E.C.2.7.1.1).

A identificação das espécies foi obtida por meio da comparação dos perfis isoenzimáticos das amostras com cepas de *L. (V.) braziliensis* (MHOMBR/1975/M2903), *L. (V.) guyanensis* (MHOMBR/1975/M4147), *L. (V.) naiffi* (MDASBR/1979/M5533) e *L. (L.) amazonensis* (IFLA/BR/1967/PH8).

RESULTADOS

Durante o período de estudo, foram atendidos 90 pacientes no Hospital Thomé de Medeiros Raposo e na Unidade Básica de Saúde Manoel Rumão, em Rio Preto da Eva, dos quais 63 (70%) eram do sexo masculino e 27 (30%) do sexo feminino (Tabela 1). A idade dos pacientes variou de 2 a 69 anos. Para o sexo masculino, a faixa etária com maior número de casos foi de 11 a 20 anos (31,7%), seguida da faixa de 21 a 30 anos (23,8%). Para o sexo feminino, o maior número de casos foi identificado entre 21 e 30 anos (44,4%). A média de idade entre os homens ou mulheres foi de 26 anos. No geral, a faixa com maior número de casos foi de 21 a 30 anos (30%), seguida de 11 a 20 anos (26,6%). A incidência cumulativa para esta comunidade foi de 73 casos de LTA para cada 10.000 habitantes em 2011 (34).

Em relação à ocupação, a maioria dos pacientes era constituída por agricultores ou caseiros (37,7%). Em seguida, os estudantes que corresponderam a 27,7% dos pacientes.

Na população estudada, 69 pacientes (76,6%) relataram primeira infecção, 9 (10%) segunda infecção e sobre 12 pacientes (13,3%) não havia dados disponíveis.

Dos exames realizados, 90% (n=81) apresentaram positividade no exame direto e 100% no isolamento em meio de cultura ágar sangue NNN (Neal, Novy & Nicolle). Nos casos em que houve negatividade no exame direto, as espécies identificadas foram *L. (V.) guyanensis* (77,7%) e *L. (L.) amazonensis* (22,2%).

Do total de 90 cepas caracterizadas, 80 (89%) foram de *L. (V.) guyanensis*, 7 (7,8%) de *L. (L.) amazonensis* e 3 (3,3%) de *L. (V.) naiffi*, conforme mostra a tabela.

Tabela 1. Dados clínicos e epidemiológicos de Leishmaniose Cutânea em Rio Preto da Eva, Amazonas. Características dos casos de acordo com a espécie de *Leishmania* identificada

Dados	Espécies de <i>Leishmania</i>			Total
	<i>L. guyanensis</i>	<i>L. naiffi</i>	<i>L. amazonensis</i>	
Número de casos	80	03	07	90
Origem endêmica N (%)				
Rural	77 (96,3)	02 (66,7)	07 (100,0)	86 (95,6)
Indeterminado	03 (03,8)	01 (33,3)	-	04 (04,4)
Atividade profissional N (%)				
Agricultor/Caseiro	29 (36,3)	01 (33,3)	04 (57,1)	34 (37,8)
Estudante	24 (30,0)	01 (33,3)	-	25 (27,8)
Outros	27 (33,8)	01 (33,3)	03 (42,9)	31 (34,4)
Idade (anos) N (%)				
0 a 10	12 (15,0)	-	-	12 (13,3)
11 a 20	23 (28,8)	-	01 (14,3)	24 (26,7)
21 a 30	22 (27,5)	02 (66,7)	03 (42,9)	27 (30,0)
31 a 40	09 (11,3)	-	-	09 (10,0)
41 a 50	08 (10,0)	01 (33,3)	02 (28,6)	11 (12,2)
51 a 60	04 (05,0)	-	01 (14,3)	05 (05,6)
61 a 70	02 (02,5)	-	-	02 (02,2)
Sexo				
Masculino	57 (71,3)	02 (66,7)	04 (57,1)	67 (70,0)
Feminino	23 (28,8)	01 (33,3)	03 (42,9)	27 (30,0)
Local das lesões N (%)				
Cabeça	04 (05,0)	-	-	04 (04,4)
Pescoço	02 (02,5)	-	-	02 (02,2)
Tronco	05 (06,3)	-	-	05 (05,6)
Membro superior	27 (33,8)	-	04 (57,1)	31 (34,4)
Membro inferior	25 (31,3)	03 (100,0)	02 (28,6)	30 (33,3)
Múltiplas	15 (18,8)	-	01 (14,3)	16 (17,8)
Indeterminado	02 (02,5)	-	-	02 (02,2)
Tamanho das lesões (mm)				
	3x3 a 60x60	6x8 a 31x24	6x9 a 15x29	
Número de lesões N (%)				
01	45 (56,3)	-	06 (85,7)	51 (56,7)
02	15 (18,8)	01 (33,3)	-	16 (17,8)
03	05 (06,3)	02 (66,7)	01 (14,3)	08 (08,9)
≥ que 04	15 (18,8)	-	-	15 (16,7)

N = Número de casos; (%) = percentagem correspondente ao número de casos.

Os pacientes infectados com *L. (L.) amazonensis* apresentaram uma lesão em sua maioria (seis pacientes) e apenas um apresentou três lesões. Aqueles com isolado de *L. (V.) naiffi* apresentaram duas (um paciente) e três lesões (dois). Os infectados com *L. (V.) guyanensis* apresentaram uma lesão, em sua maioria (n=45), e duas lesões (15 pacientes), de acordo com a tabela.

Os três pacientes infectados com *L. (V.) naiiffi* apresentaram lesões em membros inferiores. Os outros com *L. (L.) amazonensis* apresentaram lesão em membro inferior (dois pacientes), membro superior (quatro pacientes) e um paciente, lesões em ambos os membros. Predominaram entre os pacientes infectados com *L. (V.) guyanensis* as lesões em membro superior (33,8%), vindo, em seguida, em membro inferior (31,3%).

Todas as lesões eram cutâneas e seus tamanhos variavam de 6x8mm a 31x24mm nos pacientes infectados por *L. (V.) naiiffi*, de 6x9mm a 15x29mm por *L. (L.) amazonensis* e de 3x3mm a 60x60mm por *L. (V.) guyanensis*.

A maioria dos casos de LTA atendidos tinha origem em focos endêmicos de zonas rurais (95,5%). O Assentamento Iporá localizado no km 127 da AM 010 apresentou o maior número de casos (33,3%).

DISCUSSÃO

A rodovia AM 010, no estado do Amazonas, liga a cidade de Manaus a Itacoatiara e, passando pelo município de Rio Preto da Eva, estende-se por 180 km de extensão. Distribuídos ao longo de seu percurso, encontram-se diversos assentamentos agrários. Grande parte dos casos de LTA atendidos pela Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (FMT-AM), em Manaus, é oriunda das cercanias desta rodovia (17, 19). Os pacientes atendidos na Unidade Básica de Saúde e no Hospital do Município de Rio Preto da Eva, analisados neste trabalho, eram originários desta área ou relataram ter se infectado ao longo da rodovia AM-010 ou em ramais distribuídos por sua extensão (95% dos casos).

O predomínio de pacientes do sexo masculino e na faixa etária de adultos jovens está de acordo com outros estudos (5, 7, 11, 18, 19, 24, 26, 27). Agricultores e caseiros foram as ocupações mais comumente relatadas entre os pacientes analisados. Estes trabalhadores ficam em contato direto com a mata ou dela muito próximos durante muitas horas, ambiente propício a picadas de insetos (9, 24).

Entre as espécies incriminadas na transmissão de LTA no Amazonas, *L. (V.) lainsoni* e *L. (V.) braziliensis* não foram detectadas. Segundo Romero (29) são raros os casos de LTA causados por *L. (V.) braziliensis* nas adjacências de Manaus, Amazonas. Este achado difere de outras pesquisas nas quais foram relatados casos de LTA causados por *L. (V.) braziliensis*, incluindo casos da forma mucosa da doença em Manaus (7, 20). Apenas um caso de LTA causado por *L. (V.) lainsoni* no Amazonas foi descrito na literatura (6).

Os pacientes infectados por *L. (V.) guyanensis* apresentaram uma ou várias lesões que podem ter sido causadas por múltiplas picadas de flebotomíneos infectados ou por disseminação linfática metastática (23). Segundo Guerra et al. (20), esta espécie é um agente causador da forma mucosa em diversos pacientes que tiveram a forma cutânea tratada de forma inadequada na região Amazônica. A forma mucosa é mais comum em homens e estes tendem a desenvolver formas

mais graves da doença com elevada incidência de perfuração e envolvimento de estruturas externas da cavidade nasal.

A maior parte dos pacientes infectados com *L. (L.) amazonensis* (6/7), apresentou apenas uma lesão, corroborando os resultados encontrados na literatura. Esta espécie está associada às formas mucocutânea e cutânea difusa anérgica, sendo esta última de difícil cura, mesmo com a utilização de qualquer tipo de quimioterapia (23, 25, 31-33). Mais recentemente, a leishmaniose cutânea disseminada *borderline* foi considerada como forma intermediária entre as formas cutânea e os polos extremos patogênicos mucocutânea e cutânea difusa, também causadas por esta espécie (14, 31, 32).

São poucos os casos de LTA causados por *L. (V.) nairffi* descritos na literatura (7, 10, 15, 21, 28, 31, 35), neste estudo foram descritos apenas três pacientes infectados (3,3%) por esta espécie. A *L. (V.) nairffi* causa baixo grau de patogenicidade ao homem, está associada apenas à forma cutânea e pode até mesmo ocorrer cura espontânea (3, 28, 32).

O Projeto de Assentamento Iporá fica localizado no km 127 da AM 010, em sua margem direita, e é responsável por grande parte dos casos de LTA de Rio Preto da Eva, segundo município em número de casos no estado do Amazonas, dado que está de acordo com este estudo. Neste local, a doença é considerada tipicamente ocupacional (13, 19, 26).

Entre os sete casos de LTA causados por *L. (L.) amazonensis* observados neste trabalho, quatro foram infectados no Assentamento Iporá, onde o flebotomíneo *Lu. flaviscutellata*, seu principal vetor, foi registrado em abundância em ambiente silvestre e em peridomicílio(12). O menor número de casos de LTA causado por *L. (L.) amazonensis* está relacionado ao fato de o vetor *Lu. flaviscutellata* ser pouco antropofílico e de hábito essencialmente noturno (22, 30).

De acordo com Guerra et al. (19), 20,7% dos casos de LTA atendidos na FMT-AM, em 2005, eram de crianças de 0 até 14 anos de idade. Os autores aventaram a possibilidade de transmissão da doença no intra e peridomicílio, justificada por casos de LTA em menores de 5 anos de idade, pela presença de animais domésticos que servem de atrativo aos vetores e pela proximidade das habitações com a mata. A transmissão na mata vem ocorrendo em crianças maiores que auxiliam seus pais em atividades agrícolas, na busca por alimentos ou na caça. Este dado está de acordo com este trabalho, em que 20% dos casos são de crianças na mesma faixa etária. Neste grupo, três crianças tinham idade igual ou inferior a 5 anos. O fato de todas as crianças e idosos com LTA, identificados neste trabalho, terem sido infectados por *L. (V.) guyanensis*, acrescido da presença de seu vetor *Lu. umbratilis* em abundância no peridomicílio e em domicílio no Assentamento Iporá, reforça a ideia da transmissão da doença no intra e peridomicílio na região estudada.

Concluimos que a LTA é uma parasitose endêmica de importância no município de Rio Preto da Eva, ocorrendo principalmente ao longo da rodovia AM 010. Nos pacientes analisados, a forma de aquisição da infecção foi majoritariamente

por meio de contato com o ciclo silvestre de transmissão, destacando-se também a possibilidade de transmissão da doença no intra e peridomicílio. Trabalhos de educação em saúde, visando à implementação de medidas de controle e prevenção da doença, devem ser realizados entre a população local. É de grande importância a identificação da espécie de *Leishmania* na patogenia da LTA na Amazônia, onde a doença resulta da complexa interação da resposta imune do homem com as diferentes espécies do parasito e com potenciais patogênicos distintos. Além disso, ressalta-se a necessidade de tratamento precoce da forma cutânea da doença, o que reduziria a prevalência das formas graves da leishmaniose, sua morbidade e custos com tratamento (11, 32).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos técnicos do Laboratório de Leishmaniose e Doença de Chagas, em especial a Roberto Dantas de Farias pelo auxílio no transporte da equipe a Rio Preto da Eva e ao microscopista do Hospital deste município, Antônio José Barros da Silva, por todo o apoio prestado durante o período de realização do trabalho. Fonte de financiamento: FAPEAM

REFERÊNCIAS

1. Bañuls A, Hide M, Prugnolle F. Leishmania and the Leishmaniases: A Parasite Genetic Update and Advances in Taxonomy, Epidemiology and Pathogenicity in Humans. *Adv Parasitol* 64: 1-109, 2007.
2. Bogdan C. Leishmaniasis in rheumatology, hematology, and oncology: epidemiological, immunological, and clinical aspects and caveats. *Ann Rheum Dis* 71: 60-66, 2012.
3. Campos MB, De Castro Gomes CM, de Souza AA, Lainson R, Corbett CE, Silveira FT. *In vitro* infectivity of species of *Leishmania* (*Viannia*) responsible for American cutaneous leishmaniasis. *Parasitol Res* 103: 771-776, 2008.
4. Castro EA, Luz E, Telles FQ, Pandey A, Biseto A, Dinaiski M, Sbalqueiro I, Soccol VT. Eco-epidemiological survey of *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis in Ribeira valley River, Paraná State, Brazil. *Acta Tropica* 93: 141-149, 2005.
5. Chagas AC, Pessoa FAC, Medeiros JF, Py-Daniel V, Mesquita EC, Balestrassi DA. Leishmaniose tegumentar americana (LTA) em uma vila de exploração de minérios - Pitinga, município de Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. *Rev Bras Epidemiol* 9: 186-192, 2006.
6. Talhari, AC, Dietze, R, Chrusciak Talhari, C, da Silva, R.M, Gadelha Yamashita, E P, de Oliveira Penna, G, Lima Machado, PR, Talhari, S. Randomized controlled clinical trial to access efficacy and safety of miltefosine in the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania* (*Viannia*) *guyanensis* in Manaus, Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 84: 255-260, 2011.
7. Coelho LIC, Paes M, Guerra JA, Barbosa MG, Coelho C, Lima B, Brito ME, Brandão Filho S. Characterization of *Leishmania* spp. causing cutaneous leishmaniasis in Manaus, Amazonas, Brazil. *Parasitol Res* 108: 671-677, 2010.
8. Cupolillo E. Perfil enzimático e análise numérica de variantes do gênero *Leishmania* encontrados no novo mundo. Rio de Janeiro [Dissertação de Mestrado- Instituto Oswaldo Cruz], 1992.
9. Dourado MIC, Noronha CV, Alcantara N. Epidemiology of leishmaniasis related to agriculture and prospecting in a locality of the State of Bahia, Brazil. *Rev Saude Pública* 23: 2-8, 1989.
10. Figueira LP, Zanotti M, Pinheiro FG, Franco AMR. Isoenzymatic characterization of human isolates of *Leishmania* sp (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) from the municipalities of Rio Preto da Eva and Manaus, State of Amazonas. *Rev Soc Bras Med Trop* 41: 512-514, 2008.

11. França EL, Mandadori MN, França JL, Botelho ACF, Ferrari CKB, França ACH. Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana no município de Juína, Mato Grosso, Brasil. *Scientia Medica* 19: 103-107, 2009.
12. Franco AMR, Pereira MAS, Freitas RA. Diversidade da fauna de flebotomíneos em área de assentamento no município de Rio Preto da Eva, estado do Amazonas. In: Bermudez EGC, Teles BR, Rocha RA, organizadores. *Entomologia na Amazônia Brasileira*. Editora Inpa. Manaus, 2010. p. 183-206.
13. Fundação Nacional de Saúde. *Manual de controle da Leishmaniose Tegumentar Americana*. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, Ministério da Saúde, 2000.
14. Garcia FCB, Santos SSR, Chociay MF, Medeiros ACR, Roselino AMF. Métodos subsidiários para o diagnóstico da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA): comparação dos resultados do sequenciamento de DNA e da PCR-RFLP para determinação da espécie de leishmânia em amostras cutâneo-mucosas. *An Bras Dermatol* 80: 340-345, 2005.
15. Grimaldi GJr, Momen H, Naiff RD, Mahon-Pratt D, Barrett TV. Characterization and classification of leishmanial parasites region of Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 44: 645-661, 1991.
16. Grimaldi JrG, Tesh RB. Leishmaniasis of the New World: Current concepts and implications for future research. *Clinical Microbiology Review* 6: 230-250, 1993.
17. Guerra JAO, Talhari S, Paes MG, Garrido M, Talhari JM. Clinical and diagnostic aspects of American Tegumentary Leishmaniosis in soldiers simultaneously exposed to the infection in the Amazon Region. *Rev Soc Bras Med Trop* 36: 587-590, 2003.
18. Guerra JAO, Ribeiro JAS, Coelho LIARC, Barbosa MG, Paes MG. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar na Comunidade São João, Manaus, Amazonas, Brasil. *Cad Saude Publica* 22: 2319-2327, 2006.
19. Guerra JA, Barbosa MG, Loureiro AC, Coelho CP, Rosa GG, Coelho LI. American tegumentary leishmaniasis in children: epidemiological aspects of cases treated in Manaus, Amazonas, Brazil. *Cad Saude Publica* 23: 2215-2223, 2007.
20. Guerra JA, Prestes SR, Silveira H, Coelho LI, Gama P, Moura A, Amato V, Barbosa Md, Ferreira LC. Mucosal leishmaniasis caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Viannia) guyanensis* in the Brazilian Amazon. *PLoS Negl Trop Dis* 5: e980, 2011.
21. Lainson R, Shaw JJ, Silveira FT, Braga RR, Ishikawa EA. Cutaneous Leishmaniasis of man due to *Leishmania (Viannia) naiffi* Lainson and Shaw, 1989. *Ann Parasitol Hum* 65: 282-284, 1990.
22. Lainson R, Shaw JJ, Silveira FT, Souza AAA, Braga RR, Ishikawa EAY. The dermal leishmaniasis of Brazil, with special reference to the eco-epidemiology of the disease in Amazonia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 89: 435-443, 1994.
23. Lainson, R. Espécies neotropicais de *Leishmania*: uma breve revisão histórica sobre sua descoberta, ecologia e taxonomia. *Rev Pan-Amaz Saude* 1: 13-32, 2010.
24. Martins LM, Rebelo JM, dos Santos MC, Costa JM, da Silva AR, Ferreira LA. Eco-epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Buriticupu, Amazon region of Maranhão State, Brazil, 1996–1998. *Cad Saude Publica* 20: 735-743, 2004.
25. Moraes MAP, Silveira FT. Histopatologia da forma localizada de leishmaniose cutânea por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 36: 459-463, 1994.
26. Naiff Jr. RD, Pinheiro FG, Naiff MF, Souza IS, Castro LM, Menezes MP, Franco, AMR. Estudo de uma série de casos de Leishmaniose tegumentar americana no município de Rio Preto da Eva, Amazonas, Brasil. *Rev Patol Trop* 38: 103-114, 2009.
27. Naiff MF. Leishmaniose Tegumentar na Amazônia. Distribuição geográfica dos agentes etiológicos na região. Rio de Janeiro [Dissertação de Mestrado-Fundação Instituto Oswaldo Cruz]. 1998.
28. Naiff RD, Freitas RA, Naiff MF, Arias JR, Barrett TV, Momen H, Grimaldi GJr. Epidemiological and nosological aspects of *Leishmania naiffi* Lainson & Shaw, 1989. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 86: 317-321, 1991.
29. Romero GA, Ishikawa E, Cupolillo E, Toaldo CB, Guerra MV, Paes MG, Macedo VO, Shaw JJ. The rarity of infection with *Leishmania (Viannia) braziliensis* among patients from the Manaus

- region of Amazonas state, Brazil, who have cutaneous leishmaniasis. *Ann Trop Med Parasitol* 96: 131–136, 2002.
30. Silveira FT, Lainson R, Shaw JJ, de Souza AA, Ishikawa EIA, Braga RR. Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in Amazonian Brazil, and the significance of a negative Montenegro skin-test in human infections. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 85: 735-738, 1991.
 31. Silveira FT, Lainson R, Corbett CEP. Clinical and immunopathological spectrum of American cutaneous leishmaniasis with special reference to the disease in Amazonian Brazil – A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 239-251, 2004.
 32. Silveira, F T., Mülher, S R., Souza, A A., Lainson, R., Gomes, C.M., & Laurent, M. D. Revisão sobre a patogenia da Leishmaniose Tegumentar Americana na Amazônia, com ênfase à doença causada por *Leishmania (V.) braziliensis* e *Leishmania (L.) amazonensis*. *Rev Para Med* 22: 9-20, 2008.
 33. Silveira FT, Lainson R, Gomes CMC, Laurenti MD, Corbett CEP. Immunopathogenic competences of *Leishmania (V.) braziliensis* and *L. (L.) amazonensis* in American cutaneous leishmaniasis. *Parasite Immunol* 31: 423-431, 2009.
 34. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Disponível em: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb>. Acesso em 30/09/2012.
 35. Tojal da Silva, AC, Cupolillo E, Volpini AC, Almeida R, Romero GA. Species diversity causing human cutaneous leishmaniasis in Rio Branco, state of Acre, Brazil. *Trop Med Int Health* 11: 1388-1398, 2006.