

VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DAS LEISHMANIOSES NO MUNICÍPIO DE MONTE MOR, ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL

André Antonio Cutolo^{1,2*}
Marcella Zampoli Troncarelli³
Juliana Giantomassi Machado³
Maria Cecília Rui Luvizotto⁴
Claudio José Von Zuben⁵
Helio Langoni³
Selma Giorgio¹

RESUMO

As leishmanioses tegumentar (LTA) e visceral americana (LVA), em caninos e humanos, encontram-se em crescente expansão no Estado de São Paulo. Para a vigilância epidemiológica dessas endemias, é fundamental o conhecimento da distribuição e ecologia das diferentes espécies vetoras de flebotomíneos e, para a LVA, o conhecimento da prevalência da enfermidade no cão, seu principal reservatório. Objetivou-se assim verificar a abundância e distribuição de flebotomíneos e pesquisar a presença de anticorpos anti-*Leishmania* em uma amostra da população canina do município de Monte Mor, SP, visando identificar possíveis cães infectados. Nas capturas de flebotomíneos utilizaram-se armadilhas automáticas luminosas do tipo CDC em 16 pontos diferentes do município, no período noturno (18h às 8h), de abril de 2006 a abril de 2008, com posterior processamento e identificação dos espécimes. Um total de 319 amostras de soro canino foi processado pelas técnicas de ELISA e RIFI com utilização de *Leishmania major* como antígeno. Em 14 dos 16 locais avaliados encontraram-se flebotomíneos, num total de 86 exemplares, com identificação de sete espécies: *Nyssomyia neivai*, *N. whitmani*, *Pintomyia monticola*, *P. pessoai*, *Migonemyia migonei*, *Brumptomyia brumpti* e *Evandromyia termitophila*. *N. neivai*, considerada a principal espécie vetora de LTA no Estado de São Paulo, mostrou-se a mais abundante com 48,84% do total capturado e presente em dez dos 14 locais com flebotomíneos. Todas as 319 amostras caninas apresentaram-se negativas para anticorpos anti-*Leishmania*. A abundância de *N. neivai*, aliada à presença de espécies vetoras secundárias como *N. whitmani*, *M. migonei* e *P. pessoai*, ilustra risco de transmissão da LTA no município. A ausência de *Lutzomyia longipalpis* e de cães reagentes para leishmaniose, indicam até o momento ausência da LVA canina, com baixo risco de estabelecimento desta doença no município. Ressalta-se, porém, a necessidade da manutenção das ações de vigilância epidemiológica, ampliando-se os pontos de captura de flebotomíneos, bem como se

¹ Departamento de Parasitologia, Instituto de Biologia, UNICAMP, Cidade Universitária "Zeferino Vaz", s/nº, CEP 13083-970. Campinas, SP.

² Departamento de Vigilância à Saúde, Secretaria Municipal de Saúde, Prefeitura Municipal de Monte Mor. Rua Jorge Calil, 85, Jd. Nossa Senhora de Fátima, CEP 13190-000. Monte Mor, SP. Telefone/Fax (019)-38892577 cutoloandre@yahoo.com (Correspondência).

³ Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP. Distrito de Rubião Júnior, s/nº, CEP 186180-000. Botucatu, SP.

⁴ Departamento de Patologia Veterinária, Faculdade de Odontologia, UNESP. Rua Clóvis Pestana, 793. CEP 16050-680. Araçatuba, SP.

⁵ Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, UNESP. Av. 24-A, 1515, Bela Vista, CEP 13506-900. Rio Claro, SP.

mantendo a avaliação clínica e laboratorial periódica da população canina, visando-se assim impedir a introdução e estabelecimento desta grave enfermidade no município.

Palavras-chave: *Leishmania*, epidemiologia, leishmaniose canina, flebotomíneos, sorologia, região metropolitana de Campinas.

LEISHMANIASIS EPIDEMIOLOGICAL SURVEILLANCE IN MONTE MOR CITY, SAO PAULO STATE, BRAZIL

ABSTRACT

Cutaneous (LTA) and Visceral (LVA) American Leishmaniasis incidences are increasing in human and canine, especially LVA, which is expanding its range through São Paulo State. Distribution and ecology knowledge of different sand fly species, and in case of LVA, the prevalence of *Leishmania* infection in dogs, its main reservoir, are essential for leishmaniasis epidemiology vigilance. Considering this, it was studied sand flies abundance and distribution, and also the presence of anti-*Leishmania* IgG antibodies in dogs, from different areas of Monte Mor county, São Paulo State. Sand flies were trapped in urban and rural areas between April 2006 and April 2008. CDC automatic light traps were used from 18h to 8h, during 16 nights. 319 canine sera samples were processed by ELISA and RIFI techniques, using *Leishmania major* as antigen. 86 phlebotomines were found in 14 out of 16 evaluated places, resulting in seven different sand fly species identified: *Nyssomyia neivai*, *Pintomyia monticola*, *P. pessoai*, *N. whitmani*, *Migonemyia migonei*, *Brumptomyia brumpti* and *Evandromyia termitophila*. *N. neivai*, pointed out as the main LTA vector in São Paulo State, was the most abundant species (48.84% of the total captured), being found in 10 out of 14 places where sand flies were captured. All 319 canine sera were negative in serological tests. The finding of *N. neivai* and also the presence of secondary vector species as *N. whitmani*, *M. migonei* and *P. pessoai*, indicates the risk of LTA transmission in different places of Monte Mor county. The absence of *Lutzomyia longipalpis* sand fly species and also the absence of dogs with anti-*Leishmania* IgG antibodies indicates, in the moment no occurrence of canine LVA in the city, with low risk of establishment of this disease in the studied area. Due to the high importance of leishmaniasis in the public health context, epidemiological vigilance actions must be continuously performed.

Key words: *Leishmania*, sandfly, epidemiology, Campinas metropolitan region, serology, canine leishmaniasis.

VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA DE LAS LEISHMANIOSIS EN EL MUNICIPIO DE MONTE MOR, ESTADO DE SAO PAULO, BRASIL

RESUMEN

La incidencia de las leishmaniosis tegumentaria (LTA) y visceral americanas (LVA) en hospederos caninos y humanos se encuentra en creciente expansión en el estado de São Paulo, Brasil. Para la vigilancia epidemiológica de tales endemias, es fundamental el conocimiento de la predominancia y ecología de las diferentes especies vectores de flebotomos y, para la LVA, el conocimiento de la prevalencia de la enfermedad en el perro, su principal reservorio. Se buscó verifica la abundancia y distribución de flebotomos y pesquisar la presencia de

anticuerpos IgG anti-*Leishmania* en sueros de una muestra de la población de perros, para el eventual encuentro de perros infectados, en la ciudad de Monte Mor, estado de São Paulo. Para las capturas de los insectos se utilizaron trampas automáticas luminosas del tipo CDC, en 16 puntos diferentes de la ciudad, en el período nocturno (18h a las 8h), desde abril de 2006 hasta abril de 2008, con posterior procesamiento e identificación de los flebotomos hacia el nivel de especie. El total de 319 muestras de sueros fueron procesados por las técnicas de ELISA y RIFI con utilización de *Leishmania major* como antígeno. En 14 de 16 locales evaluados se encontró flebotomos, totalizando 86 ejemplares, con identificación de siete especies: *Nyssomyia neivai*, *Pintomyia monticola*, *P. pessoai*, *N. whitmani*, *Migonemyia migonei*, *Brumptomyia brumpti* y *Evandromyia termitophila*. *N. neivai*, considerada el principal vector de la LTA en el estado de São Paulo, fue la especie más abundante con 48,84% del total capturado y presente en 10 de 14 locales con flebotomos. Todas las 318 muestras de sueros caninos se presentaron negativas para anticuerpos IgG anti-*Leishmania*. La abundancia de *N. neivai* junto a la presencia de especies vectores secundarios de leishmaniosis como *N. whitmani*, *M. migonei* y *P. pessoai*, enseña el riesgo de transmisión de la LTA en el municipio. La ausencia de *Lutzomyia longipalpis* y de perros portadores de anticuerpos anti-*Leishmania*, indican hasta el presente momento la ausencia de la LVA canina, con bajo riesgo de establecimiento de esta enfermedad en el municipio. Todavía, las acciones de vigilancia epidemiológica deben de ser continuamente adoptadas, siendo de extrema importancia desde el punto de vista de la salud pública regional.

Palabras-clave: *Leishmania*, epidemiología, flebotomos, región metropolitana de Campinas, leishmaniosis canina, serología.

INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral Americana (LVA) é causada pela *Leishmania chagasi* e é uma zoonose grave, potencialmente fatal, que atinge principalmente crianças desnutridas (1). É uma doença transmitida por flebotomíneos do complexo *Lutzomyia longipalpis* (2).

A LVA encontra-se em franca expansão no Estado de São Paulo, com 1.431 casos humanos notificados e registro de 122 óbitos no período de janeiro de 1999 até março de 2009 (3), apresentando letalidade de 8,52%. Das 645 cidades do Estado de São Paulo 63 (5,8%) registraram casos de LVA humana e/ou canina até fevereiro de 2008, sendo que 361 municípios (55,9%) apresentam-se receptivos para a doença, com encontro do vetor *Lutzomyia longipalpis* (4). A enfermidade já foi diagnosticada em 54 municípios pertencentes a seis regionais de saúde (DRS) distintas (3).

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é conhecida no Estado de São Paulo desde 1895. No início do século passado era conhecida pelo seu caráter ocupacional, acometendo trabalhadores associados a atividades de desmatamento, sendo uma zoonose silvestre, e o homem hospedeiro acidental do protozoário (5). A enfermidade é importante tanto pela extensa distribuição geográfica no Brasil como pelas graves lesões cutâneas e mucocutâneas que provoca, com efeitos psicológicos no paciente com conseqüências no campo social e econômico (6). É causada por diferentes espécies do gênero *Leishmania*, sendo o agente principal para o Estado de São Paulo a *Leishmania braziliensis* (7). Os principais transmissores são flebotomíneos do complexo *Nyssomyia intermedia* (*N. intermedia* no litoral e *N. neivai* no interior), associadas ainda à *N. whitmani* e *Migonemyia migonei* como possíveis espécies vetoras secundárias (8). De 1993 a 2008 foram notificados 7.826 casos humanos no Estado de São Paulo, oriundos de mais de 400 cidades distintas (3), incluindo um caso ocorrido em 2002 no município de Monte Mor.

Assim sendo, objetivou-se investigar a situação epidemiológica de Monte Mor com relação às leishmanioses, por meio da avaliação da prevalência da infecção canina e também por meio do levantamento da fauna flebotômica em diferentes áreas do município.

MATERIAL E MÉTODOS

Descrição do Município

Monte Mor situa-se na microrregião de Campinas (Figura 1) estando entre 22°56'48" de latitude sul, 47°18'57" de longitude oeste e 560 metros de altitude. O clima é considerado tropical de altitude Cwa. A cidade é cortada pelo Rio Capivari, pertencente à bacia hidrográfica do Rio Tietê. A população estimada é de 43.290 habitantes. A área do município é de 241 km² (9). Faz divisa com as cidades de Campinas, Hortolândia, Santa Bárbara D'Oeste, Sumaré, Indaiatuba, Elias Fausto e Capivari, situando-se a 122 quilômetros da cidade de São Paulo. Juntamente com outros 18 municípios forma a Região Metropolitana de Campinas, que possui um total aproximado de 3.200.000 habitantes, distribuídos em uma área de 3.645,6 km² (9).

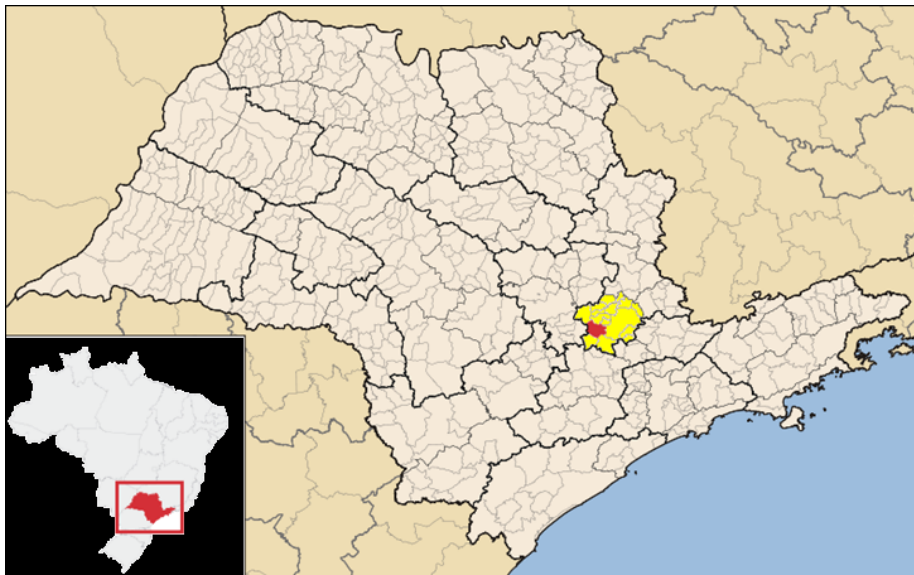


Figura 1. Localização do Município de Monte Mor (cor vermelha) e a micro-região de Campinas (cor amarela) no Estado de São Paulo.

Captura de Flebotomíneos

Durante o período de abril de 2006 a abril de 2008, realizaram-se 16 capturas de flebotomíneos no município de Monte Mor, SP, sendo uma coleta por noite em locais diferentes, em datas aleatórias, num total aproximado de 225 horas. Foram amostradas áreas dos três setores do município conforme divisão utilizada para o Programa Nacional de Combate à Dengue (PNCD). As coletas foram realizadas com armadilhas automáticas luminosas do tipo CDC, posicionadas a uma distância de 30 a 50 cm do solo, das 18 às 8 horas do dia seguinte. Os locais de captura situavam-se em área urbana ou rural, e foram escolhidos por apresentarem uma ou mais das seguintes características: 1) proximidade a áreas de mata; 2) histórico prévio de LTA humana nas redondezas; 3) presença de abrigos de animais domésticos como aves e/ou suínos. Um inseto capturado manualmente no intradomicílio de uma residência também foi identificado. As armadilhas foram posicionadas

em área de mata, peridomicílio ou quintal de residências. Os insetos capturados foram mortos, clarificados, corados e montados em lâmina, conforme técnicas usuais para flebotomíneos e foram identificados ao nível de espécie de acordo com Galati (10).

Seleção dos animais, colheita de sangue e sorologia

Trezentos e dezenove cães, de 42 bairros distintos, oriundos dos três setores da divisão do PNCD municipal, foram selecionados ao acaso durante a Campanha de Vacinação anti-rábica de 2006, sendo colhido de cada um cerca de 5 mL de sangue da veia braquial, após contenção física apropriada. Um animal foi selecionado e examinado por apresentar sintomas compatíveis com Leishmaniose Visceral Canina (LVC), tais como úlceras cutâneas, caquexia e linfadenomegalia. Este foi eutanasiado em janeiro de 2008, com realização de necropsia e colheita de fragmentos de órgãos para diagnóstico diferencial. Dos demais animais, 116 soros foram testados apenas pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), e os 203 soros restantes pela técnica de ELISA como triagem, com posterior realização da RIFI nas reagentes.

As amostras de sangue foram centrifugadas, o soro acondicionado em microtubos identificados, e posteriormente congelado a -20°C . Para a técnica de RIFI as amostras foram diluídas a partir de 1:20 em Solução Salina Tamponada (SST), assim como os controles positivos e negativos. O conjugado antiimunoglobulina de cão foi diluído segundo seu título em azul de Evans a 20 mg%. Um volume de 10 μL de cada diluição do soro foi distribuído em cada célula de lâminas esmaltadas de vidro, impregnadas com promastigotas de *Leishmania major* e incubadas a 37°C por 30 minutos em câmara úmida. O material foi examinado sob microscópio de fluorescência com aumento de 400x. O título de anticorpos foi determinado como a última diluição apresentando fluorescência na célula promastigota, quando comparada aos controles positivo e negativo.

O ELISA foi conduzido utilizando-se placas de poliestireno sensibilizadas com antígeno de *Leishmania major* sonicadas. O soro dos cães foi diluído a 1:80 em solução tampão fosfato salina caseína tween, e como conjugado antiimunoglobulina de cão, fração IgG marcada com peroxidase (Sigma-Company, USA) com a reação lida em espectrofotômetro a 492 nm. Utilizaram-se dois controles positivos e dois controles negativos por placa e o ponto de corte definido pela média dos valores negativos, multiplicado pelo fator 2,4.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A relação de espécies de flebotomíneos capturados no município de Monte Mor, SP, encontra-se na Tabela 1. Nenhum flebotomíneo foi capturado na Fazenda Bordon e na mata do Bairro Estância das Águas. Os 86 insetos capturados pertencem a sete espécies distintas, sendo que 42 (48,84%) destes são da espécie *Nyssomyia neivai*, considerada a principal vetora da LTA no Estado de São Paulo (8). Esta foi a espécie mais dispersa no município, sendo encontrada em dez dos catorze locais positivos para flebotomíneos. Ressalta-se o encontro significativo das espécies *Pintomyia pessoai*, *Nyssomyia whitmani* e *Migonemyia migonei*, respectivamente em quatro, quatro e dois locais diferentes do município. Estas espécies são também consideradas importantes na transmissão de leishmanioses (2).

Inicialmente na prova de ELISA, quatro cães apresentaram título elevado próximo ao ponto de corte, sendo considerados suspeitos, outros cinco animais apresentaram-se positivos e todos os demais negativos. Os soros reagentes foram re-examinados pela RIFI apresentando-se então negativos para leishmaniose.

Tabela 1: Flebotomíneos capturados em área urbana, periurbana e rural do município de Monte Mor, SP, por espécie e sexo. Abril de 2006 a Abril de 2008.

Espécie	F	M	Total (F+M)	%
<i>Nyssomyia neivai</i> ^a	35	7	42	48.84
<i>Pintomyia monticola</i> ^b	13	1	14	16.28
<i>Pintomyia pessoai</i> ^c	3	9	12	13.95
<i>Nyssomyia whitmani</i> ^d	3	3	6	6.98
<i>Migonemyia migonei</i> ^e	3	3	6	6.98
<i>Brumptomyia brumpti</i> ^f	-	3	3	3.49
<i>Evandromyia termitophila</i> ^g	1	-	1	1.16
<i>Nyssomyia spp.</i> ^{h+}	1	-	1	1.16
<i>Brumptomyia spp.</i> ⁱ⁺	1	-	1	1.16
Total	60	26	86	100
%	69.77	30.23	100	

Legenda: F: fêmeas; M: machos; F+M: soma de fêmeas e machos; *a*: Sítio Paulo Milani, Chácara José Brisque, Sítio Guaiuvira, Chácara Ora, Intradomicílio Rua Siqueira Campos (Centro), Margem Rio Capivari (Centro), Sítio São Lázaro, Granja Barone, Sítio Quitzau; *b*: Fazenda Cacinha, Granja Barone, Mata do Lobo, Área Verde, Quinhões do Boa Esperança; *c*: Sítio do Morro, Sítio São Lázaro, Mata do Lobo, Sítio Quitzau; *d*: Fazenda Cacinha, Sítio do Morro, Sítio São Lázaro, Granja Barone; *e*: Sítio Barrocão, Fazenda Cacinha; *f*: Sítio Guaiuvira, Mata do Lobo; *g*: Sítio Paulo Milani; *h*: Sítio do Morro; *i*: Fazenda Cacinha.

+ Exemplos danificados não permitindo a identificação da espécie.

Um dos cães soropositivo ao ELISA apresentava-se com sintomas compatíveis com quadro de LVA. Este cão, da raça boxer, fêmea, de cinco anos de idade, era oriundo do município de Vinhedo, residindo no município de Monte Mor há dois anos. Como sintoma apresentava poliúria, polidipsia, emagrecimento, feridas em extremidades dos membros com descolamento de coxins plantares, unhas e perda das falanges distais dos dedos, além de dermatite necrosante de extremidade da pisa. Após algumas semanas recebendo tratamento a base de antibióticos sem melhora, o animal foi eutanasiado e necropsiado. Os principais achados à necropsia foram: dermatite necrolítica de extremidades, gastrite, enterite hemorrágica, pancreatite, nefrite, linfadenomegalia, cistite, neoplasia vaginal por TVT (Tumor Venéreo Transmissível). Amostras dos órgãos foram fixadas em formol tamponado a 10% e analisadas por técnica de imunistoquímica, pelo Departamento de Patologia Veterinária, da FOA, UNESP - *Campus* de Araçatuba. Não foram encontradas formas amastigostas de leishmanias em nenhum dos órgãos examinados. Como o animal apresentou sorologia positiva no ELISA, negativa na RIFI, e resultado imunistoquímico negativo, considerou-se o resultado final negativo para LVA canina.

Baseando-se na existência de casos humanos ou caninos de LVA um município pode ser classificado em silencioso (sem transmissão) ou com transmissão. Baseado na presença ou ausência do vetor *Lutzomyia longipalpis* é classificado em receptivo ou não receptivo para o estabelecimento da doença. Dependendo da proximidade e/ou fluxo de transporte e/ou migratório com outros municípios com transmissão de LVA canina ou humana é classificado em vulnerável ou não vulnerável à introdução da LVA, considerando-se o risco de expansão por contigüidade e por saltos (11).

Estima-se que a população canina do município de Monte Mor seja de 9.263 cães, distribuídas pelos três setores do PNCD, resultando em uma média de aproximadamente 3000 cães por setor. A Secretaria de Estado da Saúde (11) preconiza no caso de inquérito sorológico canino amostral com um nível de significância de 5%, no caso da prevalência da

doença esperada inferior à 1% como no caso de Monte Mor, um número mínimo de 916 cães avaliados por setor. Isto resultaria em amostragem de 2.748 cães no total, correspondendo à 29,67% dos cães do município.

Tal inquérito é recomendado, porém, apenas em casos de municípios receptivos (com a presença de *Lutzomyia longipalpis*) ou em municípios com transmissão canina confirmada da LVA, o que não se aplica à Monte Mor. O inquérito canino realizado no município avaliou 319 cães, correspondendo a cerca de 3,44% da população estimada. Quantidade esta atingida com os recursos humanos, de equipamento e de apoio laboratorial disponíveis no momento do estudo. No caso de confirmação da presença de *Lutzomyia longipalpis* ou da transmissão da LVA canina, um inquérito sorológico com número amostral mais elevado deverá ser realizado.

Segundo o Grupo de Estudos em Leishmanioses (4), o município de Monte Mor é classificado como silencioso, não receptivo e não vulnerável, fato confirmado com os resultados obtidos neste trabalho.

CONCLUSÕES

A abundância de *Nyssomyia neivai* aliada à presença de espécies vetoras secundárias como *N. whitmani*, *M. migonei* e *P. pessoai*, confirma o risco de transmissão de LTA no município. A ausência de *Lutzomyia longipalpis* e de cães portadores de anticorpos IgG anti-*Leishmania*, indicam até o momento ausência da LVA canina, com baixo risco de estabelecimento desta doença no município. Assim sendo, as informações obtidas neste trabalho confirmam a classificação atual do município como sendo silencioso, não receptivo e não vulnerável para a LVA.

Ressalta-se, porém, a necessidade da manutenção das ações de vigilância epidemiológica, ampliando-se os pontos de captura de flebotomíneos, bem como se mantendo a avaliação clínica e laboratorial periódica da população canina, visando-se assim impedir a introdução e estabelecimento desta grave enfermidade no município.

AGRADECIMENTOS

Aos funcionários do Setor de Controle de Zoonoses e Vetores da Prefeitura Municipal de Monte Mor pelo auxílio nas capturas de flebotomíneos e na contenção dos cães durante as colheitas de sangue.

REFERÊNCIAS

1. Lainson R, Shaw JJ. Epidemiology and ecology of leishmaniasis in Latin-America. *Nature*. 1978; 273: 595-600.
2. Rangel EF, Lainson R. Transmissores da leishmaniose tegumentar americana. In: Rangel EF, Lainson R. *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. p.291-305
3. CVE - Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Divisão de Zoonoses. Secretaria de Estado da Saúde. [acesso 2009 Abr 23]. Disponível em: <<http://www.cve.saude.sp.gov.br>>.
4. Grupo de Estudos em Leishmanioses CCD. Atualização da classificação epidemiológica dos municípios para a Leishmaniose Visceral Americana. *Bol Epidemiol Paul.* 2008; 5: 18-25.

5. Tolezano JE. Ecoepidemiological aspects of american cutaneous leishmaniasis in the state of São Paulo, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1994; 89: 427-34.
6. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação Nacional de Dermatologia Sanitária. Guia de Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana. Brasília; 1994.
7. GOMES AC. Sand fly vectorial ecology in the State of São Paulo. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1994; 89: 457-60.
8. Camargo-Neves VLF,, Gomes AC,, Antunes JLF. Correlação da presença de espécies de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) com registros de casos de leishmaniose tegumentar americana no Estado de São Paulo, Brasil. Rev Soc Bras Med Trop. 2002; 35: 299-306.
9. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. [acesso 2008 dec 25]. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>.
10. Galati EAB. Morfologia, terminologia de adultos e identificação dos táxons da América. In: Rangel EF, Lainson R. Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. p.53-175.
11. Secretaria de Estado da Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana do Estado de São Paulo. Superintendência de Controle de Endemias - SUCEN. Coordenadoria de Controle de Doenças – CCD. São Paulo; 2006.

Recebido em: 11/02/2009

Aceito em: 05/08/2009