

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA**

**FATORES DE RISCO DE LEISHMANIOSE CUTÂNEA EM DUAS POPULAÇÕES
HUMANAS DA AMAZÔNIA CENTRAL**

LETÍCIA DE SOUZA SOARES

Manaus, Amazonas

Agosto, 2010

LETÍCIA DE SOUZA SOARES

**FATORES DE RISCO DE LEISHMANIOSE CUTÂNEA EM DUAS POPULAÇÕES
HUMANAS DA AMAZÔNIA CENTRAL**

ORIENTADOR: DR. GONÇALO FERRAZ

Co-orientador: Dr. Fernando Abad-Franch

Dissertação apresentada ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia (Ecologia).

Manaus, Amazonas

Agosto, 2010

Bancas examinadoras**Banca de avaliação não-presencial***Nome**Parecer*

Dr. Richard Reithinger..... Aprovada com correções

Dr. Aloísio Falqueto..... Aprovada com correções

Dra. Ana Rabello..... Aprovada com correções

Banca de avaliação presencial – defesa oral*Nome**Parecer*

Dr. Eduardo Venticinque..... Aprovada

Dr. Toby Barret..... Aprovada

Dr. Felipe Pessoa..... Aprovada

S676

Soares, Letícia de Souza

Fatores de risco de leishmaniose cutânea em duas populações humanas da Amazônia Central / Letícia de Souza Soares.--- Manaus : [s.n.], 2010.

58 f. : il. color.

Dissertação (mestrado)-- INPA, Manaus, 2010

Orientador : Gonçalo Nuno Côrte-Real Ferraz de Oliveira

Co-orientador : Fernando Abad-Franch

Área de concentração : Ecologia

1. Leishmaniose cutânea. 2. Flebotomíneos. 3. Ecologia de doenças infecciosas. 4. Epidemiologia. 5. Pardo, Rio. I. Título.

CDD 19. ed. 616.9364

Sinopse:

Foi estudada a influência do gênero na incidência de casos clínicos de leishmaniose cutânea em duas populações humanas da Amazônia Central. Com o intuito de elaborar estimativas verossímeis de incidência da doença, também foram considerados fatores de risco relacionados às demandas de hábitat dos vetores de leishmaniose cutânea para populações humanas expostas à ambientes florestais. Homens parecem apresentar maior chance de apresentar manifestação clínica de leishmaniose cutânea que mulheres, mesmo quando a exposição aos hábitats dos vetores é a mesma entre os dois gêneros.

Palavras-chave: Leishmaniose Cutânea, Gênero, Phlebotominae, Rio Pardo, PDBFF

Agradecimentos

Ao Programa de Pós-graduação em Ecologia do INPA. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de mestrado. Ao Instituto Leônidas e Maria Deane - Fundação Oswaldo Cruz pelo apoio financeiro e logístico para as amostragens na comunidade de Rio Pardo. A todas as pessoas que compuseram as equipes de amostragem de campo em Rio Pardo. Sou especialmente grata à Beth Gardner, Eduardo Venticinque, Felipe Pessoa, Toby Barret, Luis Fernando Chaves, Camilo Daleles Rennó, Sylvain Desmoulière, Juliana Schietti, Pedro Penedo, Roberto Sena Rocha, Genimar Rebouças, Etelvino Araújo e Paulo Soares que contribuíram de diferentes formas para este trabalho. A todos os pesquisadores de campo do Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais e aos assentados rurais da comunidade de Rio Pardo que contribuíram para o inquérito epidemiológico de leishmaniose cutânea.

Ao Gonçalo Ferraz por ter sido inquestionavelmente o melhor orientador que eu poderia ter. Obrigada pela amizade e pela confiança. Estou certa de que este trabalho é apenas o início da nossa tão agradável parceria. Ao meu co-orientador Fernando Abad-Franch pelas contribuições imprescindíveis em todas as etapas deste trabalho, especialmente pela paciência e eficácia na corrida fase final do mestrado. Aos meus eternos professores Glauco Machado e José Luis Camargo por me estimularem a sempre tentar ser uma cientista melhor.

À minha família manauara que fez do calor e do suor mais uma razão para boas risadas. Agradeço em especial à Velha da Silva Sauro, Etelvino Araújo, Mariana Cassino, Carlos D'apólito, André Rech, Pedro Penedo, Marcelino Soyinka, Priscila Miorando, João Amaral (Minhoca), José Wagner (Xuleta), Fabiana Couto, Ítalo Mourthé e Marconi Campos. À minha querida família lá do Brasil, pelo incansável apoio e estímulo nesses 25 anos.

*“Must I remember? why, she would hang on him,
As if increase of appetite had grown
By what it fed on: and yet, within a month -
Let me not think on't - Frailty, thy name is woman!”*

Hamlet, Act 1, Scene 2
William Shakespeare

Resumo

A frequência de homens apresentando casos clínicos de leishmaniose cutânea (LC) é maior do que mulheres. Estas diferenças na frequência de manifestação clínica entre gêneros pode se dever à exposição diferencial entre homens e mulheres aos fatores de risco relacionados à transmissão de LC ou à vulnerabilidade diferencial a infecções parasitárias, possivelmente mediada por hormônios ligados ao sexo. No presente estudo, foi investigado se a incidência de LC se mantém diferente entre os gêneros, ainda que controlada a exposição diferencial entre homens e mulheres aos fatores de risco relacionados à transmissão da doença. Devido ao complexo ciclo de transmissão da LC, para prever a incidência da doença em populações humanas, foram consideradas características ambientais relacionadas com a adequação de hábitat para a ocorrência dos flebotomíneos, principais vetores de LC. Foram comparados dados clínico-epidemiológicos sobre a LC em duas populações humanas com exposição diferencial aos habitats dos vetores de LC: os assentados rurais em uma paisagem tipicamente rural inserida em um ambiente de floresta tropical (N = 646 pessoas em 225 domicílios) e os pesquisadores que conduzem trabalho de campo em áreas de floresta na Amazônia Central (N = 166). Dentre os assentados rurais a exposição aos habitats do vetor de LC é maior em homens que em mulheres. Contrariamente, pesquisadores de campo usualmente não apresentam diferenças de exposição entre gêneros, sendo que homens e mulheres são similarmente expostos aos ambientes de ocorrência de flebotomíneos. Foi utilizada uma combinação de questionários e dados clínicos para quantificar casos LC. Utilizando métodos Bayesianos, foi modelada a incidência de LC, em função de co-variáveis relativas a fatores de risco individuais (sexo e exposição a ambientes de ocorrência de vetores) e a fatores de risco ambientais (proporção de floresta e drenagem do solo ao redor dos domicílios dos assentados rurais). Casos clínicos de LC foram mais frequentemente observados entre os homens, tanto no assentamento rural (7% vs. 1,4%), como na população de pesquisadores de campo do PDBFF, na qual as mulheres apresentaram LC em menor frequência do que os homens (4,8% vs. 11,4%). A diferença entre o número de casos reportados entre os gêneros ocorreu no PDBFF, ainda que nesta população ambos os gêneros fossem similarmente expostos ao ambiente de ocorrência de vetores da doença. Comparando-se as duas populações como um todo, a incidência de LC foi maior entre pesquisadores de campo que entre assentados rurais. A proporção de floresta em torno dos domicílios apresentou um efeito negativo, porém não tão relevante na incidência de leishmaniose cutânea quanto a drenagem do solo. Solos bem drenados no entorno dos domicílios do assentamento rural aumentaram o risco de ocorrência de LC. Foi evidenciado que a incidência de LC tende a uma maior frequência de casos clínicos em homens que em mulheres, mesmo quando a exposição aos habitats dos vetores da doença é equivalente, o que sugere um papel importante de fatores fisiológicos relacionados ao gênero na epidemiologia clínica de LC na Amazônia Central. A menor incidência entre os assentados rurais pode estar relacionada ao gênero, independente da imunidade parcial possivelmente adquirida devido à exposição em longo prazo às picadas dos vetores. A associação da ocorrência de casos clínicos de LC com a drenagem do solo sugere um alvo potencial para o mapeamento de áreas de risco da doença.

Abstract

Men are more frequently reported to present clinical cases of cutaneous leishmaniasis (CL) than women. This may be due to gender-biased exposure to environmental transmission risk-factors, to hormone-mediated differential vulnerability, or both. We investigated whether CL incidence would still be sex-biased after controlling for gender-related differential exposure to transmission risk-factors. Because of the complex transmission cycle of this vector-borne disease, environmental features related to sand fly vector habitats were also considered. We compared clinical-epidemiological data on CL in two contrasting human populations: settlers in a typical rural landscape ($N=646$ people in 225 households) and scientists conducting field research in forest sites within the same Central Amazon sub-region ($N=166$). Crucially, exposure to CL vector habitats is gender-biased only among settlers. We used a combination of questionnaires and clinical data to quantify CL cases. Using Bayesian methods, we modeled CL incidence as a function of covariates related to individual risk-factors (gender and exposure to vector habitats) and environmental risk-factors (forest amount and soil drainage around households). CL was more frequent among men, particularly in the rural settlement (7% men vs. 1.4% women). Overall incidence was higher among field researchers; even if gender bias was statistically weaker, women were less affected (4.8%) than men (11.5%) also in this equally-exposed population. Both gender and well-drained soils near households increased CL risk in the rural settlement. We provide evidence that CL incidence is sex-biased even when exposure to vector habitats is comparable. This suggests a role for gender-specific physiological factors in the clinical epidemiology of CL in central Amazonia. Lower incidence among settlers may be related to sex-independent partial immunity due to long-term exposure to vector bites. The association of CL with soil drainage suggests a potential target for disease risk mapping at the landscape scale.

Sumário

1. Introdução.....	11
2. Objetivos.....	15
3. Artigo.....	16
Abstract.....	16
Author Summary.....	17
Introduction.....	17
Methods	20
Study areas	20
Sampling methods	21
Data analysis	23
Results.....	25
CL epidemiological overview	25
CL incidence and sex	25
CL incidence and sand fly habitat in Rio Pardo.....	26
Conclusions.....	29
Acknowledgements.....	29
References.....	30
Figure Legends	34
Figures	37
4. Conclusões.....	40
5. Referências Bibliográficas.....	41
APÊNDICE I – Questionário Epidemiológico PDBFF.....	44
APÊNDICE II – Questionário Epidemiológico Rio Pardo	46
ANEXO I – Ficha do exame clínico feito em Rio Pardo	47
ANEXO II – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	48

ANEXO III – Parecer do Conselho de Ética em Pesquisa do INPA.....	49
ANEXO IV – Parecer Dr. Richard Reithinger	51
ANEXO V – Parecer Dr. Aloísio Falqueto	54
ANEXO VI – Parecer Dra. Ana Rabello.....	55
ANEXO VII – Ata da aula de qualificação	57
ANEXO VIII – Ata da defesa pública.....	58

1. Introdução

Diferenças nas taxas de infecções parasitárias entre indivíduos do sexo masculino e feminino têm sido registradas em várias espécies de hospedeiros vertebrados (Morales-Montor et al., 2004; Zuk e McKean, 1996). Essas diferenças podem resultar em estimativas de prevalência ou incidência tendenciosas para um ou outro gênero, gerando padrões clínicos e epidemiológicos diferenciados entre indivíduos do sexo feminino e masculino. Tais diferenças entre os gêneros têm sido documentadas em doenças infecciosas humanas, incluindo infecções por helmintos, como a cisticercose (Liesenfeld et al., 2001; Morales-Montor e Larralde, 2005; Poulin, 1996) e infecções por protozoários como a toxoplasmose (Liesenfeld et al., 2001) e a leishmaniose cutânea (LC) (Brandão-Filho et al., 1999; Weigle et al., 1993). Esse parasitismo diferencial associado ao gênero pode estar relacionado à exposição diferencial de homens e mulheres a fatores de risco ambientais ou a uma vulnerabilidade mediada por hormônios ligados à expressão de caracteres sexuais (Klein, 2000; Travi et al., 2002). Assim, o gênero pode ser considerado como um fator de risco relevante para doenças infecciosas, uma vez que ser homem ou mulher pode aumentar a chance de um indivíduo reportar sinais e sintomas de uma doença parasitária. Em populações humanas, indivíduos do sexo masculino são mais frequentemente reportados com LC do que indivíduos do sexo feminino (Calvopina et al., 2004; Guerra et al., 2006; Wasserberg et al., 2002). Adicionalmente, existem evidências empíricas que sugerem a existência de uma vulnerabilidade imunológica às infecções por *Leishmania* no sexo masculino (Klein, 2000; Roberts et al., 2001; Snidera et al., 2009; Travi et al., 2002). No presente estudo, são fornecidas evidências clínico-epidemiológicas de uma vulnerabilidade relacionada ao sexo a infecções por *Leishmania*, em populações humanas com padrões diferenciais de exposição aos habitats do vetor.

A leishmaniose cutânea é uma doença tropical negligenciada representada por um espectro de manifestações clínicas caracterizadas por lesões cutâneas, geralmente desenvolvidas em ou perto do local da picada de fêmeas de flebotomíneos infectados (Reithinger et al., 2007). Há duas principais explicações para as diferenças entre gêneros na incidência LC: (1) exposição diferencial a fatores de risco relacionados à transmissão do parasita e (2) imunidade contra as infecções por parasitas, mediada por hormônios relacionados ao gênero. A exposição diferencial a fatores de risco relacionados à transmissão do parasita ocorre quando um determinado gênero está mais exposto aos vetores do parasita. Na Amazônia Central e outras regiões florestadas da América Latina em que a LC é

endêmica, estar exposto a vetores de *Leishmania* spp. significa estar em contato com habitats florestais que são capazes de manter as populações de flebótomos. Geralmente, os homens estão mais expostos do que as mulheres, porque homens são mais propensos a realizar atividades como caça, exploração madeireira e treinamento militar, que necessariamente implicam em exposição à floresta (Guerra et al., 2003; Lainson, 1988; Morán, 1990). No entanto, há exceções em que o padrão de exposição típico relacionado ao gênero não se aplica devido a mudanças de contexto social e econômico. Por exemplo, um estudo em uma comunidade localizada nas proximidades de uma grande hidrelétrica na região Amazônica registrou maior incidência de LC entre as mulheres, que colhiam lenha no hábitat dos vetores de LC, que entre os homens, que em sua maioria trabalhavam na usina hidrelétrica (Naiff et al., 1988).

Uma explicação alternativa para a incidência diferencial de LC é apoiada por evidências empíricas de imunidade mediada por hormônios contra infecções parasitárias (Morales-Montor et al., 2004). Hormônios andrógenos, responsáveis por definir as características secundárias do sexo masculino, podem suprimir parcialmente a resposta imune contra parasitas (Klein, 2000). De fato, dados de demografia humana demonstram que a mortalidade induzida por parasitas é maior entre homens do que mulheres, uma diferença que parece ter origem na variação da competência imunológica contra infecções parasitárias entre os gêneros (Owens, 2002). Estudos em laboratório utilizando hamsters apóiam a hipótese de mediação hormonal, mostrando que a testosterona tem ação imunossupressora, enquanto o estrogênio pode promover a resposta imunológica contra infecções por parasitas *Leishmania* spp. (Roberts et al., 2001; Snidera et al., 2009; Travi et al., 2002). Assim, existem várias linhas independentes de evidências que apóiam as explicações para maior incidência de LC em homens que em mulheres, tanto pela exposição diferencial entre gêneros como pelas explicações de mediação hormonal.

Apesar da existência de evidências para ambas as explicações, uma revisão detalhada da literatura revelou ausência de informações sobre a importância relativa de ambos os processos (exposição e mediação hormonal) na incidência de LC em populações humanas. Da mesma forma, não foram encontrados resultados epidemiológicos convincentes que apóiam a hipótese de mediação hormonal. Com o intuito de preencher estas lacunas, o principal objetivo deste estudo é responder à seguinte questão: a incidência diferencial de LC entre gêneros permanece mesmo na ausência de exposição diferencial entre homens e mulheres? Esta questão foi respondida comparando-se a incidência LC em duas populações humanas da Amazônia Central, uma com e outra sem a exposição diferencial entre os sexos. A primeira

população é Rio Pardo, uma comunidade típica de assentamentos rurais, onde os homens estão mais expostos a ambientes florestais do que as mulheres, porque passam relativamente mais tempo em atividades como agricultura, caça e extração de madeira. A segunda população são os pesquisadores de campo do Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais (PDBFF), onde a exposição ao hábitat de flebotomíneos é similar em ambos os gêneros. Embora estas duas populações se difiram quanto aos padrões de exposição relacionado ao gênero, ambas ocupam áreas de floresta de terra firme, onde *Lutzomyia umbratilis* é o mais abundante e epidemiologicamente relevante vetor de LC (Killick-Kendrick, 1990) e a maioria dos casos da doença são causadas pela infecção de *Leishmania (Viannia) guyanensis*.

No presente estudo são fornecidas evidências clínico-epidemiológicas de maior incidência de LC em homens que em mulheres, mesmo na ausência de exposição diferencial entre os gêneros. Adicionalmente, é apresentado um modelo de incidência de LC em nível individual, utilizando-se como preditores para os casos clínicos da doença o gênero, a exposição individual e as características ambientais relacionadas às demandas de hábitat dos flebotomíneos. Para a população de assentados rurais, espera-se que a incidência de LC seja mais influenciada por fatores de risco relacionados aos indivíduos, como sexo e exposição, do que a fatores de risco relacionados com as características ambientais em torno dos domicílios. Por fim, é sugerida uma abordagem que pode ajudar a prever áreas endêmicas de LC, na tentativa de fortalecer programas de prevenção para a doença, tornando as estratégias preventivas mais coerentes ao contexto epidemiológico da Amazônia Central.

Com o intuito de fazer previsões confiáveis, foi incluído nas análises para estimar a incidência de LC, um conjunto de variáveis ambientais que podem influenciar a transmissão do parasita aos hospedeiros vertebrados, considerado assim não apenas o papel de gênero e da exposição na incidência de LC. As características ambientais associadas à adequação de habitat de flebotomíneos são condições que aumentam a sobrevivência e reprodução dos vetores do parasita *Leishmania* spp.. O vetor *Lu. umbratilis* apresenta variação diária no uso de hábitat, sendo que fêmeas adultas podem ser encontradas durante o dia na base de troncos de árvores de grande porte, e durante a noite, se alimentam de mamíferos que habitam o dossel da floresta (Arias e Freitas, 1982; Ashford, 1997; Lainson, 1988). Portanto, de acordo com a biologia de *Lu. umbratilis*, a ocorrência de LC na Amazônia Central está associada a florestas primárias pouco perturbadas, que essencialmente possam manter populações viáveis dessa espécie de vetor. Um estudo realizado na Amazônia Central, comparando a abundância Phlebotominae antes e após o corte seletivo de madeira, registrou maior número de indivíduos e maiores taxas de infecção por flagelados antes do corte seletivo de madeira (Pessoa et al.,

2007). Além disso, ao modelar a incidência de LC é importante considerar a disponibilidade de locais adequados para o desenvolvimento das larvas de flebotomíneos (Dia-Eldin e Ward, 1991; Dougherty et al., 1994). As fêmeas de flebotomos depositam seus ovos no solo, e há evidências sugerindo que os solos saturados de água apresentam efeito adverso na sobrevivência das larvas (Mukhopadhyay et al., 1990). Por estas razões, foi considerada a proporção de floresta e a drenagem do solo próximo aos domicílios de Rio Pardo como importantes preditores da incidência de LC em indivíduos expostos a áreas florestadas na Amazônia Central.

2. Objetivos

Os objetivos principais deste trabalho foram testar as seguintes hipóteses a respeito da incidência de LC em duas populações humanas da Amazônia Central:

1) As diferenças na incidência de leishmaniose cutânea entre os sexos podem ser explicadas pelas diferenças no tempo de exposição aos vetores da doença.

2) A incidência individual de leishmaniose cutânea pode ser predita pela quantidade de floresta e pela umidade do solo em torno do domicílio do indivíduo.

3. Artigo

Frailty, is thy name woman? Sex-biased incidence of cutaneous leishmaniasis in two human populations of Central Amazonia

Running head: **Cutaneous leishmaniasis and sex**

Letícia Soares^{1*}, Fernando Abad-Franch², Camilo D. Rennó³, Sylvain J.M. Desmoulière²,
Gonçalo Ferraz^{1,4}

1. Biological Dynamics of Forest Fragments Project, Smithsonian Tropical Research Institute / Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brazil.
2. Instituto Leônidas e Maria Deane – Fiocruz Amazônia, Manaus, Amazonas, Brazil.
3. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos, São Paulo, Brazil.
4. Smithsonian Tropical Research Institute, Apartado 0843-03092, Balboa, Republic of Panama

* E-mail: leticiaassoares@gmail.com

Abstract

Background: Clinical reports of cutaneous leishmaniasis (CL) are more frequent among men than women. This may be due to sex-biased exposure to disease vectors, to hormone-mediated differences in vulnerability, or both. We investigated whether CL incidence, strongly sex-biased in a population of rural settlers of the Central Amazon, would still be sex-biased in a nearby population of field researchers whose exposure to sand fly vector habitats is independent from sex. Considering the complex transmission of this vector-borne disease, indirect environmental descriptors of the vector habitat were also taken into account.

Methodology/Principal Findings: We compared CL incidence in two contrasting human populations within the same Central Amazon sub-region: settlers in a typical rural landscape ($N=646$ people in 225 households) and researchers ($N=166$) conducting fieldwork in nearby forest sites. Crucially, while male settlers spend relative more time than females in the forest, exposure to CL vector habitats is not sex-biased among researchers. We used a combination of questionnaires and clinical data to quantify CL cases. We modeled CL incidence in a Bayesian framework as a function of covariates related to individual risk-factors (sex and exposure to vector habitats) and environmental risk-factors (forest amount and soil drainage

around households). CL was more frequent among men, particularly in the rural settlement (7.3% men vs. 1.4% women). Overall incidence was higher among field researchers; even if sex bias was statistically weaker, women were less affected (4.8%) than men (11.5%) also in this equally-exposed population. Being male and living close to well-drained soils both increased CL risk among rural settlers.

Conclusions/Significance. We provide evidence that CL incidence is sex-biased even when exposure to vector habitats is comparable among sexes. This suggests a role for sex-specific physiological factors in the clinical epidemiology of CL in Central Amazonia. Lower incidence among settlers may be related to sex-independent partial immunity due to long-term exposure to vector bites. The association of CL with soil drainage suggests a potential target for disease risk mapping at the landscape scale.

Author Summary

Cutaneous leishmaniasis (CL) is a vector-borne disease with sex-biased incidence in human populations: men are more frequently affected than women. This has been usually explained by sex-related differential exposure to transmission risk factors, because men work more often in forest habitats where CL vectors thrive. Nonetheless, laboratory studies with hamsters showed that sex hormones can modify the immune response to *Leishmania* infections, reducing vulnerability in females. But how important is each of these mechanisms in defining the clinical epidemiology of the disease in real-world situations? To address this question, we studied CL incidence in two populations: one in which men are more exposed than women to vector habitats, and one in which such exposure is independent of sex. In both cases, the disease was substantially less common among women, suggesting that they are better equipped than men to contain the infection and its clinical outcomes. This indicates that sex-specific physiological factors may play a significant role in shaping the clinical epidemiology of CL in Central Amazonia.

Introduction

Differences in parasitic infection rates between male and female individuals have been recorded in many species of vertebrate hosts [1,2]. These differences may result in sex-biased disease prevalence or incidence, yielding differential sex-related clinical and epidemiological patterns. Sex differences have been documented in several human infectious diseases,

including helminth infections [3] such as cysticercosis [4], protozoan infections such as toxoplasmosis [5], and cutaneous leishmaniasis (CL) [6,7]. Thus, sex can be seen as a relevant disease risk-factor, since being male or female can change an individual's probability of acquiring an infection and expressing clinical signs and symptoms of a disease. Men are more frequently reported to suffer from the vector-borne disease CL than women [8,9,10], and there is experimental evidence suggesting differential immune vulnerability of males and females to *Leishmania* spp. infection among laboratory animals [11,12]. In the present study, we provide epidemiological evidence of a sex-biased vulnerability to *Leishmania* spp. infection in human populations with differential patterns of sex-related exposure to vector habitats.

Cutaneous leishmaniasis is a zoonotic, mostly sylvatic, tropical disease with a wide spectrum of clinical manifestations, mainly characterized by ulcerative skin lesions, usually developed at or near the bite site of infected phlebotomine sand flies [13]. There are two main explanations for sex-related differences in CL incidence: (1) differential exposure to parasite transmission and (2) differential hormone-mediated immunity against parasite infections. Differential exposure to parasite transmission occurs when one sex is more exposed to the parasite vectors. In Central Amazonia and other forested regions of Latin America in which CL is endemic, to be exposed to *Leishmania* spp. vectors means to be in contact with forested habitats that are able to maintain sand fly populations. Usually, men are more exposed than women, because they are more likely to perform activities, such as hunting, logging, and military training, that require spending time in the forest [14,15].

An alternative explanation for sex-biased CL incidence is supported by empirical evidence of hormone-mediated immunity against the infection [11]. Androgen hormones can partially suppress the immune response in males [16]. This concurs with human demographic data showing that parasite-induced mortality for a wide range of diseases is higher among men than women, a difference that appears to be rooted on sex variation in immune-competence against parasite infection [17]. Laboratory studies with hamsters further support the hormone-mediation hypothesis by showing that testosterone has an immunosuppressive action, while estrogen can promote the immune response against *Leishmania* infections [12,18]. Thus, there are several separate lines of evidence supporting both the differential exposure (i.e., behavioral) and the hormone-mediation (i.e., physiological) explanations for the higher incidence of CL in men than in women.

Despite the availability of such evidence, the relative importance of each process (differential exposure and physiological mediation) in shaping CL incidence in real-world human populations remains unknown. Indeed, we found no epidemiological reports

convincingly supporting the physiological-mediation hypothesis in the field. Aiming to address these gaps, our main purpose in this study is to answer the following question: Does the sex bias in CL incidence prevail, even in the absence of differential exposure? We answer this question by comparing CL incidence in two Central Amazon human populations, one with and one without differential exposure between sexes. The first population is Rio Pardo, a typical community of rural settlers where men are more exposed to forest habitats than women, because they spend more time farming, hunting, and harvesting timber than their female counterparts. The second population is the community of field researchers of the Biological Dynamics of Forest Fragments Project (BDFFP), where exposure to sand fly habitats, is independent of sex. While these two populations appropriately differ in sex-related exposure patterns, they do occupy similar *terra firme* forest sites where *Lutzomyia umbratilis* is the most abundant and epidemiologically relevant CL vector [19] and the vast majority of CL cases are caused by *Leishmania (Viannia) guyanensis* infections [20].

In order to make reliable predictions of disease incidence at the individual level, we shall consider not only the role of sex and exposure but also include in our analysis a set of environmental variables that may influence parasite transmission. These are sand fly habitat suitability metrics, believed to enhance the survival and reproduction of *Leishmania* vectors. According to one author [21], oviposition sites of the vector *Lu. umbratilis* are mostly on the forest floor (but see [22]), whereas trapping with CO₂ bait at 1 and 15 meters above ground returned a higher number of adult sand flies closest to the canopy [23]. These sources suggest that *Lu. umbratilis* uses more than one forest strata in its life-cycle, benefiting from the vertical stratification of vegetation that is typical of undisturbed old-growth forest. A study in Central Amazonia, comparing *Lu. umbratilis* abundance before and after selective timber logging, recorded higher number of individuals and flagellate infection rates before than after logging [24]. If female *Lu. umbratilis* indeed favor ovipositing on the soil, it is possible that water logging may have an adverse effect on immature stages of the life cycle, as has been suggested for a different group of sandflies elsewhere in the world [25]. Following these observations, we explored whether two household-level environmental covariates, namely the amount of forest and a proxy of soil drainage near houses, have an effect on individual-level CL incidence in Rio Pardo.

In the present study we provide epidemiological evidence of a sex-related bias in CL incidence in the absence of differential exposure. We also model CL incidence at the individual level as a function of sex, individual exposure, and environmental features related to sand fly habitat requirements. We hypothesize (1) that differences in incidence between

sexes in both human populations are solely due to differences in exposure, thus testing the null expectation of no sex bias in incidence among researchers. In addition, we hypothesize that (2) both forest availability and soil drainage have a positive effect on CL incidence in the rural settlement area. Moreover, because CL is thought to be largely zoonotic in our study sites, we expect CL incidence to be more strongly associated with individual-based risk factors, such as sex and exposure, than with environment-related risk factors describing household surroundings.

Methods

Study areas

The two human populations on which we collected data – Rio Pardo and BDFFP – use upland forests of the Central Amazon region. The Rio Pardo settlement extends over an area of 280 km² west of the BR-174 highway, 155 km north of the city of Manaus, Amazonas, Brazil (Figure 1). The settlement was legally established in 1996, and since then more than three hundred families have occupied farm lots in the area. A population census undertaken in the area in 2008 registered more than 600 settlers (Fiocruz, unpublished data). The second population is spatially located at the research sites of the BDFFP, which span approximately 500 km² east-west across the BR-174 highway, 70 km north of Manaus (Figure 1). The BDFFP is a long-term tropical deforestation experiment initiated in 1979 [26] and comprising a variety of interdependent but autonomous studies about the effects of landscape change on animals and plants [27]. Since the project began, at least 300 field researchers, including field assistants, interns, graduate students and professional researchers, visited BDFFP field sites at least once. In several respects, BDFFP researchers do not constitute an ordinary CL risk group. While they spend extended periods in the forest and are consequently exposed to CL vectors, they differ in substantial ways from Rio Pardo rural settlers. Crucially, BDFFP researchers become exposed to forest environments independently of sex. They may also be expected to make use of personal protection measures against vector bites more regularly than rural settlers, while the overall time of exposure is probably higher among settlers. We take advantage of sex-independent exposure to forest environment among BDFFP field researchers, and used this population as a control group to test our hypothesis about the role of differential exposure in establishing sex-biased CL incidence.

Sampling methods

CL epidemiological survey

We based our epidemiological data on CL self-reports, meaning that surveyed subjects reported their disease cases. In order to enhance data quality and reduce detection failures, we recorded the history of medical treatment used against CL, which is unlikely to have been administered in the absence of a confirmed diagnosis and highly likely to be remembered by the patients. The standard CL treatment adopted by the Brazilian Health Department is the only treatment in the clinical-epidemiological context of our study involving at least 20 painful injections (with pentavalent antimony). Surveys were based on interviews in both populations; most BDFFP interviews were conducted by email, while Rio Pardo interviews took place in the field.

We conducted Rio Pardo interviews between November 2008 and June 2009, mapping the location of all households in the area using a GPS device. Interviews were based on semi-structured questionnaires given to family heads, including questions about all individuals living in the household. Questions were aimed at two main aspects of each settler's personal history: (i) time of residence in Rio Pardo and (ii) disease history, including occurrence of CL cases, year of development of CL skin lesion(s), and type of treatment used against the disease. In addition to the interviews, the Rio Pardo survey included detailed physical examinations conducted by a trained physician who looked for CL scars and active lesions in 83% of the individuals that appear in the survey. We only considered autochthonous cases of CL – i.e., those of individuals reporting clinical manifestations that developed after their establishment in Rio Pardo.

As many of the BDFFP researchers no longer live in the study region, the BDFFP survey started with a compilation of subjects. We used the BDFFP database and its technical report series to list all contacts of professional researchers, graduate students, interns, and field assistants that probably conducted fieldwork in the project sites between 1979 and 2009. We sent a pre-survey e-mail message to each of these individuals in order to identify those that had indeed conducted fieldwork in the area. We then sent a CL epidemiological questionnaire to this second set of researchers. This e-mailing procedure was repeated over three rounds, each including the list of non-responding potential participants. Whenever possible, we also actively called BDFFP researchers to participate in our survey. All field researchers who reported having had the disease got a formal medical diagnosis and were

given specific treatment. The BDFFP questionnaire was similar to that used in Rio Pardo, and emphasized (i) total time spent in the field and (ii) disease history, including occurrence of CL, year of development of skin lesion(s) and the type of treatment used against the disease.

Ethics Statement

Both Rio Pardo and BDFFP epidemiological surveys were approved by the ethical committee of the Brazilian *Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia*. All interview subjects provided informed consent for participation in this study.

Exposure to Phlebotominae habitats in Rio Pardo

In order to assess individual exposure to sand fly habitats in Rio Pardo, we considered two environmental variables that we regard as relevant for phlebotomine survival and reproduction: forest cover [21,24] and soil drainage [25], both measured around each individual's household.

Forested habitat availability

As in many Amazon frontier settlements, Rio Pardo farm lots typically consist of a household and an adjacent cultivated area; groups of lots are surrounded by a matrix of *terra firme* (not seasonally flooded) rain forest [28]. Despite the dominance of undisturbed old-growth forests around Rio Pardo, there are also second-growth forests in the area. These are distributed mainly near farm lots, with disturbance ranging from five to 40 years before the survey. Based on reports of *Lu. umbratilis* occurring in undisturbed old-growth as well as in logged forests of the central Amazon region [24] and in second-growth forests of the Rio Pardo settlement (FAC Pessoa, pers. comm.), we defined the presence of forest habitats, old-growth or second-growth, as a potential predictor of CL incidence. We measured the amount of forest in the proximity of each Rio Pardo household, defining proximity as a 300 m-radius buffer around each household coordinates. The buffer size is supported by mark-recapture studies of *Lutzomyia* sand flies reporting dispersal distances within tropical forest most frequently within 200 m from the release site [29,30]; we are not aware of any mark-recapture studies with *Lu. umbratilis*, considered to be the most important vector in our study area. We classified forest areas inside each buffer using a high-resolution IKONOS image of the area obtained in 2008, and calculated the proportion of forested area within the buffer (Figure 2).

Soil drainage

We measured drainage indirectly, applying the High Above the Nearest Drainage (HAND) raster terrain descriptor [31] over a Shuttle Radar Topographic Mission and Digital Elevation Model (SRTM-DEM) image from the year 2000. The HAND is not a topographic measure of altitude above sea level, but a measure of vertical distance from the nearest branch of the drainage network and, in our case it is given at the same 90-m spatial resolution of the SRTM-DEM data. A point presenting a low HAND value is relatively more likely to undergo water-logging and, therefore, will be regarded as hypothetically less suitable for sand fly larvae survival. As the SRTM is sensitive to vegetation, the elevation data in forested parts of the SRTM-DEM image reveal the elevation of the canopy and not the terrain. To solve this problem, we obtained forest cover data from a 1999 LandsatTM image and, when appropriate, corrected the elevation difference between forested and cleared areas by interpolation from the SRTM-DEM data. At the end of the procedure, the HAND value associated with each individual in the settlement is the pixel drainage value corresponding to his or her household location.

Data analysis

We tested predictions about CL incidence in Rio Pardo and BDFFP populations using linear models implemented in a Bayesian context [32]. Our analysis is structured around three logistic models that predict CL incidence, expressed as the probability that one individual reports a new case of CL over a given period of exposure. Model 1 compares CL incidence between Rio Pardo and BDFFP individuals of both sexes with the purpose of testing hypothesis 1, that sex-bias in CL incidence is due solely to differences in exposure and thus should disappear from the BDFFP population. Since this model investigates possible effects of sex on disease incidence, we chose to fit it only to data on individuals over 12 years old. Model 2 still addresses hypothesis 1, to the extent that it examines both the effects of exposure and sex, but it is focused only on BDFFP individuals, asking whether the effects of exposure are the same among males and females. Model 3 applies to Rio Pardo data alone and examines hypothesis 2, that forest cover and drainage have a positive effect on CL incidence, while still accounting for the effects of sex and exposure included in the first two models. Model 1 can be summarized by the following two equations, where index i designates individuals from either Rio Pardo or BDFFP:

$$y_i \sim \text{Bern}(\theta_i) \quad [1a]$$

$$\text{logit}(\theta_i) = \beta_0 + \beta_S \times S_i + \beta_T \times T_i + \beta_P \times P_i + \beta_I \times I_i \quad [1b]$$

The data vector y_i contains all binary observations of CL ($y_i = 1$ if individual i reported CL $y_i = 0$ otherwise); we model y_i as a random draw from a Bernoulli distribution with parameter θ_i (Eq. 1a). The parameter θ_i in turn, is given by a logistic function of sex ($S_i = 1$ if i is male and 0 if female), time of exposure measured in years (T_i), population from which individual i was sampled ($P_i = 1$ for Rio Pardo and 0 otherwise), and an interaction term that expresses a possible difference between the effect of sex across populations ($I_i = 1$ if i is a man from Rio Pardo and 0 in all other cases). The time T_i means residence time in the settlement for Rio Pardo, and actual time spent in the field sites for the BDFFP. As we are relatively more certain that exposure time means exposure to sand fly habitats in the BDFFP than in the Rio Pardo settlement, we decided to develop model 2 for BDFFP individuals only, as a detailed investigation of the effects of exposure across sexes. In this model, we included the same effects of sex and exposure as in Model 1, but added an interaction term to represent the possibility that males and females respond differently to the same time of exposure to sand fly habitats (E_i). In Model 2, we model the data as a Bernoulli draw just like in Eq. 1a, but use the following logistic function:

$$\text{logit}(\theta_i) = \beta_0 + \beta_S \times S_i + \beta_T \times T_i + \beta_E \times E_i \quad [2]$$

Model 3, includes again the effects of sex and exposure from the two previous models but this time in combination with additive effects of forest cover and drainage. Model 3 also includes a neighborhood effect to account for the possibility of spatial clustering in CL cases, adapted from the autologistic model specified in panel 9.3 of Royle and Dorazio [32]. This model treats the y_i data as a random draw from a Bernoulli distribution with parameter θ_i given by the function:

$$\text{logit}(\theta_i) = \beta_0 + \beta_S \times S_i + \beta_T \times T_i + \beta_F \times F_i + \beta_H \times H_i + \beta_A \times \text{neigh}_i \quad [3]$$

F_i and H_i represent forest cover around each individual's household and soil drainage, respectively. The covariate $neigh_i$ measures the absolute number of households with at least one CL case within 300 m of individual i 's household. Our choice of using the absolute number rather than a proportion of neighbors differs from the standard application of autologistic models to infer spatial autocorrelation on data from systematic sampling grids [32,33,34]. Since the Rio Pardo lots are not distributed on a grid, the number of neighbors within a 300-m radius varies widely across households, implying that a proportion of 100% could mean anything from one to 20 neighbors. In these circumstances, we found the absolute number to be the most appropriate descriptor of the potential epidemiological influence of neighboring cases.

We applied the arcsine transformation to covariate F and standardized all the continuous covariates (H , T , and the transformed F) by subtracting the mean and dividing by the standard deviation. Parameter estimates were derived from posterior distributions generated by an MCMC algorithm with non-informative normally distributed priors with mean zero and variance 100. We fitted all models using a combination of the freely available software packages R [35] and WinBUGS [36] via the R package R2WinBUGS [37].

Results

CL epidemiological overview

The Rio Pardo survey included 646 settlers from 225 households. We recorded at least one CL case in 47 households (20.9%); among which 87% had just one case, 11% had two, and 2% had three. More than 7% of male individuals living in Rio Pardo reported having had a case of CL while living in the settlement area, while only 1.4% of females did so. Among the 166 respondents to the BDFFP survey, 19 men (11.45%) and eight women (4.82%) reported cases of CL (Table 1).

CL incidence and sex

Table 2 shows parameter estimates for Model 1, revealing the effects of sex and exposure in both populations. While the effect of being male is moderate (95% confidence bounds of the β_S posterior distribution overlap zero at the lower end), its mean estimate is positive ($\beta_S =$

0.701±0.467) and the effect of sex does not show an obvious interaction with site ($\beta_I = 1.187 \pm 0.680$). Time of exposure has an unequivocal positive effect on incidence ($\beta_T = 0.757 \pm 0.465$). As shown by the strongly negative estimate of the effect of being from Rio Pardo ($\bullet_p = -2.443 \pm 0.662$), rural settlers are less likely to report CL than individuals from the BDFFP population. Figure 3 shows CL incidence estimates for men and women in both Rio Pardo and the BDFFP obtained from Model 1 for one-year of exposure. In both populations, incidence estimates are higher for males than for females. A closer look at the BDFFP data based on Model 2 shows a strong interaction between sex and exposure time (Table 3). The effect of being a male is moderately positive ($\bullet_s = 0.959 \pm 0.585$), the effect of exposure time is obviously positive ($\bullet_T = 2.505 \pm 0.866$), and the strong negative interaction ($\bullet_E = -1.621 \pm 0.915$) denotes that while males are more likely to report the disease at short exposure times, when time goes up the sex-bias tends to disappear.

CL incidence and sand fly habitat in Rio Pardo

Model 3 revealed strong positive effects of sex ($\bullet_s = 1.458 \pm 0.403$), time of exposure ($\bullet_T = 0.856 \pm 0.156$), and soil drainage ($\bullet_H = 0.501 \pm 0.120$) in the Rio Pardo population (Table 4). The effects of sex and exposure are in qualitative agreement with results from Model 1. Figure 4 illustrates the relation between CL incidence and drainage, showing an apparent concentration of households with at least one case of CL away from the drainage network. Figure 4 also reveals a lack of clustering at the scale of the 300-m radius buffer, which is in agreement with a spatial autocorrelation parameter that is indistinguishable from zero ($\beta_A < 0.001 \pm 0.296$). We found a negative but weak association ($\bullet_F = -0.206 \pm 0.161$) between forest cover around the household and CL incidence (Table 4).

Discussion

Our results lend further support to previous clinical-epidemiological evidence of sex-biased CL incidence [7,8,9]: reports of clinical disease are more frequent among men than among women. In addition, we show that this sex-related bias is also apparent in a population where men and women are equally exposed to the vector habitat. Combined, our findings suggest that increased probability of developing skin lesions after infection with *Leishmania* parasites

can be related both to differential exposure to vectors and to sex-dependent physiological factors probably associated with the endocrine regulation of anti-*Leishmania* immunity [18].

The physiological basis of sex-bias in clinical manifestations of CL can be explained by interactions between the endocrine and the immune systems. Immunity against parasites of the genus *Leishmania* is mediated by T cells [38,39], which, as many other immune system cells, are influenced by the hormones that determine male and female secondary traits [11,40]. Specific levels of estrogen, for example, stimulate T-cell-induced cellular immune response, resulting in the activation of macrophages, natural killer lymphocytes and cytotoxic cells [41]. This and other implications of female hormones reinforce the notion that women are more immune efficient than men, not just against *Leishmania* [18] but also against microbial infections in general [42]. Adding support to the role of the cellular immune response, laboratory experiments with mice subjected to *Le. major*, *Le. mexicana*, and *Le. amazonensis* infections revealed that protective immune response is dependent on strong cellular immune response [38,39]. Additionally, the severity of cutaneous lesions caused by *Le. (V.) guyanensis*, the CL-causing parasite in our study area, is higher in experimentally infected male than female hamsters, and endocrine modulation of the immune response is involved in this differential pattern of clinical expression [12]. The evidence for an endocrine mediation of immunity against *Leishmania* infections supports our belief that sex hormones, in combination with the exposure to vector habitats, results in a higher probability of CL clinical manifestations among men than among women. It is possible that the endocrine-immune interaction plays a relatively more important role in determining sex-biased incidence at short than at long exposure times, in agreement with the attenuation of the bias with increasing exposure time among BDFFP researchers. The precise mechanism of this attenuation, however, is still an open question.

These considerations do not explain another important finding of our study: CL incidence was substantially higher among BDFFP researchers than among Rio Pardo settlers. This can be explained by two, non-exclusive processes. First, field researchers may be more intensely exposed to sand fly habitats than rural settlers. This possibility is supported not only by the researchers spending more time in the forest, but also by the contrasting dwelling conditions in the BDFFP field sites and in the settlement area. Field researchers sleep in open-walled premises immediately adjacent to forest environments that support sand fly populations, while settlers usually live in wooden-walled dwellings surrounded by crops or otherwise deforested areas, probably unable to maintain resident *Lu. umbratilis* populations (Figure 5). Second, most rural settlers have a long history of exposure to sand fly bites,

whereas most field researchers were first bitten by sand flies during fieldwork at the BDFFP. We find it reasonable to consider the possibility that lower incidence among settlers may partially reflect a protective effect of sand fly bites. Even though laboratory studies of mice treated with proteins found in vector saliva showed enhanced progression of infection by New World *Le. braziliensis* [43], experimental infection of mice with Old World *Le. major* resulted in less severe dermal lesions among animals that were previously exposed to bites of uninfected *Phlebotomus papatasi* vectors than among unexposed controls [44]. Nonetheless, a subsequent experiment with two different proteins, both found in the saliva of *P. papatasi*, induced opposite responses to *Le. major* infection, either protecting against or exacerbating the disease [45]. Thus, the interplay between sand fly saliva and immune response in laboratory experiments can lead to either infection exacerbation or resistance, depending on the parasite species and on the salivary proteins to which the hosts are exposed [45,46,47]. We are not aware of comparable studies with human immune response, but epidemiological evidence from Amazonian human populations suggests that indigenous individuals with a long history of exposure to sand fly bites are less likely to develop CL lesions than short-term visitors from areas where transmission is not endemic [21,48].

We expected that the amount of forest around households would increase the incidence of CL in Rio Pardo. Surprisingly, the data showed otherwise: the higher the proportion of forest around a household, the lower the incidence of CL. *Lu. umbratilis* is primarily a forest vector that feeds on canopy mammals such as sloths [49]. It is possible that, if the forest cover around a household is not sufficient to sustain sylvatic host populations, the vectors might disperse across the disturbed landscape in search of alternative feeding sources. This was apparently true in the city of Manaus, Brazilian Amazon, where environmental disturbance reduced sand fly host availability, constraining the vectors to feed on alternative hosts such as rodents, dogs, and fowl [50]. We caution, however, that the high uncertainty around our estimate of a forest effect (Table 4) precludes any further comment until more data are available. Overall, the forest cover around a household is not as relevant as we expected for predicting CL incidence in Rio Pardo. Soil drainage, on the other hand, was strongly related with CL incidence: residents of households within well-drained sites were more likely to report the disease. Soil drainage thus emerged as a useful feature in predicting CL incidence in the Rio Pardo landscape, possibly because damp soils are unsuitable vector breeding sites [51].

Finally, and in spite of the positive effect of soil drainage on CL incidence, the weak and uncertain effect of the spatial autologistic term in Model 2 goes against any expectation of

disease clustering at the household level. Lack of clustering suggests that individual-level factors, such as sex and exposure to vector habitats, are the key drivers of CL epidemiology in our study area. Household-level environmental covariates may also be involved, but they appear to have much less weight, confirming the characteristically zoonotic transmission of CL.

Conclusions

We have provided epidemiological evidence that CL incidence is sex-biased; men are more likely to report the disease than women, particularly at lower levels of exposure and even when exposure to vector habitats is comparable across sexes. This suggests that sex-specific physiological factors are involved in the clinical epidemiology of CL in the central Amazon: women seem to be better equipped than men to contain the infection and its clinical outcomes. However, sex bias tends to shrink at higher levels of exposure. Our data also support the idea that people who come into contact with forested habitats for the first time are at higher risk of developing CL; this is the case not only of field researchers, but also of military personnel [14], immigrant workers, jungle tourists, or bird-watchers [52]. These groups should strive to follow personal protection measures to avoid vector bites while in the forest. Our results also support the definition of two CL target groups, which should be viewed as priorities for planning public health initiatives of CL prevention and control: males of any human group that is exposed to vector habitats and short-term visitors from non-endemic areas. The apparently paradoxical, albeit weak, effect of household-level deforestation deserves further research. Although we did not find any evidence of spatial clustering of disease cases in or around households, the strong association of CL reports with soil drainage does suggest a potential target for disease risk mapping at the landscape scale.

Acknowledgements

We are especially grateful to Rio Pardo settlers and BDFFP field personnel and researchers who contributed to our CL epidemiological surveys. Field work in Rio Pardo was made possible through support by The International Development Research Center (IDRC, Canada), the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil), the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM, Brazil), and the Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD – Fiocruz, Brazil).

References

1. Morales-Montor J, Chavarria A, De León MA, Del Castillo LI, Escobedo EG, et al. (2004) Host gender in parasitic infections of mammals: an evaluation of the female host supremacy paradigm. *J Parasitol* 90: 531-546.
2. Zuk M, McKean KA (1996) Sex differences in parasite infections: patterns and processes. *Int J Parasitol* 26: 1009-1024.
3. Poulin R (1996) Sexual inequalities in helminth infections: a cost of being a male? *Am Nat* 147: 287-295.
4. Morales-Montor J, Larralde C (2005) The role of sex steroids in the complex physiology of the host-parasite relationship: the case of the larval cestode of *Taenia crassiceps*. *Parasitol* 131: 287-294.
5. Liesenfeld O, Nguyen TA, Pharke C, Suzuki Y (2001) Importance of gender and sex hormones in regulation of susceptibility of the small intestine to peroral infection with *Toxoplasma gondii* tissue cysts. *J Parasitol* 87: 1491-1493.
6. Brandão-Filho SP, Campbell-Lendrum D, Brito MEF, Shaw JJ, Davies CR (1999) Epidemiological surveys confirm an increasing burden of cutaneous leishmaniasis in north-east Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 93: 88-94.
7. Weigle KA, Santrich C, Martinez F, Valderrama L, Saravia NG (1993) Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Colombia: environmental and behavioral risk factors for infection, clinical manifestations, and pathogenicity. *J Infect Dis* 168: 709-714.
8. Calvopiña M, Armijos RX, Hashiguchi Y (2004) Epidemiology of leishmaniasis in Ecuador: current status of knowledge - a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 663-672.
9. Guerra JAO, Ribeiro JAS, Coelho LIARC, Barbosa MG, Paes MG (2006) Epidemiologia da leishmaniose tegumentar na Comunidade São João, Manaus, Amazonas, Brasil. *Cad de Saúde Pública* 22: 2319-2327.
10. Wasserberg G, Abramsky Z, Anders G, El-Fari M, Schoenian G, et al. (2002) The ecology of cutaneous leishmaniasis in Nizzana, Israel: infection patterns in the reservoir host, and epidemiological implications. *Int J Parasitol* 32: 133-143.
11. Roberts CW, Walker W, Alexander J (2001) Sex-associated hormones and immunity to protozoan parasites. *Clin Microbiol Rev* 14: 476-488.

12. Travi BL, Osorio Y, Melby PC, Chandrasekar B, Arteaga L, et al. (2002) Gender is a major determinant of the clinical evolution and immune response in hamsters infected with *Leishmania* spp. *Infect Immun* 70: 2288-2296.
13. Reithinger R, Dujardin JC, Louzir H, Pirmez C, Alexander B, et al. (2007) Cutaneous leishmaniasis. *Lancet* 7: 581-596.
14. Guerra JAO, Talhari S, Paes MG, Garrido M, Talhari JM (2003) Clinical and diagnostic aspects of American tegumentary leishmaniasis in soldiers simultaneously exposed to the infection in the Amazon Region. *Rev Soc Bras Med Trop* 36: 587-590.
15. Morán EF (1990) *Ecologia humana das populações da Amazônia*. Petrópolis: Vozes.
16. Klein SL (2000) The effects of hormones on sex differences in infection: from genes to behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 24: 627-638.
17. Owens IPF (2002) Sex differences in mortality rate. *Science* 297: 2008-2009.
18. Snider H, Lezama-Davila C, Alexander J, Satoskar AR (2009) Sex hormones and modulation of immunity against Leishmaniasis. *Neuroimmunomodulation* 16: 106-113.
19. Killick-Kendrick R (1990) Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Med Vet Entomol* 4: 1-24.
20. Silveira FT, Lainson R, Corbett CEP (2004) 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.
21. Lainson R (1988) Ecological interactions on the transmission of leishmaniasis. *Phil Trans R Soc Lond B Biol Sci* 321: 389-404.
22. Arias JR, Freitas RA (1982) On the vectors of cutaneous leishmaniasis in the Central Amazon of Brazil. 4. Sand fly emergence from a "terra firme" forest floor. *Acta Amaz* 12: 609-611.
23. Arias JR, Freitas RA (1982) On the vectors of cutaneous leishmaniasis in the Central Amazon of Brasil. 3. Phlebotomine sand fly stratification in a terra firme forest. *Acta Amaz* 12: 599-608.
24. Pessoa FAC, Medeiros JF, Barret TV (2007) Effects of timber harvest on phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a production forest: abundance of species on tree trunks and prevalence of trypanosomatids. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102: 593-599.
25. Mukhopadhyay AK, Rahaman SJ, Chakravarty AK (1990) Effect of flood on immature stages of sandflies in a flood-prone kala-azar endemic village of north Bihar, India. Geneva: World Health Organization. 5 p.

26. Bierregard RO, Gascon C (2001) The Biological Dynamics of Forest Fragments Project: overview and history of a long-term conservation project. In: Bierregard RO, Gascon C, Mesquita RCG, editors. *Lessons from Amazonia: The ecology and conservation of a fragmented forest*: Smithsonian Institution. pp. 5-12.
27. Debinski DM, Holt RD (2000) A survey and overview of habitat fragmentation experiments. *Conserv Biol* 14: 342-355.
28. Perz SG, Walker RT (2002) Household life cycles and secondary forest cover among small farm colonists in the Amazon. *World Dev* 30: 1009-1027.
29. Chaniotis BN, Correa MA, Tesh RB, Johnson KM (1974) Horizontal and vertical movements of phlebotomine sand flies in a Panamanian rain-forest. *J Med Entomol* 11: 363-375.
30. Galati EAB, Fonseca MB, Marassá AM, Bueno EFM (2009) Dispersal and survival of *Nyssomyia intermedia* and *Nyssomyia neivai* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in a cutaneous leishmaniasis endemic area of the speleological province of the Ribeira Valley, state of São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104: 1148-1158.
31. Rennó CD, Nobre RD, Cuartas LA, Soares JV, Hodnett MG, et al. (2008) HAND, a new terrain descriptor using SRTM-DEM: Mapping terra-firme rainforest environments in Amazonia. *Rem Sens Env* 112: 3469–3481.
32. Royle JA, Dorazio RM (2008) *Hierarchical model and inference in ecology: the analysis of data on populations, metapopulations and communities*. London: Elsevier.
33. Augustin MH, Muggleston MA, Buckland ST (1996) An autologistic model for the spatial distribution of wildlife. *J Appl Ecol* 33: 339-347.
34. Wintle BA, Bardos DC (2006) Modeling species–habitat relationships with spatially autocorrelated observation data. *Ecol App* 16: 1945-1958.
35. Team RDC (2009) *R: A language and environment for statistical computing*. 2.10.0 ed. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.
36. Spiegelhalter D, Thomas A, Best N, Lunn D (1999) *WinBUGS version 14*. Cambridge: MRC Biostatistics Unit.
37. Sturtz S, Ligges U, Gelman A (2005) R2WinBUGS: a package for running WinBUGS from R. *J Stat Software* 12: 1-16.
38. Alexander J, Bryson K (2005) T helper (h)1/Th2 and *Leishmania*: paradox rather than paradigm. *Immunol Lett* 99: 17-23.
39. Alexander J, Satoskar AR, Russel DG (1999) *Leishmania* species: models of intracellular parasitism. *J Cell Sci* 112: 2993-3002.

40. Bouman A, Heineman MJ, Faas MM (2005) Sex hormones and the immune response in humans. *Hum Reprod Update* 11: 411-423.
41. Lang TJ (2004) Estrogen as an immunomodulator. *Clin Immunol* 113: 224-230.
42. Verthelyi D (2001) Sex hormones as immunomodulators in health and disease. *Int Immunopharmacol* 1: 983-993.
43. Lima HC, Titus RG (1996) Effects of sand fly vector saliva on development of cutaneous lesions and the immune response to *Leishmania braziliensis* in BALB/c mice. *Infect Immun* 64: 5442-5445.
44. Kamhawi S, Belkaid Y, Modi G, Rowton E, Sacks D (2000) Protection against cutaneous leishmaniasis resulting from bites of uninfected sand flies. *Science* 290: 1351-1354.
45. Oliveira F, Lawyer PG, Kamhawi S, Valenzuela JG (2008) Immunity to distinct sand fly salivary proteins primes the anti-*Leishmania* immune response towards protection or exacerbation of disease. *PLoS Negl Trop Dis* 2: e226.
46. Collin N, Gomes R, Teixeira C, Cheng L, Laughinghouse A, et al. (2009) Sand fly salivary proteins induce strong cellular immunity in a natural reservoir of visceral leishmaniasis with adverse consequences for *Leishmania*. *PLoS Pathog* 5: e1000441.
47. Gomes R, Teixeira C, Teixeira MJ, Oliveira F, Menezes MJ, et al. (2008) Immunity to a salivary protein of a sand fly vector protects against the fatal outcome of visceral leishmaniasis in a hamster model. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 7845-7850.
48. Aston DL, Thorley AP (1970) Leishmaniasis in Central Brazil: results of a Montenegro skin test survey among Amerindians in the Xingu National Park. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 64: 671-678.
49. Ashford RW (2000) The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *Int J Parasitol* 30: 1269-1281.
50. Rocha LCd, Lorosa NES, Franco AMR (2004) Feeding preference of the sand flies *Lutzomyia umbratilis* and *L. spathotrichia* (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) in an urban forest patch in the city of Manaus, Amazonas, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 571-574.
51. Killick-Kendrick R (1999) The biology and control of Phlebotomine sand flies. *Clin Dermatol* 17: 279-289.
52. Magill AJ (2005) Cutaneous leishmaniasis in the returning traveler. *Infectious Infect Dis Clin North Am* 19: 241-266.

Figure Legends

Figure 1. Study area map. (1) Location of the study area in South America, north of Manaus, Brazil. (2) Biological Dynamics of Forest Fragments Project (BDFFP) field research sites. (3) The rural settlement of Rio Pardo. Dark grey is upland primary forest; light grey represents secondary-forests, deforested land, crops, and other disturbed areas; the continuous line is the BR-174 highway and dashed lines are unpaved roads; the dotted line in panel (2) represents the Pardo River.

Figure 2. Forest cover around households. IKONOS image showing the amount of forest inside 300-m radius buffers around households of Rio Pardo.

Figure 3. Model 1 estimates of cutaneous leishmaniasis incidence in men and women for both populations. Points represent incidence as the estimated mean probability of reporting the disease at one year of individual exposure for male and female settlers and researchers. Vertical lines show 95% confidence bounds of the posterior distribution of incidence.

Figure 4. Cutaneous leishmaniasis incidence in households of Rio Pardo. Points representing households are plotted on the HAND map of vertical distance to the nearest drainage network branch. Black points indicate households without CL cases while red points indicate households with at least one CL report. Darker colors in the HAND background represent relatively damper soils.

Figure 5. Contrasting dwelling conditions at BDFFP and Rio Pardo. (A) Open-walled premises in BDFFP field sites (photo: Gonçalo Ferraz) and (B) typical dwelling in Rio Pardo settlement (photo: Letícia Soares).

Tables

Table 1. Total number (*N*) and percentage of individuals (%) reporting and not reporting CL in Rio Pardo and BDFFP.

	Rio Pardo	BDFFP
	N (%)	N (%)
Reporting CL		
Female	9 (1.40)	5 (4.82)
Male	47 (7.30)	19 (11.45)
Not reporting CL		
Female	256 (39.60)	64 (38.55)
Male	334 (51.70)	75 (45.18)
Total	646 (100)	166 (100)

Table 2. Model 1 parameters, their descriptions, mean estimates, standard deviation and 95% confidence bounds. Asterisks indicate model effect estimates with confidence bounds not overlapping zero.

Parameter	Description	Mean	SD	95% CB	
\bullet_o	Intercept	-1.515	0.407	-2.350	-0.760
\bullet_s	Effect of being male	0.701	0.467	-0.191	1.652
\bullet_T	Effect of one year of exposure	0.757*	0.152	0.465	1.062
\bullet_P	Effect of being from Rio Pardo	-2.373*	0.662	-3.661	-1.136
\bullet_I	Interaction sex \times population	1.187	0.680	-0.095	2.507

Table 3. Model 2 parameters, their descriptions, mean estimates, standard deviation and 95% confidence bounds. Asterisks indicate model effect estimates with confidence bounds not overlapping zero.

Parameter	Description	Mean	SD	95% CB	
\bullet_o	Intercept	-2.499	0.509	-3.603	-1.608
\bullet_s	Effect of being male	0.959	0.585	-0.119	2.184
\bullet_T	Effect of one year of exposure	2.505*	0.866	1.032	4.399
\bullet_E	Interaction sex \times exposure	-1.621*	0.915	-3.592	-0.012

Table 4. Model 3 parameters, their descriptions, mean estimates, standard deviation and 95% confidence bounds. Asterisks indicate model effect estimates with confidence bounds not overlapping zero.

Parameter	Description	Mean	SD	95% CB	
\bullet_o	Intercept	-3.744	0.397	-4.574	-3.020
\bullet_s	Effect of being male	1.458*	0.403	0.710	2.298
\bullet_T	Effect of one year of exposure	0.856*	0.156	0.553	1.167
\bullet_F	Effect of forest	-0.206	0.161	-0.527	0.109
\bullet_H	Effect of soil drainage	0.501*	0.120	0.277	0.751
\bullet_A	Spatial autocorrelation parameter	<0.001	0.296	-0.603	0.564

Figures

Figure 1

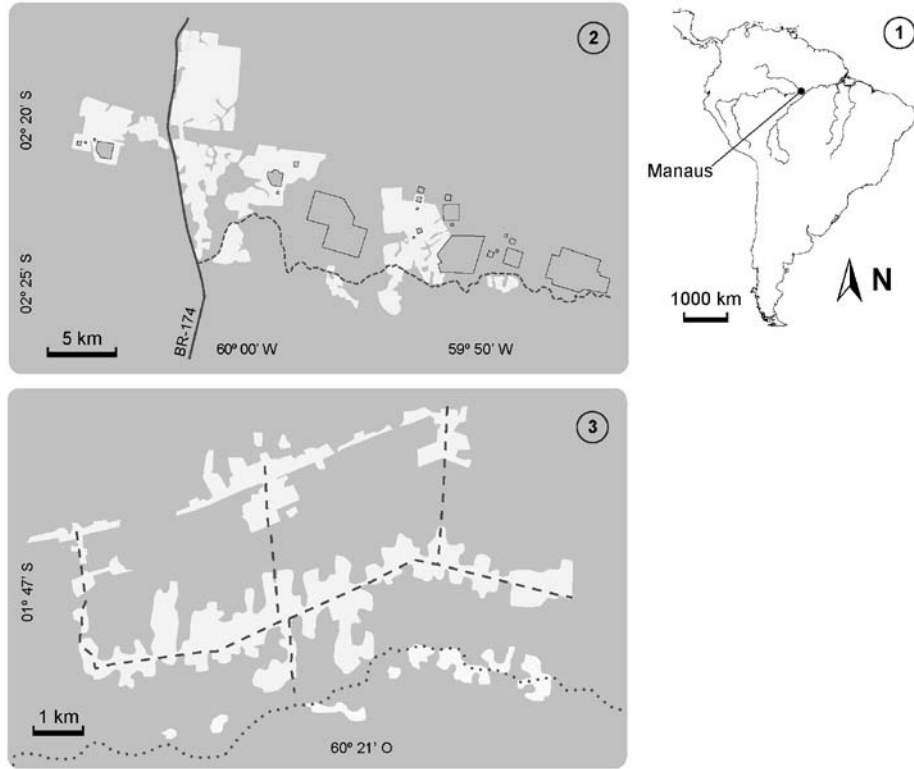


Figure 2

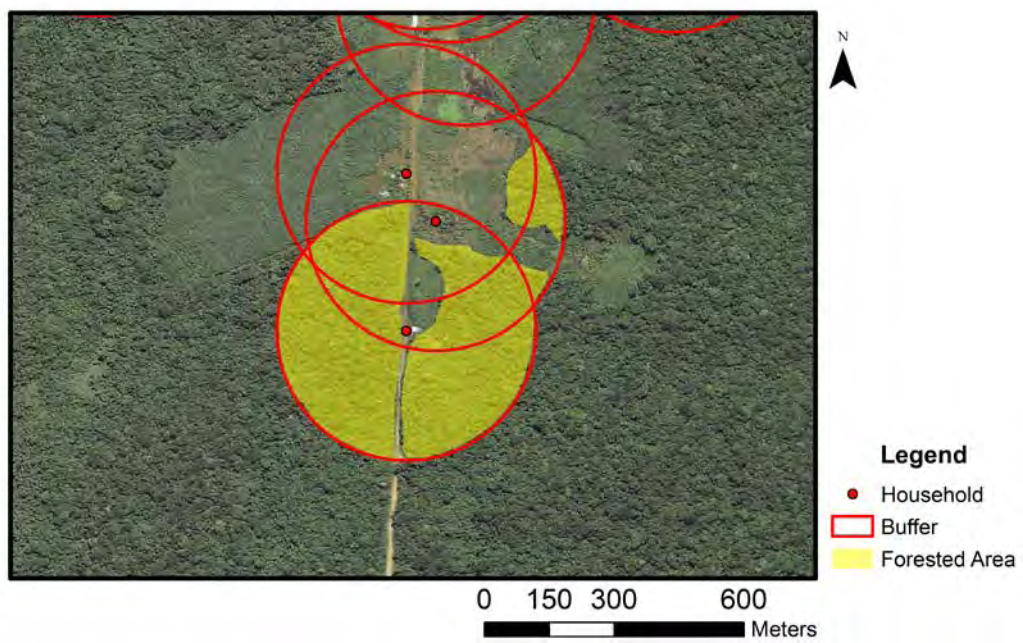


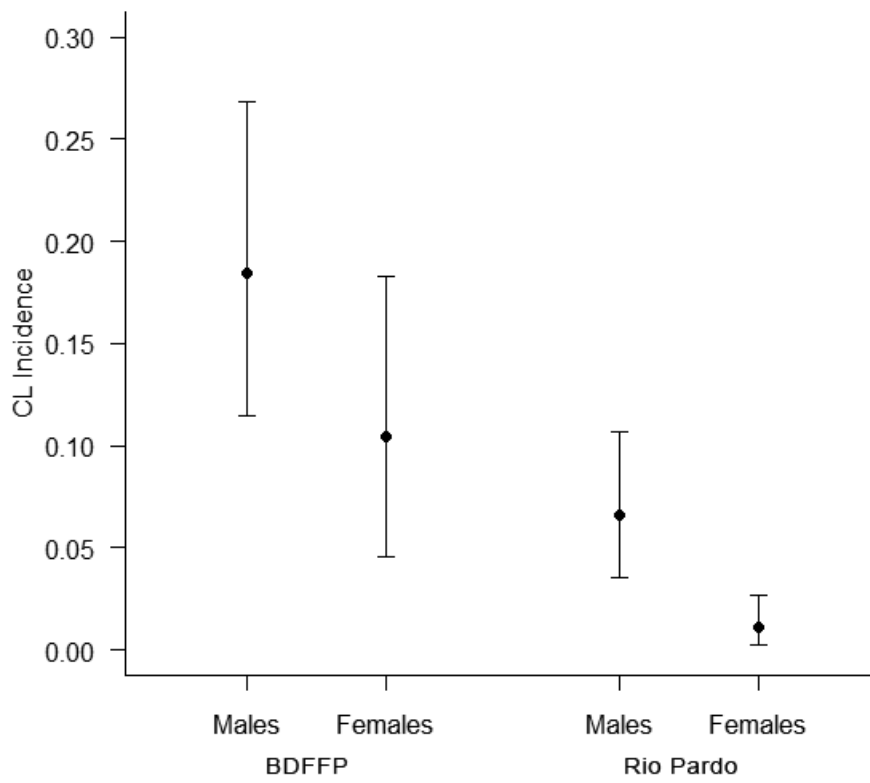
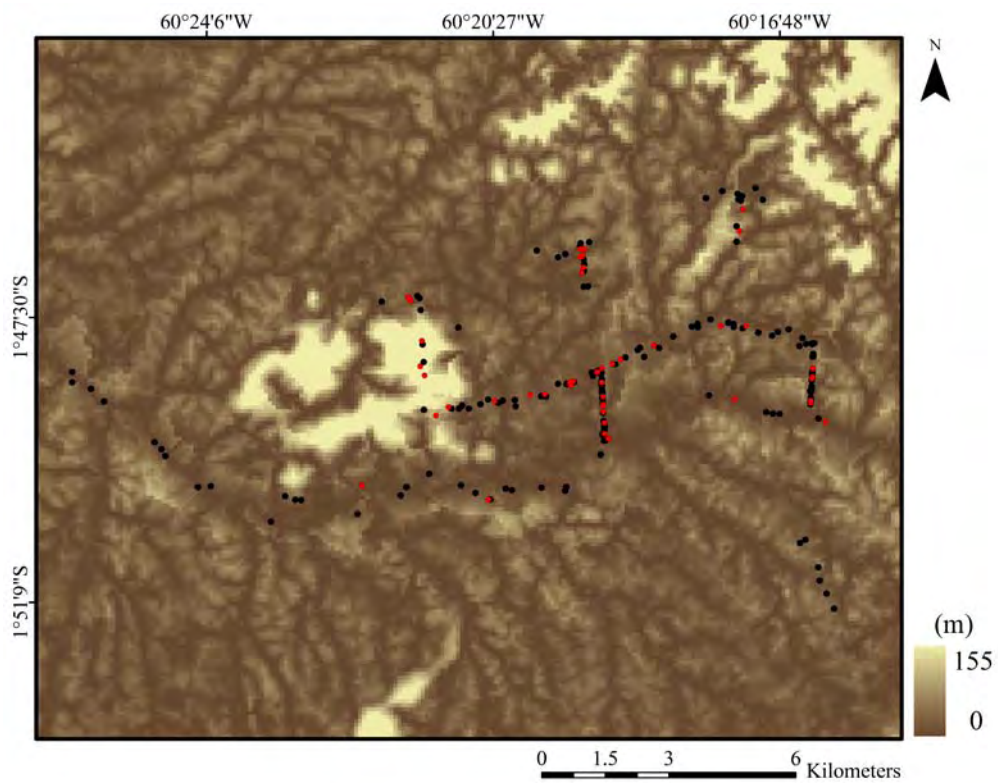
Figure 3**Figure 4**

Figure 5A



Figura 5B



4. Conclusões

O presente estudo forneceu evidências clínico-epidemiológicas de que a incidência LC difere entre os gêneros, sendo que os homens são mais propensos a relatar a doença do que mulheres, nos períodos iniciais de exposição aos habitats do vetor e mesmo quando a exposição é comparável entre os gêneros. Isto sugere que fatores fisiológicos relacionados ao sexo estão envolvidos na epidemiologia clínica de LC na Amazônia Central: quando a exposição é baixa, as mulheres parecem lidar melhor do que os homens com infecções por *Leishmania* e suas conseqüências clínicas. No entanto, quando expostos por longos períodos, homens e mulheres apresentam probabilidade similar de reportar a doença. Foi também evidenciado que pessoas sem exposição *a priori* à habitats florestais estão em maior risco de desenvolver LC, o que é o caso não só de pesquisadores de campo, mas também dos militares, turistas, ou observadores de pássaros. Portanto, para evitar picadas de flebotomíneos, tais grupos devem cumprir rigorosas medidas de proteção individual quando expostos à habitats de floresta. Embora fraco e aparentemente paradoxal, o efeito da proporção de floresta em torno dos domicílios dos assentados rurais merece investigações mais detalhadas. Apesar de no presente estudo não ser encontrada qualquer evidência de aglomeração espacial de casos da doença, a forte associação de casos clínicos reportados de LC com a drenagem do solo sugere um alvo potencial para o mapeamento de áreas de risco da doença.


5. Referências Bibliográficas

- Arias, J. R. e R. A. Freitas.1982. On the vectors of cutaneous leishmaniasis in the Central Amazon of Brasil. 3 . Phlebotomine sand fly stratification in a *terra firme* forest (1). *Acta Amazonica*, v.12, n.3: p.599-608.
- Ashford, R. W.1997. The leishmaniasis as model zoonoses. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, v.91, n.7: p.693 ± 701.
- Brandão-Filho, S. P., D. Campbell-Lendrum, *et al.*1999. Epidemiological surveys confirm an increasing burden of cutaneous leishmaniasis in north-east Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v.93, n.88-494.
- Calvopina, M., R. X. Armijos, *et al.*2004. Epidemiology of leishmaniasis in Ecuador: current status of knowledge - a review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.99, n.7: p.663-672.
- Dia-Eldin a, E. e R. D. Ward.1991. Response of the sandfly *Lutzomyia longipalpis* to an oviposition pheromone associated with conspecific eggs. *Medical and Veterinary Entomology*, v.5, n.87-91.
- Dougherty, M. J., J. G. C. Hamilton, *et al.*1994. Isolation of oviposition pheromone from the eggs of the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. *Medical and Veterinary Entomology*, v.8, n.119-124.
- Guerra, J. A. O., J. A. S. Ribeiro, *et al.*2006. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar na Comunidade São João, Manaus, Amazonas, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v.22, n.11: p.2319-2327.
- Guerra, J. A. O., S. Talhari, *et al.*2003. Clinical and diagnostic aspects of American tegumentary leishmaniasis in soldiers simultaneously exposed to the infection in the Amazon Region. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.36, n.5: p.587-590.
- Killick-Kendrick, R.1990. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Medical and Veterinary Entomology* v.4, n.1-24.
- Klein, S. L.2000. The effects of hormones on sex differences in infection: from genes to behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v.24, n.6: p.627-638.
- Lainson, R.1988. Ecological interactions on the transmission of leishmaniasis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, v.321, n.389-404.
- Liesenfeld, O., T. A. Nguyen, *et al.*2001. Importance of Gender and Sex Hormones in Regulation of Susceptibility of the Small Intestine to Peroral Infection with *Toxoplasma gondii* Tissue Cysts. *The Journal of Parasitology*, v.87, n.6: p.1491-1493.

- Morales-Montor, J., A. Chavarria, *et al.* 2004. Host gender in parasitic infections of mammals: an evaluation of the female host supremacy paradigm. *Journal of Parasitology*, v.90, n.3: p.531-546.
- Morales-Montor, J. e C. Larralde. 2005. The role of sex steroids in the complex physiology of the host-parasite relationship: the case of the larval cestode of *Taenia crassiceps*. *Parasitology*, v.131, n.287-294.
- Morán, E. F. 1990. *Ecologia humana das populações da Amazônia*. Vozes, Petrópolis.
- Mukhopadhyay, A. K., S. J. Rahaman, *et al.* Effect of flood on immature stages of sandflies in a flood-prone kala-azar endemic village of north Bihar, India. World Health Organization. Geneva, p.5. 1990
- Naiff, R. D., T. V. Barrett, *et al.* 1988. Encuesta epidemiológica de Histoplasmosis, Paracoccidioidomicosis y Leishmaniasis mediante pruebas cutaneas. *Boletín Oficial Sanitario Panamericano*, v.104, n.1: p.35-49.
- Owens, I. P. F. 2002. Sex Differences in Mortality Rate. *Science*, v.297, n.2008-2009.
- Pessoa, F. A. C., J. F. Medeiros, *et al.* 2007. Effects of timber harvest on phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a production forest: abundance of species on tree trunks and prevalence of trypanosomatids. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.102, n.5: p.593-599.
- Poulin, R. 1996. Sexual Inequalities in Helminth Infections: A Cost of Being a Male? *The American Naturalist*, v.147, n.2: p.287-295.
- Reithinger, R., J. C. Dujardin, *et al.* 2007. Cutaneous leishmaniasis. *Lancet*, v.7, n.581-596.
- Roberts, C. W., W. Walker, *et al.* 2001. Sex-Associated Hormones and Immunity to Protozoan Parasites. *Clinical Microbiology Reviews*, v.14, n.3: p.476-488.
- Snidera, H., C. Lezama-Davila, *et al.* 2009. Sex hormones and modulation of immunity against Leishmaniasis. *Neuroimmunomodulation*, v.16, n.2: p.106-113.
- Travi, B. L., Y. Osorio, *et al.* 2002. Gender is a major determinant of the clinical evolution and immune response in hamsters infected with *Leishmania* spp. *Infection and Immunity* v.70, n.5: p.2288-2296.
- Wasserberg, G., Z. Abramsky, *et al.* 2002. The ecology of cutaneous leishmaniasis in Nizzana, Israel: infection patterns in the reservoir host, and epidemiological implications. *International Journal for Parasitology*, v.32, n.2: p.133-143.
- Weigle, K. A., C. Santrich, *et al.* 1993. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Colombia: environmental and behavioral risk factors for infection, clinical manifestations, and pathogenicity. *The Journal of Infectious Diseases*, v.168, n.709-714.

Zuk, M. e K. A. Mckean.1996. Sex differences in parasite infections: Patterns and processes.
International Journal for Parasitology, v.26, n.10: p.1009-1024.

APÊNDICE I – Questionário Epidemiológico PDBFF

	<p>PDBFF Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais <small>I N P A - S I</small> Biological Dynamics of Forest Fragments Project</p>
<p>Este questionário de duas páginas faz parte de um estudo sobre fatores de risco de Leishmaniose Cutânea nos sítios de pesquisa do PDBFF. A sua colaboração será muito útil independentemente de você ter ou não contraído a doença. Por gentileza, utilize os campos em cinza para preencher as suas respostas. Em caso de dúvidas ou sugestões, por favor, entre em contato com Letícia Soares no endereço: leishpdbff@gmail.com</p>	
<p>Autorizo o PDBFF a utilizar, para os devidos fins, todas as informações fornecidas por mim neste questionário: <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO</p>	
<p>I. IDENTIFICAÇÃO</p>	
<p>I.1. Nome:</p>	
<p>I.2. Sexo: <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> M</p>	<p>I.3. Data de nascimento: dd / mm / yy</p>
<p>I.4. Escolaridade: <i>(indique a sua maior formação)</i></p>	
<p>I.5. Função desempenhada no PDBFF: <i>(marque todos os apropriados)</i></p> <p><input type="checkbox"/> mateiro <input type="checkbox"/> estagiário (a) <input type="checkbox"/> estudante de pós-graduação <input type="checkbox"/> pesquisador (a)</p>	
<p>II. PERÍODO DE ATIVIDADE NO PROJETO</p>	
<p>II.1. Liste todos os anos nos quais você visitou os sítios de pesquisa do PDBFF.</p>	
<p>II.2. Durante esse período, qual foi o tempo total aproximado que você passou nas áreas de campo do PDBFF? <i>(marque a opção que melhor se aplica)</i></p> <p><input type="checkbox"/> até uma semana <input type="checkbox"/> até um mês <input type="checkbox"/> até quatro meses <input type="checkbox"/> até um ano <input type="checkbox"/> mais de um ano</p>	
<p>III. ATIVIDADES DE CAMPO E EXPOSIÇÃO AOS VETORES</p>	
<p>III.1. Com que grupo de organismos você trabalhou? <i>(caso tenha trabalhado com vários, indique os três mais importantes)</i></p> <p>i. ii. iii.</p>	
<p>III.2. A sua atividade exigia permanência no campo durante a noite (entre as 17:00 e as 7:00)?</p> <p><input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO</p>	
<p>III.3. No campo, você usava alguma medida preventiva contra picadas de insetos?</p> <p><input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO</p>	
<p>III.4. Se SIM, quais medidas? <i>(marque todas as apropriadas)</i></p> <p><input type="checkbox"/> repelente <input type="checkbox"/> blusa de manga comprida <input type="checkbox"/> calça comprida <input type="checkbox"/> outras, especifique:</p>	
<p>IV. LEISHMANIOSE CUTÂNEA</p>	
<p>IV.1. Você pegou leishmaniose cutânea durante o período de trabalho nas reservas do PDBFF?</p> <p><input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO</p>	

Continue respondendo apenas se a sua última resposta for SIM.

V. HISTÓRICO DA DOENÇA

V.1. Você sabe se a sua doença resultou de transmissão nas áreas do projeto?

SIM NÃO

V.2. Se SIM, em qual reserva do projeto aconteceu a transmissão?

V.3. Quando você foi infectado? (*mês/ano*)

V.4. Em qual(is) parte(s) do corpo apareceu(ram) a(s) lesão(ões)?

V.5. Onde foi diagnosticada a sua leishmaniose? (*país / cidade*)

V.6. Qual foi o tratamento utilizado? (*marque todas as apropriadas*)

antimônio pentavalente anfotericina B pentamidina outro, especifique:

V.7. Onde você se tratou? (*país / cidade*)

V.8. Quanto tempo durou o tratamento?

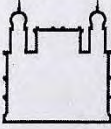
OBSERVAÇÕES ADICIONAIS

(Caso deseje, por favor, utilize o espaço abaixo para escrever comentários, sugestões ou observações adicionais)

Obrigado por investir seu tempo respondendo a este questionário.

Para informações e atualizações sobre este projeto, visite www.pdbff.inpa.gov.br | <http://leishpdbff.blogspot.com/> .

APÊNDICE II – Questionário Epidemiológico Rio Pardo

	Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz Instituto Leônidas e Maria Deane	INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO DA MALÁRIA EM RIO PARDO – P. FIGUEIREDO
Identificação		
Nome Completo _____		Indivíduo N° _____
N° SIVEP _____	Idade _____	Data nascimento ____/____/____
		Sexo <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F
Ramal _____	UD n° _____	Data: _____ / 06/2009
Favor não deixar nenhuma questão em branco		
Estado Civil	<input type="checkbox"/> Solteiro <input type="checkbox"/> Casado <input type="checkbox"/> Viúvo <input type="checkbox"/> Separado <input type="checkbox"/> União consensual	Código (não preencher)
Há quanto tempo você reside em Rio Pardo?	<input type="checkbox"/> _____ anos _____ meses <input type="checkbox"/> Não sabe / lembra	
Você já pegou leishmaniose alguma vez? <i>[Citar os nomes populares da doença como leish ou ferida brava]</i>	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sabe	
Você fez tratamento médico para leishmaniose? <i>[Marque a quadricula correspondente à resposta do entrevistado]</i>	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> Não se aplica	
Como era o medicamento usado? <i>[Marque a quadricula correspondente à resposta do entrevistado]</i>	<input type="checkbox"/> Comprimidos <input type="checkbox"/> Injeções <input type="checkbox"/> Pomada <input type="checkbox"/> Outro: _____ <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> Não se aplica	
Quando apareceu a lesão (mês/ ano)? <i>[Aqui refere-se a quando ocorreu o diagnóstico]</i>	<input type="checkbox"/> ____/____ <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> Não se aplica	

ANEXO I – Ficha do exame clínico feito em Rio Pardo



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
 Fundação Oswaldo Cruz
 Instituto Leônidas e Maria Dienes

EXAME CLÍNICO

Rio Pardo / P. Figueiredo

Identificação

Nome Completo _____ Indivíduo N° _____
 N° Questionário _____ Idade _____ Data nascimento ____/____/____ Sexo M F


Anamnese

Sintomas nas últimas 48 horas	Ausente	Leve	Moderado	Intenso
Febre				
Calafrios				
Sudorese				
Dor nas costas				
Dor no corpo				
Fraqueza				
Dor na barriga				
Diarreia				
Enjôos				
Vômitos				
Falta de apetite				
Dor de cabeça				
Tontura				
Tosse				
Falta de ar				
Alteração cor da urina				

Exame físico

Temperatura _____ °C	Pulso _____ bpm	PA _____ mmHg
Mucosas () Normocoradas () Hipocoradas	Icterícia () Sim () Não	Lesões / Cicatrizes (LTA) () Não () Sim [descrever nº e local]
Fígado _____ cm do RCD	Baço _____ cm do RCE	
_____ de junho de 2009.	Médico _____	

ANEXO II – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Leônidas e Maria Deane

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pedimos sua autorização para realizar um exame médico e preencher um formulário contendo perguntas sobre malária, leishmaniose e viroses e sobre as atividades e hábitos que poderiam ajudar a entender como essas doenças acontecem na sua região.

Pedimos também autorização para coletar sangue da sua veia, que será utilizado para o diagnóstico e atividades de pesquisa sobre estas doenças transmitidas por insetos, que são comuns em Rio Pardo. Se você autorizar esta coleta, seu sangue será examinado para averiguar se você tem ou não o parasito que causa a malária e se você teve alguma vez a virose causada por um vírus chamado Mayaro (que causa dor de cabeça, dor de corpo, dor nas juntas e, às vezes, erupção na pele). O sangue que não for usado será guardado na coleção de soros do laboratório da FIOCRUZ, em Manaus. Esta coleta de sangue poderá causar uma leve dor e/ou uma pequena mancha roxa que desaparecerá em 3 a 4 dias.

Mesmo após sua autorização, você terá o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, independentemente do motivo e sem prejuízo do atendimento fornecido pela equipe.

Você não terá nenhuma despesa e também nenhuma remuneração.

Você será informado pessoalmente dos resultados dos exames e receberá orientação e, se for necessário, será tratado pela equipe ou encaminhado para o sistema de saúde local.

Ao auxiliar na realização deste estudo, você ajudará no fornecimento de informações para a prevenção das doenças estudadas.

Os resultados serão analisados e divulgados em relatórios e artigos científicos; a equipe do projeto também realizará atividades de divulgação dos resultados na própria comunidade. Contudo, sua identidade será mantida em sigilo para sempre, e não aparecerá em nenhum relatório, artigo ou qualquer outro meio de divulgação.

Se você quiser saber mais detalhes e os resultados da pesquisa, pode fazer contato com os pesquisadores Paulo Afonso Nogueira ou Sergio Luiz Bessa Luz pelo telefone (92) 3621-2304 ou 3621 2337 ou diretamente na FIOCRUZ à Rua Teresina 476, Adrianópolis, Manaus.

Eu, _____, por me considerar devidamente informado e esclarecido sobre o conteúdo deste documento e da pesquisa a ser desenvolvida, livremente dou meu consentimento para a minha inclusão como participante da pesquisa DINÂMICA DAS INFECÇÕES MALÁRICAS EM COMUNIDADE RIBEIRINHA DO AMAZONAS EXPOSTA À MALARIA SOB O ASPECTO DE MARCADORES MOLECULARES DE PARASITAS E DO POLIMORFISMO DE PROTEINAS CANDIDATAS A VACINAS e atesto que me foi entregue uma cópia deste documento.

Rio Pardo, ____ de junho de 2009.

Assinatura do paciente ou responsável:

DIGITAL

ANEXO III – Parecer do Conselho de Ética em Pesquisa do INPA



CEP- INPA
INSTITUTO NACIONAL DE
PESQUISAS DA AMAZÔNIA

**PARECER CONSUBSTANCIADO SOBRE PROTOCOLOS DE
PESQUISAS COM SERES HUMANOS**

IDENTIFICAÇÃO DO PROTOCOLO

Protocolo de Pesquisa n°:	206/09	Data de entrada:	30/03/2009
Título do Projeto:	A influência do comportamento, do espaço e do tempo na ocorrência de leishmaniose cutânea em duas populações humanas na Amazônia Central.		
Áreas do Conhecimento:	2. Ciências Biológicas		
Grupo Temático:	Grupo III		
Data de Início:	06/09	Data de Término:	03/2010
		Valor Orçamento:	RS 3.297,00
Pesquisador Responsável:	Letícia de Souza Soares		
Financiamento:	Não:	Sim:	x
		Órgão:	Inst.Leônidas e M ^o Deane-Fund.OswaldoCruz
Currículos no CNPq:	todos		
Currículos anexos ao Projeto:	nenhum		
Instituição Responsável:	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA		
Resumo do Projeto:	<p>A leishmaniose cutânea (LC) é uma doença que causa a perda de mais de dois milhões de anos vida saudável em toda a população mundial. É uma doença associada a ambientes silvestres e áreas de ocupação humana recente. Os fatores de risco (i. e. características que aumentam a chance de aquisição do parasita) da LC podem ser organizados em três grupos principais, um comportamental, um espacial e um temporal. Nesse sentido, este estudo pretende elucidar estratégias de prevenção para a LC analisando comparativamente um conjunto de possíveis fatores de risco em duas populações humanas da Amazônia central, os assentados rurais de Rio Pardo, a norte da cidade de Manaus, estado do Amazonas e a população de pesquisadores do Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais (PDBFF). As hipóteses testadas serão: (1) a prevalência de LC em humanos é influenciada por comportamentos que aumentam o contato com o ambiente silvestre; (2) a prevalência de LC será maior no grupo de pessoas que exercem atividades em horários noturnos ou crepusculares; (3) a espacialização dos casos de LC deve estar relacionada à disponibilidade de floresta; (4) há períodos de maior incidência da doença e esses estão relacionados aos períodos de condições meteorológicas propícias para o vetor. Coletarei os dados de prevalência/incidência da LC utilizando questionários que serão aplicados em todos os domicílios de Rio Pardo e para todos os pesquisadores, técnicos e auxiliares de campo que passaram pelo PDBFF desde 1979, ano de início do projeto. Os fatores de risco elucidados neste estudo irão auxiliar na prevenção e no controle da doença em populações que vivem áreas de contato com o ambiente silvestre e em pessoas que entram em contato esporádico com esse tipo de habitat, como pesquisadores e turistas.</p>		

Letícia

Objetivos (conforme Projeto de Pesquisa)

4. OBJETIVOS, METAS E INDICADORES QUANTITATIVOS PARA CADA META (acrescentar ou excluir linhas conforme necessidade).		
OBJETIVOS	METAS	Indicador Quantitativo
1. Analisar a influência de alguns fatores de risco na prevalência/incidência de leishmaniose cutânea na Amazônia central.	1. Analisar se a prevalência de LC em humanos é influenciada por comportamentos que aumentam o contato com o ambiente silvestre.	Número de casos de leishmaniose cutânea
	2. Inferir se há horários de risco para o transmissão de leishmaniose cutânea.	Número de casos de leishmaniose cutânea
	3. Analisar se a disponibilidade de mata primária no entorno da área domiciliar influencia na prevalência de leishmaniose cutânea.	Número de casos de leishmaniose cutânea
	4. Observar se há períodos de maior incidência da doença e esses estão relacionados aos períodos de condições meteorológicas propícias para o vetor.	Número de novos casos de leishmaniose cutânea a cada ano

PARECER FINAL


Após análise por pareceristas e membros do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do INPA, informo-lhe que seu protocolo teve a indicação de **APROVAÇÃO**.

Indicação: Aprovar
Comentários: Protocolo com projeto de valor científico e social e atende as exigências da Resolução CNS/MS 196/96 e suas complementares. Os sujeitos da pesquisa responderão a um questionários sobre suas atividades em área geográfica denominada de rio Pardo localizado ao Norte da cidade de Manaus, assim como também os pessoas que fazem ou fizeram atividades dentro de projetos de pesquisa do Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais (PDBFF).

Informo-lhe que deverá apresentar ao CEP-INPA, ao final da pesquisa, cópia da monografia prevista como produto do projeto, que servirá como relatório de conclusão da pesquisa. Assim, e conforme cronograma apresentado no protocolo, solicitamos que a mesma seja entregue até junho de 2010.

Data de liberação do Parecer: 19/05/2009 na 46ª Reunião Ordinária do CEP-INPA.

Atenciosamente,


Dra. Júlia Agnes do N. Salem José
Coordenadora do CEP-INPA
PO, Nº 225/2003

ANEXO IV – Parecer Dr. Richard Reithinger



Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA
Programa de Pós-graduação em Ecologia



Avaliação de dissertação de mestrado

Título: Fatores de risco de leishmaniose cutânea em duas populações humanas da Amazonha Central

Aluno: LETÍCIA DE SOUZA SOARES

Orientador: Gonçalo Ferraz

Co-orientador: Fernando Abad-Franch

Avaliador: Richard Reithinger

Por favor, marque a alternativa que considerar mais apropriada para cada item abaixo, e marque seu parecer final no quadro abaixo

	Muito bom	Bom	Necessita revisão	Reprovado
Relevância do estudo	()	(X)	()	()
Revisão bibliográfica	()	(X)	()	()
Desenho amostral/experimental	()	(X)	()	()
Metodologia	()	(X)	()	()
Resultados	()	(X)	()	()
Discussão e conclusões	()	(X)	()	()
Formatação e estilo texto	()	(X)	()	()
Potencial para publicação em periódico(s) indexado(s)	()	(X)	()	()

PARECER FINAL

() Aprovada

(X) Aprovada com correções (indica que as modificações mesmo extensas podem ser incluídas a juízo do orientador)

() Necessita revisão (indica que há necessidade de uma reformulação do trabalho e que o revisor quer avaliar a nova versão do trabalho antes de emitir uma decisão final)

() Reprovada (indica que o trabalho não tem o nível de qualidade adequado para uma tese)

Addis Ababa

June 4, 2010

Local

Data

Assinatura

Comentários e sugestões podem ser enviados como uma continuação desta ficha, como arquivo separado ou como anotações no texto impresso ou digital da tese. Por favor, envie a ficha assinada, bem como a cópia anotada da tese e/ou arquivo de comentários por e-mail para pgecologia@gmail.com e claudiakeller23@gmail.com ou por correio ao endereço abaixo. O envio por e-mail é preferível ao envio por correio. Uma cópia digital de sua assinatura será válida.

Endereço para envio de correspondência:

Claudia Keller
DCEC/CPEC/INPA
CP 478
69011-970 Manaus AM
Brazil

MAJOR COMMENTS

1. The rationale for the study as well as the discussion with regards to gender / sex as well as soil drainage, and the role these factors play in CL risk is clearly presented. The topic is well worth investigating.
2. The study design and methodology are adequate for a defined project, such as an MSc thesis, but could be significantly improved were more time available.
3. Unfortunately, I cannot agree with the conclusion of the study that the 'findings strongly suggest that increased odds of infection...Leishmania immunity.' [Page 24], as too many factors that could affect risk have –in my view– not been included in the model. Looking at one environmental variable and gender / sex only is ignoring the possible relationship of infection with a host of other explanatory variables. Other possible risk factors include clinico-pathological (e.g. lesion location; presence of sandfly antibodies); genetic (e.g. ethnic origin; presence of genes controlling CL susceptibility); parasite (e.g. strain genetics); socio-demographic (e.g. migratory pattern); household characteristics (e.g. openness of house; presence of household animals); other environmental factors (e.g. abundance and density of *L. guyanensis*-infected animal reservoirs). From a study design / next steps perspective I would suggest to carry out a study that would include a full risk factor analysis, and then looking at the gender / sex angle relationship adjusting analyses for all significant associations found in the full risk factor analysis. Leishmaniasis is an extremely complex group of diseases, and one would have to exert caution taking variables from other endemic settings (particularly from foci [on other continents] where other species are transmitted).
4. To follow-up on one point: drainage may predict exposure to sandflies, but not exposure to infected sandflies.
5. I would recommend an extended discussion of study caveats is carried out (see above) [some are already included, e.g. openness of BDFPP houses vs rural settler houses; exposure to sandfly bites; survey bias].
6. A key question emerges from the findings: what relevance do they have for leishmaniasis prevention and control? For example, could drainage (and other) data be used to predict (and map) risk of infection?

MINOR COMMENTS

Throughout thesis

7. A list of abbreviations as well as a list of Tables and Figures could be added to the Table of Contents.
8. Wording: the use of the word 'gender' implies a socio-behavioral connotation, make sure that when you use the word you intend this meaning and not 'sex' (i.e. male vs female).
9. Make sure that once an abbreviation is used, it is used throughout, e.g. CL is abbreviated, but then again spelled out [Page 16]
10. Wording: 'phlebotomine sandflies' rather than 'Phlebotominae sandflies' [e.g. Page 16], and 'sandflies' rather than 'Phlebotominae' should be used [e.g. Page 17]

Chapter 3 Introduction

11. Spelling: 'Cystocercocis' [Page 15]
12. For readers not familiar with the disease, it should be mentioned that CL is a zoonotic, mostly sylvatic disease. This is a driving factor of vector exposure, i.e. with men or women pursuing activities in the forest having a greater risk of infection and disease.
13. Spelling 'each' [Page 17]

Chapter 3 Methods

14. It was not clear whether IRB approval had been obtained.
15. Please specify how data was managed and how it was entered in study databases, and by whom.
16. It is mentioned that both active lesion [Page 19] and scar [Page 20] data was obtained – did analyses include data on both, or where separate analyses done?
17. For the reader not familiar with leishmaniasis, the treatment approach for *L. guyanensis* should be described in detail [Page 19], e.g. '...at least 20 injections with pentavalent antimony..'
18. Both questionnaires used in Rio Pardo and BDFPP surveys could be included in an Appendix.
19. To my understanding, disease data from Rio Pardo was collected through an active case detection survey whereas data for BDFPP was done through a retrospective survey – (i) please

comment how comparable data from these two types of surveys is; and (ii) was (incidence) data from the BDFPP annualized?

Chapter 3 Results

20. Please present full data on clinical characteristics of Rio Pardo and BDFPP cases, i.e. age, lesions, scars, size of lesions / scars, duration of lesions / scars, location of lesions / scars, time of residence.
21. The analyses suggest no case clustering, which again confirm sylvatic, zoonotic transmission of *Leishmania* (see above).

ANEXO V – Parecer Dr. Aloísio Falqueto



Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA
Programa de Pós-graduação em Ecologia



Avaliação de dissertação de mestrado

Título: Fatores de risco de leishmaniose cutânea em duas populações humanas da Amazonha Central

Aluno: LETÍCIA DE SOUZA SOARES

Orientador: Gonçalo Ferraz

Co-orientador: Fernando Abad-Franch

Avaliador: Aloísio Falqueto

Por favor, marque a alternativa que considerar mais apropriada para cada item abaixo, e marque seu parecer final no quadro abaixo

	Muito bom	Bom	Necessita revisão	Reprovado
Relevância do estudo	()	(X)	()	()
Revisão bibliográfica	()	(X)	()	()
Desenho amostral/experimental	(X)	()	()	()
Metodologia	(X)	()	()	()
Resultados	()	(X)	()	()
Discussão e conclusões	()	(X)	()	()
Formatação e estilo texto	()	(X)	()	()
Potencial para publicação em periódico(s) indexado(s)	()	(X)	()	()

PARECER FINAL

() **Aprovada**

(X) **Aprovada com correções** (indica que as modificações mesmo extensas podem ser incluídas a juízo do orientador)

() **Necessita revisão** (indica que há necessidade de uma reformulação do trabalho e que o revisor quer avaliar a nova versão do trabalho antes de emitir uma decisão final)

() **Reprovada** (indica que o trabalho não tem o nível de qualidade adequado para uma tese)

Vitória, 02 de Junho de 2010
Local Data

Aloísio Falqueto
Assinatura

Comentários e sugestões podem ser enviados como uma continuação desta ficha, como arquivo separado ou como anotações no texto impresso ou digital da tese. Por favor, envie a ficha assinada, bem como a cópia anotada da tese e/ou arquivo de comentários por e-mail para pgecologia@gmail.com e claudiakeller23@gmail.com ou por correio ao endereço abaixo. O envio por e-mail é preferível ao envio por correio. Uma cópia digital de sua assinatura será válida.

Endereço para envio de correspondência:

Claudia Keller
DCEC/CPEC/INPA
CP 478
69011-970 Manaus AM
Brazil

ANEXO VI – Parecer Dra. Ana Rabello



INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZONIA - INPA
Programa de Pós-graduação em Ecologia



Avaliação de dissertação de mestrado

Título: Fatores de risco de leishmaniose cutânea em duas populações humanas da Amazônia Central	
Aluno: LETÍCIA DE SOUZA SOARES	
Orientador: Gonçalo Ferraz	Co-orientador: Fernando Abad-Franch

Avaliador: Ana Rabello

Por favor, marque a alternativa que considerar mais apropriada para cada item abaixo, e marque seu parecer final no quadro abaixo

	Muito bom	Bom	Necessita revisão	Reprovado
Relevância do estudo	(X)	()	()	()
Revisão bibliográfica	(X)	()	()	()
Desenho amostral/experimental	()	(X)	()	()
Metodologia	()	(X)	()	()
Resultados	(X)	()	()	()
Discussão e conclusões	()	(X)	()	()
Formatação e estilo texto	()	()	(X)	()
Potencial para publicação em periódico(s) indexado(s)	()	(X)	()	()

* Observações como continuação da ficha

PARECER FINAL
() Aprovada
(X) Aprovada com correções (indica que as modificações mesmo extensas podem ser incluídas à juízo do orientador)
() Necessita revisão (indica que há necessidade de uma reformulação do trabalho e que o revisor quer avaliar a nova versão do trabalho antes de emitir uma decisão final)
() Reprovada (indica que o trabalho não tem o nível de qualidade adequado para uma tese)

Belo Horizonte

Local

08/06/2010

Data

Assinatura

Comentários e sugestões podem ser enviados como uma continuação desta ficha, como arquivo separado ou como anotações no texto impresso ou digital da tese. Por favor, envie a ficha assinada, bem como a cópia anotada da tese e/ou arquivo de comentários por e-mail para pgecologia@gmail.com e claudiakeller23@gmail.com ou por correio ao endereço abaixo. O envio por e-mail é preferível ao envio por correio. Uma cópia digital de sua assinatura será válida.

Endereço para envio de correspondência:

Claudia Keller
DCEC/CPEC/INPA
CP 478
69011-970 Manaus AM
Brazil

Observações gerais:

Considere o trabalho bastante relevante. A diferença de manifestação de doença entre homens e mulheres na leishmaniose cutânea (assim como na visceral) é tema ainda não bem esclarecido na literatura e merece investigação como esta. O trabalho está bem apresentado e merecem parabéns a mestranda e seu orientador por um trabalho de conclusão de mestrado com potencial de publicação em periódico de circulação internacional.

Tenho uma observação geral que se refere à Introdução da dissertação. Não estou certa sobre as exigências do Programa, mas entendo que a Introdução da dissertação deveria ser mais ampla do que a da publicação. Neste trabalho, a Introdução é bastante semelhante à introdução do artigo, praticamente a tradução. Se este for o formato sugerido pelo Programa, não há necessidade de alterações, mas o trabalho fica repetitivo. Há necessidade de revisão de gramática e estilo do texto em português, envio por correio, anotações feitas à mão, durante a leitura.

Uma preocupação metodológica que merece atenção e discussão é a possibilidade das mulheres de ambos os grupos de estudo, terem menor exposição corporal a picadas de insetos do que os homens. Esta poderia ser uma possível variável não medida e não considerada, que explicaria as diferenças observadas. As mulheres tendem a ter mais áreas de superfície corporal cobertas, por razões culturais. Os homens frequentemente têm o tórax completamente exposto, por exemplo, o mesmo em relação a outras partes do corpo.

Os demais aspectos, como a exposição de assentados rurais ser mais prolongada e por isto mais protetora e as duas variáveis ambientais foram bem abordadas.

Por último, gostaria de lembrar que não temos indicadores de infecção e o que está sendo medido é a doença e não a infecção que em alguns momentos são usadas como sinônimos. É possível que os dois gêneros tenham susceptibilidade igual à infecção e apenas frequência de adoecimento diferentes ou, que se infectem com diferentes frequências.

Tive dificuldade de entender a legenda e a figura 1. Outras observações menores também seguem no texto que segue por correio.

Agradeço a oportunidade de revisar o trabalho e desejo sucesso a Leticia!

Atenciosamente,

Ana Rabello

ANEXO VII – Ata da aula de qualificação



AULA DE QUALIFICAÇÃO

PARECER

Aluno(a): LETÍCIA DE SOUZA SOARES
 Curso: ECOLOGIA
 Nível: MESTRADO
 Orientador(a): GONÇALO FERRAZ
 Co-Orientador(a): FERNANDO ABAD-FRANCH

Título:

"Fatores de risco de Leishmaniose cutânea em duas populações humanas da Amazônia central".

BANCA JULGADORA:**TITULARES:**

Eduardo Venticinquê (WCS)
 Toby Barret (INPA)
 Felipe Pessoa (FIOCRUZ)

SUPLENTE:

Eloy Bermúdez (INPA)
 Victor Py-Daniel (INPA)

EXAMINADORES	PARECER	ASSINATURA
Eduardo Venticinquê (WCS)	<input checked="" type="checkbox"/> Aprovado () Reprovado	
Toby Barret (INPA)	<input checked="" type="checkbox"/> Aprovado () Reprovado	
Felipe Pessoa (FIOCRUZ)	<input checked="" type="checkbox"/> Aprovado () Reprovado	
Eloy Bermúdez (INPA)	() Aprovado () Reprovado	_____
Victor Py-Daniel (INPA)	() Aprovado () Reprovado	_____

Manaus(AM), 27 de março de 2009

OBS: _____

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA TROPICAL E RECURSOS NATURAIS - PPG BTRN
 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA PPG-ECO/INPA

Av. Efigênio Sales, 2239 - Bairro: Adrianópolis - Caixa Postal: 478 - CEP: 69.011-970, Manaus/AM.

Fone: (+55) 92 3643-1909
 site: <http://pg.inpa.gov.br>

Fax: (+55) 92 3643-1909
 e-mail: pgeco@inpa.gov.br

ANEXO VIII – Ata da defesa pública



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DO INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA.

Aos 09 dias do mês de julho do ano de 2010, às 09:00 horas, no Mini-Auditório da Casa da Ciência do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia INPA, reuniu-se a Comissão Examinadora de Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: **Dr. Eduardo Martins Venticinqu**, da Universidade Federal do Amazonas, **Dr. Toby Vincent Barrett**, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, **Dr. Felipe Pessoa**, da Fundação Oswaldo Cruz, tendo como suplentes a Dra. Beatriz Ronchi Teles, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e o Dr. Renato Cintra Soares, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, sob a presidência do(a) primeiro(a), a fim de proceder a argüição pública da **DISSERTAÇÃO DE MESTRADO** de **LETÍCIA DE SOUZA SOARES**, intitulada "Fatores de risco de leishmaniose cutânea em duas populações humanas da Amazônia Central", orientada pelo Dr. Gonçalo Ferraz, do Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais PDBFF/Smithsonian Institute, e co-orientada pelo Dr. Fernando Abad-Franch, da Fundação Oswaldo Cruz.

Após a exposição, o(a) discente foi argüido(a) oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final:

APROVADO(A) REPROVADO(A)
 POR UNANIMIDADE POR MAIORIA

Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Dr(a). Eduardo Martins Venticinqu

Dr(a). Toby Vincent Barrett

Dr(a). Felipe Pessoa

Coordenação do PPG-ECO/INPA

CLAUDIA KELLER

Coordenação de Capacitação do INPA