

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto René Rachou
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

ECOLOGIA DE FLEBOTOMÍNEOS EM ÁREA DE TRANSMISSÃO DE
LEISHMANIOSES NO MUNICÍPIO DE ITAÚNA, MINAS GERAIS.

Por

Nathália Cristina Lima Pereira

Belo Horizonte

2019

DISSERTAÇÃO MCS- IRR

N.C.L. PEREIRA

2019

NATHÁLIA CRISTINA LIMA PEREIRA

ECOLOGIA DE FLEBOTOMÍNEOS EM ÁREA DE TRANSMISSÃO DE
LEISHMANIOSES NO MUNICÍPIO DE ITAÚNA, MINAS GERAIS.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde do Instituto René Rachou, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências – área de concentração Doenças infecto-parasitárias e crônicas não transmissíveis (DIP-DCNT)

Orientação: Dr. Edelberto Santos Dias

Coorientação: Dr^a. Érika Michalsky Monteiro

Belo Horizonte

2019

Catálogo-na-fonte
Rede de Bibliotecas da FIOCRUZ
Biblioteca do IRR
CRB/6 1975

P436e Pereira, Nathália Cristina Lima.
2019

Ecologia de flebotomíneos em área de transmissão de leishmanioses no município de Itaúna, Minas Gerais. / Nathália Cristina Lima Pereira – Belo Horizonte, 2019.

XV, 84 f.: il.; 210 x 297 mm.

Bibliografia: f. 62-79

Dissertação (Mestrado) – Dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Instituto René Rachou. Área de concentração: Doenças infecto-parasitárias e crônicas não transmissíveis.

1. Leishmanioses/epidemiologia 2. Ecossistema 3. Flebotomíneos I. Título. II. Dias, Edelberto Santos (Orientação). III. Michalsky, Érika Monteiro (Coorientação)

CDD – 22. ed. – 616.936

NATHÁLIA CRISTINA LIMA PEREIRA

ECOLOGIA DE FLEBTOMÍNEOS EM ÁREA DE TRANSMISSÃO DE
LEISHMANIOSES NO MUNICÍPIO DE ITAÚNA, MINAS GERAIS.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Instituto René Rachou, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências – área de concentração Doenças infecto-parasitárias e crônicas não transmissíveis (DIP-DCNT).

Orientação: Dr. Edelberto Santos Dias

Coorientação: Dr^a. Érika Michalsky Monteiro

Banca examinadora:

Prof. Dr. Edelberto Santos Dias (IRR/FIOCRUZ) Presidente

Prof. Dr. Ricardo Andrade Barata (UFVJM) Titular

Prof. Dr. Daniel Moreira de Avelar (IRR/FIOCRUZ) Titular

Prof. Dr^a. Rita de Cássia Moreira de Souza (IRR/FIOCRUZ) Suplente

Dedico este trabalho ao meu pai (*in memoriam*), que infelizmente já se foi, mas está presente todos os dias da minha vida em meu coração e à minha mãe, que dedicou sua vida à nossa família. Com todo meu amor e gratidão!

“O começo de todas as ciências é o espanto de as coisas serem o que são”. (Aristóteles)

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, que é o autor da minha vida e um importante guia na minha trajetória.

Ao meu pai e à minha mãe, que são minha inspiração e meus exemplos. Obrigada por tudo!

Agradeço a todos os meus familiares, pelo incentivo e torcida para que eu alcançasse meus objetivos. Tias, tios, primos, irmão, vó e meu afilhado, obrigada pelas alegrias compartilhadas!

Ao meu orientador Dr. Edelberto, por todo aprendizado, pela confiança depositada em mim e por ser um exemplo de profissional e competência.

Agradeço a minha coorientadora e amiga Érika, que sempre me acalmou nos momentos que achei que não daria conta, me incentivou e apoiou em todos os aspectos, pela paciência e pela ajuda durante todo o meu mestrado.

Aos meus amigos que entenderam minha ausência e sempre com uma palavra de conforto e força. E aos amigos feitos durante as disciplinas de Mestrado, obrigada por toda união que me ajudou a passar por todos os apertos e dificuldades.

Muito obrigada aos meus queridos amigos feitos na Fiocruz durante toda minha jornada, desde a iniciação científica, formando uma mente pensante e me ajudando a construir meu futuro. Obrigada Josiane por me ensinar muitas coisas durante a minha iniciação científica em seu projeto e me ajudar sempre que precisei, Fabiana Lara por todo apoio e palavras sábias e pela identificação taxonômica, Rosana Lana que também ajudou na identificação taxonômica e pela amizade e carinho durante todo esse tempo, Lívia por ser minha irmã do coração nas horas que mais preciso, Lara que se tornou uma raiz para mim, Adão e Daniely pela ajuda durante as capturas, e a todas as outras amizades muito especiais que fiz no laboratório durante esses anos. Todos vocês estão no meu coração!

A todos colaboradores do Centro de Controle de Zoonoses do município de Itaúna, pela parceria na execução do projeto e fornecimento de dados necessários. Obrigada pela colaboração!

Aos moradores das residências onde foram feitas as capturas entomológicas, que disponibilizaram suas casas, me recebendo com carinho e sempre com muito interesse no estudo. Sem essa colaboração, seria impossível realizarmos nosso projeto. Muito obrigada por esses dois anos de portas abertas para a ciência!

Ao programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do IRR pela oportunidade, e aos professores e profissionais envolvidos na minha formação científica. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, pela concessão da minha bolsa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Por fim, agradeço a todas as pessoas que me incentivaram e torceram para o meu sucesso, mesmo que à distância. Familiares e amigos (de escola, de faculdade, de trabalho), que cada boa energia e cada palavra de apoio, fez diferença e me deu mais forças para chegar nessa importante etapa da minha vida!

Muito obrigada!!!

RESUMO

As leishmanioses são zoonoses causadas por parasitos do gênero *Leishmania* de grande importância médico-veterinária, sendo considerada um grave problema de saúde pública. Nas últimas décadas, mudanças socioambientais, biológicas e físicas da doença alteraram seu perfil epidemiológico, ocasionando a urbanização e expansão deste agravo. No Brasil, as leishmanioses se encontram em expansão geográfica, sendo notificada em todas as regiões brasileiras. Em Minas Gerais, a doença apresenta-se de forma endêmica, exibindo diferenças regionais e atingindo também os centros urbanos. A proposta deste estudo foi avaliar os aspectos entomológicos relacionados à ecoepidemiologia das leishmanioses no município mineiro de Itaúna. Foram realizadas capturas mensais em três áreas ecológicas distintas (urbana, rural e de mata), utilizando armadilhas luminosas do tipo HP, durante 12 meses (junho/2017 a maio/2018). Para avaliar a influência climática sobre a densidade populacional de flebotomíneos foram correlacionados os dados climáticos (temperatura, umidade relativa do ar, precipitação pluviométrica e velocidade do vento) e o número de *Lutzomyia longipalpis* capturados. Visando determinar a taxa de infecção natural das fêmeas de flebotomíneos capturadas foram realizados testes moleculares (cacofonia e Nested/PCR) e para determinação do índice sinantrópico das espécies foi calculado o grau de adaptabilidade em ambientes antrópicos por meio do Índice de Sinantropia (IS). Durante o estudo, foram capturados 1.306 espécimens, distribuídos em 11 espécies, sendo *Lu. longipalpis* a espécie predominante com 87,21% dos exemplares capturados. Sobre a influência climática e o número de *Lu. longipalpis* capturados observou-se uma correlação positiva em todas as variáveis climáticas analisadas e o período chuvoso favoreceu o aumento da densidade populacional de flebotomíneos. As fêmeas capturadas foram analisadas por meio da técnica de Nested/PCR e todas as amostras apresentaram-se negativas para *Leishmania*. Em relação ao índice sinantrópico, a espécie que apresentou sinantropia absoluta (IS +100) foi *Evandromyia evandroi*, enquanto a espécie mais assinantrópica (IS -100) foi *Psathyromyia brasiliensis*. As espécies de importância médica *Lu. longipalpis*, vetor da LV, apresentou-se sinantrópica com IS +95,8 e *Nyssomyia whitmani*, vetor de LT, apresentou-se assinantrópica com IS -25. O conhecimento da ecoepidemiologia da doença, principalmente do inseto vetor, permite a elaboração e o direcionamento dos serviços de saúde em relação as medidas de controle, visando melhorar a saúde da comunidade e contribuir no estabelecimento da relação dinâmica e da compreensão global do processo saúde/doença.

Palavras-chave: Leishmanioses, Flebotomíneos, Sinantropia.

ABSTRACT

Leishmaniasis are zoonoses caused by parasites of the *Leishmania* genus of great medical importance and are serious public health problem. In the last decades, socio-environmental, biological and physical changes of the disease altered its epidemiological profile, causing the urbanization and expansion of this disease. In Brazil, leishmaniasis is in geographical expansion, being reported in all Brazilian regions. In Minas Gerais, the disease is endemic, exhibiting regional differences and reaching urban centers. The purpose of this study was to evaluate the entomological aspects related to the ecoepidemiology of leishmaniasis in the municipality of Itaúna. Monthly catches were carried out in three distinct ecological areas (urban, rural and forest) using HP traps for 12 months (June/2017 to May/2018). To evaluate the climatic data (temperature, relative air humidity, rainfall and wind speed) and the number of captured *Lutzomyia longipalpis* were correlated to climatic influence on the population density of sand flies. Aiming to determine the natural infection rate of captured sandflies females, molecular tests (cacophony and Nested/PCR) and for determined of synanthropic index of the species in the level of adaptability in anthropic environments of the index of Sinantropia (IS). During the study, 1.306 specimens were captured, distributed in 11 species, being *Lu. longipalpis* the predominant species with 87,21% of the captured specimens. About the climatic influence and the number of *Lu. longipalpis* captured, a positive correlation was observed in all climatic variables analyzed, and the rainy season favored an increase in the population density of sandflies. The captured females were analyzed using the Nested/PCR technique and all samples were negative for *Leishmania*. Regarding the synanthropic index, the species that presented absolute synanthropy (IS +100) was *Evandromyia evandroi*, while the less synanthropic species (IS-100) was *Psathyromyia brasiliensis*. The species of medical importance *Lu. longipalpis*, vector of LV, was synanthropic with IS +95,8 and *Nyssomyia whitmani*, vector of LT, was less synanthropic with IS-25. The knowledge of the epidemiological epidemiology of the disease, especially the vector link, allows the elaboration and direction of the health services in relation to the control measures, aiming to improve the health of the community and contribute to the establishment of the dynamic relationship and the global understanding of the health/disease.

key-words: Leishmaniasis, Phlebotominae, Synanthropy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Espécimen macho (B) e fêmea (C) de flebotomíneos de <i>Lutzomyia longipalpis</i> mostrando suas características externas e dimorfismo sexual	22
Figura 2: Localização geográfica do município de Itaúna em Minas Gerais, vista parcial e imagem do município em relação a municípios vizinho.....	28
Figura 3: Pontos de capturas entomológicas nas distintas áreas ecológicas	29
Figura 4: Aspecto geral do local de captura na área urbana e mapa da localização do bairro Chácara do Quitão	29
Figura 5: Aspecto geral do local de captura na área rural e mapa da localização do bairro Piaguassu	30
Figura 6: Aspecto geral do local de captura na área de mata e mapa de localização do bairro Distrito Industrial.....	30
Figura 7: Armadilha luminosa do tipo HP	31
Figura 8: Locais onde foram instaladas as armadilhas entomológicas do tipo HP, no bairro Chácara do Quitão (área urbana), município de Itaúna, Minas Gerais	32
Figura 9: Locais onde foram instaladas as armadilhas entomológicas do tipo HP, no bairro Piaguassu (área rural), município de Itaúna, Minas Gerais	32
Figura 10: Locais onde foram instaladas as armadilhas entomológicas do tipo HP, no bairro Distrito Industrial (área de mata), município de Itaúna, Minas Gerais.....	32
Figura 11: Principais estruturas de identificação dos exemplares de flebotomíneos machos e fêmeas.....	34
Figura 12: Mapa da microrregião do estado de Minas Gerais onde o município de Itaúna está localizado, microrregião de Divinópolis.....	35
Figura 13: Desenho esquemático da Ln-PCR destinado a amplificar um fragmento do gene SSUrRNA de <i>Leishmania</i>	37
Figura 14: Distribuição das espécies capturadas segundo as áreas ecológicas	47
Figura 15: Exemplo dos produtos de amplificação de DNA de flebotomíneos obtidos com iniciadores para o gene cacofonia IVS6 para <i>Lutzomyia</i> visualizados após eletroforese em gel de agarose à 2% corado com brometo de etídeo.....	49
Figura 16: Exemplo dos produtos de amplificação de DNA dos “pools” ou das amostras individuais de flebotomíneos obtidos com iniciadores para o gene SSUrRNA visualizados após eletroforese em gel de agarose à 2% corado com brometo de etídeo	50

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Porcentagem das espécies de flebotomíneos capturadas, utilizando armadilha luminosa do tipo HP, no período de junho de 2017 a maio de 2018, no município de Itaúna (MG).....	39
Gráfico 2: Porcentagem do número de flebotomíneos capturados, utilizando armadilha luminosa do tipo HP, no período de junho de 2017 a maio de 2018, no município de Itaúna (MG).....	41
Gráfico 3: Delineamento de “agrupamentos climáticos” no município de Itaúna, de acordo com os valores de temperatura compensada média (°C) e precipitação pluviométrica (mm), de junho de 2017 a maio de 2018.....	43
Gráfico 4: Delineamento de “agrupamentos climáticos” no município de Itaúna, de acordo com os valores de umidade relativa do ar (%) e precipitação pluviométrica (mm), de junho de 2017 a maio de 2018.....	44
Gráfico 5: Delineamento de “agrupamentos climáticos” no município de Itaúna, de acordo com os valores de precipitação pluviométrica (mm) e velocidade média do vento (mps), de junho de 2017 a maio de 2018.....	44
Gráfico 6: Porcentagem de flebotomíneos capturados nas distintas áreas ecológicas (urbana, rural e de mata), utilizando armadilha luminosa do tipo HP, durante o período de junho de 2017 a maio de 2018, no município de Itaúna (MG).....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Total de espécimens de flebotomíneos capturados, por sexo, no município de Itaúna (MG), utilizando armadilha luminosa do tipo HP, no período de junho de 2017 a maio de 2018	39
Tabela 2: Número mensal das espécies de flebotomíneos capturados, utilizando armadilha luminosa do tipo HP, no município de Itaúna (MG), no período de junho de 2017 a maio de 2018	41
Tabela 3: Variáveis climáticas mensais do município de Divinópolis (MG), durante os meses de junho de 2017 a maio de 2018	42
Tabela 4: Número e porcentagem das espécies de flebotomíneos capturadas, utilizando armadilha luminosa do tipo HP, por área ecológica, durante o período de junho de 2017 a maio de 2018, no município de Itaúna (MG).	46
Tabela 5: Número e porcentagem de flebotomíneos capturados, utilizando armadilha luminosa do tipo HP, nas distintas áreas ecológicas, quanto ao sexo, durante o período de junho de 2017 a maio de 2018, no município de Itaúna (MG).....	46
Tabela 6: Índice de Sinantropia (IS) das espécies de flebotomíneos capturadas, utilizando armadilha luminosa do tipo HP, durante o período de junho de 2017 a maio de 2018, no município de Itaúna (MG).	48
Tabela 7: Fêmeas de flebotomíneos capturadas, utilizando armadilha luminosa do tipo HP, nos meses de junho de 2017 a maio de 2018, no município de Itaúna (MG).	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCZ: Centro de Controle de Zoonoses

CN: Controle Negativo

CP: Controle Positivo

DMSO: Dimetilsulfóxido

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

FIOCRUZ: Fundação Oswaldo Cruz

GE: General Eletric

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

INMET: Instituto Nacional de Meteorologia

IRR: Instituto René Rachou

IS: Índice de Sinantropia

KDNA: DNA do cinetoplasto

Km: quilômetro

Km²: quilômetro quadrado

KOH: Hidróxido de Potássio

LC: Leishmaniose cutânea

LCD: Leishmaniose cutânea difusa

LMC: Leishmaniose mucocutânea

LnPCR: *Leishmania* nested Polymerase chain reaction

LT: Leishmaniose tegumentar

LV: Leishmaniose visceral

mm: milímetro

mps: metros por segundo

MS: Ministério da Saúde

nm: nanômetro

OMS: Organização Mundial da Saúde

PCR: Reação em cadeia da polimerase

Sb+5: antimoniais pentavalentes

Sinan: Sistema de Informação de Agravos de Notificação

SMF: Sistema Mononuclear Fagocítico

SNDC: Sistema Nacional de Informação de Doenças de Notificação Compulsória

SSUrRNA: Small Subunit Ribosomal RNA

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UV: ultravioleta

WHO: World Health Organization

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1 Leishmanioses	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Leishmaniose visceral	17
2.2 Leishmaniose tegumentar	18
2.3 Flebotomíneos	20
2.4 Urbanização das leishmanioses e sinantropia dos flebotomíneos	22
3. JUSTIFICATIVA	25
4. OBJETIVOS	26
4.1 Geral	26
4.2 Específicos	26
5. MATERIAIS E MÉTODOS	27
5.1 Área de estudo	27
5.2 Escolha das áreas ecológicas do estudo	28
5.3 Levantamento Entomológico	31
5.4 Montagem e identificação dos exemplares de flebotomíneos capturados	33
5.5 Influência das variáveis climáticas na densidade populacional de flebotomíneos	34
5.6 Cálculo do índice de sinantropia	35
5.7 Extração de DNA das fêmeas de flebotomíneos capturadas	36
5.8 Reação da polimerase em cadeia do gene constitutivo de flebotomíneos (cacofonia).	36
5.9 Detecção da infecção natural das fêmeas de flebotomíneos por <i>Leishmania</i> spp	36
5.10 Análise dos produtos amplificados pelas PCR's Cacofonia e Ln-PCR	38
6. RESULTADOS	38
6.1 Fauna flebotomínica das áreas estudadas	38
6.2 Influência das variáveis climáticas na população de flebotomíneos capturados	41
6.3 Sinantropia	45

6.4 Detecção de DNA de <i>Leishmania</i> spp. em fêmeas de flebotomíneos capturadas	48
7. DISCUSSÃO	51
8. CONCLUSÕES	61
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
10. ANEXOS	80

1. INTRODUÇÃO

1.1 Leishmanioses

As leishmanioses são enfermidades infecciosas antroponóticas, transmitidas através da picada de fêmeas de flebotomíneos infectadas com protozoários do gênero *Leishmania*, parasitos intracelulares obrigatórios das células do sistema mononuclear fagocítico (SMF), pertencentes à ordem Kinetoplastida e a família Trypanosomatidae. Esses flebotomíneos são dípteros da família Psychodidae, subfamília Phlebotominae, classificados como do gênero *Lutzomyia* no Novo Mundo e *Phlebotomus* no Velho Mundo, de acordo com seus caracteres morfológicos (Young & Duncan, 1994). Nos últimos anos, também vem sendo adotada uma classificação filogenética que propõe uma relação mais substancial entre os flebotomíneos do gênero *Lutzomyia*. Nesta, são consideradas outras 88 estruturas morfológicas que reagrupa esses flebotomíneos em 22 gêneros, trazendo alterações na classificação de quase todas as espécies (Galati, 2003).

O parasito *Leishmania* se apresenta sob duas formas básicas principais: a forma flagelada (promastigota) encontrada em hospedeiros invertebrados e a forma aflagelada (amastigota) encontrada no interior de células do SMF dos hospedeiros vertebrados (Ward, 1985). Esses protozoários são unicelulares, digenéticos (heteroxênicos) e são classificados de acordo com o desenvolvimento no intestino do vetor, sendo considerados do subgênero *Leishmania* quando os parasitos se desenvolvem no intestino médio e anterior dos vetores (suprapilário) e subgênero *Viannia* quando o desenvolvimento ocorre no intestino posterior (peripilário) (Lainson & Shaw, 1987).

Em relação aos reservatórios e hospedeiros, uma grande diversidade de vertebrados está envolvida no ciclo de transmissão das leishmanioses. Nas Américas, as ordens que possuem espécies reconhecidas como reservatórios de *Leishmania* são: Rodentia, Marsupialia, Primata, Edentata, Carnivora e Perissodactyla, entre estes, o homem é um hospedeiro acidental da infecção (Lainson *et al.*, 1985). O cão é apontado como uma importante fonte de infecção para os vetores e atua como principal reservatório doméstico de leishmaniose visceral (Deane & Deane, 1954). Apesar de os galináceos não possuírem capacidade de albergar *Leishmania*, estes animais possuem um importante papel na cadeia epidemiológica das leishmanioses, pois estes são uma fonte de alimentação e atração para as fêmeas de flebotomíneos (Alexander *et al.*, 2002).

As leishmanioses apresentam-se sob diferentes formas clínicas, dependendo da espécie de *Leishmania* envolvida e da susceptibilidade do hospedeiro (Saraiva *et al.*, 2006). Nas

Américas, as duas formas básicas são a leishmaniose visceral (LV) e a leishmaniose tegumentar (LT) (WHO, 2007).

São consideradas doenças negligenciadas, de notificação compulsória, difícil controle e possuem importante espectro clínico, estando associadas a diversos fatores físicos, ambientais, biológicos e socioeconômicos como: urbanização, estreita associação com a pobreza, complexidade do diagnóstico e do tratamento e difícil controle (Alvar *et al.*, 2006, Mathers *et al.*, 2007).

De acordo com dados epidemiológicos e demográficos, o Ministério da Saúde (MS) classifica as leishmanioses como uma das sete doenças com prioridade de atuação que compõe o programa de controle das doenças negligenciadas (Brasil, 2010) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) as classificam, dentre as doenças tropicais, como prioritárias e de grande importância em saúde pública (WHO, 2015).

As leishmanioses ocorrem em cinco continentes e aproximadamente 98 países são considerados endêmicos (Alvar *et al.*, 2012). Estas estão amplamente distribuídas por todo o Brasil, estando presente em todas as regiões do país (Brasil 2006, Cruz *et al.*, 2013). Em Minas Gerais, nos anos de 2015 a 2017 foram registrados um total de 3.834 novos casos humanos de LT, e 8.982 casos humanos de LV, nos anos de 2012 a 2017. (Sinannet, 2018).

O conhecimento da ecologia dos vetores das leishmanioses e da distribuição mensal associada à influência das variáveis climáticas na densidade populacional dos flebotomíneos constituem importantes elementos para um melhor entendimento dos aspectos epidemiológicos e da dinâmica da doença, podendo favorecer a eficácia das estratégias de controle em áreas de transmissão (Rebêlo *et al.*, 2001a).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Leishmaniose Visceral

A LV é uma doença considerada de grande importância em saúde pública, devido principalmente à urbanização, ampla distribuição, expansão geográfica e altas taxas de mortalidade nos casos não tratados.

As primeiras observações do parasito foram descritas por Cunningham (1885), na Índia, em indivíduos acometidos pelo Calazar (Neves, 2004). Em 1900, o médico escocês William Leishman identificou um protozoário no baço de um soldado indiano que veio a óbito em decorrência de uma febre conhecida como febre “dum-dum”. Até que, em 1903, Charles Donovan encontrou o mesmo parasito em outro paciente. Após esses achados, Ross descreveu o gênero *Leishmania*. Assim, o nome correto do agente etiológico do Calazar ficou sendo *Leishmania donovani* Laveran e Mesnil, 1903 (Pessoa & Martins, 1988).

Pouco tempo depois, em 1904, Leonard Rogers foi o primeiro a obter sucesso no cultivo do protozoário e visualizou os mesmos em formas flageladas. Nicolle e Comte, em 1908 na Tunísia, observaram pela primeira vez, o parasito em cães, sugerindo seu provável papel como reservatório da doença (Maia-Elkhoury *et al.*, 2008). Em 1913, houve o primeiro registro de caso autóctone de LV no Brasil realizado por Migone no Paraguai, onde foi diagnosticado em amostra de necropsia de paciente oriundo de Boa Esperança, Mato Grosso (Alencar, 1977). O mecanismo de transmissão permaneceu desconhecido até 1931, quando os flebotomíneos foram incriminados como vetores e o mecanismo de transmissão foi realizado por meio de xenodiagnósticos em “hamsters” (Adler & Theodor, 1931). Entre 1936 e 1939, muitos estudos foram realizados por Evandro Chagas e colaboradores, onde foi detectada a doença em humanos e cães, incriminando o flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) como provável vetor e *Leishmania infantum* Nicolle, 1908 como parasito envolvido na transmissão (Laison & Rangel, 2005).

Hoje, sabe-se que o agente etiológico da LV pertence ao complexo *donovani* (Lainson & Shaw, 1987), sendo eles: *Le. donovani* (África e Ásia) e *Le. infantum* (Europa, norte da África e Américas). No Brasil, a transmissão se dá através da picada de fêmeas infectadas pela espécie *Le. infantum*, sendo *Lu. longipalpis* considerado o principal vetor no Novo Mundo. A espécie *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) foi incriminada como vetor no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil (Santos *et al.*, 2003, Elkhoury, 2005).

Diferentes espécies de mamíferos atuam como reservatórios da LV, dentre eles: canídeos, marsupiais e roedores (Shaw, 2003). Dentre os reservatórios domésticos, o cão *Canis familiaris* (Linnaeus, 1758) desempenha um papel fundamental no ciclo epidemiológico, tanto em áreas periurbanas como urbanas (Marzochi & Marzochi, 1994; Silva *et al.*, 2001; Barata *et al.*, 2013; Reguera *et al.*, 2016).

Estima-se que 90% dos casos humanos de LV estão concentrados no Brasil, Etiópia, Índia, Bangladesh, Sudão e Sudão do Sul (WHO, 2016). A doença vem ocorrendo em diferentes centros urbanos e em todas as regiões brasileiras, sendo o maior número de casos humanos notificados na região Nordeste seguido pela região Sudeste.

É uma doença caracterizada clinicamente por febre irregular, hepatoesplenomegalia, anemia, dentre outros sintomas, podendo ser fatal para o homem, quando não tratada adequadamente. O diagnóstico e o tratamento dos pacientes devem ser realizados precocemente e sempre que possível a confirmação parasitológica da doença deve preceder o tratamento. No Brasil, os principais medicamentos utilizados são o antimoniato pentavalente e a anfotericina B (Brasil, 2017). Embora existam métodos simples de diagnóstico e tratamento específico e eficiente, o acesso da maioria da população acometida é limitado.

2.2 Leishmaniose Tegumentar

A LT é uma das afecções dermatológicas de maior importância em saúde pública, devido principalmente à sua magnitude e ao risco de ocorrência de deformidades que pode produzir nos seres humanos. Outro fator relevante é o envolvimento psicológico, com reflexos no campo social e econômico, uma vez que, na maioria dos casos, pode ser considerada uma doença ocupacional. Estima-se que cerca de 75% dos casos humanos de LT ocorrem no Brasil, Colômbia, Peru e Nicarágua (WHO, 2016).

É uma doença que acompanha o homem desde a antiguidade com relatos e descrições na literatura que datam do séc. I d.C. (Camargo & Barciski, 2003). Nas Américas, estudos de paleoparasitologia mostraram múmias e desenhos em cerâmicas pré-colombianas, datadas de 400 a 900 anos d.C., feitas pelos índios do Peru, que apresentavam mutilações de lábios e narizes, similares às causadas pela leishmaniose mucocutânea (Lainson & Shaw, 1988). A primeira referência de LT no Brasil encontra-se no documento da Pastoral Religiosa Político-Geográfica de 1827, citado Introdução 18 no livro de Tello intitulado “Antigüedad de la Syphilis en el Peru” (Camargo & Barciski, 2003), onde foi relatado a presença de indivíduos com úlceras nos braços e pernas, relacionadas à picada de insetos, tendo como consequências

lesões destrutivas da boca e do nariz (Vale & Furtado, 2005). Porém, a confirmação das formas de *Leishmania* em úlceras cutâneas e nasobucofaríngeas ocorreu no ano de 1909, quando Lindenberg encontrou o parasito em indivíduos que trabalhavam em áreas de desmatamentos na construção de rodovias no interior de São Paulo (Brasil, 2010).

Gaspar Vianna investigou formas amastigotas em lesões cutâneas de uma paciente de Além Paraíba no estado de Minas Gerais, e em 1911 propôs a denominação de *Leishmania braziliensis* (Vianna, 1911) para o agente etiológico da LT no Brasil (Rabello *et al.*, 1912; Splendore, 1912; Arce, 1913; Klotz *et al.*, 1923; Weiss, 1928; Gontijo & Carvalho, 2003; Basano e Camargo, 2004). Até a década de 70, acreditava-se que todos os casos de LT humana no país eram causados por *Le. braziliensis*, porém com o aprimoramento das técnicas de diagnóstico outras espécies foram descritas (Basano e Camargo, 2004; Lainson, 2010).

Atualmente são conhecidas 11 espécies dermatrópicas de *Leishmania* que causam a LT, sendo já identificadas sete espécies no Brasil. As três principais são: *Leishmania amazonensis* Lainson & Shaw, 1972, *Le. guyanensis* Floch, 1954 e *Le. braziliensis*. As espécies *Le. lainsoni* Silveira *et al.*, 1987, *Le. naiffi* Lainson & Shaw, 1989, *Le. lindenberg* Silveira *et al.*, 2002 e *Le. shawi* Lainson *et al.*, 1989 foram identificadas em estados das regiões Norte e Nordeste. Os principais vetores responsáveis pela transmissão são *Lutzomyia flaviscutellata* (Mangabeira, 1942), *Lutzomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939), *Lutzomyia umbratilis* Ward e Fraiha, 1977, *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912), *Lutzomyia wellcomei* (Fraiha, Shaw e Lainson, 1971) e *Lutzomyia migonei* (França, 1920) (Brasil, 2017).

Já foram registrados como hospedeiros e possíveis reservatórios naturais algumas espécies de roedores, marsupiais, edentados e canídeos silvestres (Brasil, 2017). Lesões cutâneas causadas por *Le. braziliensis* foram identificadas em animais domésticos, incluindo equinos, cães e gatos, mas o real papel destes no ciclo de transmissão da LT ainda precisa ser esclarecido (Lainson, 2010).

De acordo com a manifestação clínico-patológica das lesões, a LT pode se apresentar sob diferentes formas clínicas: leishmaniose cutânea (LC), leishmaniose mucocutânea (LMC) e leishmaniose cutânea difusa (LCD).

As drogas de primeira escolha no tratamento da LT são os antimoniais pentavalentes (Sb+5) e a anfotericina B. O cenário atual do tratamento desta doença no Brasil apresenta características peculiares devido à variedade de contextos existentes em relação à transmissão, como agentes etiológicos, vetores, reservatórios/hospedeiros e ambiente (Brasil, 2017).

2.3 Flebotomíneos

A primeira descrição científica de um flebotomíneo (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) foi feita por Philippo Bonanni em 1691, em Roma (*apud* Beaty & Marguardt, 1996). Em 1786, Scopoli na Itália, reportou a espécie *Bibio papatasi*, e anos depois sua nomenclatura foi modificada para *Phlebotomus papatasi* (Dedet *et al.*, 2003), uma espécie de amplo interesse em medicina veterinária e envolvida em problemas sanitários na Europa, Ásia e África (Colacicco - Mayhugh *et al.*, 2010). Os primeiros flebotomíneos americanos foram descritos por Coquillett (1907), e no Brasil a primeira descrição foi feita por Lutz & Neiva (1912).

A partir da década de 1940, estudos envolvendo esses insetos revelaram sua capacidade em transmitir doenças a animais e humanos como: arboviroses (*Vesiculovirus*, *Phlebovirus*, *Orbivirus*), bartonelose (*Bartonella* sp.), tripanossomíases e principalmente as leishmanioses (*Leishmania* sp.) (Adler e Theodor, 1957; Forattini, 1973; Alexander, 2000; Shaw *et al.*, 2003; Dantas-Torres, 2009; Rassi *et al.*, 2012). Até 2003, o número de flebotomíneos descritos no mundo era de aproximadamente 464 espécies, e destas, em torno de 229 espécies eram encontradas no Brasil (Galati, 2003). Nove anos após, o número de flebotomíneos no mundo aumentou consideravelmente, atingindo o quantitativo de 927 espécies descritas, sendo que 260 delas ocorrem no Brasil (Shimabukuro & Galati, 2011).

Esses flebotomíneos são conhecidos popularmente como mosquito-palha, birigui, cangalhinha, asinha branca ou tatuquira, e se diferem dos demais dípteros por desenvolverem seu estágio larval em matéria orgânica do solo e não em água (Bahia-Nascimento, 2010). São insetos de pequeno porte (1 a 3 mm), delgados, frágeis, pilosos, possuem dois pares de asas que lhes permitem deslocamento por saltitos, atividade crepuscular ou noturna (Lewis, 1974; Brazil & Brazil, 2003), e são holometábolos, ou seja, seu ciclo vital compreende as fases de ovos, larvas, pupas e adultos.

Os ovos são depositados em micro habitats terrestres, ricos em substrato orgânico, e as larvas ao nascerem se alimentam de matéria orgânica em decomposição. Os adultos vivem em locais que possuem pequenas variações de temperatura e umidade, como por exemplo, troncos de árvores, folhas caídas no solo ou frestas de rochas, pois são muito sensíveis à dessecação e uma pequena variação desses fatores em seus habitats é suficiente para alterar a sua dinâmica (Dias *et al.*, 2007).

Estes apresentam dimorfismo sexual (figura 1) e diferem-se também pelo hábito alimentar, sendo os machos exclusivamente fitófagos e as fêmeas, além da seiva vegetal, são

hematófagas, necessitando de sangue (fonte de aminoácidos e proteínas) para a maturação de seus ovários (Killick Kendrick, 1999; Galati *et al.*, 2010). Morfologicamente, as principais diferenças entre os sexos estão relacionadas aos últimos segmentos abdominais, que constituem a genitália, e nas probóscides (aparelho bucal do tipo sugador-picador), sendo que da fêmea é longa e adaptada para picar e sugar (Brazil & Brazil, 2003).

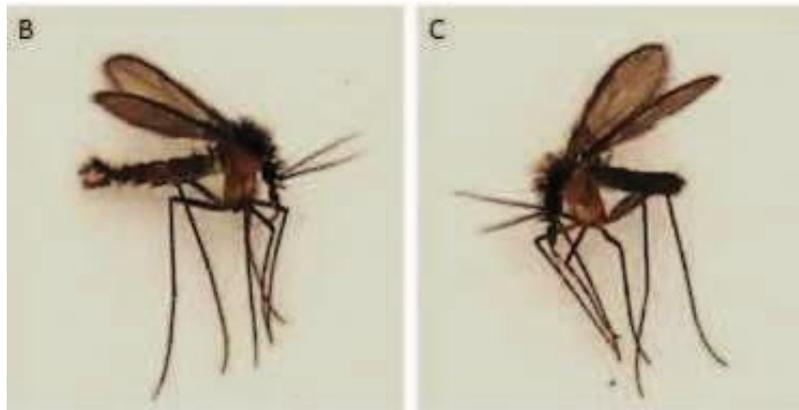
As fêmeas de flebotomíneos geralmente saem à procura de alimentação sanguínea no período noturno e a escolha pelo hospedeiro vertebrado é um processo pouco compreendido, variando entre as espécies. Algumas espécies possuem preferências limitadas à poucos hospedeiros animais, enquanto outras demonstram um comportamento "oportunista" (Tesh *et al.*, 1971; Quinnell *et al.*, 1992; Missawa *et al.*, 2008). Provavelmente, essas fêmeas "oportunistas" possuem maior capacidade vetorial para transmissão de patógenos, visto que podem realizar repastos sanguíneos em uma variedade de hospedeiros potencialmente infectados (Sacks *et al.*, 2008).

Durante o repasto sanguíneo inicia-se o processo de interação parasito-vetor, onde pode ocorrer a ingestão de macrófagos parasitados por formas amastigotas de *Leishmania*, juntamente com o sangue do hospedeiro vertebrado, pelo vetor. Essas formas amastigotas, presentes nos hospedeiros, após ingeridas são direcionadas ao intestino médio do inseto e envoltas pela matriz peritrófica, junto ao bolo sanguíneo (Pimenta *et al.*, 1997; Secundino *et al.*, 2005). Após um período, estas se diferenciam em outras formas intermediárias até atingirem as formas promastigotas que, após o processo de metaciclogênese, diferenciam-se em formas promastigotas metacíclicas, que são as formas infectantes para o vertebrado (Sacks & Perkins, 1984). Os parasitos que colonizam a parte anterior do intestino do vetor limitam o fluxo de sangue durante o repasto sanguíneo, ocasionando o refluxo destes parasitos até a pele do hospedeiro (Killick-Kendrick *et al.*, 1979). Autores mostraram em seus trabalhos que uma destruição da válvula do estomodeu das fêmeas, juntamente com a ação das quitinasas produzidas pela *Leishmania*, dificultam o repasto sanguíneo e favorecem a regurgitação de formas promastigotas metacíclicas na pele do vertebrado (Volf *et al.*, 2011). Apenas uma minoria dos parasitos presentes no vetor é regurgitado no momento do repasto sanguíneo, assim o flebotomíneo se mantém ainda infectado. O restante dos parasitos que permanecem no intestino do vetor podem se desdiferenciar em uma forma leptomonada que os autores denominam de retroleptomonas (Bates, 2007). Outros autores afirmam que essas formas promastigotas retroleptomonadas aumentam substancialmente a população de parasitos nos flebotomíneos, elevando o número de promastigotas metacíclicas, ocasionando um aumento da capacidade de transmissão da doença (Alvar *et al.*, 2012; Pronto, 2013; Doehl *et al.*, 2017).

Após a inoculação das formas promastigotas metacíclicas pelo vetor através da picada, estas são fagocitadas pelos macrófagos e se inicia um novo ciclo no hospedeiro vertebrado (Monteiro, 2012).

Segundo Killick-Kendrick (1990), existem alguns critérios para incriminar uma determinada espécie de flebotomíneo como vetor de *Leishmania* spp.. Esses critérios referem-se à comprovação do comportamento antropofílico da espécie, a distribuição espacial em concordância com a ocorrência dos casos humanos, a atração por reservatórios, a infecção natural por parasitos, se a espécie permite o desenvolvimento do parasito e se este flebotomíneo é capaz de transmiti-lo através da picada. Já a capacidade vetorial dos flebotomíneos é determinada, principalmente, pela ecologia das espécies, como abundância, sobrevivência, hábito alimentar (frequência de alimentação e hospedeiro preferencial), entre outros.

Figura 1- Espécimen macho (B) e fêmea (C) de flebotomíneo de *Lutzomyia longipalpis* mostrando suas características externas e dimorfismo sexual.



Fonte: Tópicos Avançados em Entomologia Molecular Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular INCT – EM – 2012. Cap. 12.

2.4 Urbanização das leishmanioses e sinantropia dos flebotomíneos

As leishmanioses eram restritas à animais silvestres, peridomésticos e a flebotomíneos de florestas tropicais densas, caracterizando-a como uma doença de caráter silvestre e rural. O homem era acidentalmente infectado quando adentrava ou colonizava áreas próximas a focos silvestres (Lainson & Shaw, 1979). Porém, ao longo dos anos, esse padrão vem sofrendo mudanças e o ciclo de transmissão, que ocorria no ambiente silvestre e rural, hoje ocorre também em pequenos, médios e grandes centros urbanos (Brasil, 2001).

Análises de estudos epidemiológicos vêm demonstrando que a ocorrência de mudanças no perfil de transmissão e a crescente urbanização da doença podem ser explicadas

a partir do aumento de surtos urbanos, como também pela capacidade acelerada de expansão do vetor quando introduzida em área não endêmica (Wijeyaratne *et al.*, 1994), confirmando as leishmanioses como um modelo de doença reemergente (Ashford, 2000).

O intenso processo migratório de pessoas e animais de áreas endêmicas, o grande número de cães infectados, o aumento do desmatamento e o crescimento desordenado das cidades, têm sido apontados como os principais fatores responsáveis pela urbanização das leishmanioses, revelando-as como sendo doenças intimamente relacionadas às condições socioeconômicas as quais os indivíduos estão submetidos. Tais fatores levam a uma redução do espaço ecológico dos vetores, o que facilita a ocorrência de epidemias (Desjeux, 2004; Nascimento *et al.*, 2013).

Geralmente, os locais de abrigo correspondem ao ambiente onde as fêmeas de flebotomíneos encontram seus hospedeiros vertebrados e realizam o repasto sanguíneo (Basimike *et al.*, 1991; Memmont, 1991; Comer & Brown, 1993). Com a destruição das matas nativas, os hábitos naturais destes insetos foram alterados, levando a uma restrição de ambientes, fazendo com que as espécies resistentes às condições adversas explorem novos ambientes, aproximando-se cada vez mais dos peridomicílios (Forattini *et al.*, 1976 ab; Gomes & Galati, 1989). A maioria desses fenômenos que afetam a epidemiologia das leishmanioses sugere que parasitos e vetores tem capacidade de se adaptar às alterações ecológicas (Grimaldi Jr. e Tesh, 1993, Marzochi e Marzochi, 1994).

Estudos anteriores indicam mudanças potenciais na distribuição geográfica de flebotomíneos associadas à variação de fatores climáticos como temperatura, pluviosidade e umidade, que estão relacionadas, em diferentes graus, com a ocorrência e a densidade de flebotomíneos (Cardenas *et al.*, 2006), seja por influência sobre os adultos ou pela modificação nos criadouros (Scorza *et al.*, 1968, Chaniotis *et al.*, 1971, Miscevic 1981, Roberts 1994).

Certos autores (Barreto 1943, Pifano *et al.*, 1960, Scorza *et al.*, 1968) acreditam que para uma região tropical, o padrão geral predominante é o aumento da densidade populacional durante a estação seca e o decréscimo na estação chuvosa. Chaniotis *et al.*, (1971) sugerem que a sazonalidade dos flebotomíneos está relacionada com os padrões de distribuição das chuvas que agem modificando as condições dos criadouros no solo. De acordo com esta hipótese, a chuva beneficiaria os flebotomíneos quando esta ocorresse moderadamente ao longo da estação chuvosa, mas prejudicaria estes insetos quando inundasse o chão, destruindo os criadouros e matando as pupas no solo.

Em ambientes tropicais existe maior previsibilidade de chuvas e uma grande estabilidade climática, o que favorece pequenas flutuações nas populações de insetos (Wolda 1978). Correlações entre variações de fatores ambientais com a flutuação nas populações de insetos e o início ou o fim da atividade sazonal de algum destes, já foram estudadas. Os resultados destes estudos demonstraram que as variações populacionais de insetos estariam intimamente ligadas à estabilidade climática e a estabilidade dos habitats (Wolda 1978, Wolda *et al.*, 1992).

Nuorteva (1963) denominou a capacidade de determinadas espécies em utilizar as condições ambientais criadas ou modificadas pelo homem geralmente decorrente do processo de urbanização, de sinantropia, onde seu índice mede o grau de adaptabilidade das espécies ao ambiente urbanizado. O cálculo deste índice de sinantropia (IS) é aplicado quando se compara dados quantitativos de uma determinada espécie em três áreas ecologicamente distintas (área urbana, área rural e área de mata), levando-se em consideração a proporção dessa determinada espécie em cada uma dessas áreas. A sinantropia tem sido estudada do ponto de vista ecológico, buscando evidenciar o resultado da influência humana sobre a fauna original do ambiente.

3. JUSTIFICATIVA

Fatores relacionados à expansão das leishmanioses como, elevada distribuição geográfica, reemergência em focos antigos e processo de urbanização, ocasionam mudanças no perfil de transmissão dessas doenças (Cattand *et al.*, 2006). Diversas pesquisas vêm sendo desenvolvidas, mas a maioria dos estudos envolvendo a ecoepidemiologia e a urbanização das leishmanioses não consideram áreas recentes de baixa e média transmissão, o que dificulta a compreensão dos elos da cadeia envolvidos na transmissão desses agravos.

O município de Itaúna (MG) é considerado pelo Ministério da Saúde como uma área de transmissão esporádica de LV (média maior que zero e inferior a 2,4 casos nos últimos três anos). No período de 2001 a 2017 foram notificados e confirmados 18 casos humanos de LV e 31 casos humanos de LT (Sinan, 2018).

A proximidade de Itaúna com municípios endêmicos, associada às condições favoráveis à ocorrência da doença, como predomínio de peridomicílio com vegetação e matéria orgânica abundante, presença de animais domésticos, deficiência de saneamento básico, aumento do número de casos caninos, como também a descontinuidade do programa integrado de controle, representam importantes fatores tanto para a manutenção das leishmanioses quanto para a expansão da doença, ficando evidente a necessidade de se conhecer melhor a biologia, sinantropia e comportamento das espécies de flebotomíneos e dos aspectos ambientais e climáticos particulares do município.

Assim, com o propósito de conhecer a ecologia dos flebotomíneos relacionados à epidemiologia das leishmanioses, iniciou-se um projeto no município de Itaúna, visando contribuir no estabelecimento da relação dinâmica e da compreensão global do processo saúde/doença e no estabelecimento de medidas mais efetivas e integradas para a eficiência do controle no município.

4. OBJETIVOS

4.1 Geral

Estudar os aspectos ecológicos relacionados a epidemiologia das leishmanioses no município de Itaúna, Minas Gerais.

4.2 Específicos

- Determinar a fauna de flebotomíneos das áreas selecionadas.
- Avaliar a influência das variáveis bioclimáticas (temperatura, precipitação pluviométrica, umidade relativa do ar e velocidade do vento) sobre o número mensal de flebotomíneos capturados.
- Calcular o índice de sinantropia das espécies de flebotomíneos capturadas nas distintas áreas ecológicas (área urbana, área rural e área de mata).
- Estudar a infecção natural por *Leishmania* utilizando métodos moleculares.
- Caracterizar a espécie de *Leishmania* circulante nos flebotomíneos capturados.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Área de estudo

Itaúna (20° 04' 32" S e 44°, 34' 35" W) pertencente ao estado de Minas Gerais, abrange uma área de 495.875 km², com cerca de 72 bairros e população estimada de 92.561 habitantes (IBGE, 2018). Está localizado no Quadrilátero Ferrífero, no colar metropolitano de Belo Horizonte, a 76 km de distância da capital mineira. O município intercepta duas rodovias estaduais, MG-050 e MG-431, e há uma rodovia que corta a cidade, pertencente a Ferrovia Centro Atlântica. Limita-se ao norte pelos municípios de Igaratinga e Pará de Minas; ao sul, por Itatiaiuçu; a leste, por Mateus Leme; e a Oeste, por Carmo do Cajuru (Figura 2).

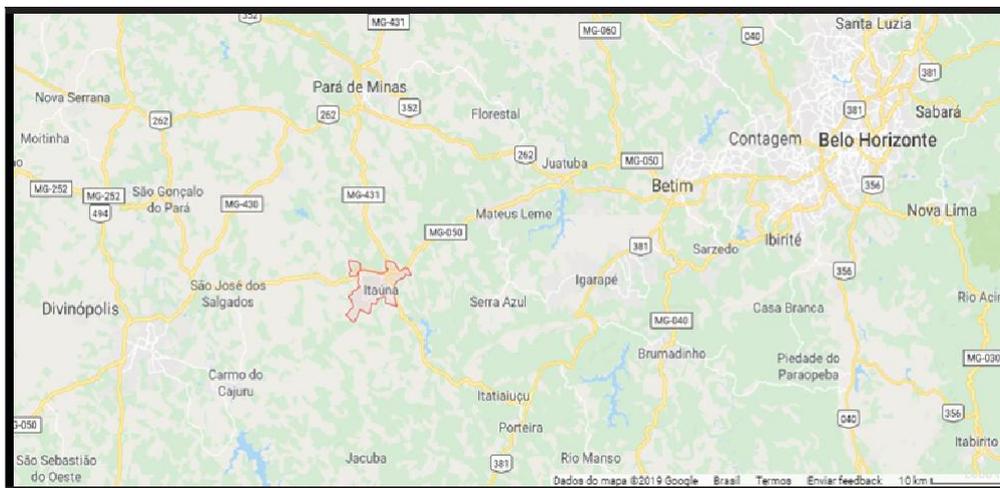
O relevo caracteriza-se por formações do complexo cristalino, apresenta feição de escarpas, maciços e morros. Os solos são argilosos e resistentes à erosão, de profundidade variável, de baixa a moderada fertilidade natural, com maior aproveitamento na pecuária. As montanhas são rochosas, pré-cambrianas, intensamente dobradas, provocando a formação de colinas côncavas-convexas e cristas esparsas, com altitudes de 860 a 1.200 metros. O município está situado numa zona de vegetação de transição de Cerrado para Mata Atlântica.

O clima é tropical de altitude com verões quentes, onde a temperatura média anual é de cerca de 22°C, sendo que a máxima fica em torno de 32°C e a mínima de 13°C, e com umidade relativa do ar média de 64,15%.

É um município conhecido também como Cidade Educativa do Mundo, título conferido pela UNESCO em 1975. Além disso, possui um cotidiano de cultura e turismo, que inclui festas populares e religiosas. Dentre os pontos turísticos estão a Gruta de Nossa Senhora de Itaúna, Museu Municipal Francisco Manoel Franco, Barragem do Benfica (principal fonte de abastecimento da cidade), Usina do Caixão, estâncias minerais e cachoeiras.

O setor socioeconômico é bastante fortalecido com o centro de desenvolvimento empresarial que agrega as principais entidades ligadas ao comércio e à siderurgia do município. Dentre as principais empresas localizadas em Itaúna estão a Belgo Mineira Bekaert, Santanense (Grupo Coteminas), Ergom/Magneti Marelli, Água Mineral Viva, Saint-Gobain, dentre outros setores (Prefeitura Municipal de Itaúna).

Figura 2 - Localização geográfica do município de Itaúna em Minas Gerais, vista parcial e imagem do município em relação aos municípios vizinhos.

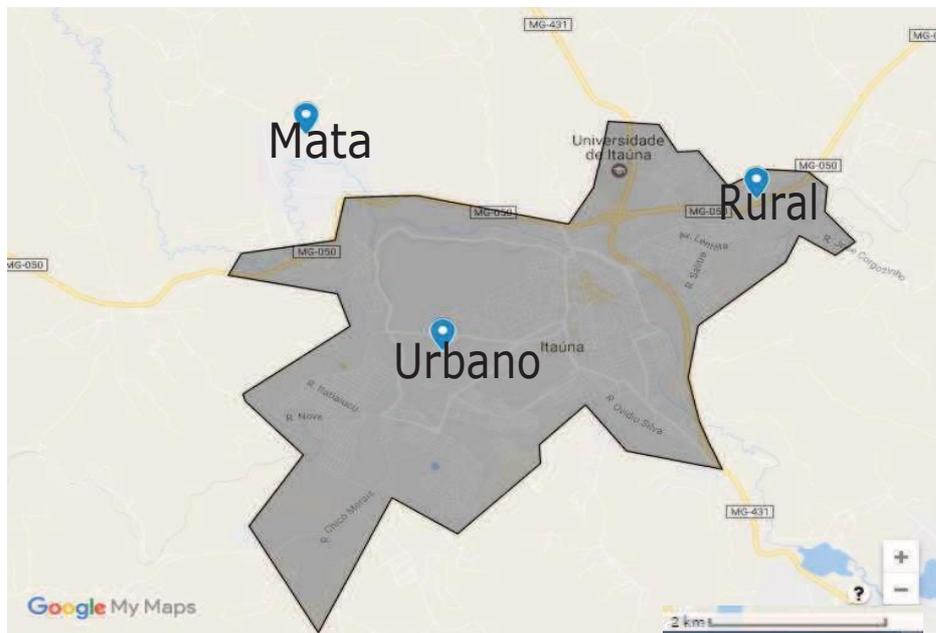


Fonte: Google Maps, 2019 e Planum – itauna.mg.gov

5.2 Escolha das áreas ecológicas do estudo

Para a realização do estudo foram escolhidas três áreas ecologicamente distintas do município (área urbana, área rural e área de mata), com distância aproximada de 8 km entre elas (Figura 3). A área urbana foi representada pelo bairro Chácara do Quitão, a área rural pelo bairro Piaguassu e a área de mata pelo bairro Distrito Industrial (Centro de Controle de Zoonoses). Para selecionar as áreas foram considerados alguns critérios favoráveis ao encontro dos flebotomíneos, como ocorrência de espaços com umidade e sombreamento, presença de galinheiros e de animais domésticos, árvores frutíferas, matéria orgânica no solo e vegetação abundante.

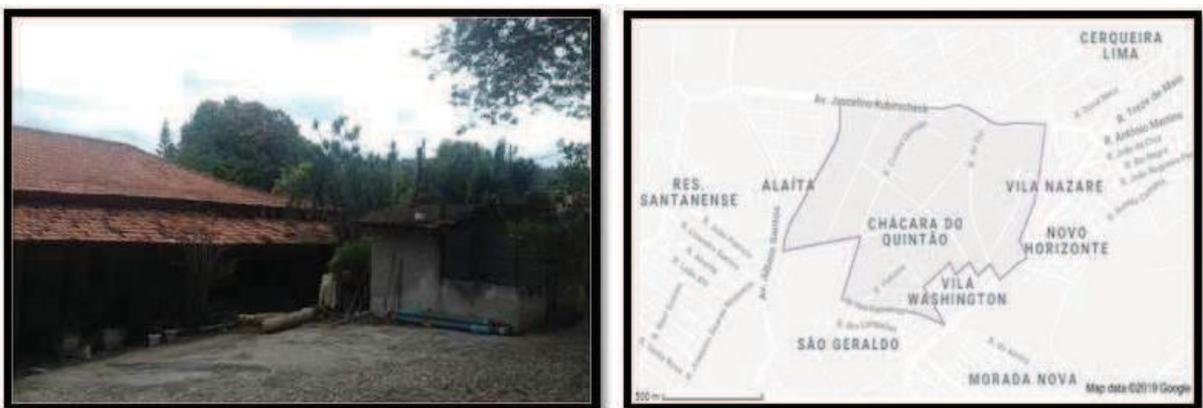
Figura 3 - Pontos de capturas entomológicas nas distintas áreas ecológicas no município de Itaúna.



Fonte: Google Maps, 2018.

A residência onde foram instaladas as armadilhas luminosas tipo HP na área urbana localiza-se na Rua Cunha Quitão, bairro Chácara do Quitão. O bairro é totalmente urbano, com forte ocupação humana, predominantemente residencial, próximo ao Centro de Itaúna (cerca de 1km) e ao Hospital Dr. Ovídio. (Figura 4)

Figura 4 - Aspecto geral do local de captura na área urbana e mapa da localização do bairro Chácara do Quitão, no município de Itaúna.



Fonte: Nathália Pereira (foto) e Google Maps, 2019.

A residência onde foram instaladas as armadilhas luminosas do tipo HP na área rural localiza-se na Rua Hécio Vilaça, bairro Piaguassu, próximo à rodovia MG-050, cerca de 5 km do centro de Itaúna. Possui poucas residências, presença de pastagens (predominância de herbáceas), abundância de árvores frutíferas, hortas, criação de bovinos, caprinos e animais domésticos (Figura 5).

Figura 5 - Aspecto geral do local de captura na área rural e mapa da localização do bairro Piaguassu, no município de Itaúna.



Fonte: Nathália Pereira (foto) e Google Maps, 2019.

O Centro de Controle de Zoonoses, onde foram instaladas as armadilhas luminosas do tipo HP, localiza-se na Rua Calambau, bairro Distrito Industrial. É um bairro afastado do centro urbano de Itaúna (cerca de 10 km), com alta cobertura vegetal de mata de transição (cerrado e floresta estacional semi-decidual), apresentando muitas árvores de vários portes, com um pequeno córrego perene, incidência solar baixa e próximo ao Hotel Fazenda Granja Glória (Figura 6).

Figura 6 - Aspecto geral do local de captura na área de mata e mapa da localização do bairro Distrito Industrial, no município de Itaúna.



Fonte: Nathália Pereira (foto) e Google Maps, 2019.

5.3 Levantamento Entomológico

Para a captura dos flebotomíneos, foram utilizadas armadilhas luminosas do tipo HP (Pugedo *et al.*, 2005) (Figura 7), instaladas em locais sombreados próximos a galinheiros, canis e currais (Chácara do Quitão e Piaguassu) e no interior da mata (Distrito Industrial) (Figuras 8 a 10). As capturas entomológicas foram realizadas mensalmente durante 3 dias consecutivos, no período de junho de 2017 a maio de 2018. Três armadilhas foram expostas em cada área selecionada distantes aproximadamente 300 m uma da outra. Para as capturas entomológicas foi assinado pelos moradores o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) concordando com a pesquisa (Anexo).

O material entomológico capturado mensalmente foi encaminhado para o laboratório do Grupo de Pesquisas em Taxonomia de Flebotomíneos/Epidemiologia, Diagnóstico e Controle das Leishmanioses do Instituto René Rachou/IRR. Primeiramente foi realizada a triagem separando os flebotomíneos dos outros insetos. Logo em seguida, os machos foram acondicionados em tubos de hemólise contendo álcool 70%, armazenados em temperatura ambiente para posterior montagem e identificação taxonômica. As fêmeas foram acondicionadas em tubos de fundo cônico contendo Dimetilsulfóxido (DMSO 6%) e armazenadas a -20°C para posterior dissecação (identificação taxonômica) e análises moleculares (cacofonia e Nested/PCR).

Figura 7 - Armadilha luminosa do tipo HP



Fonte: Hoover Pugedo

Figura 8 - Locais onde foram instaladas as armadilhas entomológicas do tipo HP, bairro Chácara do Quitão (área urbana), município de Itaúna, Minas Gerais.



Fonte: Nathália Pereira

Figura 9 - Locais onde foram instaladas as armadilhas entomológicas do tipo HP, bairro Piaguassu (área rural), município de Itaúna, Minas Gerais.



Fonte: Nathália Pereira

Figura 10 - Locais onde foram instaladas as armadilhas entomológicas do tipo HP, bairro Distrito Industrial (área de mata), município de Itaúna, Minas Gerais.



Fonte: Nathália Pereira

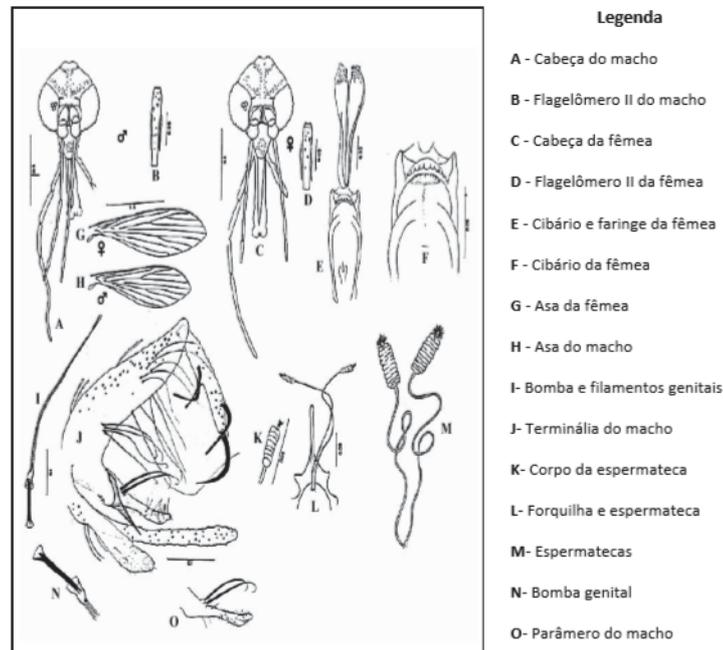
5.4 Montagem e identificação dos exemplares de flebotomíneos capturados

Para a montagem dos machos capturados foi seguido o protocolo descrito por Langeron (1949) com algumas modificações. Primeiramente, esses exemplares passaram por um processo de clarificação, onde foram imersos em placas de Elisa (identificadas de acordo com os pontos e datas de captura) contendo solução de hidróxido de potássio (Potassa -KOH 10%) durante 2 horas para amolecimento da quitina. Após esse período, estes foram transferidos para solução de ácido acético 10% por 20 minutos, para retirada do excesso de Potassa. Em seguida, foi feita a lavagem destes com água Tipo I por três vezes, durante 15 minutos cada. Por fim, os exemplares foram mantidos em lactofenol por pelo menos 24 horas até montagem.

As fêmeas foram dissecadas utilizando-se estiletos entomológicos, retirando-se a cabeça e os três últimos segmentos abdominais para identificação taxonômica, e o restante do inseto foi armazenado em tubos de fundo cônico a seco devidamente rotulados (pontos e datas de capturas), para posteriores análises moleculares.

Tanto os machos quanto as fêmeas foram montados entre lâmina e lamínula utilizando-se líquido de Berlese (meio aquoso de baixa refração que possibilita a passagem de luz com maior intensidade, facilitando a observação das estruturas necessárias para a identificação). A identificação taxonômica foi realizada através do uso de descrições específicas (observação de caracteres morfológicos) (Figura 11), chaves taxonômicas e comparações com exemplares depositados na Coleção de Referência do Instituto René Rachou. A classificação adotada foi a proposta por Galati (2003).

Figura 11 - Principais estruturas utilizadas na identificação dos exemplares de flebotomíneos machos e fêmeas.



Fonte: Young & Duncan, 1994.

5.5 Influência das variáveis climáticas na densidade populacional de flebotomíneos

Os dados climáticos mensais de temperatura ($^{\circ}\text{C}$), umidade relativa do ar (%), velocidade do vento (m/s) e pluviosidade (mm^3) referentes ao período de estudo, foram obtidos junto ao Distrito do Instituto Brasileiro de Meteorologia de Divinópolis, município mais próximo de Itaúna (aproximadamente 43 km de distância) onde há estação meteorológica. (Figura 12).

Para avaliar a influência dessas variáveis climáticas em relação ao número de flebotomíneos da espécie *Lu. longipalpis* capturados durante o período de estudo foram utilizados os dados climatológicos e os números mensais de exemplares da espécie. Estes dados foram analisados graficamente, de modo a permitir o delineamento das estações climáticas em agrupamentos: Quente e seco, Fresco e seco e Quente e úmido (chuvoso).

5.7 Extração de DNA das fêmeas de flebotomíneos capturadas

O restante do corpo das fêmeas dissecadas foi agrupado em “pools” de 2 a 10 indivíduos, formados por exemplares da mesma espécie, mesmo ponto e mesmo mês de captura ou quando necessário, individualmente. Posteriormente, a extração de DNA foi realizada, visando à detecção da infecção por *Leishmania*, utilizando o Kit de extração de tecidos e células da GE Amersham Biosciences, de acordo com especificações do fabricante.

As amostras extraídas foram quantificadas no espectrofotômetro NanoDrop-Thermo Scientific, utilizando a faixa de leitura de 260 a 280 nm e armazenadas a -20° C para posteriores análises moleculares.

5.8 Reação da polimerase em cadeia do gene constitutivo de flebotomíneos (cacofonia)

Para a confirmação da presença de DNA de flebotomíneos nas fêmeas capturadas e consequente validação do processo de extração, foi utilizado um par de iniciadores que amplificam a região IVS6 do gene constitutivo específico (cacofonia) de flebotomíneos. A técnica foi realizada utilizando o Kit de PCR (Kit PureTaq Ready-To-Go PCR Beads/GE Healthcare), com os seguintes iniciadores: 5' GTG GCC GAA CAT AAT GTT AG 3' e 5' CCA CGA ACA AGT TCA ACA TC 3' (Lins *et al.*, 2002).

A amplificação do gene constitutivo foi realizada em equipamento termociclador automático (Applied Biosystems Veriti™ Thermal Cycler), utilizando o programa de amplificação: 94° C por 12 minutos, seguido de 35 ciclos de amplificação, 94° C por 30 segundos, 55° C por 30 segundos, 72° C por 30 segundos e uma extensão final de 72° C por 10 minutos e resfriamento a 4° C. Em cada conjunto da reação de cacofonia, foram incluídos um controle negativo (sem DNA) e um controle positivo (DNA purificado de flebotomíneo do gênero *Lutzomyia*).

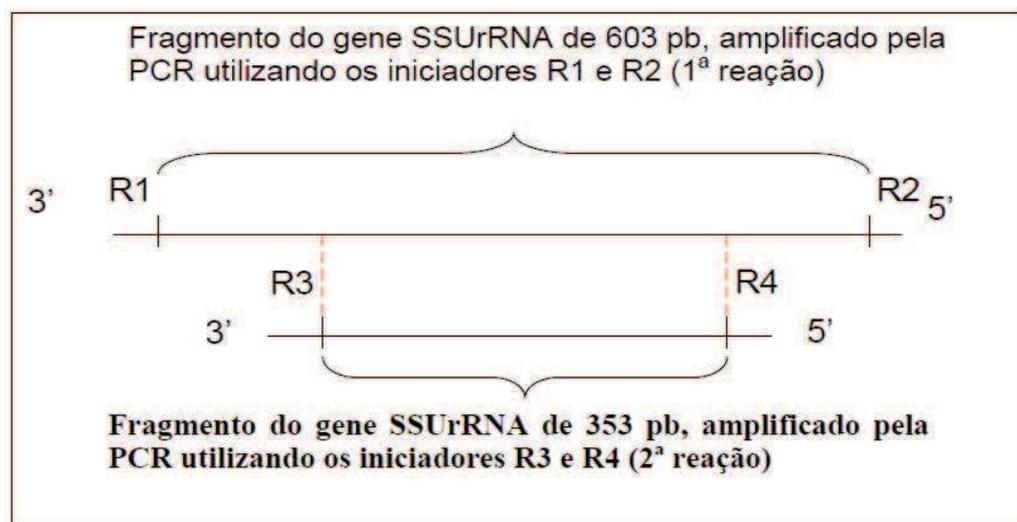
5.9 Detecção da infecção natural das fêmeas de flebotomíneos por *Leishmania* spp.

Para determinar a taxa de infecção natural, as amostras de DNA extraídas dos flebotomíneos foram analisadas através da técnica Nested PCR (LnPCR) dirigida ao gene SSUrRNA de *Leishmania*, que amplifica um fragmento deste gene que é uma região conservada entre todas as espécies de *Leishmania* (Van Eys *et al.*, 1992; Cruz *et al.*, 2002 e 2006).

Esta metodologia, adaptada e modificada de Cruz *et al.* (2002) foi realizada a partir de uma amplificação inicial de um fragmento de aproximadamente 603 pb, utilizando-se os iniciadores R1: 5' GGT TCC TTT CCT GAT TTA CG 3' e R2: 5' GGC CGG TAA AGG CCG AAT AG 3', seguida da amplificação de um fragmento de aproximadamente 353 pb, a partir do produto amplificado diluído da primeira reação, utilizando os iniciadores R3: 5' TCC CAT CGC AAC CTC GGT T 3' e R4: 5' AAA GCG GGC GCG GTG CTG 3' (Figura 13). A amplificação foi processada em aparelho termociclador automático, utilizando o seguinte ciclo para SSU: desnaturação inicial a 94° C por cinco minutos, seguido de 35 repetições de desnaturação a 94° C por 30 segundos, anelamento a 60° C por 30 segundos e extensão a 72° C por 30 segundos, e extensão final foi a 72° C por cinco minutos e resfriamento a 4° C. Para a segunda reação Nested PCR, foi realizado o ciclo de desnaturação inicial a 94° C por cinco minutos, seguido de 30 repetições de desnaturação a 94° C por 30 segundos, anelamento a 65° C por 30 segundos e extensão a 72° C por 30 segundos, e extensão final de 72° C por cinco minutos e resfriamento a 4° C.

Em todas as reações utilizou-se DNA extraído de cultura de *Le. infantum* (MHOM/BR/PP75), como controle positivo e como controle negativo a amostra de DNA foi substituída por volume equivalente de H₂O para PCR.

Figura 13 - Desenho esquemático da Ln-PCR destinada a amplificar um fragmento do gene SSUrRNA de *Leishmania*.



Fonte: Eduardo de Castro Ferreira

5.10 Análise dos produtos amplificados pelas PCR's Cacofonia e Ln-PCR

Após as amplificações das PCR's utilizando iniciadores que amplificam fragmentos do gene constitutivo de flebotomíneos (cacofonia) e do gene do SSUrRNA (Ln-PCR), estas amostras foram analisadas através de eletroforese em gel de agarose 2% corados com brometo de etídeo e examinados em exposição à luz ultravioleta (UV) no capturador de imagens ImageQuant LAS 4000.

6. RESULTADOS

6.1 Fauna flebotomínica das áreas estudadas

Durante o período de junho de 2017 a maio de 2018 foram capturados 1.306 espécimens, sendo 1.143 machos (87,52%) e 163 fêmeas (12,48%). A fauna flebotomínica apresentou-se diversificada, sendo composta por seis gêneros (*Lutzomyia*, *Evandromyia*, *Pintomyia*, *Nyssomyia*, *Psathyromyia* e *Brumptomyia*) e distribuída em 11 espécies: *Brumptomyia brumpti* Larrousse, 1920, *Evandromyia cortelezzi* (Brèthes, 1923), *Evandromyia evandroi* (Costa Lima & Antunes, 1936), *Evandromyia lenti* (Mangabeira, 1938), *Evandromyia sallesi* (Galvão & Coutinho, 1940), *Evandromyia termitophila* (Martins, Falcão & Silva, 1964), *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912), *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939), *Pintomyia pessoai* (Coutinho & Barreto, 1940), *Psathyromyia brasiliensis* (Costa Lima, 1932), *Psathyromyia lutziana* (Costa Lima, 1932) (Tabela 1).

As fêmeas identificadas como pertencentes ao complexo *cortelezzi* são morfológicamente indistinguíveis, a identificação foi realizada em associação com o encontro dos machos das espécies capturadas de *Ev. cortelezzi* e *Ev. sallesi*. As espécies não identificadas se referem aos exemplares com alguma perda de caracteres morfológicos que são necessários para a identificação a nível específico. Considerando a relação entre machos e fêmeas capturados, 87,53% dos espécimens foram machos e 12,47% fêmeas, com uma razão M/F = 7,01:1. Dos 1.139 exemplares capturados de *Lu. longipalpis*, 1.062 (93,24%) eram machos e 77 (6,76%) eram fêmeas (Tabela 1).

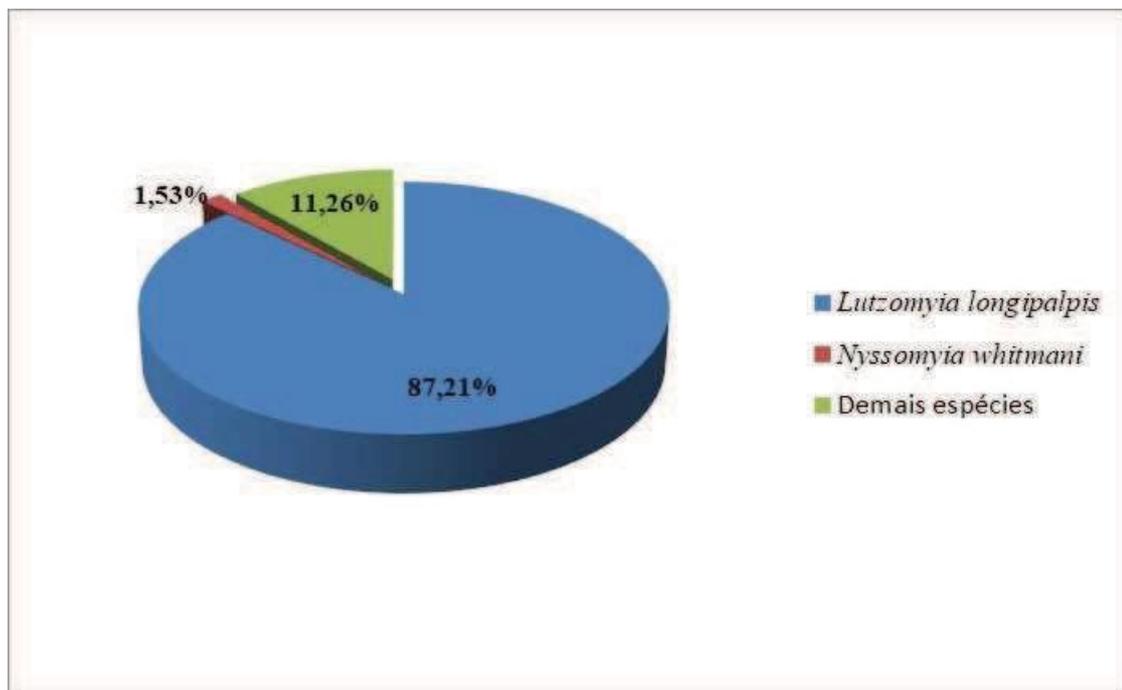
As principais espécies de importância médica encontradas foram *Lu. longipalpis* (vetor de LV) com 87,21% dos exemplares capturados e *Ny. whitmani* (vetor de LT), com 1,53%. As demais espécies corresponderam a 11,26% dos flebotomíneos (Gráfico 1).

TABELA 1

Total de espécimens de flebotomíneos capturados, por sexo, no município de Itaúna (MG), utilizando armadilha luminosa do tipo HP, no período de junho de 2017 a maio de 2018.

Espécies	Sexo		Total	%
	Machos ♂	Fêmeas ♀		
<i>Brumptomyia brumpti</i>	1	4	5	0,38
complexo <i>cortelezzii</i>	0	38	38	2,91
<i>Evandromyia cortelezzii</i>	5	0	5	0,38
<i>Evandromyia evandroi</i>	5	5	10	0,77
<i>Evandromyia lenti</i>	8	19	27	2,07
<i>Evandromyia sallesi</i>	1	0	1	0,08
<i>Evandromyia termitophila</i>	1	2	3	0,23
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	1062	77	1139	87,21
<i>Nyssomyia whitmani</i>	11	9	20	1,53
<i>Pintomyia pessoai</i>	4	4	8	0,61
<i>Psathyromyia brasiliensis</i>	0	1	1	0,08
<i>Psathyromyia lutziana</i>	1	2	3	0,23
Não identificados	44	2	46	3,52
Total	1143	163	1306	-
Frequência Relativa	87,53%	12,47%	100%	100%

GRÁFICO 1 - Porcentagem das principais espécies de flebotomíneos de importância médico-veterinária capturadas, utilizando armadilha luminosa do tipo HP, no período de junho de 2017 a maio de 2018, no município de Itaúna (MG).



Fonte: Elaborado pela autora.

Em relação à distribuição das espécies por mês (Tabela 3) observa-se a ocorrência de *Lu. longipalpis* em todos os meses estudados. A espécie *Ev. lenti* apenas não foi capturada em novembro de 2017; as espécies pertencentes ao complexo *cortelezzii* foram capturadas em nove meses e a espécie *Ny. whitmani* foi encontrada em sete meses do período de estudo. As demais espécies foram capturadas pelo menos em três meses, com exceção das espécies *Ev. sallesi* e *Ps. brasiliensis*, com apenas um exemplar nos meses de agosto e dezembro, respectivamente.

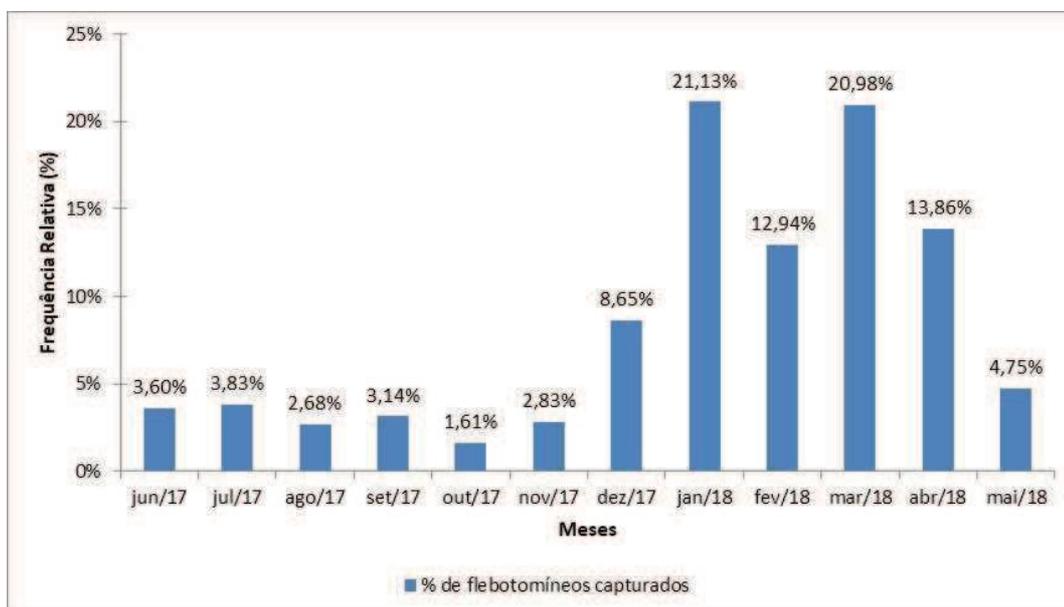
TABELA 2

Número mensal das espécies de flebotomíneos capturados, utilizando armadilha luminosa do tipo HP, no município de Itaúna (MG), no período de junho de 2017 a maio de 2018.

Espécies	jun/17	jul/17	ago/17	set/17	out/17	nov/17	dez/17	jan/18	fev/18	mar/18	abr/18	mai/18	Total
<i>Brumptomyia brumpti</i>	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	5
complexo <i>cortelezzii</i>	0	2	0	2	0	3	4	10	5	5	2	5	38
<i>Evandromyia cortelezzii</i>	2	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	5
<i>Evandromyia evandroi</i>	0	2	2	2	0	0	0	0	1	0	1	2	10
<i>Evandromyia lenti</i>	1	2	3	1	1	0	2	5	4	6	1	1	27
<i>Evandromyia sallesi</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Evandromyia termitophila</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	3
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	39	34	18	35	16	29	100	246	148	256	168	50	1139
<i>Nyssomyia whitmani</i>	5	5	6	0	0	1	1	1	1	0	0	0	20
<i>Pintomyia pessoai</i>	0	1	3	0	2	0	0	2	0	0	0	0	8
<i>Psathyromyia brasiliensis</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Psathyromyia lutziana</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	3
Não identificadas	0	3	0	0	1	3	3	10	10	5	7	4	46
Total	47	50	35	41	21	37	113	276	169	274	181	62	1306

Os meses que apresentaram as maiores taxas de flebotomíneos capturados foram dezembro (8,65%), janeiro (21,13%), fevereiro (12,94%), março (20,98%) e abril (13,86%). E os meses com menor número de indivíduos capturados foram agosto (2,68%), outubro (1,61%) e novembro (2,83%). Os demais apresentaram média de 4,79% (Gráfico 2).

GRÁFICO 2 - Porcentagem do número de flebotomíneos capturados, utilizando armadilha luminosa do tipo HP, no período de junho de 2017 a maio de 2018, no município de Itaúna (MG).



Fonte: elaborado pela autora.

6.2 Influência das variáveis climáticas na população de flebotomíneos capturados

Em relação às variáveis climáticas no período de estudo, houve variação da temperatura entre 17°C a 24,3°C (média anual de 21,9°C +/- 2,6°C); umidade relativa do ar entre 41,9 a 79,8%, (média anual de 64,3% +/- 11,3%); precipitação pluviométrica entre 0mm a 332,5mm (média anual de 114,4mm +/- 126,1mm); e velocidade do vento entre 2mps e 2,8mps (média anual de 2,3mps +/- 0,2mps) (Tabela 4).

TABELA 3

Variáveis climáticas mensais do município de Divinópolis (MG), durante os meses de junho de 2017 a maio de 2018.

Ano	Mês	Precipitação total (mm)	Temp compensada média (°C)	Umidade Relativa do ar (%)	Velocidade do vento (mps)
20f7	Jun	f7,f	f8,6	67,6	2,0
	Jul	0	f7	57,f	2,6
	Ago	0	20,3	48,6	2,4
	Set	8	22,2	4f,9	2,8
	Out	f22,3	24,3	54,5	2,3
	Nov	238,6	23,f	69,6	2,2
	Dez	332,5	24,f	72,9	2,0
20f8	Jan	3f7	24,3	72,6	2,3
	Fev	f54,3	23,6	79,8	2,f
	Mar	f55,8	24,5	7f,8	2,0
	Abr	3	2f,9	68,3	2,3
	Mai	24,4	f9,3	66,f	2,2

Fonte: INMET, 2018.

As relações entre a densidade populacional de flebotomíneos e os dados bioclimáticos desse estudo contemplaram apenas a espécie *Lu. longipalpis*, devido ao fato desta ter sido encontrada em maior número e ser o principal vetor de LV no Brasil. Após as análises, foram encontradas relações positivas entre a densidade populacional mensal de *Lu. longipalpis* e os dados climatológicos mensais.

Para avaliar a influência climática sobre a população de *Lu. longipalpis*, analisamos as variáveis precipitação pluviométrica e temperatura isoladamente. Foi feito o delineamento de agrupamentos climáticos no período estudado (Gráfico 3):

- Quente e seco: setembro de 2017 e abril de 2018.
- Fresco e seco: junho, julho e agosto de 2017; maio de 2018.
- Quente e úmido (chuvoso): outubro, novembro e dezembro de 2017; janeiro, fevereiro e março de 2018.

Pode-se observar que nos meses de junho a setembro a precipitação pluviométrica foi baixa ou ausente, a temperatura não foi elevada e o número de flebotomíneos capturados nesses meses também foi pequeno. Em outubro de 2017, iniciou-se o período chuvoso que se estendeu até março de 2018, observando-se um aumento excessivo das chuvas (Tabela 3). Concomitantemente, a densidade populacional de flebotomíneos começou a se elevar a partir de dezembro de 2017, dois meses após o início do período chuvoso. Nos meses de abril e

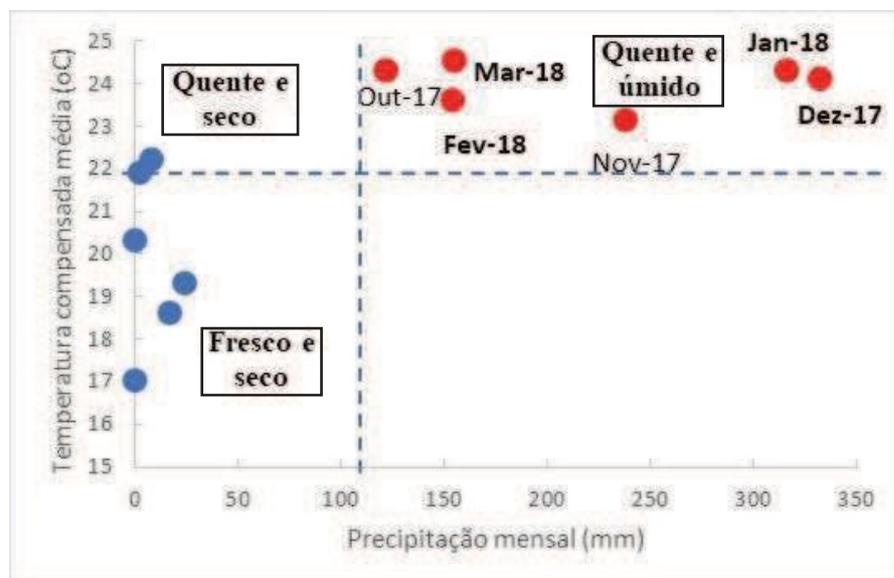
maio de 2018, ocorreu uma queda na precipitação pluviométrica e na temperatura, o que influenciou diretamente no número de flebotomíneos capturados (Gráfico 2).

Nos gráficos 3, 4 e 5, os pontos vermelhos correspondem aos meses em que a precipitação foi maior que a média e os pontos azuis, aos meses que apresentaram precipitação menor que a média. Os dados obtidos sugerem que o período chuvoso favoreceu o aumento da densidade populacional de flebotomíneos (Gráfico 3).

O gráfico 4 demonstra que as variáveis umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica interferiram na densidade de flebotomíneos capturados. Os meses de dezembro de 2017 e janeiro a abril de 2018 onde foi capturado o maior número de *Lu. longipalpis*, observou-se que a umidade relativa do ar se apresentou maior que a média (64,3%), o que pode ter favorecido o desenvolvimento desses insetos.

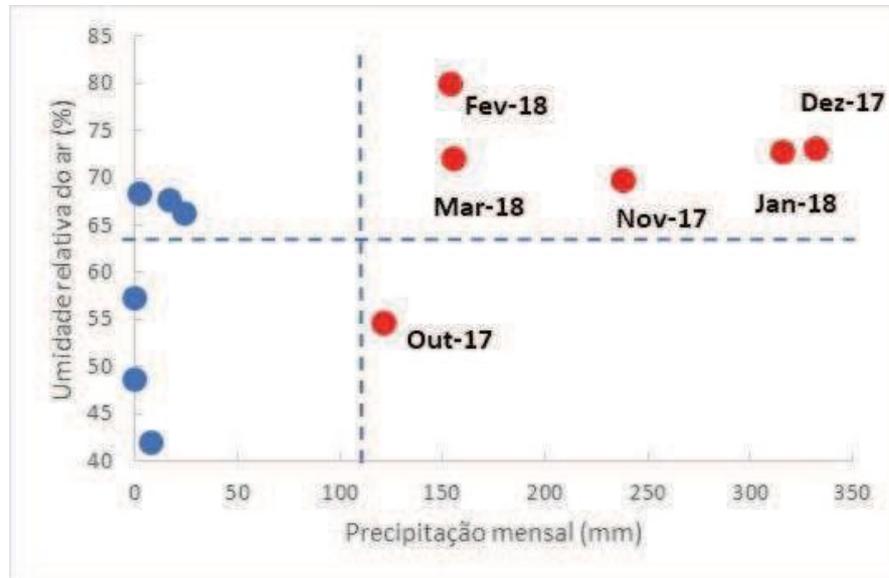
O gráfico 5 demonstra que as variáveis velocidade do vento e precipitação pluviométrica também interferiram na densidade de flebotomíneos capturados. A velocidade do vento nos meses de dezembro de 2017 e janeiro a março de 2018, foi menor ou igual à média (2,3mps). Podemos inferir, portanto, que nos meses onde a intensidade dos ventos foi menor, não interferindo na capacidade de voo dos flebotomíneos, a densidade populacional destes insetos foi maior, sendo que nesses meses foram capturados 65,8% dos exemplares de *Lu. longipalpis* de todo o período de estudo.

GRÁFICO 3 - Delineamento de “agrupamentos climáticos” no município de Itaúna, de acordo com os valores de temperatura compensada média (°C) e precipitação pluviométrica (mm), de junho de 2017 a maio de 2018.



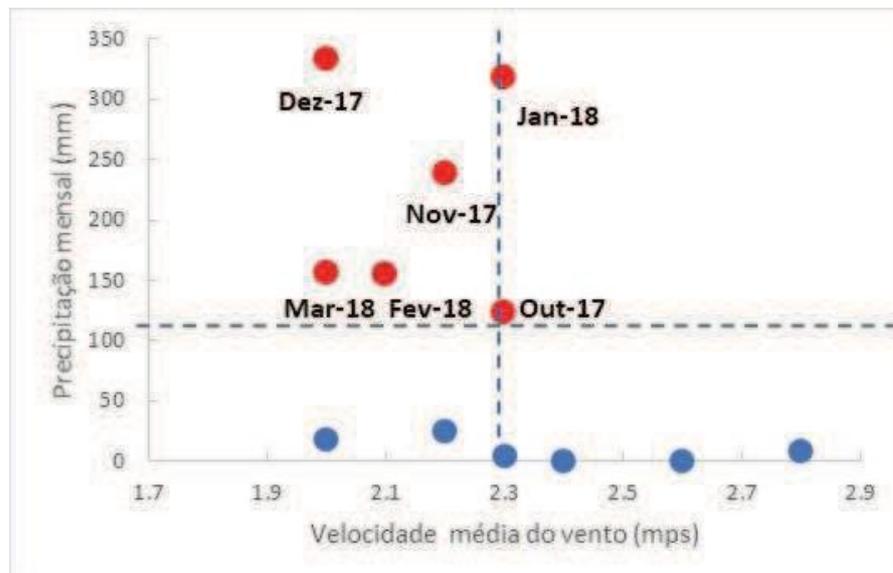
Fonte: elaborado por Consuelo Latorre Fortes Dias.

GRÁFICO 4 - Delineamento de “agrupamentos climáticos” no município de Itaúna, de acordo com os valores de umidade relativa do ar (%) e precipitação pluviométrica (mm) de junho de 2017 a maio de 2018.



Fonte: elaborado por Consuelo Latorre Fortes Dias.

GRÁFICO 5 - Delineamento de “agrupamentos climáticos” no município de Itaúna, de acordo com os valores de precipitação pluviométrica (mm) e velocidade média do vento (mps) de junho de 2017 a maio de 2018.

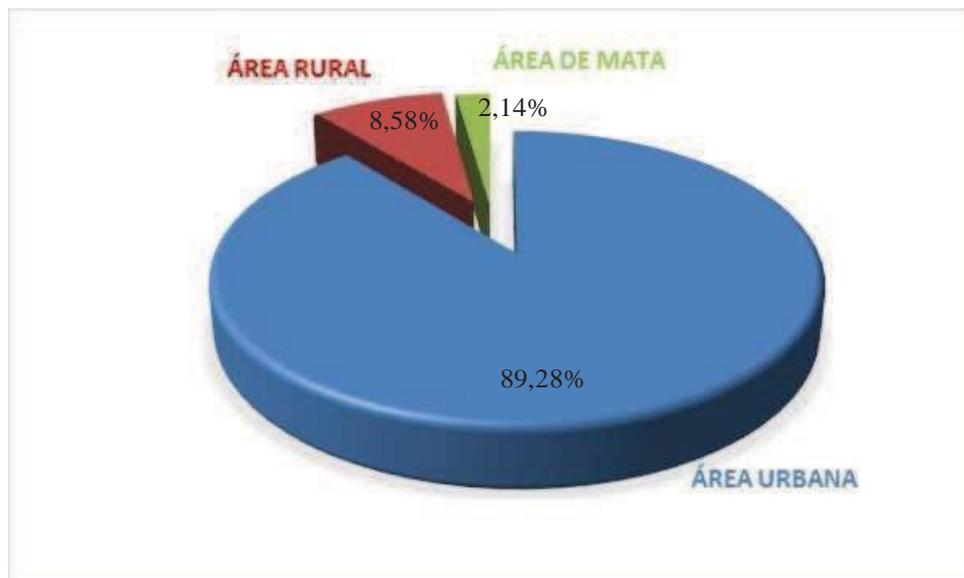


Fonte: elaborado por Consuelo Latorre Fortes Dias

6.3 Sinantropia

Ao longo dos 12 meses de estudo, foram capturados 1.166 exemplares (89,28%) na área urbana, 112 (8,58%) na área rural e 28 (2,14%) na área de mata (Gráfico 6).

GRÁFICO 6 - Porcentagem de flebotomíneos capturados nas distintas áreas ecológicas (urbana, rural e de mata), utilizando armadilha luminosa do tipo HP, durante o período de junho de 2017 a maio de 2018, no município de Itaúna (MG).



Fonte: elaborado pela autora.

Foram capturadas 11 espécies de flebotomíneos, distribuídos em 1.260 exemplares identificados a nível específico. Dentre estes, as espécies *Ev. cortelezzii*, *Ev. evandroi* e *Ev. sallesi* foram capturadas apenas na área urbana. A espécie *Ps. brasiliensis* foi capturada apenas na área de mata e as demais espécies encontradas foram capturadas pelo menos em duas das três áreas ecológicas, em diferentes proporções (Tabela 5).

TABELA 4

Número e porcentagem das espécies de flebotomíneos capturadas, utilizando armadilha luminosa do tipo HP, por área ecológica, durante o período de junho de 2017 a maio de 2018, no município de Itaúna (MG).

Espécies	Urbana		Rural		Mata	
	nº	%	nº	%	nº	%
<i>Brumptomyia brumpti</i>	3	60	1	20	1	20
complexo <i>cortelezzii</i>	28	73,7	6	15,8	4	10,5
<i>Evandromyia cortelezzii</i>	5	100	0	0	0	0
<i>Evandromyia evandroi</i>	10	100	0	0	0	0
<i>Evandromyia lenti</i>	21	77,8	5	18,5	1	3,7
<i>Evandromyia sallesi</i>	1	100	0	0	0	0
<i>Evandromyia termitophila</i>	1	33,3	1	33,3	1	33,3
<i>Lutzomyia lonpipalpis</i>	1050	92,2	87	7,6	2	0,2
<i>Nyssomyia whitmani</i>	3	15	6	30	11	55
<i>Pintomyia pessoai</i>	0	0	3	37,5	5	62,5
<i>Psathyromyia brasiliensis</i>	0	0	0	0	1	100
<i>Psathyromyia lutziana</i>	1	33,3	0	0	2	66,7
Total	1123	-	109	-	28	-

Quanto ao sexo, foram capturados um maior número de machos nas áreas urbana e rural, e pode ser observado que a área urbana apresentou uma taxa relativamente maior tanto para machos (91,07%) quanto para fêmeas (76,68%) em relação as outras áreas. (Tabela 5)

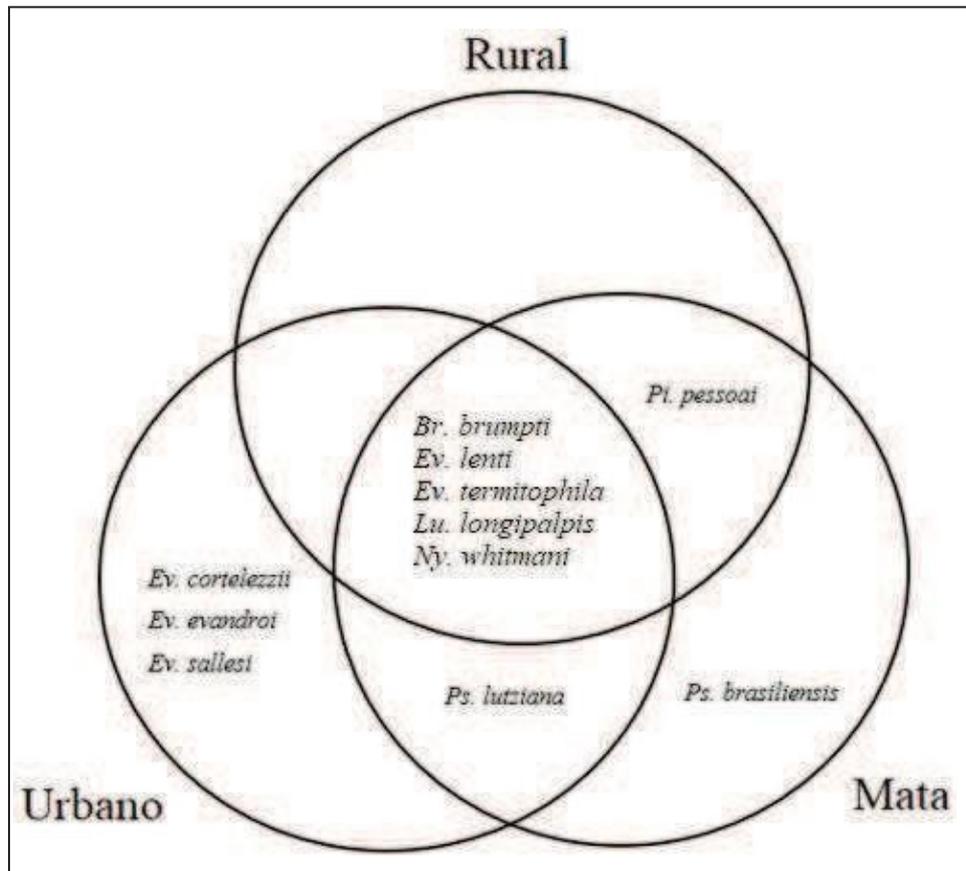
TABELA 5

Número e porcentagem de flebotomíneos capturados, utilizando armadilha luminosa do tipo HP, nas distintas áreas ecológicas, quanto ao sexo, durante o período de junho de 2017 a maio de 2018, no município de Itaúna (MG).

Áreas ecológicas	♂	%	♀	%
Urbana (Chácara do Quitão)	1041	91,07	125	76,68
Rural (Piaguassu)	93	8,14	19	11,66
Mata (Distrito Industrial)	9	0,79	19	11,66
Total	1143	100%	163	100%

Quanto a diversidade, foram capturadas 9 espécies na área urbana, 6 espécies na área rural e 8 espécies na área de mata (Figura 14).

Figura 14 - Distribuição das espécies capturadas segundo as áreas ecológicas.



Fonte: Elaborado pela autora.

Em relação ao índice de sinantropia, observou-se que a espécie *Ev. evandroi* é sinantrópica (IS +100), ou seja, capaz de utilizar às condições criadas pelo homem, ao contrário de *Ps. brasiliensis* que demonstrou-se assinantrópica (IS -100). As espécies *Ev. lenti* e *Lu. longipalpis* também apresentaram um alto grau de adaptabilidade ao meio urbano, com IS +83,4 e IS +95,8, respectivamente.

A espécie *Pi. pessoai* foi capturada apenas na área rural e de mata; a espécie *Br. brumpti* apesar de ter sido capturada nas três áreas, apresentou-se em maior número na área urbana; a espécie *Ev. termitophila* foi capturada na mesma proporção nas três áreas; a espécie *Ny. whitmani* foi capturada em maior número na área de mata e a espécie *Ps. lutziana* foi capturada na área urbana e de mata (Tabela7).

TABELA 6

Índice de Sinantropia (IS) das espécies de flebotomíneos capturadas, utilizando armadilha luminosa do tipo HP, durante o período de junho de 2017 a maio de 2018, no município de Itaúna (MG).

Espécies	IS
<i>Brumptomyia brumpti</i>	+ 50
<i>Evandromyia evandroi</i>	+ 100
<i>Evandromyia lenti</i>	+ 83,4
<i>Evandromyia termitophila</i>	+ 16,6
<i>Lutzomyia lonpipalpis</i>	+ 95,8
<i>Nyssomyia whitmani</i>	- 25
<i>Pintomyia pessoai</i>	- 43,8
<i>Psathyromyia brasiliensis</i>	- 100
<i>Psathyromyia lutziana</i>	- 33,4

Devido ao fato do complexo *cortelezzi* englobar apenas fêmeas e as espécies *Ev. cortelezzi* e *Ev. sallesi* os machos, não foi possível calcular o índice sinantrópico destas espécies.

6.4 Detecção de DNA de *Leishmania* spp. em fêmeas de flebotomíneos capturadas

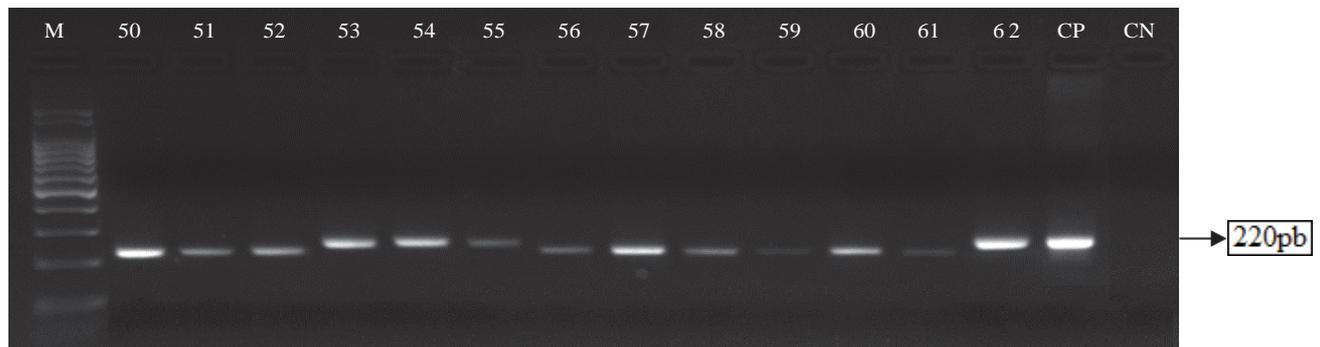
As 163 fêmeas de flebotomíneos capturadas foram distribuídas em 65 “pools” e 7 amostras individuais destinadas à pesquisa de infecção natural por *Leishmania* spp. (Tabela 8). Primeiramente, estas foram avaliadas por meio da técnica de cacofonia (gene constitutivo do DNA de flebotomíneos) e observou-se que as amostras analisadas foram positivas para o gene (exceto uma amostra que não era flebotomíneo), validando o processo de extração de DNA (Figura 15).

TABELA 7

Fêmeas de flebotomíneos capturadas, utilizando armadilha luminosa do tipo HP, nos meses de junho de 2017 a maio de 2018, no município de Itaúna (MG).

Espécies	Nº fêmeas	Nº "pools" ou individual
<i>Brumptomyia brumpti</i>	4	4
complexo <i>cortelezzii</i>	38	15
<i>Evandromyia evandroi</i>	5	5
<i>Evandromyia lenti</i>	19	14
<i>Evandromyia termitophila</i>	2	2
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	77	18
<i>Nyssomyia whitmani</i>	9	6
<i>Pintomyia pessoai</i>	4	2
<i>Psathyromyia brasiliensis</i>	1	1
<i>Psathyromyia lutziana</i>	2	2
Não identificados	2	2
Não é flebotomíneo	1	1
Total	164	72

Figura 15 - Exemplo dos produtos de amplificação de DNA de flebotomíneos obtidos com iniciadores para o gene cacofonia IVS6 para *Lutzomyia* visualizados após eletroforese em gel de agarose à 2% corado com brometo de etídeo.



Canaletas: M- marcador de peso molecular 100 pb. 50 a 62- Amostras positivas de DNA de flebotomíneos. CP- Controle positivo da Reação (*Lutzomyia longipalpis*). CN- Controle negativo da Reação (sem DNA).

Posteriormente, as amostras ("pools" ou individuais) foram analisadas utilizando a Nested/PCR dirigida ao gene SSUrRNA de *Leishmania* e nenhuma das amostras testadas apresentou o fragmento característico de *Leishmania* (Figura 16).

Figura 16 - Exemplo dos produtos de amplificação de DNA dos “pools” ou amostras individuais de flebotomíneos obtidos com iniciadores para o gene SSUrRNA visualizados após gel de agarose à 2% corado com brometo de etídeo.



Canaletas: M- marcador de peso molecular de 100 pb. 1 a 24- “Pools” ou amostras individuais negativas de DNA de *Leishmania* spp. CP- Controle positivo (*Leishmania infantum*/MHOM/BR/PP75). CN- Controle negativo (sem DNA).

7. DISCUSSÃO

No Brasil, as leishmanioses estão entre as grandes endemias e incluídas na lista do Sistema Nacional de Informação de Doenças de Notificação Compulsória (SNDC) do Ministério da Saúde. A distribuição geográfica da doença no país indica que sua epidemiologia apresenta aspectos ambientais, climáticos e socioeconômicos diversificados (Lainson *et al.*, 1988; Cardenas *et al.*, 2006; Chaves *et al.*, 2006; Dantas-Torres *et al.*, 2012). O conhecimento da ecoepidemiologia das leishmanioses envolvendo a tríade parasito-vetor-reservatório é fundamental para implementação das medidas de controle desse agravo nos municípios brasileiros.

Nos últimos anos, Minas Gerais teve um aumento expressivo no número de casos humanos notificados de LV, representando 71% dos casos totais registrados na região sudeste do Brasil (MS, 2018). Itaúna é um município mineiro considerado como área recente e esporádica de transmissão de LV, e se encontra em situação de atenção devido ao aumento do número de casos humanos e caninos, presença do vetor competente (*Lu. longipalpis*), ambiente propício para o desenvolvimento dos flebotomíneos e principalmente pelo processo de urbanização e expansão da doença no município.

Durante o período de estudo realizado nesse município, 1.306 espécimens foram capturados, apresentando uma fauna flebotomínica diversificada com 11 espécies identificadas, o que representa uma grande variedade de espécies quando comparados a outros estudos realizados em municípios endêmicos para leishmanioses em Minas Gerais. Nesses outros estudos foram capturadas sete espécies de flebotomíneos em Belo Horizonte (Lara-Silva *et al.*, 2015), quatro espécies em Sabará (Lopes, 2014) e sete espécies em Santa Luzia (Carvalho *et al.*, 2010), municípios pertencentes à região metropolitana de Belo Horizonte.

As espécies capturadas foram pertencentes a seis gêneros: *Brumptomyia*, *Evandromyia*, *Nyssomyia*, *Pintomyia*, *Psathyromyia* e *Lutzomyia*. Nossos resultados corroboram com os encontrados em outro estudo realizado no município em 2015, onde foram capturados os mesmos gêneros e espécies de flebotomíneos, com exceção dos exemplares *Psathyromyia aragaoi* e *Evandromyia teratodes* (Lopes *et al.*, 2019) e *Evandromyia sallesi* e *Psathyromyia brasiliensis* encontrados neste estudo.

Dentre as espécies, destaca-se o encontro de *Lu. longipalpis* e *Ny. whitmani* vetores comprovados de LV e LT (Dedet, 1993; Grimald-Jr *et al.*, 1989; Peterson e Shaw, 2003), respectivamente. Além disso, a espécie *Lu. longipalpis* foi predominante com 87,21% dos

exemplares capturados, encontrado em todos os meses e áreas estudadas (Tabela 3 e Gráfico 1). A baixa frequência de indivíduos das outras espécies capturadas pode estar relacionada a um conjunto de fatores, mas principalmente à ausência de fontes alimentares sanguíneas específicas para esses flebotomíneos e à presença de criadouros e abrigos no raio de instalação das armadilhas (Martin e Rebêlo, 2006).

Os resultados relatados nesse estudo estão em conformidade com a literatura, onde *Lu. longipalpis* vem sendo encontrado em abundância em diferentes áreas endêmicas de Minas Gerais e do Brasil (Missawa *et al.*, 2008; Michalsky *et al.*, 2009; Dias *et al.*, 2011; Saraiva *et al.*, 2017). Apesar do baixo número de exemplares capturados de *Ny. whitmani* (1,53%), essa espécie merece atenção, pois além de ser vetor comprovado de LT, já foi encontrada em alguns trabalhos infectada naturalmente por *Le. infantum*, como em Belo Horizonte e Divinópolis-MG (Saraiva *et al.*, 2010 e Margonari *et al.*, 2010). Assim, são necessários a realização de estudos que objetivam determinar o possível papel desse vetor na transmissão da LV.

O complexo *cortelezzii* (fêmeas de *Ev. sallesi* e *Ev. cortelezzii*) é composto por espécies que podem ser consideradas como possíveis vetores de leishmanioses em Minas Gerais. Fêmeas pertencentes a esse complexo já foram encontradas com DNA de *Le. braziliensis* e/ou *Le. infantum* em diversos trabalhos realizados pelo nosso grupo e por outros pesquisadores em Minas Gerais (Carvalho *et al.*, 2008; Saraiva *et al.*, 2010; Lana *et al.*, 2015; Lara-Silva *et al.*, 2015; Lana *et al.*, 2018). Embora esses autores não possam incriminar as fêmeas pertencentes a esse complexo como vetores competentes na transmissão de *Leishmania*, não rejeitam a possibilidade de estas estarem envolvidas no ciclo das leishmanioses.

Ximenes *et al.* (2000) demonstraram que a espécie *Ev. evandroi* está presente em áreas endêmicas de LV e possuem distribuição geográfica coincidente com a espécie *Lu. longipalpis*. *Evandromyia evandroi* foi considerada como suspeita na transmissão de *Le. infantum* para cães em Jacobina (BA) (Sherlock, 1996) e já foi encontrada infectada naturalmente com DNA de *Le. infantum* em Várzea da Palma (MG) (Sanguinette, 2015).

A espécie *Ev. lenti* foi a terceira espécie mais abundante capturada em nosso estudo com 2,06% dos exemplares. Esta espécie já foi encontrada com DNA de *Le. infantum* e *Le. braziliensis* em diversos estudos realizados no Brasil (Sherlock 1996; Margonari *et al.* 2010; Lana *et al.*, 2015; Sanguinette, 2015). É importante salientar o encontro de *Ev. lenti* em áreas endêmicas de leishmanioses e no município de estudo, devido a esta espécie

também estar na maioria das vezes associada ao registro de *Lu. longipalpis*, podendo ser um indicador da presença dessa espécie (Pinto *et al.*, 2012).

Apesar de terem sido capturados em baixo número, *Pi. pessoai* possui importância epidemiológica, sendo incriminada como vetora de *Le. braziliensis* (Queiroz *et al.*, 1994; Rangel & Lainson, 2003; Pita-Pereira *et al.*, 2005; Saraiva *et al.*, 2006). Esta espécie é antropofílica, está frequentemente associada a focos de LT e participa do ciclo de transmissão deste agravo (Rangel e Lainson, 2009).

As espécies *Ps. lutziana* e *Ps. brasiliensis* capturadas no estudo, não participam do ciclo de transmissão das leishmanioses, portanto não são incriminadas como vetores de *Leishmania* spp. (Andrade *et al.* 2007).

A espécie *Ev. termitophila* vem sendo relatada em trabalhos realizados em Minas Gerais (Saraiva *et al.* 2010; Barata *et al.*, 2011; Lana *et al.*, 2018). Apesar de não possuir importância epidemiológica, essa já foi encontrada infectada naturalmente por *Le. infantum* e *Le. braziliensis* em diferentes municípios (Saraiva *et al.*, 2008; Saraiva *et al.*, 2010; Sanguinette *et al.*, 2015).

Foi verificado que o número de machos em relação ao número de fêmeas capturadas foi alto, apresentado razão total de M/F = 7,01:1. Esse acontecimento pode estar associado ao comportamento natural dos machos de acompanhar as fêmeas durante o deslocamento formando agregados de fecundação (Dias *et al.*, 2007), ou pelo fato de os machos eclodirem antes das fêmeas (Feliciangeli, 1987; Galati *et al.*, 1996; Oliveira *et al.*, 2012). Outras hipóteses estão ligadas a alguns autores acreditarem que a armadilha luminosa pode atrair de maneira diferente os sexos, favorecendo a maior captura de machos (Aguiar *et al.*, 1984; Nascimento *et al.*, 2013). Esse maior número de machos capturados também pode representar um indicador da ocorrência de criadouros nas proximidades dos locais de captura (Feitosa e Castellón, 2009).

É válido ressaltar que a maior razão macho/fêmea também foi da espécie *Lu. longipalpis* (13,79:1), como já observado em Itaúna (dados não publicados) e em outras regiões de Minas Gerais, como Porteirinha e Belo Horizonte (França-Silva *et al.*, 2005; Lara-Silva *et al.*, 2015).

Com relação à infecção natural das fêmeas capturadas, foi realizada a PCR, uma técnica molecular específica e sensível que permite a detecção do DNA do parasito, sendo útil para identificação de flebotomíneos vetores putativos na área estudada (Lidani *et al.*, 2017). Essa detecção de infecção natural e a posterior caracterização das espécies de

Leishmania circulantes nos flebotomíneos tem papel fundamental na determinação do agente etiológico envolvido na transmissão das leishmanioses no município.

Porém, é sabido que a taxa de infecção de *Leishmania* no vetor é considerada baixa na natureza, de 0,2 a 2%, tornando o achado de parasitos difícil, mesmo em áreas endêmicas para leishmanioses (Rodríguez *et al.*, 1999; Miranda *et al.*, 2002, Silva *et al.*, 2007a, Michalsky *et al.*, 2011). São encontradas baixas taxas de infecção em diferentes regiões do Brasil, como por exemplo, 1,5% na Bahia (Miranda *et al.*, 2002), 0,4% na Amazônia Maranhense (Oliveira-Pereira *et al.*, 2006); 0,3% no Rio Grande do Sul (Silva e Grunewald, 1999), 0,16% no Brasil Central (Galati *et al.*, 1996) e resultados negativos em Belo Horizonte e Pantanal do Mato Grosso do Sul (Souza *et al.*, 2004; Figueiredo *et al.*, 2016). Em nosso estudo, não foram detectados flebotomíneos infectados por *Leishmania*, tanto em amostras individuais quanto em “pools”, mas em estudo realizado anteriormente em Itaúna, foram encontradas fêmeas naturalmente infectadas por *Le. Infantum* (Lopes *et al.*, 2019).

A incidência das leishmanioses pode estar relacionada com fatores bióticos e abióticos que influenciam na dinâmica populacional de flebotomíneos. Conhecer a distribuição sazonal desses insetos é de fundamental importância para a implementação de programas efetivos de controle vetorial (Saraiva *et al.*, 2006). Na busca de explicar o comportamento sazonal dos flebotomíneos durante o período de estudo, foram consideradas algumas variáveis climáticas.

As variáveis climáticas analisadas em nosso estudo e que são frequentemente correlacionadas à presença de flebotomíneos foram temperatura (Salomón *et al.*, 2002; Saraiva *et al.*, 2006; Dias *et al.*, 2007), precipitação pluviométrica (Salomón *et al.*, 2002; Dias *et al.*, 2007) e umidade relativa do ar (Saraiva *et al.*, 2006; Dias *et al.*, 2007). A variável velocidade do vento (Aguiar & Soucasaux, 1984) tem sido considerada como determinante do sucesso ou insucesso das capturas entomológicas, podendo interferir na capacidade de voo dos flebotomíneos.

Em condições naturais, os flebotomíneos sobrevivem em regiões com temperatura média variando de 16°C a 44°C (Colacicco-Mayhugh *et al.*, 2010). Dias *et al.* (2007) relataram que as variáveis temperatura e umidade relativa do ar interferem na ocorrência desses insetos, pois estes são sensíveis a dessecação, e segundo Brazil e Brazil (2003) tais variáveis também interferem na duração das etapas do ciclo biológico dos flebotomíneos.

No entanto, a influência das variáveis climáticas exerce impacto de modo distinto na população flebotomínica, dependendo da região analisada. Salomón *et al.* (2015)

ressaltam que cada área geográfica possui sua particularidade e dinâmica de transmissão do parasito.

Considerando nosso estudo, através da correlação dos dados climatológicos com a densidade populacional de *Lu. longipalpis*, foi possível observar correlações positivas entre os dados. Essa espécie foi encontrada em todos os meses de captura, porém, os picos de flebotomíneos ocorreram nos meses mais quentes, com maior umidade relativa do ar e alta precipitação pluviométrica (Gráficos 3 e 4). Estudos realizados no Brasil, também verificaram picos de ocorrência para *Lu. longipalpis* nos meses quentes e chuvosos (Resende *et al.*, 2006 Ximenes *et al.*, 2006; Almeida *et al.*, 2010). Deane & Deane (1955) mostraram em seus estudos que a estação chuvosa propicia um aumento da umidade e favorece diretamente, a proliferação e a sobrevivência dos flebotomíneos. Outros estudos observaram que nos meses quentes e úmidos há um aumento no número de flebotomíneos capturados, enquanto nos meses frios e secos ocorre uma redução desse número (Forattini, 1960; Barata *et al.* 2004; Dias *et al.* 2007; Michalsky *et al.*, 2009). Nossos resultados estão em conformidade com os relatados na literatura, pois foi possível observar que os meses considerados frescos e secos coincidiram com a redução do número de flebotomíneos capturados.

Nos meses onde foi capturado o maior número de *Lu. longipalpis* observou-se que a velocidade do vento foi baixa, não ultrapassando a média (2,3mps) e, portanto, não impactou o número de exemplares capturados nesse período (Gráfico 5). Em um estudo realizado por Orshan *et al.* (2010), demonstrou-se que os flebotomíneos tem preferências por locais protegidos para sua reprodução, pois são sensíveis à velocidade do vento, que pode dificultar a atividade e capacidade de voo.

Historicamente, as leishmanioses eram consideradas como endemias de caráter silvestre/rural. Há algumas décadas, essa doença tem apresentado mudanças em seu padrão de transmissão, se expandindo para locais urbanizados. O Brasil, a partir da década de 1950, deixou de ser um país de características rurais, se tornando um país mais urbanizado, e isso tende a impactar de forma negativa a comunidade de insetos do local (Kearns 2001; Hwang & Turner 2005).

A urbanização tem causado alterações nos habitats naturais dos flebotomíneos, resultando em uma restrição nos ambientes ocupados por eles. Tais alterações são fatores importantes para a emergência e reemergência das leishmanioses, e a presença dos flebotomíneos no ambiente urbano é um fator preocupante do ponto de vista epidemiológico, pois a transmissão da doença pode ocorrer próximo às residências, e até

no interior delas. O impacto das modificações ambientais pode gerar alterações na ecologia das espécies de *Leishmania*, dos flebotomíneos e dos reservatórios, mudando assim o perfil epidemiológico das leishmanioses. Algumas espécies de flebotomíneos resistem às diversas mudanças, conseguem explorar novos ambientes, e conseqüentemente aproximam-se cada vez mais do ambiente urbano (Forattini *et al.*, 1976; Almeida *et al.*, 2010).

A ocorrência de determinada espécie de flebotomíneo em uma determinada área ecológica (urbana, rural ou de mata) está relacionada com suas adaptações às condições, recursos e interações competitivas com outras espécies (Ricklefs, 2003). Em nosso estudo, entre as localidades, a diversidade e a abundância das espécies foram diferenciadas, confirmando que fatores ambientais ou geográficos podem estar determinando uma estruturação diferente das populações flebotomínicas.

Ao analisarmos a densidade das espécies de flebotomíneos nas diferentes áreas ecológicas, observamos que o menor número de exemplares capturados ocorreu na área de mata (2,14%), distribuídos em oito espécies, sendo *Ny. whitmani* a única espécie dominante com apenas 11 indivíduos. Estudos realizados em ambientes de mata mostraram uma fauna flebotomínica geralmente composta de poucas espécies dominantes e muitas espécies com poucos exemplares, corroborando com nossos achados (Pessoa *et al.*, 2007; Rosário *et al.*, 2017).

Em contrapartida, o maior número de espécimens capturados foi na área urbana (89,28%), podendo estar relacionado ao fato desta apresentar características ideais que possam favorecer a proliferação de flebotomíneos como canis, galinheiros e árvores frutíferas (Teodoro *et al.*, 2004). Alguns autores destacam a relevância dos abrigos de animais como locais de criação e manutenção da alta densidade de flebotomíneos no meio ambiente como um fator de risco (Galati *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, 2006; Alvar *et al.*, 2012). Entretanto, a área rural também apresenta tais características e foi observado um número consideravelmente menor de exemplares capturados quando comparados à área urbana (8,58%). Diante disso, evidencia-se a importância de estudar a fauna das diferentes áreas ecológicas e o comportamento de cada espécie capturada.

Considerando a ecologia dos flebotomíneos, Thies *et al.* (2018) acreditam que algumas espécies tendem à adaptação ao ambiente antrópico, seja pela disponibilidade de recursos ou por criadouros favoráveis. De acordo com Nuorteva (1963), as espécies capazes de utilizar esses ambientes modificados pelo homem, geralmente decorrente do processo de urbanização, são denominadas sinantrópicas.

No Brasil, *Lu. longipalpis* é uma destas espécies com alto grau de adaptação ao ambiente modificado pela ação humana (Souza *et al.*, 2004; Lainson & Rangel, 2005; Missawa e Dias, 2007; Carvalho *et al.*, 2010; Dias *et al.*, 2011; Brazil, 2013), encontrada em elevada densidade no peridomicílio e intradomicílio das residências urbanas (Monteiro *et al.*; 2005; Nascimento *et al.*, 2013b, Lana *et al.*, 2018). Devido a essa capacidade, a densidade de *Lu. longipalpis* tem aumentado em habitações humanas o que pode facilitar a transmissão do parasito (Deane & Deane, 1954; Laison, 1989; Vianna *et al.*, 2016).

Relatos de Forattini (1973), no Sudeste do Brasil, já mostravam a presença de *Lu. longipalpis* em ambientes rurais, dentro de moradias humanas e em dependências com animais de fazenda. Essa espécie colonizou gradualmente o meio rural, e alguns anos depois passou a invadir o ambiente urbano (Lainson & Rangel, 2005).

No presente estudo, a espécie predominante (*Lu. longipalpis*) foi encontrada em alta densidade no ambiente urbano (92,2%) com IS +95,8. Esta espécie foi identificada pela primeira vez em área urbana na cidade de Araçatuba (SP) em 1997. Desde então, verifica-se a expansão da doença e adaptação deste vetor de LV ao meio urbano (Camargos-Neves, 1999). A abundância e frequência desta espécie encontrada na área urbana de Itaúna são similares a diversos outros estudos, como Rebêlo *et al.* (1999) no Maranhão, Ximenes *et al.* (1999) no Rio Grande do Norte, Oliveira *et al.* (2003) no Mato Grosso do Sul, Barata *et al.* (2005) em Minas Gerais, Oliveira *et al.* (2006) em Campo Grande, Maingon *et al.* (2003) no Ceará.

Segundo Melo (2008), dentre todas as espécies de flebotomíneos, a mais bem adaptada ao ambiente antropizado é *Lu. longipalpis*. O alto grau de adaptação desta espécie ao ambiente peridoméstico de áreas antropizadas é influenciado, principalmente, pela presença de animais domésticos (Barata *et al.*, 2005; Resende *et al.*, 2006; Ximenes *et al.*, 2006). A literatura científica indica que a associação de *Lu. longipalpis* aos abrigos de animais domésticos, exerce influência na capacidade desta espécie adentrar habitações, podendo ocasionar a infecção humana (Camargo-Neves *et al.*, 2001; Lainson & Rangel, 2005; Rangel & Vilela, 2008, Andrade *et al.*, 2014). Santini *et al.* (2010) relataram que a existência de abrigos de animais no peridomicílio aumenta cerca de três vezes a probabilidade de haver maior abundância flebotomínica nesse ambiente.

Na residência escolhida representando a área urbana nota-se a presença de animais domésticos (cães e galinhas). Apesar das galinhas não serem infectadas por *Leishmania*, esses animais são uma importante ligação na cadeia epidemiológica das leishmanioses, pois constituem uma fonte de atração e alimentação para as fêmeas de flebotomíneos

(Alexander *et al.*, 2002; Dias *et al.*, 2003, Feitosa e Castellón, 2009). Talvez um dos fatores que favoreça a adaptabilidade ao ambiente urbano seja a flexibilidade alimentar dessa espécie (denominada como “oportunistas”), que realiza repasto tanto em animais silvestres quanto doméstico, e também no homem. As perdas na biodiversidade original também podem ter impactado a ecologia de *Lu. longipalpis* por limitar suas fontes de repasto sanguíneo, fazendo com que essa espécie invada novos ambientes em busca de fontes alternativas, como o cão doméstico, provocando assim um aumento na concentração do vetor nas áreas urbanas e a urbanização da LV.

A espécie *Ev. evandroi* apresentou sinantropia absoluta (IS +100), demonstrando a adaptação dessas ao ambiente antrópico. Esta espécie é habitualmente encontrada nas mesmas áreas geográficas de ocorrência de *Lu. longipalpis*, como já citado, e está em franco processo de domiciliação (Gelle-Oliveira *et al.*, 2010).

No que se refere a LT, em um dos primeiros estudos sobre essa doença realizados no Brasil por Pessoa (1963), foi identificado um padrão de transmissão fundamentado no contato do ser humano com o ambiente silvestre. Porém, assim como ocorre com a LV, esse padrão também vem sofrendo mudanças ao longo dos anos, ampliando sua ocorrência geográfica, devido a modificações socioambientais. Atualmente, essa doença ocorre sob diferentes perfis epidemiológicos e em todas as regiões brasileiras.

No sudeste do Brasil, observa-se um processo de urbanização da LT, provavelmente em decorrência da introdução do parasito nos centros urbanos por meio da migração dos vetores, pessoas e animais domésticos infectados (Condino *et al.*, 2008; Rangel & Lainson 2003; Rangel & Lainson, 2009).

O vetor comprovado da LT, *Ny. whitmani*, foi encontrado nas três áreas ecológicas estudadas, sendo capturado em maior número na área de mata (55%), com IS -25. Tal espécie está originalmente associada a ecossistemas florestais (Lainson & Shaw, 1987), possui hábitos antropofílicos e ocorre em diferentes perfis epidemiológicos: silvestre, silvestre modificado e periurbana (Basano & Camargo, 2004). Peterson & Shaw (2003), ao desenvolver modelagens de nichos ecológicos de vetores, apontaram *Ny. whitmani* como uma espécie com capacidade de se adaptar à vários habitats com populações de diferentes padrões de comportamento (Rangel *et al.*, 1996), o que explicaria a ocorrência desta espécie nas três áreas de estudo no município.

Do total dos exemplares de *Ny. whitmani* capturados, 15% dos 20 exemplares dessa espécie foram observados na área urbana de Itaúna, podendo indicar uma tendência de urbanização dessa espécie. Outras pesquisas já indicam a urbanização da mesma em

alguns municípios (Teodoro *et al.*, 2003; Souza *et al.*, 2005; Carvalho *et al.*, 2006; Saraiva *et al.*, 2011). De acordo com nossos achados podemos sugerir que *Ny. whitmani* se encontra em processo de transição, podendo adaptar-se as modificações ecológicas, migrando ao ambiente urbano do município.

A espécie *Br. brumpti* (espécie sem importância médica) foi capturada nos três ecótopos, sendo em maior número na área urbana. Essa espécie já foi relatada por Nunes *et al.* (2008) e Andrade *et al.* (2009) ocupando ambientes adjacentes às moradias humanas, abrigos de animais e peridomicílios. Também capturada nas três áreas ecológicas e em maior número na área urbana, a espécie *Ev. lenti* pode estar envolvida no ciclo silvestre e/ou urbano das leishmanioses uma vez que já foi encontrada naturalmente infectada por *Le. infantum* e *Le. braziliensis* em diversas regiões das Américas (Andrade *et al.*, 2007; Carvalho *et al.*, 2008; Saraiva *et al.*, 2009; Margonari *et al.*, 2010; Pech-May *et al.*, 2010).

Já a espécie *Ev. termitophila* foi capturada na mesma proporção nas três áreas. Esse resultado sugere que essa espécie também se encontra em processo de adaptação ao ambiente urbano. Em contrapartida, a espécie *Ps. brasiliensis* foi capturada apenas na área de mata e a espécie *Pi. pessoai*, na área rural e de mata. Essas espécies capturadas apenas nas áreas rural e de mata são melhores adaptadas a ambientes florestais de acordo com Gomes & Galati (1989).

Algumas espécies de flebotomíneos podem estar em fase inicial de adaptação ao ambiente urbano e apesar de aparentemente raras e sem importância epidemiológica, seriam passíveis de adaptação e de desempenhar funções vetoriais (Martins *et al.*, 2011). Apesar dos estudos já realizados sobre a biologia e comportamento dos flebotomíneos, ainda existem lacunas a respeito da sinantropia destes insetos.

As mudanças causadas pelo homem ao meio ambiente têm sido largamente utilizadas pelos insetos. Por exemplo, outras espécies de dípteros também apresentam adaptação aos centros urbanos, como as moscas da família Calliphoridae (Insecta: Diptera), que são encontradas nos mais diversos ambientes e em estreita relação com ambientes antropizados. Apesar da relação entre artrópodes e o meio urbano ser pouco estudada (McIntyre 2000), a presença e o papel destas moscas neste tipo de ambiente representa um cenário mais conhecido, com diversos trabalhos publicados nas últimas décadas (Ferreira 1978, 1993; Linhares 1981; D'Almeida & Lopes 1983; Vianna *et al.* 1998; Rodrigues-Guimarães *et al.* 2008). O estudo da relação das moscas com o ambiente urbano, além de servir como um indicativo do impacto do processo de urbanização

(Centeno *et al.* 2004; Leandro & D’Almeida 2005), também pode fornecer subsídios para a tomada de decisões no que envolve o combate destes insetos e a prevenção de doenças (Majumdar *et al.* 2007). Nesse contexto, o mesmo pode ocorrer em relação aos flebotomíneos, uma vez conhecido seu comportamento e sinantropia, as ações de controle podem ser direcionadas e mais eficazes.

Com isso e através dos resultados obtidos em nosso estudo, enfatizamos a importância do estudo da ecologia/biologia e comportamento dos flebotomíneos, para verificarmos seu papel epidemiológico na transmissão das leishmanioses nos centros urbanos. Desta forma a potencialidade de algumas espécies de flebotomíneos como vetores de *Leishmania*, juntamente a seus hábitos e sinantropia, deve ser considerada pelos órgãos competentes de saúde.

8. CONCLUSÕES

- A fauna flebotomínica se apresentou diversificada, com a presença de 11 espécies, dentre elas, importantes vetores dos agentes etiológicos da LT (*Ny. whitmani*) e LV (*Lu. longipalpis*).
- Devido ao grande número de *Lu. longipalpis* capturados no município de Itaúna (87,21%) e sua implicação na literatura científica como vetor natural da LV, acreditamos que esta espécie possa ser a responsável pela transmissão da doença no município.
- As variáveis climáticas analisadas (temperatura, precipitação pluviométrica, umidade relativa do ar e velocidade do vento) influenciaram na densidade populacional de flebotomíneos capturados. Sendo o maior número de *Lu. longipalpis* capturados nos meses mais quentes e úmidos, com alta precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar (período chuvoso).
- As espécies *Ev. evandroi* (IS +100), *Ev. lenti* (IS +83,4) e *Lu. longipalpis* (IS +95,8) foram as espécies que apresentaram maiores índices de sinantropia.
- As espécies *Br. brumpti* (sem importância médica) e *Ev. termitophila* também apresentaram algum grau de sinantropia, IS +50 e IS 16,6, respectivamente.
- A espécie *Ps. brasiliensis* apresentou-se absolutamente assinantrópica (IS -100). E as espécies *Ny. whitmani*, *Pi. pessoai* e *Ps. lutziana* também se apresentaram assinantrópicas, com IS -25, IS -43,8 e IS -33,4, respectivamente.
- A presença da espécie vetora de LV, *Lu. longipalpis*, em abundância na área urbana (92,2%) demonstra a adaptação desta ao ambiente antropizado, e conseqüentemente a crescente urbanização deste agravo no município.
- Nossos resultados ajudam a compreender o processo gradual de sinantropização das espécies de flebotomíneos encontradas em Itaúna, demonstrando que o município apresenta características necessárias que propiciam a expansão e urbanização das leishmanioses.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adler, S., Theodor, O. Investigations on Mediterranean kala-azar. II- *Leishmania infantum*. Proceedings of the Royal Society. B: 108: 453-502, 1931.
- Adler, S., Theodor, O. Transmission of disease agents by phlebotomine sandflies. Annual Review of Entomology, Palo Alto, v. 2, p. 203-226, 1957.
- Aguiar, G.M., Soucasaux, T. Ecological aspects of phlebotomus of the Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro. I. Monthly frequency in human baits (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 79(2):197-209, 1984.
- Alencar, J.E. Leishmaniose visceral no Brasil. Ceará. Revista Medicina da Universidade Federal do Ceará 17-18: 129-48, 1977- 1978.
- Alexander, B. Sampling methods for phlebotomine sandflies. Oxford: Medical and Veterinary Entomology, v. 14, n. 2, p. 109-122, 2000.
- Alexander, B., de Carvalho, R.L., McCallum, H., Pereira, M.H. Role of the domestic chicken (*Gallus gallus*) in the epidemiology of urban visceral leishmaniasis in Brazil. Emerging Infectious Diseases; v. 8, n. 12, p. 1480-1485, 2002.
- Almeida, P.S., Minzão, E.R., Minzão, L.D., Silva, S.R., Ferreira, A.D., Fachada, O. Aspectos ecológicos de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em área urbana do município de Ponta Porã, Estado de Mato Grosso do Sul. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 43: 723-727, 2010.
- Alvar, J., Canavate, C., Molina, R., Moreno, J., Nieto, J. Canine Leishmaniasis. Advances in Parasitology; 57; 1-87, 2004.
- Alvar, J., Yactayo, S., Bern, C. Leishmaniasis and poverty. Trends Parasitology. v 22(12): 552-57, 2006.
- Alvar, J., Vélez, I.D., Bern, C., Herrero, M., Desjeux, P., Cano, J. WHO. Leishmaniasis control team. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PloS. 1(7): e35671, 2012.
- Andrade Filho, J.D., Galati, E.A.B., Falcão, A.L. *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) and *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) geographical distribution and epidemiological importance. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 102: 481-487, 2007.
- Andrade, A.R.O.D., Nunes, V.L.B., Galati, E.A.B., Arruda, C.C.P.D., Santos M.F.D.C., Rocca M.E.G., Aquino R.B. Epidemiological study on leishmaniasis in area of environmental tourism and ecotourism, State of Mato Grosso do Sul, 2006-2007. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.42, n.5, p. 488-493, 2009.
- Andrade, A.R., da Silva, B.A., Cristaldo, G., de Andrade, S.M., Filho, A.C., Ribeiro, A., da Cunha Santos, M.F., Andreotti, R. Spatial distribution and environmental factors associated to

phlebotomine fauna in a border area of transmission of visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Parasites & Vectors*. jun 4; 7: 260, 2014.

Ashford, R.W. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *International Journal for Parasitology*; v.30, n.12-13, p.1269-81, 2000.

Bahia-Nascimento, A.; Secundino, N.F.C., Miranda, J.C., Prates, D., Souza, A., Fernandes, F. F., Barral, A., Pimenta, P. F. P. – Ultrastructural comparison of the external morphology of the immature stages of *Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia* and *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* (Diptera: Psychodidae), vectors of cutaneous leishmaniasis, by scanning electron microscopy. *Journal of Medical Entomology*, Honolu 2007, 2010.

Basano, A.S. & Camargo, L.M.A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. *Revista Brasileira de Epidemiologia* 7 (3): 328-337, 2004.

Barata, R.A., Silva, J.C., Costa, R.T., Fortes-Dias, C.L., Silva, J.C., Paula, E.V., Prata, A., Monteiro, E.M., Dias, E.S. Phlebotomine sand flies in Porteirinha, an area of American visceral leishmaniasis transmission in the State of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 99 (5): 481-7, 2004.

Barata, R.A., França-Silva, J.C., Mayrink, W., Silva, J.C., Prata, A., Lorosa, E.S. Aspectos da ecologia e do comportamento de flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose visceral, Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. set-out; 38(5): 421-5, 2005.

Barata, R.A., Paz, G.F., Bastos, M.C., Andrade, R.C., Barros, D.C., Silva, F.O., Michalsky, E.M., Pinheiro, A. da C., Dias, E.S. Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in Governador Valadares, a transmission area for American tegumentary leishmaniasis in State of Minas Gerais, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 44(2): 136-9, 2011.

Barreto, M.P. Observações sobre a biologia, em condições naturais, dos flebótomos do Estado de São Paulo (Diptera, Psychodidae). São Paulo. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Tese. 1943.

Barata, R.A., Peixoto, J.C., Tanina, A., Gomes, M.E., Apolinário, C.E., Bodevan, E.C. Epidemiology of Visceral Leishmaniasis in a Reemerging Focus of Intense Transmission in Minas Gerais State, Brazil. *BioMed Research International*., 2013.

Basimike, M., Mutinga, M.J. & Kumar, R. Distribution of Sandflies (*Journal of Medical Entomology*), in Three Vegetation Habitats in the Marigat Area, Baringo District, Kenya. *Journal of Medical Entomology*. 28: 330-333, 1991.

Bates, P.A. Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *International Journal Parasitology*. 37: 1097-1106, 2007.

Beauty, B.J., Marquardt, W.C. *The Biology of Disease Vectors*. University Press of Colorado. 1996.

Brasil, Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Leishmaniose Visceral no Brasil: situação atual, principais aspectos epidemiológicos, clínicos e medidas de controle. Boletim Epidemiológico. 6: 1-11, 2001.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília: Ed.MS, 2006. 120 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos). ISBN 85-334- 0742-4. Disponível em: < 105 http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_leish_visceral2006.pdf >. Acesso em: 28 nov. 2018.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. 2. ed. atualizada. Brasília: Ed.MS, 2007.180 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos). ISBN 978-85-334-1270- 5. Disponível em: < http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual2_Ita_2ed.pdf >. Acesso em: 28 nov. 2018.

Brasil, Ministério da Saúde. Manual de Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana 2010. Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde, Brasília. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf. Acesso em: 13 de agosto de 2018.

Brasil, Ministério da Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Brasília, 2014. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral_1edicao.pdf. Acesso em: 17 de agosto de 2018.

Brasil, Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2017. 190 p.: il. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf. Acesso em: 12 de setembro de 2018.

Brazil R.P. & Brazil B.G. Bionomia. In: Rangel E.F, Lainson R. (orgs) Flebotomíneos do Brasil. Editora da Fundação Oswaldo Cruz; 257-274, 2003.

Brazil R.P. The dispersion of *Lutzomyia longipalpis* in urban areas. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 46(3):263–4, 2013.

Camargo-Neves, V.L.F; de Katz, G. Leishmaniose visceral americana no Estado de São Paulo. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical;32(Supl.II):63-4,1999.

Camargo-Neves, V.L., Katz, G., Rodas, L.A., Poletto, D.W., Lage, L.G., Spínola, R.M., Cruz, O.G. Use of spatial analysis tools in the epidemiological surveillance of American visceral leishmaniasis, Araçatuba, São Paulo, Brazil, 1998-1999. Caderno de Saúde Publica. 17(5):1263-7, 2001.

Camargo, L.M.A & Barcinsky, M.A. Leishmanioses, feridas Bravas e Kalazar. Ciência e Cultura. 55(1): 34-37, 2003.

Cardenas, R., Sandoval, C.M., Rodriguez-Morales, A.J., Franco-Paredes, C. Impact of climate variability in the occurrence of leishmaniasis in northeastern Colombia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 75(2):273-7, 2006.

Carvalho, M. de L., de Andrade, A.S., Fontes, C.J., Hueb, M., de Oliveira Silva, S., Melo, M.N. *Leishmania (Viannia) braziliensis* is the prevalent species infecting patients with tegumentary leishmaniasis from Mato Grosso State, Brazil. *Acta Tropica* (3):277-85, 2006.

Carvalho, G.M., Andrade Filho, J.D., Falcão, A.L., Lima, A.C.V.M., Gontijo, C.M.F. Naturally infected *Lutzomyia* sand flies in a *Leishmania*-endemic area of Brazil. *Vector Borne Zoonotic Diseases*. 8: 407-414, 2008.

Carvalho, G.M., Gontijo, C.M., Falcão, A.L., Andrade-Filho, J.D. Study of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) collected in a *Leishmania*-endemic area of the metropolitan region of Belo Horizonte, Brazil. *Journal Medical Entomology*. 47(6):972-6, 2010.

Cattand, P., Desjeux, P., Guzmán, M.G., Jannin, J., Kroeger, A., Medici, A., Musgrove, P., Nathan, M.B., Shaw, A., Schofield, C.J., Jamison, D.T., Breman, J.G., Measham, A.R., Alleyne, G., Claeson, M., Evans, D.B., Jha, P., Mills, A., Musgrove, P. Tropical Diseases Lacking Adequate Control Measures: Dengue, Leishmaniasis, and African Trypanosomiasis. In D. T. Disease Control Priorities in Developing Countries. Cap.23. 2006.

Centeno, N., D'Almeida & Arnillas, C. Diversity of Calliphoridae (Insecta: Diptera) in Hudson, Argentina. *Neotropical Entomology* 33: 387–390, 2004.

Chanotis, B.N., Neely, J.M., Correa, M.A., Tesh, R.B., Johnson, K.M. Natural population dynamics of phlebotomine sandflies in Panama. *Journal of Medical Entomology* 8: 339-352, 1971.

Chaves, L.F., Pascual, M. Climate cycles and forecasts of cutaneous leishmaniasis, a nonstationary vector-borne disease. *PLoS Medical*. 3(8): e295, 2006.

Colacicco-mayhugh, M. G., Masuoka, P. M., Grieco, J. P. Ecological niche model of *Phlebotomus alexandri* and *P. papatasi* (Diptera: Psychodidae) in the Middle East. *International Journal of Health Geographics*, London: v. 9, n. 2, p.1-9, 2010.

Comer, J.A., Brown, J. Use of hollow trees as diurnal resting shelter by *Lutzomyia shannoni* (Diptera, Psychodidae) on Ossabaw island, Georgia. *Environmental Entomology*. v.22, n.3, p.613-617, 1993.

Condino, M.L., Galati, E.A., Holcman, M.M., Salum, M.R., Silva, D.C., Novaes Júnior, R.A. American cutaneous leishmaniasis on the northern coastline of the State of São Paulo, 1993 to 2005. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 41(6): 635-41, 2008.

Coquillett, D. W. Discovery of blood sucking Psychodidae in America. *Entomological News*, Philadelphia, v. 18, p. 101-102, 1907.

Cruz, I., Cañavate, C., Rubio, J.M., Morales, M.A., Chicharro, C., Laguna, F. A nested polymerase chain reaction (Ln- PCR) for diagnosing and monitoring *Leishmania infantum*

infection in coinfecting patients with human immunodeficiency virus. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 96: 185-89, 2002.

Cruz, I., Chicharro, C., Nieto, J., Bailo, B., Cañavate, C., Figueras, M.C., Alvar, J. Comparison of new diagnostic tools for management of pediatric Mediterranean visceral leishmaniasis. *Journal of Clinical Microbiology*. 44: 2343-47, 2006.

Cruz, I., Nieto, J., Moreno, J., Cañavate, C., Desjeux, P., Alvar, J. *Leishmania*/HIV coinfections in the second decade. *Indian: Journal of Medical Research*. 123(3): 357-88, 2006.

Cruz, C.F.R., Cruz, M.F.R., Galati, E.A.B. Sandflies (Diptera: Psychodidae) in rural and urban environments in an endemic area of cutaneous leishmaniasis in southern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 108 (3): 303-311; 2013.

D'Almeida, J. M. & Lopes, H. de S. Sinantropia de dípteros caliptrados (Calliphoridae) no Estado do Rio de Janeiro. *Arquivos da Universidade Federal Rural, Rio de Janeiro, Itaguaí* 6: 39-48, 1983.

Dantas-Torres, F., Brandão-Filho, S.P. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 48: 151-156, 2006^a.

Dantas-Torres, F. Canine leishmaniosis in South America. *Parasites & Vectors, Bari*. v. 2, n. 1, p.8, 2009.

Dantas-Torres, F., Solano-Gallego, L., Baneth, G., Ribeiro, V.M., de Paiva-Cavalcanti, M., Otranto, D. Canine leishmaniosis in the Old and New Worlds: unveiled similarities and differences. *Trends Parasitology*. Dec; 28(12):531-8; 2012.

Deane, L.M., Deane, M.P. Encontro de leishmanias nas vísceras e na pele de uma raposa em zona endêmica de calazar, nos arredores de Sobral. *O Hospital*. 45: 419-421, 1954.

Deane, L.M., Deane, M.P., Alencar, J.E. Control of *Phlebotomus longipalpis* by DDT house spraying endemic foci of kala-azar in Ceará. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*. 7(1):131-41, 1955.

Deane, L.M., Deane, M.P. Visceral leishmaniasis in Brazil: geographical distribution and transmission. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 4:198-212, 1962.

Dedet, J.P. *Leishmania* et leishmaniose du Continent américain. *Annals Institute Pasteur* 4: 3-26, 1993.

Dedet, J. P., Vignes, R., Rangel L, E. F. Morfologia e taxonomia: grupo CIPA. In: Rangel, E. F., Lainson, R. (Org.). *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. cap. 2, p. 177-184, 2003.

Desjeux, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, Oxford*. v.27, n. 5, p. 305-318, 2004.

- Dias, F. de O., Lorosa, E.S., Rebêlo, J.M. Blood feeding sources and peridomiciliation of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). *Caderno de Saúde Pública*. 19(5): 1373-80, 2003,
- Dias, E.S., Franca-Silva, J.C., da Silva, J.C., Monteiro, E.M., de Paula, K.K., Goncalves, C.M., Barata, R.A. Sandflies (Diptera: Psychodidae) in an outbreak of cutaneous leishmaniasis in the State of Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 40, 49–52, 2007.
- Dias, E.S., Silva, S.R., França-Silva, J.C., Paz, G.F., Michalsky, E.M., Araújo, S.C., Lopes, J.V., Lara-Silva, F.O., Oliveira, F.S., Pacheco, R.S., Fortes-Dias, C.L. Eco-epidemiology of visceral leishmaniasis in the urban area of Paracatu, state of Minas Gerais, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 176, 101-111, 2011.
- Doehl, J.S.P., Bright, S., Dey, S., Davies, H., Magson, J., Brown, N., Romano, A., Pinto, A.L., Pitchford, J.W., Kaye, P.M. Skin parasite landscape determines host infectiousness in visceral leishmaniasis. *Nature Communications*. 8: 57, 2017.
- Elkhoury, A.N.S.M. Vigilância e controle da leishmaniose visceral no Brasil. Consulta de Expertos OPS/OMS sobre Leishmaniasis Visceral en las Américas. 2005.
- Feitosa, M.A.C., Castellon, E.G. Phlebotominae (diptera: psychodidae) in the outskirts of santarém city. horizontal stratification and aggravating factors for the domiciliary transmission of leishmaniasis. *Revista Colombiana de Ciencias Animal*. 1: 222-239, 2009.
- Feliciangeli, M.D. Ecology of sandflies (Diptera:Psychodidae) in a restricted focus of cutaneous leishmaniasis in northern Venezuela. IV. Sandfly monthly fluctuation and leishmaniasis incidence relationship. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 82(2):177-9, 1987.
- Figueiredo, H. R., Santos M.F.C., Casaril A. E., Infran, J. O. M., Ribeiro, L.M., Fernandes, C.E., Oliveira, A.G. Sand flies (diptera: psychodidae) in an endemic area of leishmaniasis in aquidauana municipality, Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Revist do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* vol.58, 2016.
- Ferreira, M.J.M. Sinantropia de dípteros muscóides de Curitiba, Paraná. I: Calliphoridae. *Revista Brasileira de Biologia*. 38:445–454, 1978.
- Forattini, O.P. On cutaneous leishmaniasis in the southern part of the state of Mato Grosso, Brazil. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*. 12:69-73, 1960.
- Forattini, O.P. *Entomologia Médica. Psychodidae. Phlebotominae. Leishmaniasis.* Bartonelese, v.4. Edgar Blucher Editora Ltda, 1973.
- Forattini, O. P., Rabello, E.X., Galati, E.A.B. Novos encontros de flebotomíneos no Estado de São Paulo, Brasil, com especial referência à *Lutzomyia longipalpis*. São Paulo: *Revista Saúde Pública*, 10:125-8, 1976.

França-Silva, J.C., Barata, R.A., Costa, R. T., Michalsky, E.M., George, L.L., Machado-Coelho, G.L.L., Vieira, E.P., Mayrink, W., Nascimento, E., Fortes-Dias, C.L., Silva, J.C., Dias, E.S. Importance of *Lutzomyia longipalpis* in the dynamics of transmission of canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Porteirinha Municipality, Minas Gerais, Brazil. *Veterinary Parasitology*. 3-4, 10: 213-220, 2005.

Galati, E.A.B., Nunes, V.L.B., Dorval, M.E.C., Oshiro, E.T., Cristaldo, G., Espíndola, M.A., da Rocha, H.C., Garcia, W.B. Estudo dos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae), em área de leishmaniose tegumentar, no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista Saúde Pública*. 30:115-28, 1996.

Galati, E. A. B. Morfologia e taxonomia: classificação de *Phlebotominae*. In: Rangel, E. F., Lainson, R. (Org.). *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. cap. 2, p. 23-52, 2003.

Galati, E.A.B., Massará, A.M., Gonçalves-Andrade, R.M., Consales, C.A., Bueno, E.F.M. Phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in the speleological province of the Ribeira Valley: 2. Parque Estadual do Alto Ribeira (PETAR), São Paulo State, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 54, n. 3, 477-487, 2010.

Gelle-Oliveira, G.M., Filho, E.A.F., Andrade, G.M. de C., de Araújo, L.A., Gelle-Oliveira, M.L., da Cunha, R.V. Survey of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Três Lagoas Municipality, Mato Grosso do Sul State, Brazil, an area of intense transmission of American visceral leishmaniasis. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*; 1(3):83-94, 2010.

Gomes, A. de C. & Galati, E.A.B. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. Capacidade vetorial flebotomínea em ambiente florestal primário do Sistema da Serra do Mar, região do Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 23: 136-42, 1989.

Gontijo, B. & Carvalho, M.L.R. Leishmaniose Tegumentar Americana. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 36 (1): 71-80, 2003.

Grimald, G. Jr., Tesh, R.B., McMahon-Pratt, D. A review of geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the New World. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 41: 687-725, 1989.

Grimaldi G. Jr., Tesh, R.B. Leishmaniasis of the New World: current concepts and implications for future research. *Clinical Microbiology Reviews* 6: 230-250, 1993.

Hwang, C. & B. D. Turner. Spatial and temporal variability of necrophagous Diptera from urban to rural areas. *Medical and Veterinary Entomology*. 19: 379–391, 2005.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas (IBGE). Itaúna, Minas Gerais, Brasil; 2018. Acesso: 27 out. 2018. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/por-cidade-estado-estatisticas.html?t=destaques&c=3133808>

Kearns, C. A. North American dipteran pollinators: Assessing their value and conservation status. *Conservation Ecology*. 5: 5, 2001.

Killick-Kendrick, R. The biology of *Leishmania* in phlebotomine sandfly. In Lumsden WHR & Evnas DA (ED) Biology of kinetoplastida Academic Press, New York, 1979.

Killick-Kendrick R. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Medicine Veterinary Entomology*. 4: 1-24, 1990.

Killick-Kendrick, R. The biology and control of phlebotomine sand flies. Elsevier Science, v. 17, 279-289, 1999.

Klotz, O. & Lindenberg, H. The pathology of leishmaniasis of the nose. *The American Journal of Tropical Medicine*, 3: 2, pp. 117-41, 1923.

Lainson, R. & Shaw, J.J. The role of animals in the epidemiology of South American leishmaniasis. In: Lumsden WAR & Evans, editores. *Biology of the Kinetoplastida*. London: Academic Press. p. 1-116, 1979.

Lainson, R., Shaw, J.J., Ryan, L., Silveira, F.T. Leishmaniasis in Brazil XXI. Visceral leishmaniasis in the Amazon Region and further observations on the role of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) as the vector. *Transactions of the Royal Society Tropical Medicine Hygiene*. 79: 223-226, 1985.

Lainson, R., Shaw, J.J. Evolution, classification and geographical distribution. In: Peters W, Killick-Kendrick R (eds), *The Leishmaniasis in Biology and medicine*. 1: 1- 120, 1987.

Lainson, R., Shaw, J.J., Braga, R.R., Ishikawa, E.A., Souza, A.A., Silveira, F.T. Isolation of *Leishmania* from monkeys in the Amazon Region of Brazil. *Transactions of the Royal Society Tropical Medicine Hygiene*. 1988.

Lainson, R. & Shaw, J.J. Observations on the development of *Leishmania (L.) chagasi* (Cunha and Chagas) in the midgut of the sandfly vector *Lutzomyia longipalpis* (Lutz and Neiva). *Annales de parasitologie humaine et comparée*. 63(2):134-45, 1988.

Lainson, R. & Rangel, E.F. *Lutzomyia longipalpis* e a eco-epidemiologia da leishmaniose visceral americana, com especial referência ao Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 100: 811-27, 2005.

Lainson, R. The Neotropical *Leishmania* species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*. v. 1, p. 13- 32, 2010.

Langeron, M. *Précis de microscopie*. Masson et Cie, Libraires de L'Académie de Medicine, Saint-Germain. Paris, 1. 1949.

Lana, R.S., Michalsky, E.M., Fortes-Dias, C.L., Lara-Silva, F. de O., Lima, A.C., Moreira de Avelar, D., Martins, J.C., Dias, E.S. Phlebotomine sand fly fauna and leishmania infection in the vicinity of the Serra do Cipó National Park, a natural Brazilian heritage site. *Biomedical Research International*. 385-493, 2015.

Lana, R.S., Michalsky, E.M., Lopes, L.O., Lara-Silva, F.O., Nascimento, J.L., Pinheiro L.C., França-Silva, J.C., Mendes, T.S.C., Fortes-Dias, C.L., Dias, E.S. Ecoepidemiological

aspects of visceral leishmaniasis in an endemic area in the Steel Valley in Brazil: An ecological approach with spatial analysis. PLoS One. 13(10): e0206452, 2018.

Lara-Silva, F.O., Michalsky, E.M., Fortes-Dias, C.L., Fiuza, V. de O., Pessanha, J.E., Regina-Silva, S., de Avelar, D.M., Silva, M.A., Lima, A.C., da Costa, A.J., Machado-Coelho, G.L., Dias, E.S. Epidemiological aspects of vector, parasite, and domestic reservoir in areas of recent transmission and no reported human cases of visceral leishmaniasis in Brazil. Acta Tropica. 148: 128-36, 2015.

Leandro, M. J. F. & D'Almeida J. M. Levantamento de Calliphoridae, Fanniidae, Muscidae e Sarcophagidae em um fragmento de mata na Ilha do Governador, Rio de Janeiro, Brasil. Iheringia, Série Zoologia, Porto Alegre 95: 377–381, 2005.

Lewis, D. J. The biology of *Phlebotomidae* in relation to leishmaniasis. Annual Review of Entomology, Palo Alto, v. 19, p. 363-384, 1974.

Lidani, K.C.F., Andrade, F.A., Tizzot, M.R.P.A., Costa-Ribeiro, M.C.V., Beltrame, M.H., Messias-Reason, I.J. Visceral Leishmaniasis and Natural Infection Rates of *Leishmania* in *Lutzomyia longipalpis* in Latin America. In: Claborn D, editor. The Epidemiology and Ecology of Leishmaniasis. London: Intechopen. p. 59–77, 2017.

Linhares, A.X. Synanthropy of the Calliphoridae and Sarcophagidae (Diptera) in the city of Campinas, São Paulo, Brazil. Revista Brasileira de Entomologia. 25:189–215, 1981.

Lins, R.M., Oliveira, S.G., De Queiroz, R.G., Justiniano, S.C., Ward, R.D., Kyriacou, C.P., Peixoto, A.A. Molecular evolution of the cacophony IVS6 region in sandflies. Insect Molecular Biology 11(2):117-22, 2002.

Lopes, J.V. Epidemiologia da Leishmaniose Visceral no município de Sabará, região metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. [Dissertação]. Belo Horizonte. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Instituto René Rachou. 2014.

Lopes, J.V., Michalsky, E.M., Pereira, N.C.L., De Paula, A.J.V., Lara-Silva, F.O., Fortes-Dias, C.L., Pinheiro, L.C., Dias, E.S. Entomological Studies in Itaúna, Brazil, an area with visceral leishmaniasis transmission: fauna survey, natural *leishmania* infection, and molecular characterization of the species circulating in phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). Journal of Medical Entomology, 2019.

Lutz, A. & Neiva, A. – Contribuição para o conhecimento das espécies do gênero *Phlebotomus* existentes no Brasil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 4:84-95, 1912.

Maia-Elkhoury, A.N.S., Alves, W.A., Sousa-Gomes, M.L.D., Sena, J.M.D., Luna, E.A. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. Caderno de Saúde Pública. 24: 2941-2947, 2008.

Maingon, R.D., Ward, R.D.; Hamilton, J.G.; Noyes, H.A.; Souza, N.; Kemp, S.J.; Watts, P.C. Genetic identification of two sibling species of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) that produce distinct male sex pheromones in Sobral, Ceará State, Brazil. Molecular Ecology. 12(7):1879-94, 2003.

- Majumdar, S. K., Jana, I. & Misra, K. K. Synanthropy of carrion flies in three districts of Southern West Bengal, India. *International Journal of Ecology and Environmental Sciences* 33: 29–39, 2007.
- Marcondes, C.B. A proposal of generic and subgeneric abbreviations of phlebotomines sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the world. *Entomology News*. 118:351-6. 10, 2007.
- Margonari, C., Soares, R.P., Andrade Filho, J.D., Xavier, D.C., Saraiva, L., Fonseca, A.L., Silva, R.A., Oliveira, M.E., Borges, E.C., Sanguinette, C.C., Melo, M.N. Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae) and *Leishmania* Infection in Gafanhoto Park, Divinópolis, Brazil. *Journal of Medical Entomology*. 47(6):1212-9, 2010.
- Martin, M.C.B., Rebêlo, J.M.M. Dinâmica espaçotemporal de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) do município de Santa Quitéria, área de cerrado do Estado do Maranhão, Brasil. *Iheringia Serie Zoologia*. 96 (3): 273-384, 2006.
- Martins, F.C., Moraes, J.L.P., Figueiredo, N., Rebêlo, J.M.M. Estrutura da comunidade de Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) em mata ciliar do município de Santos, Maranhão, Brasil. *Iheringia Serie Zoologia*. Jun: 101(1-2): 109-14, 2011.
- Marzochi, M.C.A. & Marzochi, K.B.F. Tegumentary and visceral leishmanioses in Brazil – emerging anthroozoonosis and possibilities for their control. *Caderno de Saúde Pública*. 10: 359-375, 1994.
- Mathers, C.D., Ezzati, M., Lopez, A.D. Measuring the burden of neglected tropical diseases: the global burden of disease framework. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 1 (2): e114, 2007.
- McIntyre, N. E. Ecology and urban arthropods: a review and a call to action. *Annals of the Entomological Society of America* 93: 825–835, 2000.
- Melo, F., Amaral, M., Oliveira, P., Lima, W., Andrade, M., Michalick, M., Raso, P., Tafuri, W., Tafuri, W. Diffuse intralobular liver fibrosis in dogs naturally infected with *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 79(2):198-204, 2008.
- Memmott, J. Sandflies distribution and abundance in a tropical rain forest. *Medical and Veterinary Entomology*. 5: 403-411, 1991.
- Michalsky, E.M., Fortes-Dias, C.L., França-Silva, J.C., Rocha, M.F., Barata, R.A., Dias, E.S. Association of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) population density with climate variables in Montes Claros, an area of American visceral leishmaniasis transmission in the state of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. v.104, n.8, 2009.
- Michalsky, E.M., Guedes, K. de S., Lara e Silva, F. de O., França-Silva, J.C., Dias, C.L., Barata, R.A., Dias, E.S. Natural infection with *Leishmania infantum chagasi* in *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Diptera: Psychodidae) sandflies captured in the municipality of Janaúba, State of Minas Gerais, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 44(1):58-62, 2011.

Ministério da Saúde (MS). Sistema de Informações de Agravos de Notificação. SINAN. Leishmaniose Visceral. Notificações registradas: banco de dados. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defptohtm.exe?sinannet/cnv/leishvmg.def>. Acesso: 11 dez 2018. Miranda, J.C., Reis, E., Schriefer, A., Gonçalves, M., Reis, M.G., Carvalho, L., Fernandes, O., Barral-Neto, M., Barral, A. Frequência de infecção de *Lutzomyia Phlebotominae* com *Leishmania braziliensis* em uma área endêmica brasileira avaliada por captura pontual e reação em cadeia da polimerase. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 97: 185-188, 2002.

Miscevic, Z. Dependence of the flight of sandflies (Diptera, Phlebotomidae) in artificial light on the temperature and relative humidity. Acta Veterinaria (Beograd) 31: 32-39, 1981.

Missawa, N.A., Dias, E.S. Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the municipality of Várzea Grande: an area of transmission of visceral leishmaniasis in the state of Mato Grosso, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. Dec;102(8):913-8, 2007.

Missawa, N.A., Lorosa, E.S., Dias, E.S. Feeding preference of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) in transmission area of visceral leishmaniasis in Mato Grosso. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 41(4), 365-368, 2008.

Monteiro, E.M., da Silva, J.C., da Costa, R.T., Costa, D.C., Barata, R.A., de Paula E.V., Machado-Coelho, G.L., Rocha, M.F., Fortes-Dias, C.L., Dias, E.S. Visceral leishmaniasis: a study on phlebotomine sand flies and canine infection in Montes Claros, State of Minas Gerais. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 38 (2): 147-52, 2005.

Monteiro, C. C. O papel da microbiota intestinal na competência vetorial do *Lutzomyia longipalpis* para a *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* e a transmissão do parasito ao vertebrado pela da picada. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Pesquisa René Rachou, Belo Horizonte, 2012.

Nascimento, M. D. S. B., Silva, M. H., Viana, G. M. C., Leonardo, F. S., Bezerra, G.F.B., Guimarães e Silva, A.S., Soares, V.C.P., Pereira, S.R.F., Rebêlo, J. M. M., Brazil, R. P. Patial dynamics of urban populations of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in Caxias, State of Maranhão, Brazil. Uberaba: Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.46, n.5, p. 555-559, 2013.

Neves, D.P. Parasitologia Humana. 10^a ed. São Paulo, Editora Atheneu, 2004.

Nunes, V.L.B., Galati, E.A.B., Cardozo C., Rocca, M.E.G., Andrade, A.R.O.D., Santos, M.F.D.C., Rosa, D.D. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em área urbana no município de Bonito, Mato Grosso do Sul, Brasil. Revista Brasileira de Entomologia, v. 52, n. 3, p. 446-51, 2008.

Nuorteva, P. Synanthropy of blowflies (Dipt. Calliphoridae) in Finland. Annales Entomologicae Fennicae. 29: 1-40, 1963.

Oliveira A. G., Andrade Filho, J. D., Falcão, A. L. & Brazil, R. P. Estudos de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) na zona urbana de cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, 1999- 2000. Cadernos de Saúde Pública 19: 933-944, 2003.

- Oliveira, A. G., Galati, E. A. B., Oliveira, O., Oliveira, G. R., Espíndola, I. A. C., Dorval, M. E. C. & Brazil, R. P. Abundance of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) and urban transmission of visceral leishmaniasis in Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 101: 869–874, 2006.
- Oliveira-Pereira, Y.N., Rebêlo, J.M., Moraes, J.L., Pereira, S.R. Molecular diagnosis of the natural infection rate due to *Leishmania* sp in sandflies (Psychodidae, *Lutzomyia*) in the Amazon region of Maranhão, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 39(6): 540-3, 2006.
- Oliveira, A.G., Galati, E.A.B., Fernandes, C.E., Dorval, M.E.C., Brazil, R.P. Ecological aspects of phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in endemic area of visceral leishmaniasis, Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Journal Medical Entomology*. 49:43-50, 2012a.
- Orshan, L., Szekely, D., Khalfa, Z., Bitton, S. Distribution and seasonality of Phlebotomus sand flies in cutaneous leishmaniasis foci, Judean Desert, Israel. *Journal Medical Entomology*. 47:319-328, 2010.
- Pech-May, A., Escobedo-Ortegón, F.J., Berzunza-Cruz, M., RebollarTéllez, E.A. Incrimination of four sandfly species previously unrecognized as vectors of *Leishmania* parasites in Mexico. *Medical Veterinary Entomology*. 24: 150-161, 2010.
- Pessôa, S.B. Endemias parasitárias da zona rural brasileira. São Paulo, p. 376-433, 1963.
- Pessôa, S.B. & Martins, A.V. *Parasitologia médica*. 11a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 872, 1988.
- Pessoa, F.A.C., Medeiros, J.F., Barret, T.V. 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*. 102:593–9, 2007.
- Peterson, A.T. & Shaw, J.J. *Lutzomyia* vectors for cutaneous leishmaniasis in Southern Brazil: ecological niche models, predicted geographic distributions, and climate change effects. *Internacional Journal for Parasitology*. 33: 919-931, 2003.
- Pifano, F., Ortiz, I., Alvarez, A. La ecología, en condiciones naturales y de laboratorio, de algunas especies de flebotomos de la región de Guatopo, Estado Miranda. *Archivos Venezoelanos de Patologia Tropical y Parasitologia Medica* 3: 63-71, 1960.
- Pimenta, P.F.P., Modi, G.B., Pereira, S.T., Shahabuddin, M., Sacks, D. A novel role for the peritrophic matrix in protecting *Leishmania* from the hydrolytic activities of the sandfly midgut. *Parasitology*. 115: 359-369, 1997.
- Pinto, I. de S., Ferreira, A.L., Valim, V., Carvalho, F. do S., da Silva, G.M., Falcão, A.L., Dietze, R., Falqueto, A. Sand fly vectors (Diptera, Psychodidae) of American visceral leishmaniasis areas in the Atlantic Forest, State of Espírito Santo, southeastern Brazil. *Journal of Vector Ecology*. 37 (1): 90-6, 2012.

Pita-Pereira, D., Alves, C.R., Souza, M.B., Brazil, R.P., Bertho, A.L., de Figueiredo Barbosa, A., Britto, C.C. Identification of naturally infected *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia migonei* with *Leishmania (Viannia) braziliensis* in Rio de Janeiro (Brazil) revealed by a PCR multiplex non-isotopic hybridisation assay. *Transactions of the Royal Society Tropical Medicine and Hygiene*. 99(12):905-13, 2005.

Prado, P. F., Rocha, M. F., Sousa, J. F., Caldeira, D. I., PAZ, G. F., Dias, E. S. Epidemiological aspects of human and canine visceral leishmaniasis in Montes Claros, State of Minas Gerais, Brazil, between 2007 and 2009. *Uberaba: Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v. 44, n. 5, p. 561-566, 2011.

Prefeitura Municipal de Itaúna. Disponível em: <http://www.itauna.mg.gov.br/site/> Acesso: 22 de novembro de 2018.

Pugedo, H., Barata, R.A., França-Silva, J.C., Silva, J.C., Dias, E.S. HP: um modelo aprimorado de armadilha luminosa de sucção para a captura de pequenos insetos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 38: 70-72, 2005.

Queiroz, R.G., Vasconcelos, I. de A., Vasconcelos, A.W., Pessoa, F.A., de Sousa, R.N., David, J.R. Cutaneous leishmaniasis in Ceará state in northeastern Brazil: incrimination of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) as a vector of *Leishmania braziliensis* in baturite municipality. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 50(6):693-8, 1994.

Quinnel, R.J., Dye, C., Shaw, J.J. Host preferences of the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Amazonian Brazil. *Medical Veterinary Entomology*. 6(3), 195- 200, 1992.

Rabello, E., Pupo, J. A. Leishmaniose da mucosa bucal. *Boletim da Sociedade Brasileira de Dermatologia*. 1:34-35, 1912.

Rangel, E.F., Lainson, R., Souza, A.A., Ready, P.; Azevedo, A.C. Variation between geographical populations of *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) sensu lato (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 91(1):43-50, 1996.

Rangel, E.F. & Lainson R. Ecologia das leishmanioses: transmissores de leishmaniose tegumentar americana. In: Rangel EF, Lainson R, editores. *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz. p. 291-310, 2003.

Rangel, E.F., Vilela, M.L. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*. 24 (12): 2948-52, 2008.

Rangel, E.F. & Lainson, R. Proven and putative vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil: aspects of their biology and vectorial competence. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 104: 937-54, 2009.

Rassi, Y., Alireza, S. D., Mohammad, A. O., Mohammad, R. A., Fatemeh, M., Ahmadali, E., Zabiholah, Z., Ezatoldin, J. First report on natural infection of the *Phlebotomus tobbi* by

Leishmania infantum in northwestern Iran. New York: Experimental Parasitology, v. 131, n. 3, p. 344-349. 2012.

Reguera, R.M., Morán, M., Pérez-Pertejo, Y., Garcia-Estrada, C., Balaña-Fouce, R. Status atual na prevenção e tratamento da leishmaniose canina Current status on prevention and treatment of canine leishmaniasis. Veterinary Parasitology. 227: 98–114, 2016.

Rebêlo, J.M., Leonardo, F.S., Costa, J.M., Pereira, Y.N., Silva, F.S. Sandflies (Diptera, Psychodidae) from an endemic leishmaniasis area in the cerrado region of the State of Maranhão, Brazil. Cadernos de Saúde Pública. 15(3): 623-30, 1999.

Rebêlo, J. M. M., Oliveira, S. T., Barros, V. L. L. & Silva, F. S. Flutuação sazonal dos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em área de colonização recente do município de Buriticupu, Amazônia maranhense, Brasil. Revista Brasileira de Entomologia. 45:11-16, 2001a.

Resende, M.C., Camargo, M.C.V., Vieira, J.R.M., Nobi, R.C.A., Porto, M.N., Oliveira, C.L., Pessanha, J.E., Cunha, M.C.M., Brandão, S.T. Seasonal variation of *Lutzomyia longipalpis* in Belo Horizonte, State of Minas Gerais. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 39(1): 51-5, 2006.

Ricklefs, R. E. A economia da natureza. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan. p.503, 2003.

Rodrigues-Guimarães, R., Guimarães, R.R., Barros, H.M., Carvalho, R.W. & Moya-Borja, G.E. Sinantropia da fauna de califorídeos (Diptera, Calliphoridae) na Baixada Fluminense, Rio de Janeiro, Brasil. Revista Ciência e Tecnologia 8: 22–32, 2008.

Rodriguez, N., Aguilar, C.M., Barrios, M.A., Barker, D.C. Detecção de *Leishmania braziliensis* em flebotomíneos naturalmente infectados pela reação em cadeia da polimerase. Transactions of the Royal Society Tropical Medicine and Hygiene. 93: 47-49, 1999.

Rogers, M.E., Ilg, T., Nikolaev, A.V., Ferguson, M.A., Bates, P.A. Transmission of cutaneous leishmaniasis by sand flies is enhanced by regurgitation of fPPG. Nature. 430: 463-467, 2004.

Rosário, I.N., Andrade, A.J., Ligeiro, R., Ishak, R., Silva, I.M. Evaluating the adaptation process of sand fly fauna to anthropized environments in a leishmaniasis transmission area in the Brazilian Amazon. Journal of Medical Entomology. 54:450–9, 2017.

Sacks, D.L. & Perkins, P.V. Identification of an infective stage of *Leishmania* promastigotes. Science. 223:1417-1419, 1984.

Sacks, D.L., Lawyer, P., Kamhawi, S., The Biology of Leishmania- sand fly interactions, in: Myler, P., Fasel, N. (Eds.). *Leishmania: After the Genome*. UK: Caister Academic Press Norfolk. pp. 205-238, 2008.

Salomón, O.D., Sosa Estani, S., Dri, G., Donnet, H., Galarza, R., Recalde, H., Tijera, Uma. Tegumental leishmaniasis in Las Lomitas, Province of Formosa, Argentina, 1992-2001. *Medicina (B Aires)*. 62(6):562-8, 2002.

Salomón, O.D., Feliciangeli, M.D., Quintana, M.G., Afonso, M.M., Rangel, E.F. *Lutzomyia longipalpis* urbanisation and control. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 110 (7): 831-46, 2015.

Sanguinette, C.C., da Silva, D.F., do Stumpp, R.G., do Rego, F.D., Tonelli, G.B., Tanure, A., Gontijo, C.M., Andrade Filho, J.D. Comparison of the phlebotomine (Diptera: Psychodidae) fauna of urban, transitional, and wild areas in northern Minas Gerais, Brazil. *Parasites & Vectors*. 19; 8:428, 2015.

Santos, S.O., Arias, J.R.; Hoffmann, M.P., Furlan, M.B.G., Ferreira, W.F., Pereira, C., Ferreira, L. The presence of *Lutzomyia longipalpis* in a focus of American visceral leishmaniasis where the only proven vector is *Lutzomyia cruzi*. Corumbá, Mato Grosso do Sul State. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 36: 633-634, 2003.

Santini, M.S., Salomon, O.D., Acardi, S.A., Sandoval, E.A., Tartaglino, L. *Lutzomyia longipalpis* behavior and control at an urban visceral leishmaniasis focus in Argentina. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 52(4):187-91, 2010.

Saraiva, L., Lopes, J.D.S., Oliveira, G.B.M., Batista, F.D.A., Falcão, A.L., Andrade Filho, J.D. Estudo dos flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em área de leishmaniose tegumentar americana nos municípios de Alto Caparaó e Caparaó, Estado de Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 39 (1): 56-63, 2006.

Saraiva, L., Carvalho, G.M.L., Sanguinette, C.C., Carvalho, D.A.A., Falcão, A.L., Andrade-Filho, A.F. Sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) collected on the banks of the Velhas River in the state of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 103: 843-846, 2008.

Saraiva, L., Carvalho, G.M., Gontijo, C.M., Quaresma, P.F., Lima, A.C., Falcão, A., Andrade Filho, J.D. Natural infection of *Lutzomyia neivai* and *Lutzomyia sallesi* (Diptera: Psychodidae) by *Leishmania infantum chagasi* in Brazil. *Journal of Medical Entomology*. 46: 1159-1163, 2009.

Saraiva, L., Andrade-Filho, J.D., Silva, S.O., Andrade, A.S.R., Melo, M.N. The molecular detection of different *Leishmania* species within sand flies from a cutaneous and visceral leishmaniasis sympatric area in Southeastern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 105: 1033-1039, 2010.

Saraiva, L., Andrade-Filho, J.D., Falcão, A.L., de Carvalho, D.A., de Souza, C.M., Freitas, C.R., Gomes Lopes, C.R., Moreno, E.C., Melo M.N. Phlebotominae fauna (Diptera: Psychodidae) in an urban district of Belo Horizonte, Brazil, endemic for visceral leishmaniasis: characterization of favored locations as determined by spatial analysis. *Acta Tropical*. 117(2):137-45, 2011.

Saraiva, L., Leite, C.G., Lima, A.C., Carvalho, L.O., Pereira, A.A., Rugani, J.M., Rego, F.D., Gontijo, C.M., Andrade-Filho J.D. Seasonality of sand flies (Diptera: Psychodidae) and

Leishmania DNA detection in vector species in an area with endemic visceral leishmaniasis. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 112 (4): 309-318, 2017.

Scorza, J.V., Ortiz, I., Gomez, I. Observaciones biológicas sobre algunos flebotomos de Rancho Grande (Venezuela). Sobre los factores microclimáticos que determinan la endemicidad de la flebotomo fauna de "Rancho Grande". Acta Biologica Venezuelica 6: 76-83, 1968.

Secundino, N.F.C., Eger Mangrich, I., Braga, E.M., Santoro, M.M., Pimenta, P.F.P. *Lutzomyia longipalpis* peritrophic matrix: formation, structure, and chemical composition. Journal of Medical Entomology. 42: 928-938, 2005.

Silva, O.S., Grunewald, J. Contribution to the sand fly fauna (Diptera: Phlebotominae) of Rio Grande do Sul, Brazil and *Leishmania* (*Viannia*) infections. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 94 (5): 579-82, 1999.

Silva, E.S., Gontijo, C.M.F., Pacheco, R.S., Fiuza, V.O.P., Brazil, R.P. Visceral Leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, state of Minas Gerais, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 96 (3): 285- 291, 2001.

Silva, J.G., Werneck, G.L., Cruz, M. do S., Costa, C.H., de Mendonça, I.L. Natural infection of *Lutzomyia longipalpis* by *Leishmania* sp. in Teresina, Piauí State, Brazil. Cadernos de Saúde Pública. 23 (7): 1715-20, 2007.

Sistema de Informações de Agravos de Notificação. SINAN. Leishmaniose Visceral. Notificações registradas: Database. Disponível in: 456 <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinannet/cnv/leishvmg.def>. Acesso em: 25 out.2018.

Shaw, J.J. New world leishmaniasis: the ecology of leishmaniasis and the diversity of *leishmanial* species in Central and South America. In Farrel J, eds. World Class Parasites: *Leishmania*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. v. 4. p. 11-31, 2003.

Shaw, J., Rosa, A.T., Souza, A & Cruz, A.C. Transmissão de outros agentes: os flebotomíneos brasileiros como hospedeiros e vetores de determinadas espécies. In: Rangel, E.F. & Lainson, R. (Orgs.). Flebotomíneos do Brasil. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro. P. 337-351, 2003.

Sherlock, I.A. Ecological interactions of visceral leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 91 (6): 671-83, 1996.

Shimabukuro, P.H.F., Galati, E.A.B. Checklist dos Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do estado de São Paulo, Brasil, com comentários sobre sua distribuição geográfica. Biota Neotropical. v. 11, 2011.

Souza, C.M., Fortes-Dias, C.L., Linardi, P.M., Dias, E.S. Phenetic studies on randomly amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction-variability of four geographical populations of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) in Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 37 (2): 148-53, 2004.

Souza, N.A., Andrade-Coelho, C.A., Peixoto, A.A., Rangel, E.F. Nocturnal activity rhythms of *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) in a transmission area of American cutaneous leishmaniasis in Rio de Janeiro State, Brazil. *Journal of Medical Entomology*. 42 (6): 986-92, 2005.

Splendor, A. Leishmaniose com localização na cavidade mucosa (nova forma clínica). *Boletim da Societé Patologia Exotique*. n5 (6), pp. 411-38, 1912.

Teodoro, U., Alberton, D., Köhl, J.B., dos Santos, E.S., dos Santos, D.R., dos Santos, A.R., Od Oliveira; Silveira, T.G., Lonardon, M.V. Ecology of *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *whitmani* in an urban area in Maringá, Paraná, Brazil. *Revista de Saúde Pública*. 37 (5): 651-6, 2003.

Teodoro, U., Thomaz-Soccol, V., Köhl, J.B., Santos, D.R., Santos, E.S., Santos, A.R., Abbas, M., Dias, A.C. Reorganization and cleanness of peridomiciliar area to control sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in South Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*47: 205–12, 2004.

Tesh, R.H., Chaniotis, B.N., Aranson, M.D., Johnson, K.M. Natural host preferences of Panamanian phlebotomine sandflies as determined by precipitin test. *American Journal Tropical Medicine and Hygiene*. 20, 150-156, 1971.

Thies, S.F., Bronzoni, R.V.M., Michalsky, E.M., Santos, E.S.D., Silva, D.J.F.D., Dias, E.S., Damazo, A.S. Aspects on the ecology of phlebotomine sand flies and natural infection by *Leishmania hertigi* in the Southeastern Amazon Basin of Brazil. *Acta Tropical*. 177: 37-43, 2018.

Vale, E.C.S. & Furtado, T. Leishmaniose Tegumentar no Brasil: revisão histórica da origem, expansão e etiologia. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 80: 421-8, 2005.

Van Eys, G.J., Schoone, G.J., Kroon, N.C., Ebeling, S.B. Sequence analysis of small subunit ribosomal RNA genes and its use for detection and identification of *Leishmania* parasites. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 51: 133-42, 1992.

Vianna, E. E. S., Brum, J. G. W., Ribeiro, P. B., Berne, M. E. A. & Silveira Jr, P. Synanthropy of Calliphoridae (Diptera) in Pelotas, Rio Grande do Sul State, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 7: 141–147, 1998.

Vianna, E.N., Morais, M.H., Almeida, A.S., Sabroza, P.C., Reis, I.A., Dias, E.S., Carneiro, M. Abundância de *Lutzomyia longipalpis* em domicílios urbanos como fator de risco de transmissão da leishmaniose visceral. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 111 (5): 302-10, 2016.

Volf, P. & Volfova, V. Establishment and maintenance of sand fly colonies. *Journal Vector Ecology*. 36(s1): S1-S9, 2011.

Ward, R.D. Vector biology and control. In KP Chang & R Bray, *Leishmaniasis*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, New York & Oxford. 199-212, 1985.

Weiss, P.H. La espundia es una leishmaniasis tegumentaria. *Crónica Médica de Lima*, nº 45, pp. 200-10, 1928.

Wijeyaratne, P. M., Arsenault, J. & Murphy, C. J. Endemic disease and development the leishmaniasis. *Acta Tropica*,56:265-382, 1994.

Wolda, H. Fluctuations in abundance of tropical insects. *The American Naturalist* 112: 1017-1045, 1978.

Wolda, H., Spitzer, K., Leps, J. Stability of environment and of insect populations. *Research Population Ecology* 34: 213-225, 1992.

World Health Organization (WHO). Report of the Consultative Meeting on Cutaneous Leishmaniasis. Geneva (Leishmaniasis Control Program), 2007.

World Health Organization (WHO). Leishmaniasis: background information. Disponível em: www.who.int/leishmaniasis/en/ 2015; Acesso em 17 nov. 2018.

World Health Organization (WHO). Leishmaniasis (2016 Jan). Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>; Acesso em: 04 dez. 2018.

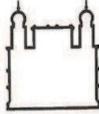
Ximenes, M. F. F. M., Souza, M. F., Castellón, E.G. Density of sand flies (Diptera: Psychodidae) in domestic and wild animal shelters in an area of visceral leishmaniasis in the state of Rio Grande do Norte, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.94, n.4, p. 427-432, 1999.

Ximenes, M.F., Castellón, E.G., de Souza, M.F., Freitas, R.A., Pearson, R.D., Wilson, M.E., Jerônimo, S.M. Distribution of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the state of Rio Grande do Norte, Brazil. *Journal Medical Entomology*. 37 (1): 162-9, 2000.

Ximenes, M.F.F.M., Castellón, E.G., Souza, M.D.E.F., Menezes, A.A., Queiroz, J., Macedo, V.P., Jerônimo, S.M.B. Effect of abiotic factors on seasonal population dynamics of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in Northeastern Brazil. *Journal Medical Entomology*. 43 (5): 990-5, 2006.

Young, D.G. & Duncan, M.A. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in the Mexico, the West Indies, Central and the South America (Diptera:Psychodidae). *Memoirs of the American Entomological Institute*. 54, 881p, 1994.

10. ANEXOS



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
Centro de Pesquisas René Rachou
Laboratório de Leishmanioses

PROJETO: Estudo da fauna flebotômica e dos aspectos caninos e ambientais relacionados à transmissão da leishmaniose visceral no município de Itaúna

Nome do voluntário: Geralda Maria Gelo Lopes

Casa

Rua Senhor Quintão n: 390 Bairro Chácara do Avião

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO VOLUNTÁRIO

Esta pesquisa tem como objetivo estudar aspectos das Leishmanioses relacionados ao vetor no município de Itaúna, sob a responsabilidade da pesquisadora Dra. Erika Michalsky Monteiro.

Tenho consciência que a minha participação como voluntário não me trará nenhum benefício ou privilégio e em hipótese alguma prejudicarão a minha saúde e bem-estar.

Poderei a qualquer momento me retirar do projeto de pesquisa por qualquer motivo, sem que isso acarrete prejuízo para mim ou minha família.

Poderei no momento em que desejar procurar a coordenadora ou o responsável pela pesquisa, para esclarecer qualquer questão relacionada ao projeto.

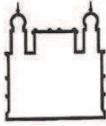
Coordenador da Pesquisa: Dra. Erika Michalsky Monteiro
Endereço: Centro de Pesquisas René Rachou, Avenida Augusto de Lima, 1715, Bairro Barro Preto, Belo Horizonte, Minas Gerais.
Telefone de contato: (31-3349-7749)

Eu li este consentimento e me foram dadas oportunidades para esclarecer minhas dúvidas. Minha participação é inteiramente voluntária, portanto, concordo em participar e assino abaixo em 2 vias.

Itaúna, 12 de junho de 2017.

Assinatura do voluntário: Geralda Maria Gelo Lopes

Assinatura do pesquisador responsável: E. Monteiro



Ministério da Saúde
 FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
 Centro de Pesquisas René Rachou
 Laboratório de Leishmanioses

PROJETO: Estudo da fauna flebotômica e dos aspectos caninos e ambientais relacionados à transmissão da leishmaniose visceral no município de Itaúna

Nome do voluntário: Elci

Casa

Rua Heitor Viçosa s/n Bairro Piôquorum

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO VOLUNTÁRIO

Esta pesquisa tem como objetivo estudar aspectos das Leishmanioses relacionados ao vetor no município de Itaúna, sob a responsabilidade da pesquisadora Dra. Erika Michalsky Monteiro.

Tenho consciência que a minha participação como voluntário não me trará nenhum benefício ou privilégio e em hipótese alguma prejudicarão a minha saúde e bem-estar.

Poderei a qualquer momento me retirar do projeto de pesquisa por qualquer motivo, sem que isso acarrete prejuízo para mim ou minha família.

Poderei no momento em que desejar procurar a coordenadora ou o responsável pela pesquisa, para esclarecer qualquer questão relacionada ao projeto.

Coordenador da Pesquisa: Dra. Erika Michalsky Monteiro

Endereço: Centro de Pesquisas René Rachou, Avenida Augusto de Lima, 1715, Bairro Barro Preto, Belo Horizonte, Minas Gerais.

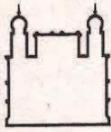
Telefone de contato: (31-3349-7749)

Eu li este consentimento e me foram dadas oportunidades para esclarecer minhas dúvidas. Minha participação é inteiramente voluntária, portanto, concordo em participar e assino abaixo em 2 vias.

Itaúna, 12 de junho de 2017.

Assinatura do voluntário: Elci

Assinatura do pesquisador responsável: Erika Monteiro



Ministério da Saúde
 FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
 Centro de Pesquisas René Rachou
 Laboratório de Leishmanioses

PROJETO: Estudo da fauna flebotomínica e dos aspectos caninos e ambientais relacionados à transmissão da leishmaniose visceral no município de Itaúna

Nome do voluntário: CCZ

Casa

Rua Calambau Bairro Distrito Industrial

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO VOLUNTÁRIO

Esta pesquisa tem como objetivo estudar aspectos das Leishmanioses relacionados ao vetor no município de Itaúna, sob a responsabilidade da pesquisadora Dra. Erika Michalsky Monteiro.

Tenho consciência que a minha participação como voluntário não me trará nenhum benefício ou privilégio e em hipótese alguma prejudicará a minha saúde e bem-estar.

Poderei a qualquer momento me retirar do projeto de pesquisa por qualquer motivo, sem que isso acarrete prejuízo para mim ou minha família.

Poderei no momento em que desejar procurar a coordenadora ou o responsável pela pesquisa, para esclarecer qualquer questão relacionada ao projeto.

Coordenador da Pesquisa: Dra. Erika Michalsky Monteiro

Endereço: Centro de Pesquisas René Rachou, Avenida Augusto de Lima, 1715, Bairro Barro Preto, Belo Horizonte, Minas Gerais.

Telefone de contato: (31-3349-7749)

Eu li este consentimento e me foram dadas oportunidades para esclarecer minhas dúvidas. Minha participação é inteiramente voluntária, portanto, concordo em participar e assino abaixo em 2 vias.

Itaúna, 19 de abril de 2017.

Assinatura do voluntário: [Assinatura]

Assinatura do pesquisador responsável: [Assinatura]