

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Prevalência de Anticorpos IgG anti-*Leishmania amazonensis*
em cães dos municípios de Uberlândia e Araguari – MG**

Favi Ribeiro

Monografia apresentada à Coordenação do Curso
de Ciências Biológicas, da Universidade Federal
de Uberlândia, para a obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia – MG
Fevereiro – 2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Prevalência de Anticorpos IgG anti-*Leishmania amazonensis*
em cães dos municípios de Uberlândia e Araguari – MG**

Favi Ribeiro

Prof^ª. Dra. Janethe Deolina de Oliveira Pena

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia – MG
Fevereiro – 2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

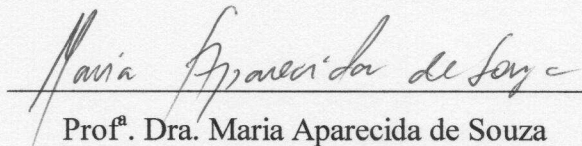
**Prevalência de Anticorpos IgG anti-*Leishmania amazonensis*
em cães dos municípios de Uberlândia e Araguari – MG**

Favi Ribeiro

Aprovado Pela Banca Examinadora Em 25/02/03 Nota 100



Prof^a. Dra. Janethe Deolina de Oliveira Pena



Prof^a. Dra. Maria Aparecida de Souza

Prof^a. MSc. Dagmar Diniz Cabral

Uberlândia, 25 de fevereiro de 2003.

RESUMO

A leishmaniose é uma importante zoonose que envolve secundariamente o homem. O objetivo deste trabalho foi o de investigar a prevalência de anticorpos IgG anti-*Leishmania amazonensis* em cães das zonas urbana, periurbana e rural nos municípios de Uberlândia e Araguari-MG, utilizando-se o teste imunoenzimático (ELISA). Foram analisadas amostras de soros de 169 cães, sendo 27 (16%) da zona urbana, 69 (41%) da zona periurbana, 46 (27%) da zona rural de Uberlândia e 27 soros (16%) provenientes do município de Araguari, MG. Nossos resultados demonstraram uma soroprevalência de cerca de 22%, sendo que na zona rural esta prevalência chegou a 37% dos cães examinados. Os resultados deste trabalho demonstram que a leishmaniose tegumentar ainda é uma doença ativa na região de Uberlândia, sugerindo a necessidade de melhor controle sanitário e planejamento ambiental para evitar que a doença se espalhe nas zonas urbana e periurbana da região estudada.

PALAVRAS-CHAVE: Leishmaniose tegumentar, cães, sorodiagnóstico

INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é uma doença infecciosa, não contagiosa, causada por protozoários do gênero *Leishmania*, que acomete pele e mucosas¹². *Leishmania* são tripanossomatídeos dimórficos (amastigota e promastigota) que, em sua forma amastigota, parasitam mamíferos, inclusive o homem²⁴. A doença é caracterizada pelo polimorfismo lesional, comprometendo a pele, comumente manifestando-se como uma lesão ulcerada, única ou múltipla, medindo entre 3 a 12 cm de diâmetro, com bordas elevadas, base granulosa e sangrante, freqüentemente associada à infecção bacteriana secundária²⁵. O período de incubação da doença é em média dois meses, podendo variar de duas semanas a dois anos¹².

A LTA é uma zoonose que envolve secundariamente o homem. Geralmente está associada ao desequilíbrio ambiental ocasionado pelos desmatamentos, sendo também encontrada em áreas de colonização antiga, onde cães, eqüinos e roedores presentes funcionam como reservatórios do agente etiológico⁵. A doença distribui-se amplamente no continente americano, estendendo-se desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina. No Brasil tem sido notificada em todos os estados, constituindo, portanto, uma das afecções dermatológicas que merece maior atenção, devido à magnitude da doença, bem como pelo risco de ocorrência de deformidades que pode produzir no homem¹².

Pedroso (1913) e Brumpt e Pedroso (1913), foram os primeiros a observarem a participação de cães no ciclo epidemiológico da LTA no Brasil. Desde então, vários autores confirmaram casos de leishmaniose canina, assim como regiões endêmicas em todo o país^{4,7,8,10,11,19,22}.

Barbosa Santos *et al.* (1998), ao realizarem estudos em população canina do estado do Rio de Janeiro, detectaram a prevalência da infecção por LTA, avaliada pelo teste cutâneo e pela

imunofluorescência indireta, em 40,5% e 25,5%, respectivamente. Demonstraram ainda que a utilização de ambas as reações, cutânea e sorológica, são úteis como instrumento de diagnóstico epidemiológico em áreas endêmicas.

Após um surto de LTA humana, ocorrido em 1987-1988 na região do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, em Minas Gerais, Afonso-Cardoso *et al.* (1989) demonstraram, através da reação de imunofluorescência indireta, que 22,52% dos 111 cães foram soro-reagentes para *Leishmania*. Sendo assim, comprovaram que a infecção canina é ativa na região, reforçando a importância do cão como reservatório, o qual contribui para a disseminação e formação de novos focos da endemia humana. Em outro relato, Maywald (1995) demonstrou a presença de 4,8% e 5,6% de soro-reagentes em 230 e 89 cães examinados dos municípios de Uberlândia – MG e Coromandel – MG, respectivamente.

Por se tratar de uma doença endêmica na região e, visto que a ocorrência de casos humanos autóctones foram constatados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia no ano de 2002, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a presença de anticorpos IgG anti-*Leishmania* em cães capturados aleatoriamente nas zonas urbana, periurbana e rural do município de Uberlândia – MG e no município de Araguari – MG.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos soros caninos

As amostras de sangue dos cães foram coletadas, por punção venosa, com consentimento do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia, Associação Protetora dos Animais, Centro Regional de Controle de Zoonoses e de residentes da zona rural. Foram analisadas 169 amostras de soros de cães, sendo 27 (15.98%) da zona urbana, 69 (40.82%) da zona periurbana, 46 (27.22%) da zona rural do município de Uberlândia – MG e 27 (15.98%) do município de Araguari – MG (Centro de Controle de Zoonoses). Os soros foram devidamente identificados e armazenados a -20° C até o momento do uso.

Preparação do antígeno

Formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (Cepa IFLA/BR69/PH8) foram obtidas de cultura axênica em meio BHI (Brain Heart Infusion) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SBF, Gibco BRL Life Technologies, Gaithersburg, MD), 2 mM de L-glutamina (Sigma Chemical Company St. Lois, MO), 0,1 mM de aminoácidos não essenciais (Sigma), 100 µg/ml de estreptomicina sulfatada (Sigma) e 5×10^{-5} M de 2-mercaptoetanol (Sigma), na fase estacionária. Os parasitos foram lavados três vezes por centrifugação (Eppendorf Centrifuge 5804R), a $2.200 \times g$ a 4° C, por 15 minutos, em solução salina balanceada de Hank's – HBSS (4 g de NaCl, 100 mg de CaCl_2 , 200 mg de KCl, 50 mg de KH_2PO_4 , 635 mg de bicarbonato de sódio e 1 g de glicose por 1000 ml de H_2O), estéril por filtração em membrana com poro 0,22 µm. Após a última centrifugação, o sedimento foi ressuspensão em 1 ml de HBSS. Para a fixação dos parasitos, adicionou-se 100 µl de suspensão à 1 ml de formalina tamponada com fosfato 0,01 M,

pH 7,2 (PBS-formol) e incubou-se por 72 horas em agitação lenta à 4° C. Em seguida, os parasitos foram lavados três vezes em água deionizada por centrifugação a 2.200 x g, a 4° C. O sedimento foi ressuspensão em água deionizada e a concentração foi ajustada para 10⁵ promastigotas/ml.

Análise sorológica

ELISA Indireto (Reação Imunoenzimática para detecção de Anticorpos):

Placas de poliestireno (Corning) foram sensibilizadas com 50 µl de antígeno de *L. amazonensis* na concentração de 10⁵ promastigotas/ml em tampão carbonato-bicarbonato 0,06 M, pH 9,6, por 18 horas a 37° C, e conservadas a 4° C até sua utilização. Para análise das amostras, as placas foram lavadas com PBS contendo Tween 20 a 0,05% (PBS-T). As amostras de soro, diluídas 1:40 em PBS-T contendo 5% de leite desnatado desidratado (Nestlé) – PBS-TM, foram adicionadas às placas (50 µl/poço) e incubadas a 37° C por 45 minutos. Após seis lavagens com PBS-T, o conjugado imunoenzimático, constituído de proteína A ligada à peroxidase (Sigma), foi adicionado na diluição de 1:5000 em PBS-TM (50 µl/poço) e incubado a 37° C por 45 minutos. Após lavagens, como anteriormente descrito, a reatividade foi determinada pela adição de substrato enzimático peróxido de hidrogênio a 0,03% em tampão citrato-fosfato (0,1 M, pH 5,0), contendo ortofenileno-diamina (OPD, Sigma). Após 15 minutos em câmara escura a reação foi interrompida pela adição de H₂SO₄ 2 N e a leitura efetuada em fotolorímetro (Flow Titertek® Multiskan PLUS), em comprimento de onda de 492 nm.

Análise estatística

Para relacionar a positividade das amostras no teste de ELISA indireto, o corte da reação (cutoff) foi determinado pela média dos padrões negativos adicionados de cinco desvios padrões. Todos os soros com resultado acima do valor determinado foram considerados positivos. O Índice ELISA foi determinado pela densidade óptica das amostras dividida pelo cutoff. As frequências dos soros positivos e negativos foram calculadas, relacionado-os principalmente com a procedência dos animais.

RESULTADOS

Os resultados da reação de ELISA indireto para LTA canina mostraram que 21.89% dos 169 cães estudados foram positivos para a pesquisa de anticorpos IgG anti-*Leishmania amazonensis* (Figura 1). No município de Uberlândia – MG, foram detectados 31 (21.83%) cães positivos, num total de 142 testados, e, dos 27 cães do município de Araguari – MG, 6 (22,22%) foram soro-reagentes para *Leishmania amazonensis* (Figura 2).

DISCUSSÃO

No Brasil, a participação do cão no ciclo de transmissão da LTA é conhecida desde o início do século, quando Pedroso (1913) associou as lesões encontradas no focinho de dois cães com aquelas existentes nos casos de leishmaniose humana. Brumpt e Pedroso (1913) confirmaram cinco casos da doença em cães, mas os animais foram considerados como

hospedeiros acidentais²², assim como os humanos, admitindo-se o conceito clássico de transmissão silvestre, cuja infecção ocorria devido ao contato com florestas.

A partir da década de 70, investigações nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais, tem demonstrado a nítida relação entre cães parasitados e a infecção humana, assim como a aparente ausência de reservatórios silvestres em áreas endêmicas da doença^{2,9,13,14,16,23,26}. O acelerado processo de devastação a que estão submetidas as matas primárias, a migração de animais sinantrópicos infectados e a procriação de flebotomíneos são fatores ecológicos que podem contribuir para a modificação da epidemiologia da LTA¹, sugerindo o cão como elo essencial para sua disseminação.

Falqueto *et al.* (1986) investigaram a ocorrência da infecção natural por *Leishmania* em 32 cães, dos 186 estudados, em área endêmica de LTA no município de Viana – ES. Em Nova Iguaçu – RJ, Oliveira-Neto *et al.* (1988) fizeram o levantamento da doença humana e da infecção em animais domésticos, sendo encontrado oito soro-reagentes, dos 25 cães examinados. Constataram ainda que três cães pertenciam a famílias em que pelo menos um membro tinha a doença.

Após um surto ocorrido em 1987-1988 nos municípios de Uberlândia e Indianópolis¹⁵, Afonso-Cardoso *et al.* (1989) realizaram uma avaliação soropidemiológica da LTA em 111 cães domésticos, no qual obtiveram 22,52% de soro-reagentes, através do teste de eluatos sanguíneos pela RIFI. Posteriormente, utilizando a mesma metodologia, Maywald *et al.* (1993) obtiveram 8,4% de cães positivos no município de Uberlândia – MG, confirmando que a infecção canina estava ativa na região. Em 1994, outro estudo foi realizado, desta vez pelo teste de imunofluorescência indireta em soros de cães procedentes de zonas rurais e urbanas do município de Uberlândia – MG e de áreas urbanas do município de Coromandel - MG. Neste trabalho, Maywald (1995), demonstrou a positividade de 4,8% em um total de 230 soros pesquisados.

No presente estudo analisamos a presença de LTA nas zonas urbana, periurbana e rural do município de Uberlândia e também do município de Araguari, utilizando a reação de ELISA indireto. Encontramos prevalência de 21.89% entre os 169 cães estudados, semelhante àquela porcentagem encontrada por Afonso Cardoso *et al.* (1989). Ao compararmos com os resultados obtidos no inquérito canino realizado na mesma área por Maywald (1995), apesar das diferenças metodológicas, observamos que ocorreu um aumento da soroprevalência de 4.8% para 21.89%, sugerindo aumento da infecção nos últimos oito anos. Esta alta pode ser devido a diversos fatores, incluindo a construção de represas de usinas hidroelétricas, as quais alteram o ecossistema, podendo aumentar a infecção dos cães, principalmente da zona rural, onde observamos a maior taxa de infecção.

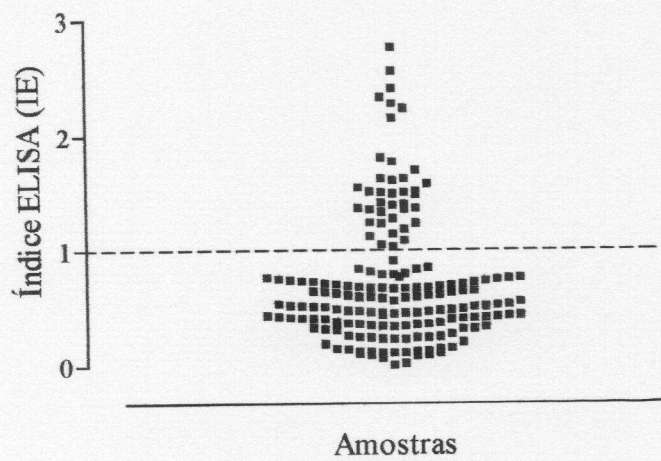
Houve também aumento dos casos notificados em seres humanos, segundo a Vigilância Epidemiológica da Secretaria Municipal de Saúde (Prefeitura Municipal de Uberlândia – MG), que registrou dois casos em 2001 e 26 em 2002, demonstrando que a leishmaniose tegumentar americana continua em atividade na região, com aumento significativo dos casos humanos. Segundo a Vigilância Epidemiológica, no mês de janeiro de 2003 já foram notificados quatro casos da doença no município.

É importante ressaltar que, nas zoonoses, o homem não é o elo necessário à transmissão, porém, a partir de focos epizooticos e de modificações ambientais das reservas florestais, como ocorre nas construções de represas, pode-se promover mecanismos eco-biológicos capazes de agravar o risco da transmissão do agente, pela domiciliação das fontes de infecção e manutenção da endemia sem necessidade de reservatórios silvestres¹⁷, podendo o cão representar uma importante fonte de infecção.

Os resultados do presente trabalho mostram que houve aumento de cães soro-reagentes na região de Uberlândia, o que pode representar um importante elo com o aumento dos casos

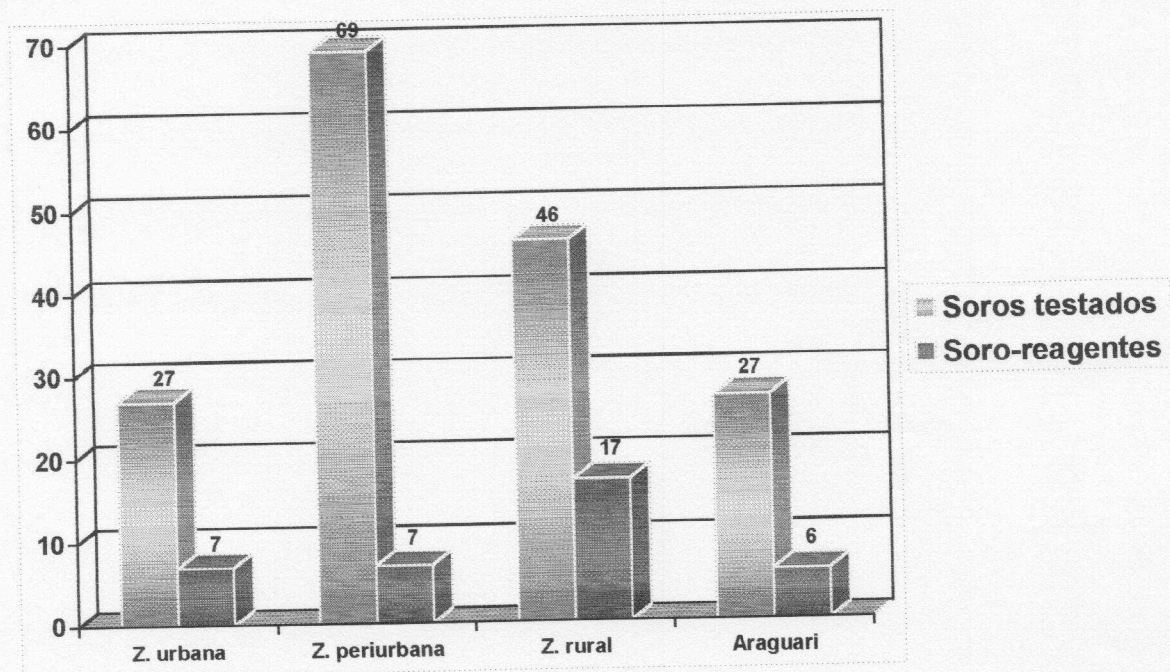
humanos que têm sido observados. Medidas sanitárias serão necessárias para melhorar o controle de focos, além de melhores planejamentos ambientais para evitar que a doença saia do ciclo silvestre, invadindo o perímetro urbano.

Figura 1 - Positividade do teste demonstrada pelo Índice ELISA.



--- Cutoff

Figura 2 – Resultados de detecção de anticorpos IgG anti-*Leishmania* através da reação de ELISA indireto em cães provenientes dos municípios de Uberlândia e Araguari – MG.



AGRADECIMENTOS

À professora Dra. Janethe D. de Oliveira Pena pela orientação deste trabalho e pela paciência.

À professora Dra. Maria Aparecida Souza pela inestimável ajuda e valioso auxílio de seus conhecimentos técnicos e científicos.

À Sandra Regina Afonso-Cardoso e Adriano Gomes Silva pela ajuda e sugestões valiosas durante a realização deste trabalho.

Ao Rondino G. das Chagas pela gentileza em auxiliar na obtenção das amostras utilizadas neste trabalho.

Aos mestres, pesquisadores e funcionários do Laboratório de Imunologia, que, de alguma forma puderam contribuir.

Aos meus pais, irmãos e ao Rogério de Mattos Faleiros pela paciência, compreensão e inestimável ajuda.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AFONSO CARDOSO, S.R., MACHADO, M.I., COSTA-CRUZ, J.M., GONÇALVES, M.R.F., STUTZ, W.H. Leishmaniose Tegumentar Canina no município de Uberlândia, Minas Gerais – Diagnóstico clínico e sorológico de cães naturalmente infectados. **R. Cent. Ci. Bioméd. Univ. Fed. Uberlândia**, v. 5, n. 1, p. 14-21, dez. 1989.
2. ARAÚJO, N.A.F.O. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar na Ilha Grande – Rio de Janeiro. Estudo sobre a infecção humana, reservatórios e transmissores. Rio de Janeiro: Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 148p, 1978.
3. BARBOSA SANTOS, E.G.O., MARZOCHI, M.C.A., CONCEIÇÃO, N.F. *et al.* Epidemiological Survey on canine population with the use of immunoleish skin test endemic áreas of human american cutaneous leishmaniasis in the state of Rio de Janeiro, **Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, vol.40, no.1, p.41, 1998.
4. BARRETO, A.C., CUBA, C.C., VEXENAT, J.A. *et al.* Características epidemiológicas da Leishmaniose Tegumentar Americana em uma região endêmica do Estado da Bahia. II – Leishmaniose canina. **Rev. Soc. Brás. Méd. Trop.**, Rio de Janeiro, v.17, p.59-65, 1984.
5. BRANDÃO-FILHO, S.P. American Cutaneous Leishmaniasis in military training unit localized in Zona da Mata of Pernambuco State, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 31(6):575-578, 1998.

6. BRUMPT, E.J.A., PEDROSO, A. Pesquisas epidemiológicas sobre a leishmaniose americana das florestas no estado de São Paulo (Brasil). **Anais Paul. Méd. Cir.**, São Paulo, v.1, p.97-136, 1913.
7. CUBA, C.A.C. Leishmaniose Tegumentar Americana em área endêmica do Estado da Bahia, Brasil. Caracterização e classificação de *Leishmania* do homem e do cão doméstico e aspectos comportamentais de *L. braziliensis braziliensis*. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 151p, 1983.
8. DIAS, M. Contribuição ao estudo da Leishmaniose Tegumentar no Município de Caratinga, Minas Gerais, Brasil. Minas Gerais: Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, 38p, 1975.
9. FALQUETO, A., COURA, J.R., BARROS, G.C. *et al.* Participação do cão no ciclo da transmissão da Leishmaniose Tegumentar no Município de Viana, Estado do Espírito Santo, Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.81, n.2, p.155-163, 1986.
10. FORATTINI, O.P., SANTOS, M.R. Novas observações em regiões endêmicas da Leishmaniose Tegumentar Americana nos Estados de São Paulo e Mato Grosso, Brasil. **Rev. Clím. São Paulo**, São Paulo, v.31, p.13-20, 1955.
11. FORATTINI, O.P., PATTOLI, D. B.G., SERRA, O.P. *et al.* Nota sobre Leishmaniose Tegumentar no Litoral Sul do Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Públi.**, São Paulo, v.7, p. 447-452, 1973.

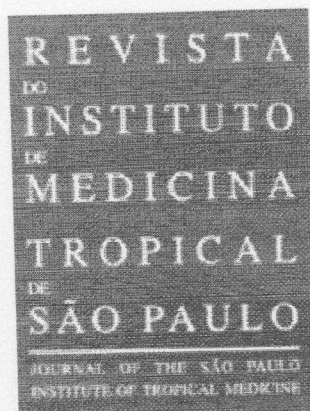
12. FUNDAÇÃO NACIONAL DA SAÚDE – FUNASA. *Manual de Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana*, 5ª edição. Ministério da Saúde, Brasília/DF, 2000.
13. MACHADO, M.I. Isolamento e caracterização de Leishmanias do homem e do cão doméstico de municípios do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, 163p, 1984.
14. MACHADO, M.I., MILDER, R.V. Isolamento e identificação de *Leishmania braziliensis* de casos humanos e cães domésticos do Estado de São Paulo. **Rev. Cient. Ci. Bioméd. Univ. Fed. Uberlândia**, Uberlândia, v.2, n.1, p.09-21, 1986.
15. MACHADO, M.I., NISHIOKA, S.A., FERREIRA, M.S. *et al.* American Cutaneous Leishmaniasis (ACL) in Triângulo Mineiro and Alto Paranaíba, Minas Gerais: Parasitological diagnosis. In: Reunião Anual de Pesquisa de Chagas, 15., Caxambu, 1988.
16. MARZOCHI, M.C.A., *et al.* Evaluation of diagnostic criteria in human and canine mucocutaneous Leishmaniasis in Rio de Janeiro district where *L. braziliensis braziliensis* occurs. In: Reunião anual de pesquisa básica em doença de chagas, 9., Caxambu, 1982.
17. MAYWALD, P.G. Aspectos bioecológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana no Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba: o surto do Rio Araguari-1987. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 66p, 1993.

18. MAYWALD, P.G. Leishmaniose Tegumentar canina – Aspectos de importância epidemiológica no Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba: 1989-1994. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 72p, 1995.
19. NERY-GUIMARÃES, F. Estudo de um foco de Leishmaniose muco-cutânea na Baixada Fluminense (Estado do Rio de Janeiro). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.53, p.2-11, 1955.
20. OLIVEIRA-NETO, M.P., PIRMEZ, C., RANGEL, E. *et al.* An outbreak of American Cutaneous Leishmaniasis (*Leishmania braziliensis braziliensis*) in a periurban area of Rio de Janeiro city, Brazil: Clinical and epidemiological studies. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.83, n.4, p.427-435, 1988.
21. PEDROSO, A.M. Leishmaniose local do cão. **An. Paul. Méd. Cir.**, São Paulo, v.1, p.33-39, 1913.
22. PESSOA, S.B., BARRETO, M.P. Leishmaniose Tegumentar Americana. Rio de Janeiro, Ministério da Educação e Saúde: Imprensa Nacional, 727p, 1948.
23. SABROZA, P.C. O domicílio como fator de risco na Leishmaniose Tegumentar Americana. Estudo epidemiológico em Jacarepaguá, Município do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública, 178p, 1981.

24. SOUZA, M.A. Lectina KM⁺ de *Artocarpus integrifolia* induz produção de interleucina-12 e proteção contra a infecção por *Leishmania major*. Ribeirão Preto, 134p, 1995.

25. SUPERINTENDÊNCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS DO ESTADO DE SÃO PAULO – SUCEN. *Leishmaniose Tegumentar Americana: Informações para Profissionais da Saúde*, São Paulo, Brasil, 2001.

26. TOLEZANO, J.E. *et al.* Modificação da epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar do Vale do Ribeira, São Paulo. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.40, p.49-54, 1980.



ISSN 0036-4665

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Objetivo e política editorial

A Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo é uma publicação dedicada à pesquisa dos diferentes aspectos das doenças transmissíveis. A revista aceita trabalhos originais sobre todas as doenças transmissíveis.

Além dos trabalhos originais, cada fascículo pode apresentar comunicações, relatórios preliminares de pesquisa, relatórios técnicos, artigos de revisão, correspondência e outros trabalhos de pesquisadores brasileiros e internacionais. A revista também publica resumos de livros lançados recentemente e enviados para a revista por seus autores ou pela editora, como também relatórios de eventos.

A Comissão Editorial da revista, assim como especialistas brasileiros e internacionais analisam criticamente cada manuscrito de forma rigorosa, com o objetivo de manter o alto padrão da publicação.

Forma e preparação de manuscritos

Os trabalhos, escritos em inglês, devem ser enviados ao Editor, **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, no endereço abaixo.

Os trabalhos são aceitos no entendimento de que não estão sendo publicados em outro lugar. Duas cópias de cada trabalho devem ser submetidas para avaliação, digitadas em apenas um lado do papel (33 x 24 cm ou 28 x 21 cm), com espaço duplo e margens. Os trabalhos devem conter os nomes dos autores, lugar de trabalho, endereço para correspondência e título completo.

Visando a indexação dos trabalhos, devem ser indicadas palavras-chave. Os autores devem manter uma cópia do texto, tabelas e ilustrações, uma vez que o editor não pode se responsabilizar por eventuais danos ou pela perda de manuscritos.

Artigos originais

O texto deve ser precedido por um resumo de até 200 palavras, e apresentar as seguintes seções: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Agradecimentos e Referências. Todos os artigos devem apresentar resumos em inglês e em português. As páginas devem ser numeradas consecutivamente em algarismos arábicos; as tabelas e as legendas das ilustrações, incluindo as ampliações, devem ser apresentadas em folhas separadas.

As tabelas e ilustrações devem ser mencionadas no texto, assim como deve ser indicada sua posição aproximada à margem do texto. As tabelas devem ser numeradas, digitadas em espaço duplo, cada uma em uma folha separada, e apresentar títulos específicos e breves. Desenhos, assim como fotografias, fotomicrografias, micrografias etc., devem ser planejadas para corresponder ao tamanho de uma ou duas colunas de texto.

Todas as ilustrações devem ser apresentadas em duplicata, sem molduras, contendo o nome do autor, número da ilustração e a posição correspondente no texto marcados a lápis no verso. Diagramas e desenhos devem ser apresentados no original ou impressos em papel brilhante.

Fotografias coloridas serão aceitas somente em circunstâncias especiais, sendo que o autor será convidado a contribuir com os custos de reprodução.

A lista de referências, incluindo apenas as que realmente foram mencionadas no texto ou nas tabelas, deve ser ordenada alfabeticamente e numerada consecutivamente com algarismos arábicos. A citação da referência no texto deve se reportar a esses números, e apenas excepcionalmente ao autor e ano. A apresentação deve seguir as seguintes especificações:

Artigos em revistas

Sobrenomes e iniciais de todos os autores, título completo, título da revista, volume, primeira e última páginas e ano de publicação.

Livros

Sobrenomes e iniciais de todos os autores ou editores, título completo, lugar de publicação, editora e ano. Capítulo e páginas citadas. Quando vários trabalhos publicados no mesmo ano pelo mesmo autor ou grupo de autores forem citados, eles devem ser diferenciados através de letras a, b, c.

© 2001 Instituto de Medicina Tropical de São Paulo

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 470

05403-000 São Paulo, SP - Brasil

Tel. e Fax: (55 11) 3062-2174

