

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



“Estudos sobre Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis: hábitos alimentares, infecção natural por Leishmania (Leishmania) infantum chagasi e correlação com a expansão da leishmaniose visceral americana”

por

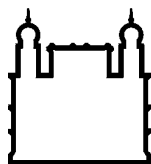
Margarete Martins dos Santos Afonso

Tese apresentada com vistas à obtenção do título de Doutor em Ciências na área de Saúde Pública.

Orientador principal: Prof. Dr. Sergio Augusto de Miranda Chaves

Segunda orientadora: Prof.^a Dr.^a Elizabeth Ferreira Rangel

Rio de Janeiro, junho de 2013.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



Esta tese, intitulada

“Estudos sobre Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis: hábitos alimentares, infecção natural por Leishmania (Leishmania) infantum chagasi e correlação com a expansão da leishmaniose visceral americana”

apresentada por

Margarete Martins dos Santos Afonso

foi avaliada pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Jeffrey Jon Shaw

Prof.^a Dr.^a Nildimar Honório Rocha

Prof. Dr. Mauricio Luiz Vilela

Prof. Dr. Luciano Medeiros de Toledo

Prof. Dr. Sergio Augusto de Miranda Chaves — Orientador principal

Catálogo na fonte
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica
Biblioteca de Saúde Pública

- A257 Afonso, Margarete Martins dos Santos
Estudos sobre *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phebotominae): hábitos alimentares, infecção natural por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* (Cunha & Chagas, 1937) e correlação com a expansão da leishmaniose visceral americana. / Margarete Martins dos Santos Afonso. -- 2013.
xix,152 f. : il. ; tab. ; graf. ; mapas
Orientador: Chaves, Sergio Augusto de Miranda
Rangel, Elizabeth Ferreira
Tese (Doutorado) – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2013.
1. Psychodidae. 2. Leishmania infantum. 3. Leishmaniose Visceral - epidemiologia. 4. Urbanização. I. Título.
CDD – 22.ed. – 616.9364

Dedico,

aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

A Deus por minha vida;

Aos meus pais e irmão, por terem aceitado a minha escolha, por todo amor e dedicação;

A minha orientadora Dra. Elizabeth Ferreira Rangel, do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses – IOC/FIOCRUZ, pela orientação, encorajamento, dedicação e amizade ao longo desses anos;

Ao meu orientador Dr. Sérgio Augusto de Miranda Chaves, do Laboratório de Ecologia – ENSP/FIOCRUZ, pelo incentivo e amizade demonstrados;

À Profa. Mônica Magalhães, do Laboratório de Informação em Saúde – ICICT/FIOCRUZ, pelo aprendizado e auxílio nos estudos de geoprocessamento, além de sua alegria e amizade;

À Profa. Renata Gracie e aluna Fabiane Bertoni, do Laboratório de Informação em Saúde – ICICT/FIOCRUZ, pelo auxílio nas análises estatísticas e na confecção dos mapas;

À Dra. Daniela Pita, do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses – IOC/FIOCRUZ, pela colaboração e apoio necessários aos estudos moleculares, por sua dedicação e amizade;

À Profa. Thaís Pereira e a bióloga Taiana Rego, do Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas – IOC/FIOCRUZ, pelo apoio nas análises moleculares;

À Dra. Constança Brito, chefe do Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas – IOC/FIOCRUZ, por ter disponibilizado seu laboratório para a realização das análises moleculares;

Ao Dr. Paulo d'Andréa e ao Veterinário Sócrates Neto, do Laboratório Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios – IOC/FIOCRUZ, pelas amostras cedidas, utilizadas na padronização das análises moleculares;

Ao Biólogo Antônio Luis Santana, e a Dra. Júlia Silva, do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses – IOC/FIOCRUZ, pela amizade e apoio durante as coletas de flebotomíneos no Município do Rio de Janeiro;

Aos colegas Lindenberg Caranha, Luiz Silva, Fabrício Santos, Neitom Pascoal, Holanda e Azevedo Sousa, da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, pelo precioso apoio e demonstração de amizade, durante as coletas de flebotomíneos no Município de Fortaleza;

Aos colegas José Helder Farrapo e Francisco Antônio da Silva (Chicão), da 11^o Célula Regional Estadual de Saúde, pela amizade e apoio durante as coletas de flebotomíneos no Município de Sobral;

Aos colegas Adailton Martins, Ketlin Gomes, Caio Rocha, Christiane Barbosa, Shirley Galvão, José Silva, Angra Oliveira, Marli Denis, Diana Paixão, Clénice Souza e, em especial, a Jordel Silva, pelo auxílio durante as coletas de flebotomíneos no Município de Araguaína;

À Médica Veterinária Carina Azevedo, da Secretaria de Saúde do Estado do Tocantins, pelo apoio e disponibilização das informações sobre as leishmanioses no Estado do Tocantins, bem como pelas facilidades nas coletas de flebotomíneos;

Ao Dr. Manuel Ferreira, da Universidade Federal de Goiás, pela disponibilidade em ajudar e pelas informações sobre o uso do solo do Estado do Tocantins;

À Bióloga Cristina Giordano, da Secretaria do Estado do Rio de Janeiro, pelo apoio e auxílio nas atividades realizadas no Rio de Janeiro;

A Dra. Jacenir Mallet, chefe do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses, pelo apoio durante a realização do trabalho.

Aos amigos Bruno Carvalho, Simone Costa, Antônio Santana, Maurício Vilela, Caroline Sena, Filipe Sousa, Wagner Costa, Nataly Souza, Catarina Macedo e Jacenir Mallet, do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses – IOC/FIOCRUZ, pela colaboração, carinho e incentivos demonstrados ao longo da realização deste trabalho;

A Tecnologista e Gerente da Qualidade, Adriana Zwetsch, do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses – IOC/FIOCRUZ, pelo apoio prestado nos momentos solicitados;

A toda equipe do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses – IOC/FIOCRUZ, pelo companheirismo;

Às Secretárias Éster Silva, Carla Saldanha e Priscila Domingos, do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, pela amizade e disposição em colaborar;

A Analista Ângela Carvalho do Serviço de Gestão de Projetos, SEGEPRO–IOC/FIOCRUZ, pela amizade e auxílio na gestão dos recursos financeiros;

A todos os membros da Secretaria Escolar da Escola Nacional de Saúde Pública/FIOCRUZ, pela disposição em colaborar;

Aos amigos e colegas das disciplinas cursadas durante o curso, em especial a turma 2009 intitulada “Doctílicos”, pelas conversas, apoio e amizade e as “Gatonas” (Kátia, Cecília, Tatiana, Amanda, Alessandra e Ivana) pelas discussões de artigos, risadas e amizade;

A todos os professores das disciplinas cursadas, que muito contribuíram para minha formação;

Ao Coronel Carlos Roberto KenjiFuzita, Diretor do Arsenal de Guerra do Rio de Janeiro (Exército Brasileiro), pela autorização e apoio durante as coletas de flebotomíneos;

Ao Senhor Washington Jorge da Silva, Administrador do Cemitério São Francisco Xavier e da Santa Casa de Misericórdia (Caju), pela autorização das coletas de flebotomíneos;

Ao Senhor Jorge Netto, da Santa Casa de Misericórdia do Rio de Janeiro, pela autorização das coletas de flebotomíneos;

Ao aluno João BouHaya, pelo auxílio na elaboração do banco de dados;

Aos moradores de todos os locais visitados, por permitirem que entrássemos em suas casas, pelo apoio demonstrado e por dividirem suas experiências e saberes;

A Diretoria do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, pela infraestrutura e pelo suporte financeiro;

A Direção da Pós-Graduação em Saúde Pública, da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca/FIOCRUZ, pela oportunidade de realização do curso;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, pela bolsa de Doutorado;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPQ (Papes VI, 407707/2012-3), e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro, FAPERJ (Edital: Estudo de Doenças Negligenciadas e Reemergentes – 2012, E-26/110.525/2012), pelo apoio financeiro;

A todos os verdadeiros amigos que me apoiaram e incentivaram ao longo desta jornada.

“A coisa mais importante é não parar de questionar.

A curiosidade tem suas próprias razões para existir.”

Albert Einstein

RESUMO

A Leishmaniose Visceral Americana (LVA) no Brasil é um importante problema de Saúde Pública, cuja expansão geográfica tem possibilitado o seu estabelecimento em áreas urbanas das médias e grandes cidades. Desta forma, ressalta-se a importância da produção de conhecimentos sobre os fatores determinantes associados ao novo perfil epidemiológico. Este estudo procurou identificar fatores da expansão e urbanização do vetor, *Lutzomyia (L.) longipalpis*, numa abordagem ampla no contexto epidemiológico da LVA, considerando múltiplas interações: ambiente, parasita e reservatórios. Os objetivos foram: discutir os estudos sobre hábitos alimentares de insetos vetores de patógenos humanos, com ênfase na subfamília Phlebotominae; analisar os fatores associados ao processo de expansão e urbanização da LVA; discutir a expansão da LVA no Estado do Tocantins correlacionando incremento de desflorestamento, estratificação da doença, classes do uso do solo e presença do vetor *L. (L.) longipalpis*; diagnosticar a infecção natural por *Leishmania (L.) infantumchagasi* em associação com a fonte alimentar, através de métodos moleculares, em exemplares de *L. (L.) longipalpis* procedentes dos municípios de Araguaína (TO), Fortaleza (CE), Sobral (CE), e Rio de Janeiro (RJ). No atual cenário das mudanças ambientais, é fundamental a condução de estudos voltados para as doenças relacionadas ao ambiente, como a LVA. Nesta perspectiva, pesquisas sobre o vetor *L. (L.) longipalpis* devem produzir conhecimentos que permitam entender a epidemiologia da doença, além de subsidiar o planejamento de estratégias de controle. A análise ecoepidemiológica da LVA em Tocantins revelou que, dos 139 municípios, 120 apresentaram registros de casos humanos. As áreas de incremento do desmatamento se mantiveram frequentes, principalmente na região norte, onde se observa elevado número de casos humanos. Em relação ao perfil de estratificação, 40% dos municípios apresentaram expansão da LVA. *Lutzomyia (L.) longipalpis* se mostrou presente em todas as classes do uso do solo, com correlação negativa apenas para pastagem cultivada. Em relação ao registro anual de casos humanos de LVA, dentre as áreas que apresentaram correlação positiva com maior frequência destacam-se áreas de influência urbana e ambiente urbanizado. A avaliação dos hábitos alimentares em flebotomíneos é capaz de responder questões importantes sobre o comportamento, ecologia e adaptação dos vetores. Dentre as técnicas já descritas, as mais utilizadas ainda são as técnicas imunológicas, embora as técnicas moleculares vem sendo empregadas com maior frequência, pois permitem de forma mais sensível a identificação da fonte alimentar e da infecção natural. Tais informações são importantes, não apenas para um melhor conhecimento acerca dos vetores, mas também sobre potenciais reservatórios de *Leishmania*. Em relação à preferência alimentar, *L. (L.) longipalpis* apresentou índice de positividade de 29,3% relacionado com fonte alimentar humana, seguido de cão e ave, não sendo encontradas fêmeas alimentadas em gambá. O índice geral de infecção natural por *L. (L.) infantumchagasi* foi de 4,51%, sendo 4,9% em Araguaína e 9,75% em Sobral. Das fêmeas infectadas de Araguaína, uma estava alimentada com sangue de cão e outra em sangue humano. Em Sobral, das quatro fêmeas infectadas, três estavam alimentadas em sangue humano.

Palavras chaves: *Lutzomyia (L.) longipalpis*, *Leishmania (L.) infantumchagasi*, Leishmaniose Visceral Americana, expansão e urbanização.

ABSTRACT

American Visceral Leishmaniasis (AVL) in Brazil is an important public health problem, whose geographical spreading has enabled its establishment in urban areas of medium and large cities. Thus, it is important to produce knowledge about the determinants associated with this new epidemiological profile. This study aimed to identify factors of spreading and urbanization of the vector, *Lutzomyia (L.) longipalpis*, in a broad epidemiological approach of AVL, considering multiple interactions: environment, parasite and reservoirs. Objectives were: to discuss studies on feeding habits of insect vectors of human pathogens, with emphasis on subfamily Phlebotominae; to analyze the factors associated with the process of spreading and urbanization of AVL; to discuss the spreading of AVL in the State of Tocantins correlating deforestation increase, disease stratification, land use classes and the presence of the vector *L. (L.) longipalpis*; to diagnose natural infection by *Leishmania (L.) infantumchagasi* in association with the feeding source, using molecular methods in specimens of *L. (L.) longipalpis* from Araguaína (TO), Fortaleza (CE), Sobral (CE), and Rio de Janeiro (RJ) municipalities. In the current scenario of environmental change, it is essential to conduct studies on diseases related to the environment, such as AVL. In this perspective, research on the vector *L. (L.) longipalpis* should produce knowledge to understand the epidemiology of the disease and support the planning of control strategies. The eco-epidemiological analysis of AVL in Tocantins revealed that 120 of the 139 municipalities had records of human cases. The areas of increased deforestation remained frequent, particularly in the north, where a high number of human cases have been observed. Regarding to stratification profile, 40% of municipalities revealed AVL spreading. *Lutzomyia (L.) longipalpis* was present in all land use classes, with negative correlation only for pasture. In relation to the annual records of AVL human cases, among the areas that were positively correlated with higher frequency highlight those areas of urban influence and urbanized environment. The evaluation of feeding habits in sand flies is able to answer important questions about the behavior, ecology and adaptation of the vectors. Among the techniques already described, the most commonly used are still immunological assays, although molecular techniques have been used more frequently, since they present better sensitivity to the identification of feeding source and natural infection. Such information is important not only for a better knowledge of vectors, but also of potential reservoirs of *Leishmania*. In relation to the feeding preference, *L. (L.) longipalpis* showed a positivity rate of 29.3% related to human source, followed by dog and bird, without any findings of females feeding on opossums. The overall natural infection index by *L. (L.) infantumchagasi* was 4.51%, with 4.9% from Araguaína and 9.75% from Sobral specimens. Among infected females from Araguaína, one fed on dog blood and another on human blood. From Sobral, among four infected females, three were fed on human blood.

Keywords: *Lutzomyia (L.) longipalpis*, *Leishmania (L.) infantumchagasi*, Visceral Leishmaniasis, spreading and urbanization.

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO

- Figura 1. Inseto transmissor das leishmanioses, ordem Diptera, família Psychodidae, sub-família Phlebotominae. 3
- Figura 2. Protozoário causador das leishmanioses, ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae. 3
- Figura 3. Ciclo de transmissão das leishmanioses. 4
- Figura 4. Casos de Leishmaniose Visceral Americana, por município de residência, no período de 1983 a 2008. 8
- Figura 5. Usinas Hidrelétricas no Estado do Tocantins, Brasil. 13
- Figura 6. Modelo unicausal. 19
- Figura 7. Modelo multicausal: a tríade ecológica (Fonte: Batistella 207a 20 (adaptado de Leavell& Clarck 1976).
- Figura 8. Atividades iniciais de ocupação e evolução dos processos que desencadeiam a degradação do ambiente. 25
- Figura 9. Impactos do processo climático - econômico - demográfico (Fonte: Confalonieri 2008). 26

CAPÍTULO 2

- Figura 1 – Distribuição geográfica de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* no Brasil. Fonte: LTL/IOC/FIOCRUZ 67
- Figura 2: Correlação entre *Lutzomyia (L.) longipalpis* com a temperatura (A), umidade relativa (B) e precipitação (C) em Porto Nacional/TO. 73
- Figura 3: Correlação entre *Lutzomyia (L.) longipalpis* entre o tipo de vegetação (A) e solo (B) em Porto Nacional/TO. 74

CAPÍTULO 3

- Figura 1. Usinas Hidrelétricas no Estado do Tocantins, Brasil. 84

Figura 2. Presença de leishmaniose visceral americana (LVA) e leishmaniose tegumentar americana (LTA) no Estado do Tocantins, Brasil.	84
Figura 3. Biomas (Cerrado e Amazônico) do Estado do Tocantins, Brasil.	85
Figura 4. Mapa do Estado do Tocantins com a descrição do uso do solo em associação com a possível presença de <i>Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis</i> .	89
Figura 5. Perfil espaço-temporal do incremento do desflorestamento no Estado do Tocantins, no período de 2000 a 2010.	90
Figura 6. Perfil espaço-temporal dos casos humanos por leishmaniose visceral americana, no Estado do Tocantins, no período de 2001 a 2010.	92
Figura 7. Distribuição dos casos humanos por leishmaniose visceral americana no município de Araguaína e no Estado do Tocantins, no período de 2001 a 2012.	93
Figura 8. Perfil espaço-temporal da estratificação da leishmaniose visceral americana no Estado do Tocantins.	94
Figura 9. Associação entre o incremento do desflorestamento e a estratificação da leishmaniose visceral americana no Estado do Tocantins.	100
CAPÍTULO 4	
Figura 1. Locais de coleta de <i>Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis</i> .	128
Figura 2. Resultado da avaliação dos hábitos alimentares de fêmeas de <i>Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis</i> .	131
Figura 3. Comparação da distribuição do percentual das fontes alimentares observadas nas fêmeas positivas de <i>Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis</i> , analisadas pela técnica de PCR, por cada área estudada.	133
Figura 4. Resultado da pesquisa de infecção natural de <i>Leishmania (Leishmania) infantumchagasi</i> , em <i>Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis</i> , procedente de Sobral.	135
Figura 5. Resultado da pesquisa de infecção natural de <i>Leishmania (Leishmania) infantumchagasi</i> , em <i>Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis</i> , procedente de Araguaína.	135

LISTA DE TABELAS

INTRODUÇÃO

Tabela 1. Casos de Leishmaniose Visceral Americana no Estado do Ceará, no período de 2007 a 2012, com destaque para os municípios com maior número de casos. 10

Tabela 2. Óbitos por Leishmaniose Visceral Americana no Estado do Ceará, no período de 2007 a 2012, com destaque para os municípios com maior número de casos. 10

Tabela 3. Casos de Leishmaniose Visceral Americana no Estado do Rio de Janeiro, no período de 2007 a 2012. 12

Tabela 4. Óbitos por Leishmaniose Visceral Americana no Estado do Rio de Janeiro, no período de 2007 a 2012. 12

Tabela 5. Casos de Leishmaniose Visceral Americana no Estado de Tocantins, no período de 2007 a 2012, com destaque para os municípios com maior número de casos. 14

Tabela 6. Óbitos por Leishmaniose Visceral Americana no Estado de Tocantins, no período de 2007 a 2012, com destaque para os municípios com maior número de casos. 15

Tabela 7. Casos humanos de Leishmaniose Visceral Americana no Brasil, por faixa etária, no período de 2007 a 2012. 22

Tabela 8. Óbitos por Leishmaniose Visceral Americana no Brasil, por faixa etária, no período de 2007 a 2012. 23

CAPÍTULO 1

Table 1. Main characteristics of techniques: Precipitin, ELISA, PCR. 59

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Porcentagem (por município) das classes do uso do solo no Estado do Tocantins. 87

Tabela 2. Perfil da estratificação da LVA no período de 2004 a 2011, para os municípios que apresentaram aumento no número de casos no Estado do Tocantins. Fonte: Secretaria de Saúde do Estado do Tocantins.	95
Tabela 3. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e a presença do vetor <i>Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis</i> , no Estado do Tocantins.	97
Tabela 4. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana no período de 2001 a 2011, no Estado do Tocantins.	98
Tabela 5. Municípios com maior incremento do desmatamento (até 2011) e classificação da estratificação da leishmaniose visceral americana (de 2004 a 2011). Fonte: PRODES, Secretaria de Saúde do Estado do Tocantins.	99
Anexo 1. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2001, no Estado do Tocantins.	106
Anexo 2. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2002, no Estado do Tocantins.	107
Anexo 3. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2003, no Estado do Tocantins.	108
Anexo 4. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2004, no Estado do Tocantins.	109
Anexo 5. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2005, no Estado do Tocantins.	110
Anexo 6. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2006, no Estado do Tocantins.	111
Anexo 7. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2007, no Estado do Tocantins.	112

Anexo 8. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de 113
casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2008, no Estado do
Tocantins.

Anexo 9. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de 114
casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2009, no Estado do
Tocantins.

Anexo 10. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de 115
casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2010, no Estado do
Tocantins.

Anexo 11. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de 116
casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2011, no Estado do
Tocantins.

CAPÍTULO 4

Tabela 1. *Primers* utilizados para detecção de fonte alimentar e infecção natural e 129
as respectivas temperaturas de anelamento.

Tabela 2. Distribuição do número de fêmeas de *Lutzomyia (Lutzomyia)* 131
longipalpis, positivas e negativas pela técnica de PCR, por cada área estuda.

Tabela 3. Distribuição de número e percentual das fêmeas positivas pela técnica 132
de PCR, para identificação de fontes alimentares, por cada área estudada.

Tabela 4. Fêmeas de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* submetidas à pesquisa 134
de infecção natural por *Leishmania (Leishmania) infantumchagasi*, por cada área
estudada.

Tabela 5. Associação das fêmeas identificadas com infecção natural e a 136
identificação do hábito alimentar, pela técnica de PCR, por cada área estudada.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CAPES	Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CE	Ceará
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
Cyt b	Citocromo B
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	Técnica Imunoenzimática / Enzyme-LinkedImmunoabsorbentAssay
ENSP	Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca
FAPERJ	Fundação e Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HIV	Vírus da Imunodeficiência Aquirida
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICICT	Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde
INIMET	Instituto Nacional de Meteorologia
IOC	Instituto Oswaldo Cruz
LILASC	Literatura Latino Americana e do Caribe de Informação em Ciência em Saúde
LIS	Laboratório de Informação em Saúde
LPI	Local Provável de Infecção
LT	Leishmaniose Tegumentar
LVA	Leishmaniose Visceral Americana
LTA	Leishmaniose Tegumentar Americana

LTL	Laboratório de Transmissores de Leishmanioses
LV	Leishmaniose Visceral
MEDLINE	Sistema Online de Busca e Análise de Literatura Médica
PCR	Reação de Cadeira em Polimerase / <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PCLV	Programa de Controle da Leishmaniose Visceral
PNOC	Prepronociceptin gene
PRODES	Projeto de Estimativa do Desflorestamento da Amazônia
RFLP/PCR	Restriction Fragment Length Polymorphism - Polymerase Chain Reaction
RJ	Rio de Janeiro
SciELO	Scientific Eletronic Library Online
SEGEPRO	Serviço de Gestão de Projetos
SIG	Sistema de Informação Geográfica
SINAN	Sistema Nacional de Informação de Doenças de Notificação Compulsória
SNDC	Sistema Nacional de Notificação de Informação de Doenças de Notificação Compulsória
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
ST	SemTransmissão
TE	TransmissãoEsporádica
TI	TransmissãoIntensa
TM	TransmissãoModerada
TO	Tocantins
UHE	Usina Hidrelétrica

SUMÁRIO

Resumo	ix
Abstract	x
Lista de figuras	xi
Lista de tabelas	xiii
Lista de siglase abreviaturas	xiv
Introdução.....	1
As leishmanioses no Brasil	4
A eco-epidemiologia da Leishmaniose visceral americana no Brasil	5
Leishmaniose visceral americana no Estado do Ceará	9
Leishmaniose visceral americana no Estado do Rio de Janeiro	10
Leishmaniose visceral americana no Estado do Tocantins	12
Identificação da fonte alimentar em flebotomíneos	15
Pesquisa da infecção natural por <i>Leishmania</i> spp. em flebotomíneos.....	17
Análise espacial e a expansão da leishmaniose visceral americana	19
Relevância	28
Referências bibliográficas	30
Objetivos	44
Objetivo geral	45
Objetivos específicos	45
Capítulo 1 - Evaluation of feeding habits of haematophagous insects, with emphasis on Phlebotominae (Diptera:Psychodidae), vectors of Leishmaniasis – Review.....	50
Abstract	51
Introduction.....	51
Materials and methods.....	52
Results and discussion.....	52
Conclusion.....	59
References.....	60
Capítulo 2 - <i>Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis</i> : Fatores Associados ao Processo de Expansão e Urbanização da Leishmaniose Visceral Americana.....	63
Introdução.....	65
Desenvolvimento.....	66
Conclusões e perspectivas.....	75
Referências bibliográficas.....	76

Capítulo 3– Contribuição ao conhecimento do processo de expansão da Leishmaniose Visceral Americana no Estado do Tocantins.....	81
Introdução.....	82
Metodologia.....	85
Resultados.....	87
Discussão e conclusões.....	101
Referências bibliográficas.....	117
Capítulo 4 – Indicadores Biológicos Associados a <i>Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis</i> (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phebotominae), Vetor da Leishmaniose Visceral Americana: Hábitos Alimentares e Infecção Natural por <i>Leishmania (Leishmania) infantum chagasi</i> (Cunha & Chagas, 1937), de Espécimes Procedente de Araguaína (TO), Fortaleza (CE), Rio de Janeiro (RJ) e Sobral (CE) / dados preliminares.....	124
Introdução.....	125
Metodologia.....	126
Resultados.....	130
Discussão e conclusões.....	137
Referências bibliográficas.....	139
Anexo.....	144
Conclusões e Considerações Finais	149

INTRODUÇÃO

As leishmanioses são protozoonoses causadas por protozoários flagelados heteroxenos do gênero *Leishmania* (Ross 1903), pertencentes à ordem Kinetoplastida e família Trypanosomatidae. São transmitidas através da picada de flebotomíneos, dípteros da família Psychodidae e subfamília Phlebotominae, dos gêneros *Lutzomyia* (Continente Americano) e *Phlebotomus* (Velho Mundo)¹.

Estas enfermidades constituem graves problemas de Saúde Pública, acometendo indistintamente, homens, mulheres e crianças, encontrando-se entre as seis mais importantes doenças parasitárias. As leishmanioses manifestam-se sob diferentes formas clínicas devido, sobretudo, à variedade de parasitas que afetam a população humana².

Sua distribuição ocorre de forma endêmica em 98 países, atingindo os continentes Americano, Europeu, Asiático, Africano e Oceânico, com cerca de trezentos e cinquenta milhões de pessoas vivendo em área de risco^{3,4,5}.

A transmissão das leishmanioses se faz através da picada de flebotomíneos, dípteros conhecidos popularmente no Brasil por mosquito palha, cangalhinha, tatuquira, birigui, asa dura ou anjinho. Holometábolos, possuem corpo delgado e piloso, revestido de cerdas, patas longas e asas lanceoladas. Somente as fêmeas realizam repasto sanguíneo, sendo necessário para o desenvolvimento ovariano. Tanto os machos quanto as fêmeas ingerem carboidratos, necessários para as atividades vitais, possuem hábitos crepusculares e noturnos, e seus abrigos estão relacionados a substrato contendo matéria orgânica^{6,7} (Figura 1).

As leishmânias são protozoários que têm seu ciclo de vida associado a dois tipos de hospedeiros: os vertebrados, onde vivem sob a forma amastigotas, nas células do sistema fagocítico mononuclear de alguns órgãos, e os invertebrados (flebotomíneos), onde se desenvolvem e se multiplicam no tubo digestivo^{8,9} (Figura 2).

Cerca de vinte e duas espécies de leishmânias são encontradas infectando o homem^{10,11,12,13} sendo onze do subgênero *Leishmania* Ross 1903 e onze do subgênero *Viannia* (Lainson & Shaw 1987), e dentre as que causam enfermidades estão: *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*, *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Viannia) guyanensis*, *Leishmania (Viannia) lainsoni*, *Leishmania (Viannia) naiffi*, *Leishmania (Viannia) shawi* e *Leishmania (Viannia) lindenbergi*.

Os reservatórios das espécies de leishmânias são, principalmente, mamíferos silvestres pertencentes às ordens Carnívora, Rodentia, Primata, Artiodactyla,

Didelphimorphia e a super ordem Xenarthra. Estes mamíferos participam do ciclo primário de transmissão, servindo como fonte de infecção para flebotomíneos e mantendo assim o ciclo silvestre¹⁴. Contudo, sugere-se que alguns animais domésticos (cães e equinos), em determinadas situações, sejam responsáveis pela manutenção dos ciclos peridomésticos e urbano, onde as espécies de flebotomíneos vetores estariam adaptadas ao ambiente domiciliar e/ou peridomiciliar^{15,16,17}.



Figura 1. Inseto transmissor das leishmanioses, ordem Diptera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae. Créditos: Margarete Afonso.

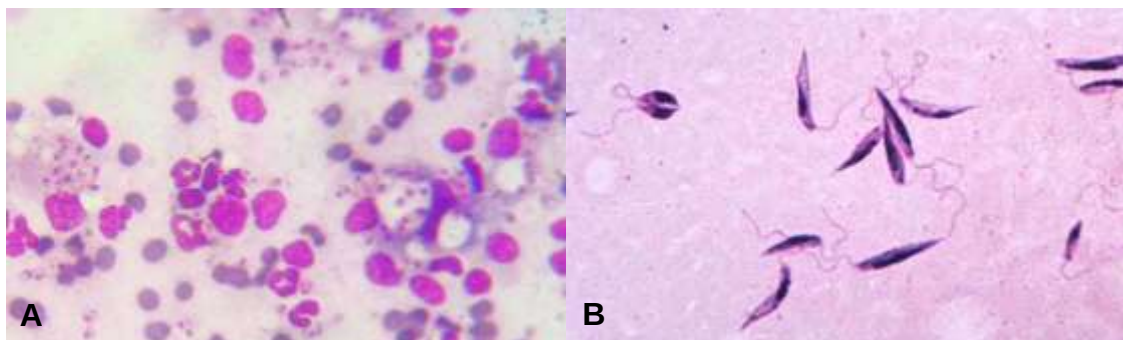


Figura 2. Protozoário causador das leishmanioses, ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae. A – forma amastigota, B – forma promastigota. Fonte: www.fiocruz.br.

A competência vetorial de uma espécie de flebotomíneo é determinada pela aptidão da *Leishmania* em sobreviver, se multiplicar e se diferenciar dentro do trato digestivo, de modo que seja transmitida aos vertebrados. Tal processo depende de fatores intrínsecos do flebotomíneo, os quais irão determinar sua capacidade de ser susceptível ou refratário ao desenvolvimento da *Leishmania*. Tais fatores sugerem a

existência de um processo de co-evolução entre as espécies de leishmânias e seus vetores¹⁸.

Durante a alimentação, o sangue ingerido, contendo as formas amastigotas, é contido no intestino médio, onde os parasitas se diferenciam nas formas promastigotas. Nesta fase ocorre sua multiplicação ao longo da digestão sanguínea, seguida da migração e colonização nas diferentes porções do trato digestivo, onde inicialmente podem alojar-se na parte posterior, no píloro (parasitas da seção peripilária, leishmânias do subgênero *Viannia*) ou ainda, no intestino médio (parasitas da seção suprapilária, leishmânias do subgênero *Leishmania*) para, em seguida, migrarem para a porção anterior do tubo digestivo, onde novamente ocorre a multiplicação celular. A transmissão dos parasitas ocorre quando fêmeas infectadas realizam nova alimentação sanguínea, regurgitando formas promastigotas infectivas^{18,19,20} (Figura 3).

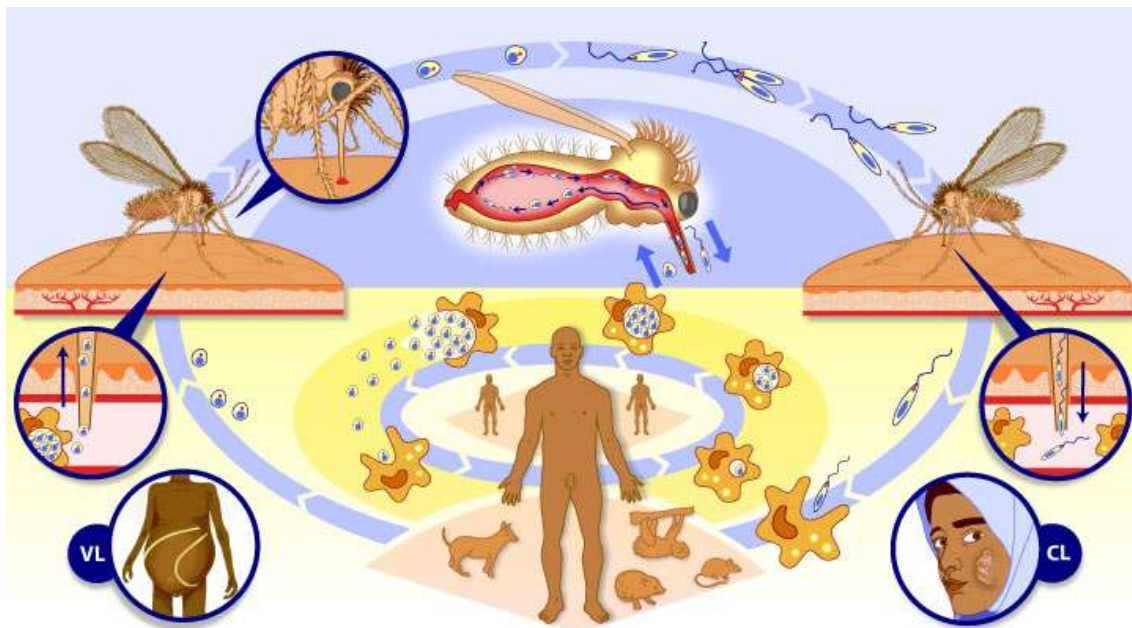


Figura 3. Ciclo de transmissão das leishmanioses. VL – leishmaniose visceral, CL – leishmaniose cutânea. Fonte: <http://www.who.int/tdr/diseases-topics/leishmaniasis/en/index.html>.

AS LEISHMANIOSES NO BRASIL

As leishmanioses, no Novo Mundo, segundo a manifestação clínica, estão divididas em Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), que apresenta um padrão clínico diferenciado: cutânea, mucosa e nodular, e Leishmaniose Visceral Americana (LVA), cujo tropismo do parasito pelo sistema fagocítico mononuclear do baço e do fígado acarreta a hiperplasia e hipertrofia desses órgãos^{17,21}.

No Brasil, as leishmanioses estão incluídas no quadro das grandes endemias, pertencendo à lista do Sistema Nacional de Informação de Doenças de Notificação Compulsória (SNDC) do Ministério da Saúde, estando presentes em todas as Unidades Federadas.

O conceito de leishmanioses como zoonoses de animais silvestres, em que o homem torna-se hospedeiro acidental no momento que invade as florestas primárias onde estão presentes os reservatórios naturais das espécies de leishmânias e seus respectivos vetores, atualmente, restringe-se à Floresta Amazônica, a resíduos de Mata Atlântica e ao Cerrado. Entretanto, encontra-se, hoje, um novo perfil de transmissão que está associado às alterações ambientais, com comprometimento da cobertura vegetal natural, em decorrência de inúmeros fatores. Estas alterações ambientais interferem nos elos da cadeia epidemiológica (vetores, parasitos e reservatórios), que se adaptam ao novo ambiente, buscando novas condições de sobrevivência, favorecendo a aproximação de mamíferos silvestres (alguns atuando como reservatórios) ao ambiente domiciliar, onde flebotomíneos, principalmente os que apresentam elevado ecletismo alimentar, acabam por estabelecer ciclos de transmissão próximos ao homem.

Dessa forma, o impacto das modificações ambientais pode gerar alterações na ecologia das espécies de leishmânias e flebotomíneos envolvidos, mudando o padrão epidemiológico do agravo. A expansão geográfica das leishmanioses ocorre devido a um fenômeno chamado de “caos ecológico”, desencadeado pela ação antrópica, estabelecendo um contato estreito entre as populações humanas e vetores de patógenos, dentre eles, os flebotomíneos^{22,23}. Desta forma, um novo perfil de transmissão deve ser considerado, onde o homem não é chamado como um hospedeiro acidental, uma vez que vive em estreita associação com a cadeia epidemiológica²⁴.

A incidência das leishmanioses no Brasil vem crescendo em várias regiões do país, ao mesmo tempo em que apresentam mudanças em seu quadro epidemiológico^{25,26}. Nas regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul, vêm sendo descritos novos perfis epidemiológicos, ocorrendo, em muitos casos, a transmissão domiciliar e/ou peridomiciliar, sendo facilmente observada a presença destes agravos em áreas metropolitanas^{17,21}.

A ECOEPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA NO BRASIL

A LVA tornou-se uma das doenças tropicais mais importantes da atualidade, devido a sua incidência e alta letalidade, sobretudo em indivíduos não tratados e

crianças desnutridas. Além disso, é considerada emergente em indivíduos portadores de infecção pelo vírus de imunodeficiência adquirida (HIV). Apresenta comprometimento do fígado, do baço, da medula óssea e dos tecidos linfóides podendo progredir para um quadro bastante grave e, se não tratada precocemente e de forma adequada, podendo evoluir para o óbito²¹.

O agente etiológico da LVA no Continente Americano é a *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*, cujo vetor principal é *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva 1912), espécie altamente adaptada ao ambiente urbano e que reúne fortes evidências quanto à sua competência vetorial^{27,28,29,30,31,32}.

No Brasil *L. (L.) longipalpis* já foi registrado nos seguintes estados: Alagoas, Bahia, Ceará, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Rondônia, Roraima, São Paulo e Tocantins. Investigações recentes desenvolvidas no Estado do Paraná registraram o encontro do vetor na área urbana do município de Foz do Iguaçu³⁴.

Uma situação diferenciada, com relação à transmissão da LVA, observa-se na região central do Brasil. Em 1998, foi sugerido que *Lutzomyia cruzi* estaria envolvido com a transmissão de LVA em Corumbá e Ladário (MS), por sua antropofilia, alta densidade e pela ausência de *L. (L.) longipalpis* nas áreas de transmissão³⁵. Em 2003, o mesmo grupo relatou o achado de infecção natural em *L. (L.) cruzi*³⁶. Posteriormente, em 2006, evidências apontaram a participação de *L. (L.) cruzi* na transmissão da LVA no município de Jaciara (MT)³⁷.

Recentemente, através de ensaios de PCR multiplex, foi possível detectar duas fêmeas de *Lutzomyia migonei* infectadas por *L. (L.) infantum* procedentes de área de transmissão de LVA, em Pernambuco, sendo a primeira constatação de infecção natural desta espécie, sugerindo que este poderia ser o vetor de *L. (L.) infantum* em áreas de LVA onde *L. (L.) longipalpis* esteja ausente³⁸. Além de evidências a cerca da participação de *L. migonei* na epidemiologia da LVA na Argentina³⁹ e de *Lutzomyia evansi* na Colômbia⁴⁰.

No ambiente silvestre, os reservatórios da LVA são as raposas (*Dusicyon vetuluse Cerdocyon thous*) e, possivelmente, os marsupiais (*Didelphis albiventris*); no Brasil já foram encontradas raposas infectadas no Nordeste, Sudeste e região Amazônica. Já na área urbana, o cão (*Canis familiaris*) é tido como principal fonte de infecção para os flebotomíneos^{21,27,32,41}.

Estudos realizados com o teste imunoenzimático ELISA, detectaram sangue de gambá em espécimes de *L. (L.) longipalpis* procedentes de Jequié (Bahia), Sobral e Massapê (Ceará), revelando a associação entre *L. (L.) longipalpis* e os gambás⁴². Este dado deve ser analisado com atenção, pois o gambá, *D. albiventris*, foi sugerido como possível reservatório de *L. (L.) infantum chagasi*, a partir de isolados obtidos em Jacobina (BA), 2 de 84 gambás estavam positivos, fato que para alguns autores seria aparentemente sem maior importância epidemiológica^{43,44}.

Outros estudos relataram a infecção natural de *Didelphis marsupialis*, por *Leishmania* spp., possivelmente *L. (L.) infantum chagasi*, discutindo o papel deste mamífero como potencial reservatório para a LVA^{45,46,47}.

Na América Latina, a LVA já foi descrita em 12 países, sendo que 90% dos casos ocorrem no Brasil, especialmente concentrados nas Regiões Nordeste e Centro-Oeste^{3,21}.

O primeiro relato de LVA no Brasil ocorreu em 1913, em Boa Esperança, Mato Grosso⁴⁸. Posteriormente no Nordeste, outros casos foram relatados⁴⁹. Em 1942 em uma excursão Pondé e colaboradores, a pedido do então superintendente interino do Serviço de Estudo das Grandes Endemias do Instituto Oswaldo Cruz, Dr. Carlos Chagas Filho, realizaram um inquérito epidemiológico no Estado do Ceará (Crato e Santanópolis), em Pernambuco (Exú) e na Bahia (Jacobina), onde registraram o encontro de *Flebotomus longipalpis* (= *L. (L.) longipalpis*) e casos humanos “positivos para leishmânia”, os autores relatam precárias condições de vida das populações, habitações de barro socado, chão de terra batida, raramente cobertas por telhas ou palhas⁵⁰.

No Brasil, até início da década de 50, apenas 379 casos de LVA foram notificados, distribuídos em 13 estados, e acreditava-se que a transmissão da LVA era exclusivamente rural ou silvestre⁵¹. Em 1950, em Sobral, foram registrados 177 casos humanos sendo 96% infectados na área rural e 4% na área urbana⁵². E, a partir de 1970, a urbanização da doença se intensificou especialmente nas periferias urbanas e nas chamadas zonas de transição de cidades de médio e grande porte⁵¹.

Inicialmente a LVA estava associada ao ambiente rural e periferia das grandes cidades, entretanto este perfil vem se modificando, em algumas regiões, onde a doença encontra-se urbanizada. Esse processo tem sido relacionado a modificações ambientais causadas por ações antrópicas, pelo rápido processo migratório, pela interação e mobilização de reservatórios silvestres e cães infectados para áreas sem transmissão, e pela adaptação do vetor *L. (L.) longipalpis* ao peridomicílio⁵³.

Segundo o Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (2006), podem ser definidos dois padrões epidemiológicos para a LVA: (1) padrão clássico, associado ao ambiente rural, periferia das grandes cidades, presença de baixo nível sócio-econômico e pobreza e (2) padrão recente, encontrado no ambiente urbano, em cidades de médio e grande porte, principalmente nas regiões Sudeste e Centro-Oeste. Neste contexto o Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV), para melhor desenvolver as ações preconizadas, classifica os municípios como áreas de transmissão esporádica, moderada ou intensa²¹.

Com a urbanização da LVA, de 1980 a 2008, o Brasil registrou 59.129 casos da doença, com uma média anual de 2.274 novos casos, sendo 82,5% (48.783) na região Nordeste. A doença gradualmente se espalhou para o Centro-Oeste, Norte e Sudeste, com aumento de 15% dos casos em 1998 para 44% em 2005⁵³(Figura 4).

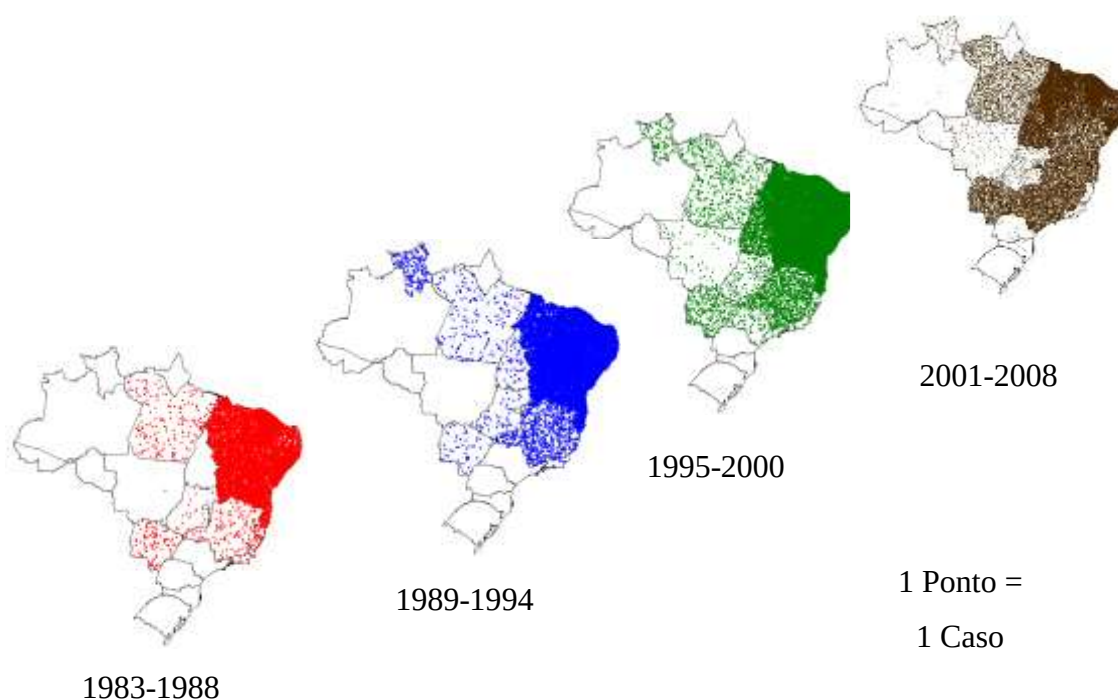


Figura 4. Casos de Leishmaniose Visceral Americana, por município de residência, no período de 1983 a 2008. Fonte: COVEV/DEVEP/SVS, Ministério da Saúde-Brasil.

Atualmente a maior incidência de LVA ainda encontra-se no Nordeste albergando aproximadamente 48% do total de casos do país, seguido pela região Sudeste, a região Norte, Centro-Oeste e, finalmente, a região Sul. Assim, a LVA está distribuída em 21 dos 26 estados do país^{32,37,54,55}.

Os dados epidemiológicos das últimas décadas apontam sua urbanização e periurbanização, destacando-se surtos em cidades como Santarém /PA, Corumbá/MS, Natal/RN, São Luiz/MA, Teresina/PI, Belo Horizonte/MG, Araçatuba/SP, Rio de

Janeiro/RJ, Fortaleza/CE, Camaçari/BA, Três Lagoas/MS, Campo Grande/MS com cerca de 1.600 municípios apresentando transmissão autóctone²¹.

Em 2008 foi registrado o primeiro caso autóctone de LVA humana, no município de São Borja, Rio Grande do Sul⁵⁹, e no ano seguinte, após as ações do Ministério da Saúde foram identificados 9 cães positivos para *L. (L.) infantumchagasi*, identificação de *L. (L.) longipalpis* e 5 novos casos humanos autóctones. Vale ressaltar que na região Sul, até o ano de 2008, não havia relatos de casos humanos ou caninos de LVA⁵⁶.

LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA NO ESTADO DO CEARÁ

Os estudos da LVA no Estado do Ceará muito contribuíram para a sua história da leishmaniose no Brasil.

No Ceará, os primeiros casos notificados de LVA datam da década de 30⁴⁹. Posteriormente, em 1942, foi realizado um inquérito epidemiológico (no Crato e Santanópole), com registro de *Flebotomus longipalpis* (= *L. (L.) longipalpis*), bem como o encontro de casos humanos⁵⁰.

Em 1953, com a ocorrência de surto na cidade de Sobral, onde mais de 100 pessoas faleceram em decorrência da LVA, a doença passou a apresentar importância epidemiológica⁵⁷. Estudos relataram o achado de “leptomonas”, consideradas *L. donovani* (= *L. (L.) infantumchagasi*), em espécimes de *L. (L.) longipalpis*⁵². Deane²⁷ descreveu raposas infectadas com amastigotas, além da forte atração que exerciam sobre os flebotomíneos, que se tornavam infectados, sugerindo estes mamíferos como reservatórios primários na LVA. Também, foi demonstrado que *L. (L.) longipalpis* picava avidamente cães. Através de xenodiagnóstico, observou que cerca de 30% dos flebotomíneos se infectaram, aspecto relevante para sugerir o cão como importante fonte de infecção para o vetor no ambiente domiciliar. Posteriormente, outras investigações discutiram o papel de cães na epidemiologia da LVA^{58,59,60,61,62}.

No Brasil, a região Nordeste ainda apresenta maior representatividade de casos de LVA, com destaque para os Estados do Ceará e Piauí, apresentando-se na forma endêmica no Estado do Ceará, estado que contém alguns municípios prioritários⁶³.

No período de 2007 a 2012 foram confirmados 3.099 casos, e 162 óbitos, sendo os municípios com maior incidência: Fortaleza, Sobral, Caucaia, Maracanaú, Juazeiro do Norte e Barbalha. A cidade de Fortaleza é a única classificada como área de transmissão intensa alta, tendo sido notificados 1.184 casos e 63 óbitos, no período de 2007 a 2012⁶⁴ (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Casos de Leishmaniose Visceral Americana no Estado do Ceará, no período de 2007 a 2012, com destaque para os municípios com maior número de casos.

Município de Residência	2007	2008	2009	2010	2011	2012	Total
Fortaleza	203	199	245	245	258	34	1.184
Sobral	25	41	40	41	62	9	218
Caucaia	28	26	44	31	43	6	178
Maracanaú	15	14	37	32	21	7	126
Juazeiro do Norte	33	19	25	16	8	3	104
Barbalha	22	21	18	11	4	0	76
Total/CE	551	556	681	540	656	115	3.099

Fonte: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/tabnet?sinannet/leishvi/bases/leishvbnet.def>

Tabela 2. Óbitos por Leishmaniose Visceral Americana no Estado do Ceará, no período de 2007 a 2012, com destaque para os municípios com maior número de casos.

Município de Residência	2007	2008	2009	2010	2011	2012	Total
Fortaleza	11	13	10	6	21	2	63
Caucaia	1	1	5	3	4	0	14
Sobral	1	3	1	2	4	0	11
Juazeiro do Norte	1	1	3	1	0	1	7
Maracanaú	0	0	1	4	2	0	7
Total/CE	22	31	30	22	49	8	162

Fonte: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/tabnet?sinannet/leishvi/bases/leishvbnet.def> ,

LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

A LVA surgiu no Município do Rio de Janeiro no final da década de 70, na área periurbana da zona oeste da cidade, na encosta continental do Maciço da Pedra Branca, como primeiro registro de *L. (L.) longipalpis* no litoral sul do estado^{65,66}. Com a expansão dos casos nos bairros do município (Bangu, Realengo e Campo Grande), constatou-se a presença de *L. (L.) longipalpis*, com maiores registros nas encostas continentais do Maciço da Pedra Branca, onde eram comuns os casos da doença^{67,68}.

No período de 2007 a 2012, foram registrados 17 casos e 3 óbitos⁶⁴ (Tabelas 3 e 4). De 2007 ao início de 2013, segundo a Secretaria de Vigilância em Saúde do Estado do Rio de Janeiro, foram notificados 25 casos humanos, sendo os casos de 2013 residentes dos municípios do Rio de Janeiro e Volta Redonda, município onde recentemente foi diagnosticada transmissão⁶⁹.

No Estado do Rio de Janeiro, a maioria dos casos de LVA se concentra no município do Rio de Janeiro⁶⁴ (Tabela 3), no Maciço da Pedra Branca e no Maciço do Gericinó, nos bairros Bangu, Senador Camará, Realengo, Campo Grande, Guaratiba, Barra de Guaratiba, Barra da Tijuca, Grumari, Vargem Grande, Camorim, Curicica, Taquara e Gericinó. Somente um caso foi registrado distante dos entornos dos dois maciços, ocorrido em 1997, no bairro de Santa Cruz⁷⁰.

Lutzomyia (L.) longipalpis foi registrada em baixa densidade em vários estudos, em áreas rurais ou periurbanas^{71,72,73,74,75,76}, sendo seu encontro registrado em⁷⁷: Bangu-RJ, Campo Grande-RJ, Ilha Grande, Itaguaí, Jacarepaguá-RJ, Mesquita-RJ, Paraty, Posse, Rio Bonito, Saquarema, Vargem Grande-RJ e, recentemente, em área urbana do Rio de Janeiro (Caju)⁷⁸.

Alguns estudos demonstram a importância de se estudar a LVA na área urbana do Rio de Janeiro, recentemente, a Secretaria de Saúde do Rio de Janeiro publicou um alerta devido ao número elevado de casos caninos de LVA detectado em 2011 em vários municípios (Mangaratiba, Maricá, Niterói, Rio de Janeiro e Volta Redonda). O registro de 25 casos caninos no Rio de Janeiro, no bairro do Caju, o encontro de *L. (L.) longipalpis*, e a suspeita de um caso humano confirmam o primeiro foco urbano com transmissão canina da cidade^{69,78}.

Tabela 3. Casos de Leishmaniose Visceral Americana no Estado do Rio de Janeiro, no período de 2007 a 2012.

Município de Residência	2007	2009	2010	2011	2012	Total
Rio de Janeiro	2	3	1	3	0	9
Barra Mansa	0	0	0	1	1	2
Belford Roxo	0	0	1	0	0	1
Guapimirim	0	1	0	0	0	1
Miracema	1	0	0	0	0	1
Volta Redonda	0	0	0	1	0	1
Total	3	4	2	5	1	15

Fonte: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/tabnet?sinannet/leishvi/bases/leishvbrnet.def>

Tabela 4. Óbitos por Leishmaniose Visceral Americana no Estado do Rio de Janeiro, no período de 2007 a 2012.

Município de Residência	2009	2011	2012	Total
Barra Mansa	0	1	1	2
Rio de Janeiro	1	0	0	1
Total	1	1	1	3

Fonte: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/tabnet?sinannet/leishvi/bases/leishvbrnet.def>

LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA NO ESTADO DO TOCANTINS

O Estado de Tocantins vêm se destacando em relação aos elevados números de casos de LVA, em virtude das constantes alterações ambientais relacionadas às atividades agropecuárias e, especialmente, a construção de usinas hidroelétricas.

Por apresentar uma posição geográfica favorável, devido sua extensão territorial e aporte fluvial, tem recebido investimentos para implantação de usinas hidroelétricas e pequenas centrais^{79,80}. Atualmente, o estado possui sete usinas em funcionamento: Usina Hidrelétrica de Ipueiras (Ipueiras e Brejinho de Nazaré), Usina Hidrelétrica de Isamu Ikeda (Ponte Alta do Tocantins e Monte do Carmo), Usina Hidrelétrica de São Salvador (São Salvador do Tocantins), Usina Hidrelétrica Peixe Angical (Peixe e São Salvador), Usina Hidrelétrica Tupiratins (Itapiratins e Palmeirante), Usina Hidrelétrica Luis Eduardo Magalhães (Lajeado e Miracema de Tocantins) e Usina Hidrelétrica Estreito (Estreito, Arguanópolis e Palmeiras do Tocantins) (Figura 5).

De acordo com a metodologia preconizada para a estratificação dos municípios brasileiros para LVA²¹, em 2011, dezesseis municípios tocantinenses foram classificados como áreas de transmissão intensa: Ananás, Araguacema, Araguaatins, Araguaína, Augustinópolis, Buriti do Tocantins, Carmolândia, Colinas do Tocantins, Colméia, Filadélfia, Miracema do Tocantins, Palmas, Paraíso do Tocantins, Porto Nacional, Santa Fé do Araguaia, Wanderlândia⁸¹; sendo Araguaína, segundo o Ministério da Saúde, em 2007, 2008 e 2012 o município com maior número de casos humanos de LVA do Brasil⁶⁴.

O Estado de Tocantins, no período de 2007 a 2012, registrou 2.407 casos humanos de LVA, desses notificados 1.389 no município de Araguaína e 294 na capital Palmas, no mesmo período ocorreram 111 óbitos, 70 em Araguaína e 22 em Palmas, estes dados mostram claramente a contribuição epidemiológica de Araguaína e a capital Palmas para a LVA no estado⁶⁴ (Tabelas 5 e 6).

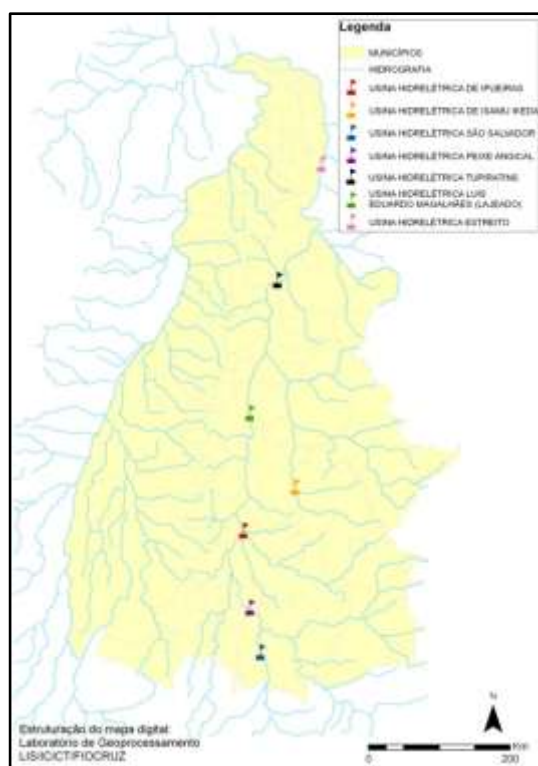


Figura 5. Usinas Hidrelétricas no Estado do Tocantins, Brasil. Estruturação do mapa digital: Laboratório e Geoprocessamento LIS/ICIT/FIOCRUZ.

Andrade-Filho e colaboradores registraram o primeiro encontro de *L. (L.) longipalpis* nos municípios de Paraíso de Tocantins, Monte do Carmo, Porto Nacional e Monte Santo⁸². Estudos posteriores demonstraram sua presença em Porto Nacional⁸³, e na área rural de Taquaruçu, no município de Palmas⁸⁴, Araguaína e Tocantinópolis⁸³.

A construção da Usina Hidrelétrica Luis Eduardo Magalhães (UHE Lajeado) gerou impactos no município de Porto Nacional, resultando alterações na ecologia local, o que pode ter favorecido o aumento de casos de LVA na região, observado a partir de do enchimento do lago (2001-2002), bem como a epidemia ocorrida em Palmas⁸³.

Estudos dos municípios de Araguaína e Tocantinópolis trouxeram importantes contribuições para o estudo eco-epidemiológico das leishmanioses em Tocantins. Em Araguaína, um dos municípios escolhidos pelo Ministério da Saúde como prioritários para a execução de ações de vigilância de LVA foi registrado *L. (L.) longipalpis*, com maior distribuição na área periurbana e rural. E em Tocantinópolis, área de transmissão intensa para LVA, com a presença de cães positivos, *L. longipalpis* foi a espécie com maior registro (90%)²³.

Em áreas de influência da Usina Hidrelétrica Peixe Angical (UHE Peixe Angical), foi verificado que ao longo do período de construção da barragem da hidrelétrica, em área de reassentamento rural do município de São Salvador, *L. (L.) longipalpis* passou a frequentar o intradomicílio, onde anteriormente era encontrado em maior densidade nos abrigos de animais domésticos (peridomicílio)²³.

Tabela 5. Casos de Leishmaniose Visceral Americana no Estado de Tocantins, no período de 2007 a 2012, com destaque para os municípios com maior número de casos.

Município de Notificação	2007	2008	2009	2010	2011	2012	Total
Araguaína	287	337	234	157	287	87	1.389
Palmas	41	40	62	73	58	20	294
Porto Nacional	16	14	27	30	28	1	116
Araguatins	12	31	33	12	14	2	104
Augustinópolis	16	19	16	20	15	5	91
Paraíso do Tocantins	16	18	10	20	16	5	85
Total/TO	424	488	464	372	524	135	2.407

Fonte: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/tabnet?sinannet/leishvi/bases/leishvbmet.def>

Tabela 6. Óbitos por Leishmaniose Visceral Americana no Estado do Tocantins, no período de 2007 a 2012, com destaque para os municípios com maior número de casos.

Município de Notificação	2007	2008	2009	2010	2011	2012	Total
Araguaína	10	18	7	13	17	5	70
Palmas	5	3	2	7	3	2	22
Porto Nacional	0	1	0	4	0	1	6
Augustinópolis	1	0	0	1	2	0	4
Paraíso do Tocantins	0	0	0	1	1	1	3
Sítio Novo do Tocantins	0	1	1	0	0	0	2
Colinas do Tocantins	0	0	0	0	1	0	1
Cristalândia	0	1	0	0	0	0	1
Miracema do Tocantins	0	0	0	0	1	0	1
Tocantinópolis	0	0	0	1	0	0	1
Total/TO	16	24	10	27	25	9	111

Fonte: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/tabnet?sinannet/leishvi/bases/leishvbrnet.def>

IDENTIFICAÇÃO DA FONTE ALIMENTAR EM FLEBOTOMÍNEOS

O interesse na identificação das fontes alimentares de insetos hematófagos foi crescendo à medida que foram realizadas descobertas em relação ao envolvimento de insetos na transmissão de doenças. Estabelecer o padrão alimentar dos insetos hematófagos é de grande importância para o entendimento de sua biologia, além de possuir valor fundamental para a Saúde Pública, tornando-se uma informação importante para o delineamento de estratégias de controle de vários agravos transmitidos por esses invertebrados^{85,86,87}.

Através dos estudos de fonte alimentar, é possível conhecer o comportamento dos insetos hematófagos quando esses se encontram sob circunstâncias variadas, uma vez que já foi observado que tal comportamento pode se modificar segundo as alterações do meio e de acordo com a oferta alimentar existente^{87,88}.

O conhecimento da preferência alimentar dos flebotomíneos permite o emprego de medidas mais adequadas e eficazes para seu controle. Estudos sobre a biologia e o comportamento de flebotomíneos, são importantes não apenas para um melhor entendimento da história natural da doença^{6,89}, mas também apresentam grande importância nas investigações da relação hospedeiro-vetor e consequentemente na eco-epidemiologia das leishmanioses, conhecendo os hábitos alimentares dos flebotomíneos

pode-se ter indícios dos possíveis reservatórios que estariam atuando na manutenção do ciclo enzoótico, além de melhor avaliar o grau de antropofilia da espécie^{90,91,92,93,94,95}.

Para avaliar o padrão alimentar dos flebotomíneos, pode ser utilizado diversos métodos, imunológicos (Métodos de Precipitação, Imunoenzimáticos) ou não (cristalização da hemoglobina, corte histológicos, PCR)⁸⁷. As técnicas laboratoriais esclarecem os hábitos alimentares de flebotomíneos⁹⁶, contudo, metodologias que utilizam animais como iscas, possibilitam a obtenção de informações preliminares sobre os hábitos alimentares destes insetos⁸⁹.

A reação de precipitina trouxe inúmeras contribuições aos estudos de preferência alimentar em flebotomíneos, no Panamá⁹⁰, Colômbia⁹⁷, Peru⁹² e no Brasil: Amazônia⁹¹, Maranhão⁸⁹, Manaus⁹³, Rio de Janeiro⁹⁴ e São Paulo⁹⁸.

Mesmo conhecendo a especificidade da técnica de precipitina, passou-se a investir em novas tecnologias que apresentassem um maior grau de sensibilidade, desta forma, a técnica imunoenzimática (ELISA), começou a ser adaptada para o estudo de hábito alimentar em dípteros dada sua maior sensibilidade^{87,99}. Com importantes contribuições na Espanha¹⁰⁰, Maranhão¹⁰¹, Pará¹⁰² e no Nordeste brasileiro⁹⁵.

Embora as técnicas imunológicas sejam sensíveis e específicas, ainda assim possuem limitações. O advento da amplificação do DNA, pela reação da cadeia da polimerase (PCR), possibilitou o uso de uma nova ferramenta diagnóstica, para determinar a origem da fonte alimentar em flebotomíneos com maior precisão^{103,104,105,106,107}.

A técnica de PCR baseia-se na amplificação de genes ou ainda de pequenos fragmentos, que posteriormente serão amplificados e sequenciados. Entre os alvos escolhidos estão os genes de cópia única *PNO*C (prepronociceptin gene) e o citocromo b (cyt b) mitocondrial, devido a sua utilização em estudos filogenéticos, em diferentes espécies de mamíferos, tornando-se bons alvos para o estudo da origem do conteúdo alimentar de insetos hematófagos¹⁰³.

Muitos estudos utilizaram o cyt b para detecção de hábito alimentar de vários vetores^{108,109}. Entre as vantagens deste marcador, está sua localização no genoma mitocondrial (que não sofre recombinação) e a disponibilidade de sequências completas no *genbank*, permitindo uma comparação extensa entre as espécies¹¹⁰.

Recentemente estudos como *Phebotomus perniciosus*, procedente de um foco de leishmanioses no sudoeste de Madrid (Espanha), identificaram através de técnicas moleculares, usando cyt b e kDNA, seis exemplares alimentados em lebre e gato, sendo dois deles positivos para *L. infantum* (= *L. (L.) infantum chagasi*), além de um exemplar

contendo ovos alimentado em sangue humano, os resultados obtidos somado ao não encontro de fêmeas alimentadas em cães (reservatórios domésticos) reforçam a ideia de que existe um ciclo de transmissão silvestre ligado a periferia da cidade, independente dos cães¹¹¹.

PESQUISA DE INFECÇÃO NATURAL POR *Leishmaniaspp.* EM FLEBOTOMÍNEOS

A grande diversidade de parasitas e vetores são um dos fatores que dificultam o controle das leishmanioses. A taxa de flebótomos naturalmente infectados nas áreas endêmicas, assim como a identificação correta da espécie de *Leishmanias* são de grande importância para a epidemiologia das leishmanioses.

O índice de infecção em flebotomíneos na natureza, por *L. (L.) infantumchagasi* ainda é uma questão pouco estudada, especialmente em áreas endêmicas de transmissão de LVA. A metodologia clássica, até então empregada, consiste na procura direta do parasito por microscopia, através da dissecação do aparelho digestivo, seguido de análise microscópica, isolamento e cultura de parasitos^{112,113,114}, o que se torna em alguns casos muito trabalhosa e inviável, visto a quantidade de material a ser analisado, tempo e treinamento específico para este processo, tornando a técnica imprecisa e nem sempre permitindo o isolamento e a correta identificação do parasito.

Métodos moleculares, baseados na *PCR*, amplificando alvos específicos do parasito, têm sido aplicados com sucesso na detecção e identificação das leishmânias^{115,116,117} até mesmo em áreas de baixos níveis de infecção^{118,119}. A sensibilidade da *PCR* para detecção de leishmânias independe do número, estágio celular e localização do parasito no trato digestivo, aumentando assim a sensibilidade da técnica quando comparada às ferramentas tradicionais¹²⁰.

Ensaios diagnósticos utilizando a *PCR* têm sido desenvolvidos, baseados em diferentes alvos moleculares como: minicírculos do kDNA, genes da subunidade menor do ribossomo, sequências espaçadoras do gene de mini-exon, sequências subteloméricas e sequências nucleares de cópia única, como o gene de *cyt b* e gene da DNA polimerase α ¹²¹.

De Pita-Pereira e colaboradores descreveram um ensaio molecular direcionado para a detecção da região conservada do kDNA gênero *Leishmania*, seguido de hibridização não radioativa. Este passo posterior mostrou-se importante para o aumento da sensibilidade do ensaio, principalmente quando aplicado como ferramenta diagnóstica em insetos vetores, devido à complexidade do material biológico a ser

analisado. Com esta abordagem foi verificado que a etapa de hibridização de produtos amplificados possibilitou um aumento de dez vezes na sensibilidade de detecção do método¹¹⁶.

Recentemente, com a evolução da técnica da *PCR*, pode-se combinar a procura do DNA do parasito com a quantificação em tempo real do número de parasitos presentes em cada flebotomíneo. Esta nova técnica chamada de “Quantificação da PCR em Tempo Real” ou QRT_PCR (*Quantitative Real Time PCR*) permite amplificar o gene da polimerase de copia única presente em *L. (L.) infantumchagasi*¹²².

ANÁLISE ESPACIAL E A EXPANSÃO DA LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA

O modelo unicausal de compreensão da doença esteve baseado na existência de apenas uma causa para um agravo ou doença. Essa concepção, ao passo que permitiu o sucesso na prevenção de diversas doenças, termina por reduzi-las a um único agente específico (Figura 6). Proposto por Lealvell e Clark¹²³, o modelo multicausal (Figura 7), considera a interação, o relacionamento e o condicionamento de três elementos fundamentais da chamada “tríade ecológica”: o ambiente, o agente e o hospedeiro. A doença seria resultante de um desequilíbrio nas auto-regulações existentes no sistema, a análise dos diferentes fatores relacionados ao surgimento de uma doença, a utilização da estatística nos métodos de investigação e desenhos metodológicos permitiram significativos avanços na prevenção de doenças¹²⁴. O modelo teórico que explica a relação homem-ambiente do ponto de vista epidemiológico é o ecológico, tendo como pano de fundo a ideia da multicausalidade dos fenômenos aliada ao processo saúde-doença, em que a tríade ecológica agente-hospedeiro-ambiente se insere na biologia humana, no ambiente, em estilos de vida e nos sistemas de serviços de saúde¹²⁵.

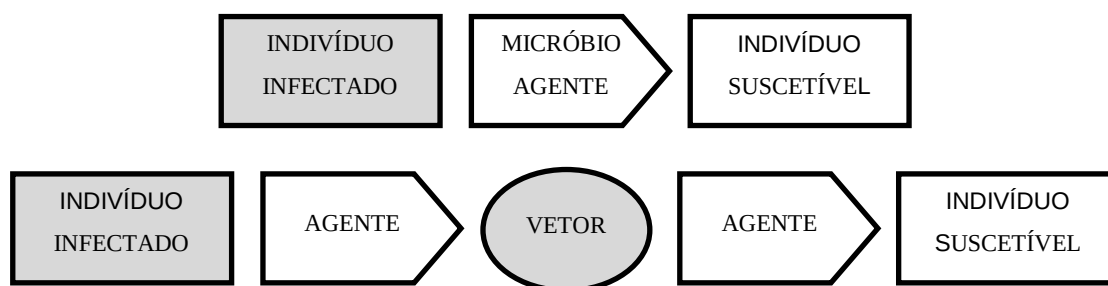


Figura 6. Modelo unicausal (Fonte: Batistella 2007a).

Barcellos¹²⁶ define a doença como manifestação do indivíduo e a situação de saúde a manifestação do lugar, pois os lugares e seus diversos contextos sociais, dentro de uma cidade ou região, são resultado de uma acumulação de situações históricas, ambientais, sociais, que promovem condições particulares para a produção de doenças¹²⁷.

O modelo de determinação social da saúde/doença procura articular as diferentes dimensões da vida envolvidas nesse processo, assim, são considerados os aspectos históricos, econômicos, sociais, culturais, biológicos, ambientais e psicológicos que configuram uma determinada realidade sanitária¹²⁴, este conceito pode ser agregado a ecoepidemiologia das leishmanioses, uma vez que, trata-se de uma enfermidade onde

principalmente os aspectos sociais, econômicos, ambientais e biológicos irão influenciar no desenvolvimento da doença.

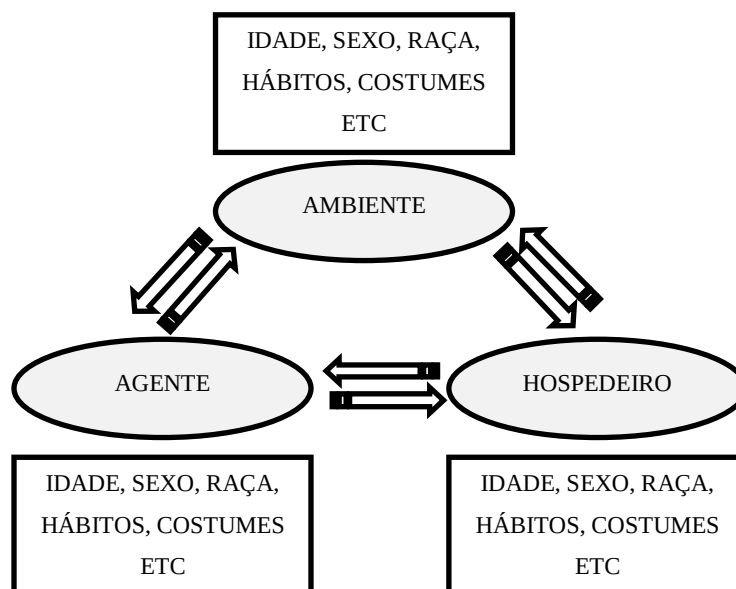


Figura 7. Modelo multicausal: a tríade ecológica (Fonte: Batistella 207a (adaptado de Leavell& Clarck 1976)).

Ao desenvolvimento tem sido atribuída historicamente a tarefa de melhorar a qualidade de vida da população. No Brasil, tem sido observado um aumento da incidência das doenças infecciosas, ligadas diretamente as precárias condições de vida, e cuja disseminação está relacionada com a degradação ambiental, permitindo maior circulação dos parasitas¹²⁸.

Segundo dados da Síntese de Indicadores da PNAD/IBGE de 2005¹²⁹, 82,8% da população reside em áreas urbanas, o avanço da industrialização acentuou o processo de urbanização e de desenvolvimento das metrópoles brasileiras até os anos 80. Entretanto, nas últimas décadas, as taxas de crescimento das sedes metropolitanas e regionais vêm decaindo, enquanto ocorre um crescimento mais elevado de suas áreas de entorno, intensificando o processo de periferização¹²⁴. Fato que pode ser observado nas grandes cidades brasileiras, onde a LVA tem apresentado mudanças importantes no padrão de transmissão, como resultado gradativo da modificação do meio ambiente, particularmente associadas aos processos de urbanização desordenada^{21,41,53}.

As alterações antrópicas, vêm ocasionando mudanças e degradação dos ecossistemas. As mais impactantes são as ações relacionadas ao desenvolvimento e intensificação da agricultura, a industrialização, o aumento do consumo energético e a urbanização, fatores que elevam as taxas de desmatamento.

Processos contínuos de desmatamentos, queimadas, exploração de madeira, implantação de projetos agrícolas, instalação de garimpos, assentamentos rurais, construções de barragens e hidroelétricas, somado ao fluxo migratório, na busca de melhoria da condição social, são exemplos que têm proporcionado o aumento de pessoas expostas e/ou infectadas, além da criação de condições para o surgimento de surtos epidêmicos, que podem ser agravados em situações de pobreza^{23,24}.

Na década de 30, as doenças transmissíveis eram a principal causa de morte no país, respondendo a mais de um terço dos óbitos registrados. Esse quadro se alterou significativamente mediante as melhorias sanitárias, o desenvolvimento de novas tecnologias (vacinas, antibióticos, recursos diagnóstico), a ampliação do acesso aos serviços de saúde e a adoção de medidas de controle específicas¹³⁰, e expressiva redução na mortalidade, embora as doenças infecciosas e parasitárias continuem a produzir um impacto importante no quadro de adoecimento no país, constituindo-se na terceira maior causa de morte em crianças com menos de 1 ano e de 1 a 4 anos de idade¹²⁴. Evidência que pode ser aplicada no Brasil, onde no período de 2007 a 2012, 28,77% dos casos humanos de LVA ocorrem na faixa etária de 01 a 04 anos e 25,62% dos óbitos na faixa de 0 a 4 anos⁶⁴ (Tabelas 7 e 8).

Neste modelo, alterações antrópicas, como o desmatamento, alteram condições naturais e habitats de algumas espécies de mamíferos silvestres, hospedeiros do parasito, que passa a frequentar áreas habitadas pela população humana, principalmente as áreas peridomiciliares, possibilitando, assim, que os flebotomíneos vetores, dotados de plasticidade alimentar, tornem-se aptos a transmitir o parasito para humanos e outros mamíferos domésticos^{12,22,32,57}. No ambiente peridomiciliar os flebotomíneos encontram condições adequadas para o seu desenvolvimento, criadouro e fonte alimentar, e passam a se adaptar aos ambientes antrópicos estabelecendo um ciclo de transmissão peridomiciliar.

Segundo Oliveira-Filho & Medeiros¹³¹, os desmatamentos são considerados ações de primeira ordem, que irão desencadear processos de degradação no ambiente, com desdobramentos múltiplos, tendo como uma das consequências iniciais as mudanças climáticas e, como uma das consequências finais e irremediáveis, a perda da biodiversidade e o aumento na incidência de doenças (Figura 8).

As mudanças climáticas podem influenciar a ecoepidemiologia das leishmanioses de três formas: (1) diretamente, no desenvolvimento do parasito e competência vetorial dos flebotomíneos, (2) indiretamente, na distribuição e abundância

dos flebotomíneos, (3) indiretamente, através de mudanças socioeconômicas que interferiram no contato do homem com os ciclos de transmissão¹³².

Segundo Confalonieri¹³³, as transformações ambientais induzidas pelo clima afetam determinantes da saúde humana; levando ao aumento de população de vetores de agentes infecciosas e consequentemente aumentando o risco destas doenças. Esses efeitos são modulados por meio tanto de fatores naturais (características ambientais) como fatores sociais, tais como a eficiência do sistema de saúde e de ações institucionais (Figura 9).

Aplicando-se o conhecimento dos efeitos diretos e indiretos do clima sobre a saúde, temos uma condição de maior complexidade associada aos mecanismos “sócio-ambientais”, gerando um efeito importante de fluxos migratórios, geralmente no sentido rural-urbano, capazes de redistribuir espacialmente as doenças infecciosas. Como exemplo temos a LVA, em capitais nordestinas, no início das décadas de 80 e 90, quando a região foi afetada por secas prolongadas, os fluxos migratórios de pessoas infectadas vindas das zonas rurais endêmicas resultaram na instalação de ciclos peri-urbanos de transmissão da doença¹³⁴.

Tabela 7. Casos humanos de Leishmaniose Visceral Americana no Brasil, por faixa etária, no período de 2007 a 2012.

Faixa Etária	2007	2008	2009	2010	2011	2012	Total	%
<1 ano	306	433	347	325	366	87	1.864	9,16
01-04	1.085	1.227	1.088	1.031	1.82	238	5.851	28,77
05-09	439	461	451	343	433	75	2.202	10,83
10-14	207	211	210	199	207	43	1.077	5,29
15-19	189	189	213	183	211	39	1.024	5,03
20-39	742	770	798	830	926	219	4.285	21,07
40-59	412	495	574	551	645	157	2.834	13,93
60-64	60	70	71	91	83	27	402	1,98
65-69	51	40	48	54	78	22	293	1,44
70-79	50	67	68	64	97	24	370	1,82
80 e +	21	23	21	26	31	16	138	0,68
Total	3.562	3.986	3.889	3.697	4.259	947	20.340	100,00

Fonte: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/tabnet?sinannet/leishvi/bases/leishvbnet.def>

Segundo a Secretaria e Vigilância em Saúde, a situação das doenças transmissíveis no Brasil apresenta um quadro complexo, que pode ser classificado em: doenças transmissíveis com tendência descendente, doenças transmissíveis com quadro de persistência e doenças transmissíveis emergentes e reemergentes¹³⁰.

Neste contexto, a LVA tem apresentado um quadro de persistência, tornando necessário o fortalecimento de novas estratégias, uma vez que, grande parte das razões para a sua endemicidade reside em processos externos ao setor da saúde, tais como: urbanização desordenada, ausência de infra-estrutura urbana, alterações ambientais, desmatamentos, ampliações das fronteiras agrícolas, grandes obras e processos migratórios, o grande fluxo de pessoas e mercadorias no mundo globalizado aponta para a sua disseminação¹²⁴. Além do quadro emergente, em indivíduos portadores de infecção pelo vírus do HIV²¹.

Assim, o entendimento da transmissão da LVA se faz necessário, buscando compreender a complexa dinâmica que caracteriza o território, reconhecendo os objetos (fixos) e as ações (fluxos) do espaço, além de suas especificidades e vulnerabilidades¹³⁵.

Tabela 8. Óbitos por Leishmaniose Visceral Americana no Brasil, por faixa etária, no período de 2007 a 2012.

Faixa Etária	2007	2008	2009	2010	2011	2012	Total	%
<1 Ano	29	37	22	26	34	13	161	13,32
01-04	24	32	33	29	29	4	151	12,49
05-09	4	4	7	8	9	1	33	2,73
10-14	4	3	8	3	11	1	30	2,48
15-19	10	8	6	6	8	3	41	3,39
20-39	35	33	51	51	69	12	251	20,76
40-59	52	60	60	62	56	13	303	25,06
60-64	7	9	16	16	12	3	63	5,21
65-69	6	5	9	6	12	1	39	3,23
70-79	13	19	15	18	25	2	92	7,61
80 e +	8	9	8	8	7	5	45	3,72
Total	192	219	235	233	272	58	1209	100,00

Fonte: http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/tabnet?sinannet/leishvi/bases/leishvb_rnet.def

Em relação aos futuros impactos das mudanças climáticas na saúde, espera-se em todo o mundo, que estes fenômenos venham significar um agravante às situações-problema já existentes, podendo aumentar sua intensidade (por exemplo, frequência da ocorrência ou número de pessoas afetadas), gravidade, duração ou ampliar sua distribuição no espaço geográfico. Desta forma, espera-se para o Brasil impactos adicionais em relação a doenças infecciosas endêmicas (malária, leishmanioses, leptospirose e dengue)¹³⁶.

As doenças transmitidas por vetores podem sofrer influência das mudanças climáticas através de alterações na distribuição, densidade populacional, sazonalidade, prevalência da infecção, carga parasitária ou até mesmo a adaptação de novas espécies de vetores e hospedeiros. A ocorrência dessas alterações afeta a dinâmica da transmissão dos parasitos, aumentando as chances do seu contato com o homem.

As doenças transmitidas por vetores, mais frequentes nos países de clima tropical, aparecem como um dos principais problemas de Saúde Pública que podem decorrer do aquecimento global. O contexto de mudanças climáticas e ambientais globais, em que as incertezas sobre a natureza de seu impacto na escala dos ecossistemas locais se somam às complexidades das novas realidades de um Brasil urbano, sugere novas questões no enfrentamento do velho problema das doenças transmissíveis no contexto da Saúde Pública. A sinergia existente entre os processos sociais e os ecossistemas sobre os quais eles se desenvolvem, associada à persistência de condições inadequadas de vida, tem possibilitado a proliferação de doenças endêmicas em novos contextos, como exemplo a LVA ocorrendo em grandes cidades brasileiras com características particulares¹³⁷.

Em relação ao ambiente, na utilização de conceitos teóricos sobre uma abordagem ecossistêmica das doenças e também conceitos como o de “saúde de ecossistemas”¹³⁴, se faz necessário incorporar teorias e metodologias oriundas da ecologia. Assim, para um planejamento metodológico, nesse tipo de abordagem, dois elementos são fundamentais: os que medem a homeostase (capacidade de ajuste a perturbações, mantendo a integridade do ecossistema) dos sistemas ecológicos; os que indicam/apontam a evolução do sistema em questão. Considera-se um "ecossistema saudável" quando são mantidas sua estrutura e função através do tempo, em face as perturbações externas. Vidas humanas saudáveis não podem ser separadas de um ambiente, e quando o ecossistema é alterado, também se alteram as condições de saúde humana¹³⁸.

O atual modelo de desenvolvimento brasileiro tem-se caracterizado por ausência de políticas que levem em consideração a condições em que vive a população e que promovam a organização do espaço social¹³⁹. Desta forma, o que tem ocorrido é a ocupação de novas áreas e a invasão do ambiente natural de forma desordenada, promovendo mudanças que levam ao desequilíbrio ecológico, expondo as populações ao risco de contrair infecções por microrganismos que circulam nos seus focos naturais¹⁴⁰.

Sistemas ecológicos onde se encontram estabelecidos focos naturais de doenças infecciosas quando sob forte pressão antrópica se tornam um risco para a saúde humana. Por isso, um dos principais indicadores de ocorrência de patologia de um ecossistema é a elevada prevalência de doenças infecciosas¹³⁷.

Ao correlacionar propriedades dos ecossistemas com surtos e epidemias, é possível identificar pontos de risco e realizar a previsibilidade de surtos de leishmanioses e seu controle. No caso da LVA, um sistema ecológico saudável estaria relacionado com as inter-relações entre os vetores, parasita e reservatórios num ambiente silvestre. Neste contexto, avaliar os elos da cadeia epidemiológica da LVA em associação com a pressão antrópica permite entender o processo de evolução do sistema ecológico.

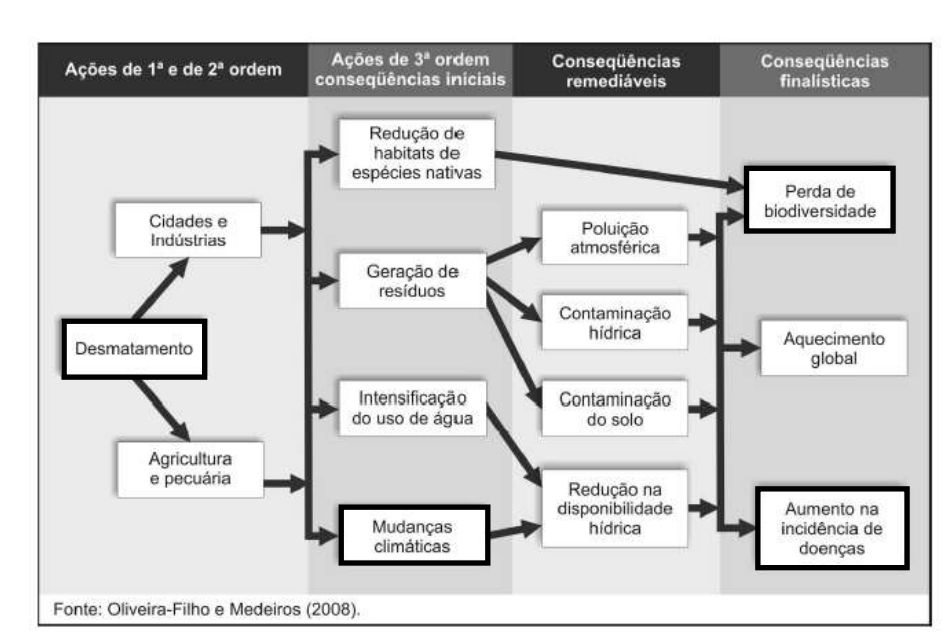


Figura 8. Atividades iniciais de ocupação e evolução dos processos que desencadeiam a degradação do ambiente.

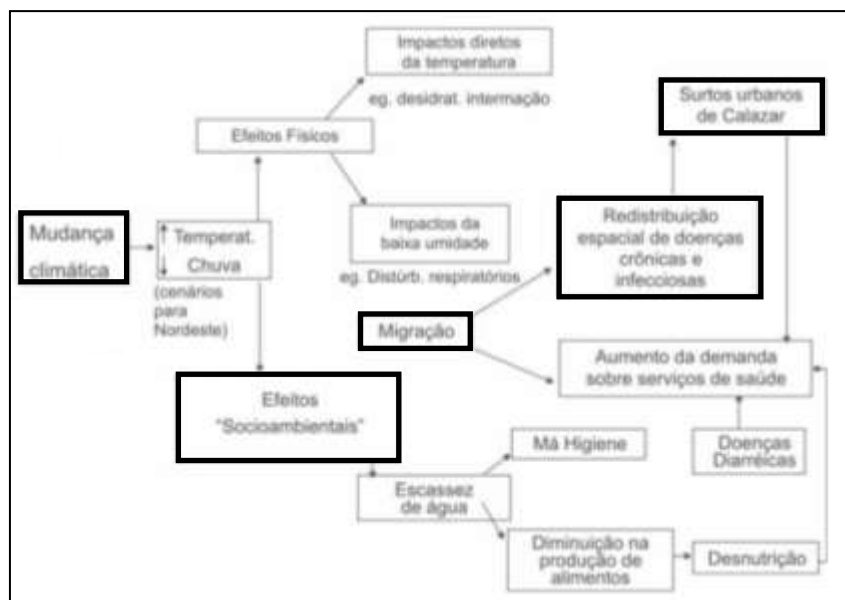


Figura 9. Impactos do processo climático - econômico - demográfico (Fonte: Confalonieri 2008).

Geoprocessamento é o conjunto de tecnologias de coleta, tratamento e desenvolvimento de informações espaciais, que têm por objetivo a localização, delimitação, qualificação, quantificação e monitoramento da evolução dos fenômenos ambientais. Desta forma, o geoprocessamento se torna uma ferramenta de ampla aplicabilidade no campo das ciências ambientais pela sua capacidade de análise de diversas variáveis, assim como pelo acompanhamento espaço-temporal de fenômenos ambientais¹⁴¹.

Uma das técnicas de geoprocessamento, os Sistemas de Informação Geográfica (SIG), são sistemas computacionais, usados para o entendimento dos fatos e fenômenos que ocorrem no espaço geográfico. Permitem integrar em uma só base de dados e informações espaciais originadas por várias fontes: mapas, pesquisas, cadastro, imagens de satélite, entre outras, oferecendo mecanismos para manipulação e análise, permitindo realizar consultas recuperar informações, visualizar e imprimir a base de dados georreferenciada¹⁴².

As informações nos SIG são armazenadas em níveis de informações (ou camadas) de acordo com os dados disponíveis e do objetivo do estudo, viabilizando a realização de análises espaciais complexas, através de rápida formação e alteração de cenários, propiciando aos administradores em geral, subsídios para o planejamento e tomada de decisões. Uma vantagem dos SIG é a possibilidade de manipulação tanto de dados gráficos quanto à de dados não-gráficos de maneira integrada, promovendo análises e consultas com dados espaciais.

Os mapas são alguns dos resultados esperados do SIG, assim os mapas de saúde, permitem localizar grupos populacionais segundo suas vulnerabilidades, contribuindo na orientação de medidas preventivas. Na área da Saúde, o SIG tem viabilizado estudos sobre: análise da distribuição de pacientes, variações na ocorrência de epidemias, monitoramento de vetores e avaliação em tempo real de situações de emergência ou catastrófica¹⁴¹.

A categoria espaço tem valor intrínseco na análise das relações entre saúde e ambiente e no seu controle. Conhecer a dinâmica espacial permite a caracterização da situação em que ocorrem eventos de saúde. Neste sentido que as técnicas da Geomática oferecem instrumentos de análise de situações concretas das populações em risco, planejamento de ações, alocação de recursos e preparação de ações de emergência¹⁴².

O conhecimento da distribuição da vegetação pode influenciar nas populações de vetores transmissores de doenças, e pode ser utilizado para prever sua distribuição e abundância¹⁴³. Na escala regional e na escala local, os modelos espaciais e temporais das distribuições das populações de flebotomíneos são influenciados pela umidade, temperatura, luminosidade e elevação⁶, analisando a vegetação, indiretamente estes fatores são analisados¹³⁸.

Ferramentas de SIG nos últimos anos têm possibilitado valiosa contribuição no controle e predição de doenças transmitidas por vetores especialmente malária, dengue, leishmanioses e doença de Lyme, além de avaliar a influência de fatores ambientais que podem estar associados com os habitats dos vetores, hospedeiros e o risco de transmissão para os humanos¹⁴⁴.

Estudos dessa natureza objetivam caracterizar e monitorar os perfis espaciais e temporais e consequentemente identificar padrões epidemiológicos, através do detalhamento da relação dessas doenças com o espaço onde elas se reproduzem, traduzindo em informações que podem ser ferramentas de grande valor quando se estabelecer à implantação de medidas de controle.

RELEVÂNCIA

As leishmanioses, como doenças negligenciadas, não só prevalecem em condições de pobreza, mas também contribuem para a manutenção do quadro de desigualdade; vem apresentando um cenário de ampliação do espaço geográfico, relacionado a diversos condicionantes ambientais, históricos e sociopolíticos, onde as relações entre os componentes da cadeia de transmissão num contexto urbano apresentam maior complexidade.

O impacto das alterações climáticas globais e ambientais vem alterando a ecoepidemiologia das leishmanioses, em especial a ecologia de algumas espécies de reservatórios e flebotomíneos vetores, e como consequência alterações no seu padrão epidemiológico.

Ao correlacionar propriedades dos ecossistemas com surtos e epidemias, é possível identificar pontos de risco e realizar a previsibilidade da LVA e seu controle. No caso da LVA, um sistema ecológico saudável estaria relacionado com as inter-relações entre os vetores, parasita e reservatórios num ambiente silvestre. Neste contexto, avaliar os elos da cadeia epidemiológica da LVA em associação com a pressão antrópica permite entender o processo de evolução do sistema ecológico.

Neste cenário, ações antrópicas, como o desmatamento, modificam o habitat natural de algumas espécies de mamíferos silvestres, hospedeiros do parasito, que passam a frequentar áreas habitadas pelo homem, principalmente as peridomiciliares, possibilitando que os flebotomíneos vetores, dotados de plasticidade alimentar, tornem-se aptos a transmitir o parasito para humanos e outros mamíferos domésticos em novos ambientes.

A avaliação dos hábitos alimentares de insetos de interesse médico fornece informações relevantes nos estudos das relações parasito-hospedeiro-vetor. Em se tratando de flebotomíneos, agrega informações ao conhecimento da ecoepidemiologia das leishmanioses, permitindo a obtenção de evidências sobre potenciais reservatórios, que estariam atuando na manutenção dos ciclos de transmissão em variados ambientes, bem como avaliar o grau de antropofilia de vetores, em diferentes ambientes. O exato conhecimento sobre o índice de infecção natural, por *L. (L.) infantum chagasi*, em *L. (L.) longipalpis* em associação com fontes alimentares do vetor, ainda é uma questão pouco estudada.

Face à expansão e urbanização da LVA, no Brasil, aliado ao elevado índice de letalidade, há que se trabalhar em prováveis fatores determinantes que permitam discutir os diferentes cenários em escala ambiental e biológica, produzindo conhecimentos que

podem trazer evidências não apenas para uma melhor compreensão do processo de espacialização da doença, como também nortear e aperfeiçoar as diretrizes voltadas para as políticas públicas de controle e vigilância.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Young DC, Duncan NA. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sandflies in México, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Mem. An. Entomol. Institut. 1994;54:1-881.
- 2- Peters W, Killick-Kendrick R. The *Leishmaniasis* in Biology and Medicine, London, Academic Press. 1987;I,941.
- 3- Desjeux P. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. Trans R Soc Trop Med Hyg 2001;95:239-43.
- 4- Organização Mundial de Saúde 2012. Internet <http://www.who.ch>.
- 5- Alvar J, Vélez ID, Herrero M, Desjeux P, Cano J, Jannin J et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. Plos One. 2012;7(5):e35671doi101371.
- 6- Forattini OP. Entomologia médica. São Paulo, E. Blucher/EDUSP Ed.1973;658.
- 7- Brazil RP, Brazil BG. Biologia de Flebotomíneos Neotropicais. In: Flebotomíneos do Brasil. FIOCRUZ ed. 2003.
- 8- Walters LL, Chaplin GL, Modi GG, Tesh RB. Ultrastructural biology of *Leishmania* (*Viannia*) *panamensis* (= *Leishmania braziliensis panamensis*) in *Lutzomyia gomezi* (Diptera: Psychodidae): a natural host-parasite association. Am J Trop Med Hyg. 1989;40(1):19-39.
- 9- Grimald G JR, Tesh RB. Leishmaniasis of the New World: current concepts and implications for future research. Clin Microbiol Rev. 1993;6(3):230-50.
- 10- Grimald JG, Momen H, Naiff RD, McMahon-Pratt D, Barret TV. Characterization of classification of leishmanial parasites from human, wild mammals, and sand flies in the Amazon Region of Brazil. Am J Trop Med Hyg. 1991;44:645-661.
- 11- Shaw JJ. Taxonomy of the genus *Leishmania*: present and future trends and their implications. Mem Inst Oswaldo Cruz.1994;89:471-8.
- 12- Asford RW. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. Inst J. Parasitol. 2000;30:1269-81.
- 13- Silveira FT, Ishikawa EA, De Souza AA, Lainson R. An outbreak of cutaneous leishmaniasis among soldiers in Belém, Para State, Brazil, caused by *Leishmania* (*Viannia*) *lindenbergi* n. sp. A new leishmanial parasite of man in the Amazon region. Parasite. 2002;9(1):43-50.

- 14- Lainson R, Shaw JJ. New Word Leishmaniasis – the neotropical *Leishmania* species. In: Topley and Wilson's Collier L, Ballows A & Sussman M. Ed Microbiology and Microbial Infections. 1998: 241-266.
- 15- Rangel EF, Azevedo ACR, Andrade CA, Souza NA, Wermwlinger ED. Studies on sandfly fauna (Diptera: Psychodidae) in a focus of Cutaneous Leishmaniasis in Mesquita, Rio de Janeiro. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1990;85:39-45.
- 16- Rangel EF. Transmission of American Cutaneous Leishmaniasis in peridomestic foci in Rio de Janeiro State and other similar situations compared to the classical epidemiology in Amazon region. Tropical Disease, Society and the Environment. Relatórios de Conferências 2. 1995:103-10.
- 17- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 2 ed. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde. 2007:182.
- 18- Pimenta PFPP, Secundino NFC, Blanco RRN. Interação vetor-hospedeiro. In: Flebotomíneos do Brasil. 2003. FIOCRUZ ed.
- 19- Walters LL, Chaplin GL, Modi GG, Tesh RB. Ultrastructural biology of *Leishmania (Viannia) panamensis* (= *Leishmania braziliensis panamensis*) in *Lutzomyia gomezi* (Diptera: Psychodidae): a natural host-parasite association. Am J Trop Med Hyg. 1989;40(1):19-39.
- 20- Walters JF, Molyneus DH, Birley MH. Infecção experimental de *Lutzomyia whitmani* em cães infectados com *Leishmania braziliensis braziliensis*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1993;81:125-6.
- 21- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. 1th ed. Ministério da Saúde. 2006.
- 22- Shaw J. The leishmaniasis – survival and expansion in a changing world. A mini-review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007;102(5):315-7.
- 23- Vilela ML. Estudos sobre os flebotomíneos e os potenciais vetores da leishmaniose tegumentar americana no Estado do Tocantins. [thesis]. Instituto Oswaldo Cruz. 2012.
- 24- Rangel EF, Vilela ML. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:Psychodidae:Phebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Cad Saúde Pública. 2008;79(3):395-6.

- 25- Lainson. Demographic changes and their influence on the epidemiology of the american leishmaniasis. In: Demography and vector-borne disease - ed. M.W. Service - Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc. 1998:85-106.
- 26- Lainson R, Shaw JJ, Silveira FT, de Souza AA, Braga RR, Ishikawa EA. The dermal leishmaniasis of Brazil, with special reference to the eco-epidemiology of the disease in Amazonia. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1994;89:435-43.
- 27- Deane LM. Leishmaniose visceral no Brasil. Estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará. Rio de Janeiro, Serviço Nacional de Educação Sanitária. 1956.
- 28- Lainson R, Ward RD, Shaw JJ. Experimental transmission of *Leishmania chagasi* causative agent of neotropical visceral leishmaniasis by the sand fly *Lutzomyia longipalpis*. Nature. 1977;266:628-30.
- 29- Lainson R, Shaw JJ, Silveira FT, Braga RR, Ishikawa AY. Cutaneous leishmaniasis of man due to *Leishmania (Viannia) naiffii* (Lainson & Shaw, 1969). An Paras Hum Comp 1990;65:282-4.
- 30- Lainson R, Shaw JJ. The role of animals in the epidemiology of South American leishmaniasis. In *Biology of Kinetoplastida*, 2. WHR Lumsden, DA Evans Eds. Academic Press, London, New York & San Francisco. 1979:1-116.
- 31- Ryan L, Phillips A, Milligan P, Lainson R, Molyneux DH, Shaw JJ. Separation of female *Psychodopygus wellcomei* and *P. complexus* (Diptera, Psychodidae) by cuticular hydrocarbons. Act Trop. 1986;43:11-6.
- 32- Lainson R, Rangel EF. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – A review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2005;100:811-27.
- 33- Stoddard ST, Morrison AM, Vazquez-Prokopec GM, Soldan VP, Kochel TJ, Kitron U, Elder JP, Scott TW. The Role of Human Movement in the Transmission of Vector-Borne Pathogens. Plos Neglected Tropical Diseases, 3(Issue 7): e481, 2009.
- 34- Santos DR, Ferreira AC, Bisetto Junior A. The first record of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the State of Paraná, Brazil. Rev Soc Brasil Med Trop. 2012;45(5): 643-5.
- 35- Santos SO, Arias, JR, Ribeiro AA, Hoffmann MP, Freitas RA, Malacco MAF. Incrimination of *Lutzomyia (Lutzomyia) cruzi* as a vector of American Visceral Leishmaniasis. Med and Vet Entomol. 1998;12:315-7.

- 36- Santos SO, Arias, JR, Hoffmann MP, Furian MBG, Ferreira WF, 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. Rev Soc Bras MedTrop.2003;36(5): 633-4.
- 37- Missawa NA, Lima GB. Spatial distribution of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) and *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) in the State of Mato Grosso. Rev Soc Bras Med Trop. 2006;39:337-40.
- 38- de Carvalho MR, Valença HF, da Silva FJ, de Pita-Pereira D, de Araújo Pereira T, Britto C, Brazil RP, Brandão Filho SP. Natural *Leishmania infantum* infection in *Migonomyia migonei* (França, 1920) (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil.Acta Trop. 2010;116:108-10.
- 39- Salomón OD, Acardi SA, Liotta DJ, Fernández MS, Lestani E, López D, Mastrángelo AV, Figueroa M, Fattore G. Epidemiological aspects of cutaneous leishmaniasis in the Iguazú falls area of Argentina. Acta Trop.2009;109:5-11.
- 40- Trevi BL, Vélez ID, Brutus L, Segura I, Jaramillo C, Montoya J. *Lutzomyia evansi*, an alternate vector of *Leishmania chagasi* in a Colombian focus of visceral leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1990;84(5):676-7.
- 41- Lainson R, Shaw JJ. New Word Leishmaniasis – the neotropical *Leishmania* species. In: Topley and Wilson's Collier L, Ballows A & Sussman M. (Eds) Microbiology and Microbial Infections. 1998:241-66.
- 42- Afonso MMS, Duarte R, Miranda JC, Caranha L, Rangel EF. Studies on the feeding habits of *Lutzomyia (L.) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) populations from endemic areas of American leishmaniasis in northeastern Brazil. J Trop Med. 2012;2012:858657. doi: 10.1155/2012/858657.
- 43- Sherlock IA, Miranda JC, Sadigursky M, Grimaldi Jr G. Natural infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia: Didelphidae) with *Leishmania donovani* in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1984;7:511.
- 44- Sherlock IA, Miranda JC, Sadigursky M, Grimaldi Jr G 1988. Experimental infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia Didelphidae) with *Leishmania donovani*.Mem Inst Oswaldo Cruz. 1998;83:141.
- 45- Cabrera MAA, Paula A, Camacho LAB, Marzochi MC, Xavier S, Silva AVM, Jansen AM. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of risk factors. Rev Inst Med Trop S Paulo. 2003;45:79-83.

- 46- Schalling HD, da Silva ES, Van Der Meide WF, Schoone GJ, Gontijo CM. *Didelphis marsupialis* (commom opossum): a potential reservoir host for zoonotic leishmaniasis in the metropolitan region of Belo Horizonte (Minas Gerais, Brazil). Vector Borne Zoonotic Dis. 2007;7:387-93.
- 47- Silva AVM. Estudos sobre a Leishmaniose Visceral em Barra de Guaratiba, Estado do Rio de Janeiro [thesis]. Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ. 2009:97.
- 48- Migone LE. Un caso de Kalazar en Assunción (Paraguay). Bull Soc Pathologic Exotique, 1993;6:118-20.
- 49- Penna H A. Leishmaniose visceral no Brasil. Brasil Médico. 1934;48:949-50.
- 50- Pondé R, Manguabeira O, Jansen G. Alguns dados sobre a Leishmaniose visceral americana e a doença de Chagas no Nordeste Brasileiro (Relatório de uma excursão realizada nos estados do Ceará, Pernambuco e Bahia). Mem Inst Oswaldo Cruz. 1942;37:333-52.
- 51- Alencar JE, Dietze P. Leishmaniose visceral (calazar). In: Doenças infecciosas e parasitárias. FIOCRUZ ed. 2003:207-57.
- 52- Deane LM, Deane MP. Infecção experimental de *Phebotomus longipalpis* em caso humano de leishmaniose visceral. O Hospital. 1954;46:487-89.
- 53- Maia-Elkhoury AN, Alves WA, Sousa-Gomes ML, Sena JM, Luna EA. Vsceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. Cad Saúde Pública. 2008;29:41-7.
- 54- NUVEP/SESA-CE. Informe Epidemiológico. Leishmaniose visceral (02/02/2010). Núcleo de Epidemiologia da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará.
- 55- Brasil. Nota Técnica. Nota técnica conjunta da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde e da Secretaria de Estado do Rio Grande do Sul sobre a situação da leishmaniose visceral na fronteira do Estado do Rio Grande do Sul com Argentina. COVEV/CGDT/DEVEP/SVS/MS. 2010.
- 56- Souza GD, Santos E, Andrade-Filho JD. The first report of the main vector of visceral leishmaniasis in America, *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera:Psychodidae:Phebotominae), in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009;104(8):1181-2.
- 57- Lainson R, Rangel EF. *Lutzomyia longipalpis* e a eco-epidemiologia da leishmaniose visceral americana (LVA) no Brasil, In: Rangel EF e Lainson R (eds); *Flebotomínoes do Brasil*, Rio de Janeiro, FIOCRUZ Ed. 2003:311-36.

- 58- Genaro O. *Leishmaniose visceral canina experimental*. Belo Horizonte. [thesis] Universidade Federal de Minas Gerais. 1993
- 59- Miles R, Vexenat JA, Campos JHF, Castro JAF. Canine Leishmaniasis in Latin American: control strategies for visceral leishmaniasis. In: Canine Leishmaniasis: an update. Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum Barcelona, Spain; Ed. R. Killick-Kendrick, Wiesbaden: Hoechst Roussel Vet. P. 1999:46-53.
- 60- Gradoni L. Epizootiology of canine leishmaniasis in southern Europe. In: Canine Leishmaniasis: an update. Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum Barcelona, Spain; Ed. R. Killick-Kendrick, Wiesbaden: Hoechst Roussel Vet. 1999:32-9.
- 61- França-Silva JC. Distribuição espacial e temporal da Leishmaniose Visceral Canina em relação à densidade vetorial e ao controle de cães infectados em Porteirinha, Minas Gerais, Brasil (1998-2002). Belo Horizonte. [thesis]. Universidade Federal de Minas Gerais. 2003.
- 62- Camargo-Neves VLF. Aspectos epidemiológicos e avaliação das medidas de controle da leishmaniose visceral americana no Estado de São Paulo Brasil. [thesis] Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública. 2004.
- 63- Silva RA. Contribuição ao entendimento da transmissão da leishmaniose visceral no Município de Fortaleza, Ceará. [dissertation]. Universidade Estadual do Ceará; 2011.
- 64- Sistema de Informação de Agravos de Notificação [internet] [cited jan 2013]. Available from: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/>.
- 65- Araujo Filho NA. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana na Ilha Grande, Rio de Janeiro: estudos sobre a infecção humana, reservatórios e transmissores. [dissertation]. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 1978.
- 66- Marzochi MCA, Sabroza PC, Toledo LM, Marzochi KBF, Tramontano NC, Rangel Filho FB. Leishmaniose visceral na cidade do Rio de Janeiro – Brasil. Cad Saúde Pública. 1985;1(5):5-17.
- 67- Marzochi M, Marzochi K, Vivório K, Souza M, Oliveira A, Carvalho R, et al. Leishmaniose tegumentar americana por *Leishmania (Viannia) braziliensis* em município da região serrana do Rio de Janeiro. Rev Soc Bras Med Trop. 1991;24(2):100.

- 68- Souza MB, Cardoso PG, Sanavria A, Marzochi MCA, de Carvalho RW, Riveiro PC, et al. Fauna flebotomínica do município de Bom Jardim, Região Serrana do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Parasitol.* 2003;12(4):150-3.
- 69- Brasil. Nota Técnica NOTA TÉCNICA Nº 5/2012 - GDTVZ/DTI/CVE/SVEA/SVS-SES RJ. Intensificação da Vigilância para Leishmaniose Visceral no Estado do Rio de Janeiro. 2012.
- 70- Marzochi MCA, Fagundes A, Andrade MV, Souza MB, Madeira MF, Mouta-Confort E, et al. Visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil: eco-epidemiological aspects and control. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2009;42(5):570-80.
- 71- Araujo Filho NA, Sherlock IA. Nota sobre a presença da *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) na Ilha Grande, Estado do Rio de Janeiro. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1981;14(1-3):81-3.
- 72- Araujo Filho NA, Sherlock IA, Coura JR. Leishmaniose tegumentar americana na Ilha Grande, Leishmaniose tegumentar americana na Ilha Grande, Rio de Janeiro. VI. Observações sobre frequência horária e variação mensal dos transmissores. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1981;14(4-6):185-95.
- 73- Rangel EF, Souza NA, Wermelinger ED, Azevedo ACR, Barbosa AF, Andrade C. Flebótomos de Vargem Grande, foco de leishmaniose tegumentar do Estado do Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1986;81(3):347-9.
- 74- Rangel EF, Barbosa AF, Andrade C, Souza NA, Wermelinger ED. Development of *Leishmania (Viannia) braziliensis* Viannia, 1991 in *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera:Psychodidae) under experimental conditions. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1991;87(2):235-8.
- 75- Souza MA, Sabroza PC, Marzochi MCA, Coutinho SG, Souza WJ. Leishmaniose visceral no Rio de Janeiro. 1-Flebotomíneos da área de procedência de caso humano autóctone. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1981;99(8):795-803.
- 76- Cabrera MAA, Paula A, Camacho LAB, Marzochi MC, Xavier S, Silva AVM, Jansen AM. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of risk factors. *Rev Inst Med Trop S Paulo.* 2003;45:79-83.
- 77- Carvalho BM. Aspectos da ecologia de potenciais vetores de leishmanioses (Diptera:Psychodidae:Phebotominae) na Ilha Grande, Angra dos Reis, Rio de Janeiro. [dissertation]. Instituto Oswaldo Cruz. 2011.

- 78- Pimentel JD, Borges DT, Máspero RC, da Costa CM, Ferreira FC, Barbosa PRA, et al. A new focus of leishmaniasis in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Worldleish 5 Fifth World Congress on Leishmaniasis*. Porto de Galinhas. 2013:1406.
- 79- Carvalho BM. Estudo sobre os flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) do Município de Porto Nacional, Estado de Tocantins. [monograph]. Universidade Estácio de Sá. 2008.
- 80- Governo do Estado do Tocantins. [internet] [2011][cited dez 2012]. Available from:<http://to.gov.br/>.
- 81- Secretaria Estadual de Saúde do Estado do Tocantins. Forthcoming. 2012.
- 82- Andrade-Filho JD, Lima ACS, Falcão AL. Phlebotomine sand flies in the State of Piauí, Brazil (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2001. 1085-7.
- 83- Vilela ML, Azevedo CG, Carvalho BM, Rangel EF. Phlebotomine fauna (Diptera: Psychodidae) and putative vectors of leishmaniasis in impacted area by hydroelectric plant, State of Tocantins, Brazil. *PLoS One*. 6, 2011.
- 84- Machado TO, Bragança MA, Carvalho ML, Andrade-Filho JD. Species diversity of sandflies (Diptera: Psychodidae) during different seasons and in different environments in the district of Taquaruçú, state of Tocantins, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2012: 955-9.
- 85- Ngumbi PM, Lawyer PG, Johnson RN, Kiilu G, Assiango C. Identifications of phlebotomine sandfly bloodmeals from Baringo district, Kenya, by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Med Vet Entomol*. 1992 6:385-8.
- 86- Savage HM, Niebylski ML, Smith GC, Mitchell CJ, Craig-JR GBJ. Host-feeding patterns of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) at a temperate North American site. *J Med Ent*. 1993;30:27-34.
- 87- Duarte R. Ensaio Imunoenzimático ELISA para identificação experimental de fontes alimentares em *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) (Hemiptera: Reduviidae). [dissertation]. Instituto Oswaldo Cruz. 1997.
- 88- Boreham PFL & Garret Jone C 1973. Prevalence of mixed blood meals and double feeding in malaria vector (*Anopheles sachorovi*). *Bull Who*. 1993;48:605-14.
- 89- Dias-Sversutti A, Scodro RB, Reinhold-Castro KR, Neitzke HC, Teodoro U. Estudo preliminar de preferência alimentar de *Nyssomyia neivai* (Pinto) e

- Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho) (Diptera: Psychodidae) em área rural do Paraná. Neotropical Entomology. 2007;36: 953-59.
- 90- Tesh RB, Chaniotis BN, Aranson MD, Jahnson KM. Natural host preference of Panamanian phlebotomine sandflies as determined by precipitin test. J Trop Med Hyg. 1971;20:150-6.
 - 91- Christensen HA, Alias JA, Vasquez AM, Freitas RA. Hosts of sandfly vectors of *Leishmania brasiliensis gyanensis* in the Central Amazon in Brazil. Am J Trop Med Hyg. 1982;31:239-42.
 - 92- Ogosuku E, Perez JE, Paz L, Nieto E, Monje J, Guerra H. Identification of bloodmeal sources of *Leishmania* spp. in Peru. Ann Trop Med and Parasitol. 1994;88:329-35.
 - 93- Nery LCR, Lorosa ES, Franco, AMR. Feeding preference of the sand flies *Lutzomyia umbratilis* and *Lutzomyia spathotrichia* (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) in an urban forest patch in the city of Manaus, Amazonas, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004;99:571-4.
 - 94- Afonso MMS, Gomes AC, Meneses CRV, Rangel EF. Studies on the feeding habits of *Lutzomyia (N.) intermedia* (Diptera, Psychodidae), vector of cutaneous Leishmaniasis in Brazil. Cad de Saúde Pública. 2005;21:109-18.
 - 95- Afonso MMS, Duarte R, Miranda JC, Caranha L, Rangel EF. Studies on the feeding habits of *Lutzomyia (L.) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) populations from endemic areas of American leishmaniasis in northeastern Brazil. J Trop Med. 2012;2012:858657. doi: 10.1155/2012/858657.
 - 96- Muniz LHG, Rossi RM, Neitzke HC, Monteiro WM, Monteiro U. Estudo dos hábitos alimentares de flebotomíneos em área rural no sul do Brasil. Ver. Saúde Pública. 2006;40:1087-93.
 - 97- Morrison AC, Ferro C, Tesh RB. Host preference of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* at an endemic focus of american visceral Leishmaniasis in Colômbia. Am J Trop Med Hyg. 1993;49:68-75.
 - 98- Camargo-Neves VLF, Rodas LAC, Gomes AC. Avaliação do hábito alimentar de *Lutzomyia longipalpis* no Estado de São Paulo. Boletim Epidemiológico Paulista. 2007;4:2-7.
 - 99- Burkot TR, Goodman WG, Defoliart GR. Identification of mosquito blood meals by enzyme-linked immunosorbent assay. Am J Trop Hyg. 1981;30:1336-41.

- 100- Colmenares M, Portús M, Botet J, Dobaño C, Gállego M, Wolff M, Seguí G. Identification of blood meals of *Phebotomus perniciosus* (Diptera: Psychodidae) in Spain by a competitive enzyme-linked immunosorbent assay biotin/avidin method. J Med Entomol. 1995;32:229-33.
- 101- Oliveira-Pereira YN, Moraes JLP, Lorosa ES, Rabelo JMM. Preferência alimentar sanguínea de flebotomíneos da Amazônia do Maranhão, Brasil Cad Saúde Pública. 2008;24:2183-6.
- 102- Quinell RJ, Dye C, Shaw JJ. Host preference of the phlebotominae sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Amazonian Brazil. Med Vet Entom. 1992;6:195-200.
- 103- Heouas N, Pesson B, Boudabous R, Dedet JP, Babba H, Ravel C. Development of molecular tool for the identification of *Leishmania* reservoir hosts by blood meal analysis in the insect vectors. Am J Trop Med Hyg. 2007;77(6):1054-9.
- 104- Sant'anna MR, Jones NG, Hindley JA, Mendes-Sousa AF, Dillon RJ, Cavalcante RR, Alexander B, Bates PA. Blood meal identification and parasite detection in laboratory-fed and field-captured *Lutzomyia longipalpis* by PCR using FTA databasing paper. Acta Trop. 2008;107(3):230–7.
- 105- Paiva BR. Utilização da PCR na identificação de espécimes de leishmânia e hábitos alimentar de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de regiões do Mato Grosso do Sul [dissertation]; 2009.
- 106- Quaresma PF, Carvalho GM, Ramos MC, Andrade Filho JD. Natural *Leishmania* sp. reservoirs and phlebotomine sandfly food source identification in Ibitipoca State Park, Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2012;07(4):480-5.
- 107- Silva VPM. Preferência alimentar e identificação das principais fontes de repasto sanguíneo de fêmeas de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) em áreas endêmicas para leishmaniose visceral na Grande Natal [dissertation]. Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2008.
- 108- Kent R, Norris DE. Identification of mammalian blood meal in mosquitoes by a multiplex polymerase chain reaction targeting cytochrome B. Am J med Hyg. 2005;73(2):336-42.
- 109- Moloei G, Andreadis TG, Armstrong PM, Diuk-Wasser M. Host-feeding patterns of potential mosquito vectors in Connecticut, USA: molecular analysis of bloodmeals from 23 species of *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Coquillettidia*, *Psorophora* and *Uronotaenia*. J Med Entomol. 2008;45(6):1143-51.

- 110- Perkins SL, Schall JJA. A molecular phylogeny of malarial parasites recovered from cytochrome b gene sequences. *J Parasitol*. 2002;88:972-8.
- 111- Jiménez M, González E, Iriso A, Marco E, Alegret A, Fúster F, Molina R. Detection of *Leishmania infantum* and identification of blood meals in *Phlebotomus perniciosus* from a focus of human leishmaniasis in Madrid, Spain. *Parasitol Res*. 2013;28.
- 112- Rangel EF, Souza NA, Wermelinger ED, Barboza AF. Infecção natural de *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) em área endêmica de leishmaniose tegumentar do Estado do Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1994;79:395-6.
- 113- Vexenat JA, Barretto AC, Cuba CC, Marsden PD. Epidemiological characteristics of American cutaneous leishmaniasis in an endemic region of the State of Bahia. III. Phlebotomine fauna. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1986;81: 293-301.
- 114- Ryan L, Vexenat A, Marsden PD, Lainson R, Shaw JJ. The importance of rapid diagnosis of new cases of cutaneous leishmaniasis in pin-pointing the sandfly vector. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1990;84:786.
- 115- Jorquera A, González R, Marchán-Marciano E, Oviedo M, Matos M. Multiplex-PCR for detection of natural *Leishmania* infection in *Lutzomyia* spp. captured in an endemic region for cutaneous leishmaniasis in state of Sucre, Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005;100:45-8.
- 116- Pita-Pereira D, Alves CB, Souza MB, Brazil RP, Bertho AL, Barbosa AF, Britto CC. 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. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2005;99:905-13.
- 117- de Carvalho MR, Valença HF, da Silva FJ, de Pita-Pereira D, de Araújo Pereira T, Britto C, Brazil RP, Brandão Filho SP. Natural *Leishmania infantum* infection in *Migonemyia migonei* (França, 1920) (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil. *Acta Trop*. 2010;116:108-10.
- 118- Miranda JC, Reis E, Schrieffer A, Gonçalves M, Reis MG, Carvalho L, Fernandes O, Barral-Netto M, Barral A 2002. Frequency of infection of *Lutzomyia* phlebotomines with *Leishmania braziliensis* in a Brazilian endemic

- area as assessed by pinpoint capture and polymerase chain reaction. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002;97:185-8.
- 119- Silva OS, Grunewald J. Contribution to the sand fly fauna (Diptera: Phlebotominae) of Rio Grande do Sul, Brazil and *Leishmania* (Viannia) infections. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999;94:579-82.
 - 120- de Pita-Pereira D, Souza GD, Zwetsch A, Alves CR, Britto C, Rangel EF. First report of *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *neivai* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) naturally infected by *Leishmania* (*V.*) *braziliensis* in a periurban area of South Brazil, State Of Rio Grande do Sul, using a PCR multiplex assay. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 2009;80:593-95.
 - 121- Pereira TA. Estudo da fauna e avaliação diagnóstica de infecção natural por *Leishmania* spp. de flebotomíneos (Diptera:Psychodidae) do Município de Rio Branco (Acre, Brasil). [dissertation]. Instituto Oswaldo Cruz. 2013.
 - 122- Ranasinghe S, Rogers ME, Hamilton JG, Bates PA, Maingon RD. A real-time PCR assay to estimate *Leishmania chagasi* load in its natural sand fly vector *Lutzomyia longipalpis*. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2008;102:875-82.
 - 123- Leavell S, Clark EG. Medicina Preventiva. São Paulo. McGrawFill ed. 1976.
 - 124- Batistella C. Saúde, doença e cuidado: complexidade teórica e necessidade histórica. In: O território e o processo saúde-doença. FOCRUZ ed. 2007.
 - 125- Monken M, Barcellos C, Rojas LI, Navarro MBMA. O território da saúde construindo referências para análises em saúde e ambiente. In: Território ambiente e saúde. FIOCRUZ ed. 2008.
 - 126- Barcellos C. Organização espacial, saúde e qualidade de vida. In: Seminário nacional saúde e ambiente no processo de desenvolvimento, Rio de Janeiro, FIOCRUZ.2000;2:27-34.
 - 127- Monken M, Barcelos C. O Território na promoção e vigilância em saúde. In: O território e o processo saúde-doença. FOCRUZ ed. 2007.
 - 128- Sabroza PC, Toledo LM de, Osanai CHA. Organização do espaço e os processos endêmicos-epidêmicos. In: Saúde, ambiente e desenvolvimento. Rio de Janeiro, Hucitec-Abrasco ed. 1993.
 - 129- Brasil. Ministério do planejamento, orçamento e gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Síntese dos indicadores Sociais. Rio de Janeiro. 2006.
 - 130- Brasil. Ministério da saúde. Secretaria de vigilância em saúde. Departamento de atenção básica. Sistema de informação da atenção básica. Ministério da Saúde. 2004.

- 131- Oliveira-Filho EC, Medeiros FNS. Ocupação humana e preservação do ambiente: um paradoxo para o desenvolvimento sustentável. In: Cerrado: desafios e oportunidades para o desenvolvimento sustentável. Planaltina Ed. 2008:33-61.
- 132- Ready PD. Leishmaniasis emergence and climate change. Rev Sci Tech Off Int Epiz. 2008;27:399-412.
- 133- Confalonieri EC. Saúde na Amazônia: um modelo conceitual para a análise de paisagens e doenças. Estudos Avançados. 2005;19(53).
- 134- Confalonieri UEC. *Ecossistemas, desmatamento e saúde humana*. Belém. Museu Paraense Emílio Goeldi. 2003:35.
- 135- Monken M, Barcellos C. Vigilância em saúde e território utilizado: possibilidades teóricas e metodológicas. Cad Saúde Pública. 2005;21(3):898-906.
- 136- Confalonieri UEC, Marinho DM. Mudança Climática Global e Saúde: Perspectivas para o Brasil. Revista Multiciência. 2007;8:48-64.
- 137- Brasil. Ministério da Saúde. Organização Pan-Americana da Saúde 2008. Mudanças climáticas e ambientais e seus efeitos na saúde: cenários e incertezas para o Brasil, p. 40.
- 138- Aparício C. Utilização de geoprocessamento e sensoriamento remoto orbital para análise espacial de paisagem com incidência de leishmaniose tegumentar americana. [dissertation]. Instituto de Biociências, 2001.
- 139- Tavares LMA, Tavares AD. Incidência, distribuição geográfica e aspectos ambientais das áreas endêmicas de leishmaniose visceral em Sergipe. Fundação Nacional de Saúde. 1999.
- 140- Mello DA. Parasitic diseases in Brazil and the role of wild mammals: an analysis based on leishmaniasis, Chagas disease and schistosomiasis mansoni. Ciência e Cultura. 1991;43(4):274-278.
- 141- Goldstein RA, Barcellos C. Geoprocessamento e participação social: ferramentas para vigilância em saúde. In: Território Ambiente e Saúde. FIOCRUZ ed. 2008.
- 142- Camara G, Monteiro AM, Fucks SD, Carvalho MS 2002. Análise espacial e geoprocessamento. INPE.
- 143- Beck LR. Remote sensing as a landscape epidemiological tool to identify villages and high risks of malaria transmission. Am J Trop Med Hyg. 1994;51(3):271-80.

- 144- Kalluri S, Gilruth P, Rogers D, Szczur M 2007. Surveillance of arthropod vector-borne infectious diseases using remote sensing techniques: A review. PLoS Pathogens 3(10): e116. doi:10.1371/journal.ppat.0030116.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Ampliar os conhecimentos sobre *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* em associação com a eco-epidemiologia da Leishmaniose Visceral Americana em seu processo de expansão e urbanização.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Discutir os estudos sobre hábitos alimentares de insetos vetores de patógenos humanos, com ênfase na subfamília Phlebotominae.
- II. Analisar os fatores associados ao processo de expansão e urbanização da leishmaniose visceral americana;
- III. Correlacionar o incremento de desflorestamento e a estratificação da leishmaniose visceral americana, entre 2004 e 2010, no Estado de Tocantins;
- IV. Correlacionar as classes do uso do solo com a presença do vetor *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* e os casos humanos por leishmaniose visceral americana;
- V. Diagnosticar a infecção natural por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* e a origem da fonte alimentar dos flebotomíneos através de métodos moleculares, em exemplares de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* procedente dos municípios de Araguaína/TO (transmissão intensa/urbano), Fortaleza/CE (transmissão intensa/urbano), Sobral/CE, (transmissão intensa/rural) e Rio de Janeiro (Caju)/RJ (transmissão/urbano com casos caninos);
- VI. Discutir a importância de outros potenciais reservatórios de *Leishmania (L.) infantum chagasi* na cadeia epidemiológica da leishmaniose visceral americana, com base na identificação das fontes alimentares de *L. (L.) longipalpis*.

Para melhor entendimento e facilitar a descrição da metodologia e dos resultados, esta tese foi dividida em quatro capítulos:

- Evaluation of feeding habits of haematophagous insects, with emphasis on Phlebotominae (Diptera:Psychodidae), vectors of Leishmaniasis – Review.

Afonso MMS, Miranda AS, Rangel EF. Evaluation of feeding habits of haematophagous insects, with emphasis on Phlebotominae (Diptera:Psychodidae), vectors of Leishmaniasis – Review. Trends in Entomology. 2012;8:125-136.

Este manuscrito atende ao objetivo I.

- *Lutzomyia (Lutzomyia) longipaplis*: Fatores Associados ao Processo de Expansão e Urbanização da Leishmaniose Visceral Americana.

Vilela ML, Afonso MMS, Costa SM, Costa WA, Rangel EF. *Lutzomyia (Lutzomyia) longipaplis*: Fatores Associados ao Processo de Expansão e Urbanização da Leishmaniose Visceral Americana. In: Leishmanioses no Continente Americano. Organ: Fátima Conceição-Silva. FIOCRUZ ed. Forthcoming 2013.

Este manuscrito atende a objetivo II.

- Contribuição ao Conhecimento do Processo de Expansão da Leishmaniose Visceral Americana no Estado do Tocantins

Margarete Martins dos Santos Afonso^{1,2}, Sérgio Augusto de Miranda Chaves², Mônica de Avelar Figueiredo Magalhães³, Renata de Saldanha da Gama Gracie Carrijo³, Carina Graser Azevedo⁴, Elizabeth Ferreira Rangel¹.

¹Laboratório de Ecologia, Departamento de Endemias, Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca - Fundação Oswaldo Cruz, ²Laboratório de Transmissores de Leishmanioses, Laboratório de Referência em Vigilância Entomológica: Taxonomia e Ecologia de Vetores das Leishmanioses, Instituto Oswaldo Cruz - Fundação Oswaldo Cruz, ³ Laboratório de Geoprocessamento, Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde – Fundação Oswaldo Cruz, ⁴ Secretaria de Saúde do Estado de Tocantins, Palmas – TO.

Este manuscrito atende aos objetivos III e IV.

- Indicadores Biológicos Associados à *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera:Psychodidae:Phebotominae), Vetor de Leishmaniose Visceral Americana: Hábitos Alimentares e Infecção Natural por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* (Cunha & Chagas, 1937), de Espécimes Procedente dos Municípios de Araguaína (TO), Fortaleza (CE), Sobral (CE) e Rio de Janeiro (RJ).

Margarete Martins dos Santos Afonso^{1,2}, Sérgio Augusto de Miranda Chaves², Daniela de Pitta Pereira¹, Taiana Amâncio da Costa Rego³, Antônio Luis Ferreira de Santana¹, Elizabeth Ferreira Rangel¹.

¹Laboratório de Ecologia, Departamento de Endemias, Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca - Fundação Oswaldo Cruz, ² Laboratório de Transmissores de Leishmanioses, Laboratório de Referência em Vigilância Entomológica: Taxonomia e Ecologia de Vetores das Leishmanioses, Instituto Oswaldo Cruz - Fundação Oswaldo Cruz, ³ Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas - Fundação Oswaldo Cruz.

Este manuscrito atende parcialmente aos objetivos V e VI / dados preliminares.

Demais publicações durante o desenvolvimento da tese (2009-2013):

AFONSO MMS, Chaves SAM, Magalhães MAF, Carrijo RSGG, Azevedo CG, Bou Haya JV, Rangel EF. Ecoepidemiology of american visceral leishmaniasis in state of Tocantins, Brazil, and factors associated with vector *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera:Psychodidae:Phebotominae). In: Worldleish 5. Fifth World Congress on Leishmaniasis 5, Pernambuco, 2013.

Premiado como o melhor pôster na área de "Entomologia & Programa de Controle".

AFONSO MMS, Chaves SAM, Magalhães MAF, Bou Haya JV, Rangel EF. Associação entre a estratificação da transmissão da leishmaniose visceral americana e o incremento do desflorestamento no Estado de Tocantins, no período de 2004 a 2010. In: I Encontro da Área de Pesquisa Desenvolvimento e Inovação em Leishmanioses do IOC-FIOCRUZ, 2012.

AFONSO MMS, Chaves SAM, Pitta Pereira D, Bou Haya JV, Santanna ALF, Souza L C, Rangel EF. Avaliação de indicadores biológicos associados à competência de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera:Psychodidae:Phebotominae), vetor de leishmaniose visceral americana: hábitos alimentares e infecção natural por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* (Cunha A & Chagas, 1937). In: I Encontro da Área de Pesquisa Desenvolvimento e Inovação em Leishmanioses do IOC-FIOCRUZ, 2012.

AFONSO MMS, Chaves SAM, Bou Haya JV, Magalhães MAF, Rangel EF. Correlação entre o bioma cerrado e o incremento do desflorestamento com a eco epidemiologia de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera:Psychodidae:Phebotominae), vetor de Leishmaniose Visceral Americana no Estado de Tocantins, Brasil. In: 1 Conferência em saúde Silvestre e Humana, Rio de Janeiro. 2012.

AFONSO MMS, Chaves SAM, Bou Haya JV, Magalhães MAF, Rangel EF. Estudo sobre *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera:Psychodidae:Phebotominae), vetor da Leishmaniose Visceral Americana nos

municípios da Usina Hidrelétrica de Peixe Angical, no Estado de Tocantins, Brasil. In: 1 Conferência em saúde Silvestre e Humana, Rio de Janeiro. 2012.

Rangel EF, Costa SM, AFONSO MMS. Environmental changes and the impact on the leishmaniasis transmission. In: XXVII Annual Meeting of the Brazilian Society of Protozoology, Foz do Iguaçu (PR), Brasil. 2011.

AFONSO MMS, Chaves SAM, Vilela ML, Azevedo CG, Carvalho BM, Rangel EF. American Visceral Leishmaniasis: ecoepidemiological approach in impacted area by hydroelectric plant in the city of Porto Nacional, Tocantins State, Brazil. In: 7th International Symposium on Phlebotomine Sand flies, Turkey. 2011.

AFONSO MMS, Chaves SAM, Rangel EF. Ecoepidemiology of American Visceral Leishmaniasis associated with Cerrado Biome in Tocantins State, Brazil. In: 7th International Symposium on Phlebotomine Sand flies, Turkey. 2011.

AFONSO MMS, Rangel EF, Carvalho BM, Costa SM, Goldstein RA, Chaves SAM. *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae), frente à expansão da leishmaniose visceral americana no município de Porto Nacional, estado de Tocantins: dados preliminares. In: XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2010.

Co-orientação:

Bou Haya JV. Correlação entre as classes do uso do solo e *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) em associação com a transmissão da Leishmaniose Visceral Americana no Estado do Tocantins, Brasil. Graduação em Ciências Biológicas, Centro Universitário da Cidade, Rio de Janeiro, 2012.

Evaluation of feeding habits of haematophagous insects, with emphasis on Phlebotominae (Diptera:Psychodidae), vectors of Leishmaniasis - Review

Margarete Martins dos Santos Afonso^{1,2,*}, Sérgio Augusto de Miranda Chaves^{1,#}
and Elizabeth Ferreira Rangel^{2,\$}

¹ Laboratório de Ecologia, Departamento de Endemias, Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca - Fundação Oswaldo Cruz, Rua Leopoldo Bulhões, 1480, térreo, Manguinhos, CEP: 21041-210, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, ²Laboratório de Transmissores de Leishmanioses, Laboratório de Referência em Vigilância Entomológica: Taxonomia e Ecologia de Vetores das Leishmanioses, Instituto Oswaldo Cruz - Fundação Oswaldo Cruz, Av. Brasil, 4365, Manguinhos, CEP: 21040-360, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

ABSTRACT

Many countries have been facing the emergence, re-emergence, expansion and urbanization of vector borne-diseases, such as leishmaniasis. The assessment of feeding diet of Phlebotominae provides important information on attraction of vectors to potential reservoirs (wild, synanthropic and domestic mammals) and anthropophilic habits, which can reflect the ability to occupy new areas resulting in changes of transmission profiles. Thus, this review article aims to discuss the available information on feeding habits of insect vectors of human pathogens, based on the used techniques, discussing their application, benefits and limitations. In this context, the discussion focuses on Phlebotominae vectors of Leishmaniasis.

KEYWORDS: *Lutzomyia*, *Phlebotomus*, Phlebotominae, *Aedes*, *Anopheles*, food habits, hematophagous insects

ABBREVIATIONS

PCR - Polymerase Chain Reaction

ELISA - Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay

RFLP-PCR - Restriction Fragment Length Polymorphism - Polymerase Chain Reaction

ACT - American Cutaneous Leishmaniasis

AVL - American Visceral Leishmaniasis

SNDC - National Information System of Diseases of Compulsory Notification

CL - Cutaneous Leishmaniasis

VL - Visceral Leishmaniasis

INTRODUCTION

Phylum Arthropoda - Success of the class Insecta

Arthropods are one of the most important phyla in terms of domination of terrestrial and aquatic ecosystems. It is estimated that arthropods represent more than two thirds of all animals. Their highly adaptive diversity has allowed them to survive in all habitats [1].

The class Insecta is the largest group among the Arthropoda capable of occupying aerial, terrestrial and aquatic environments alike. Insects are by far the best examples of biodiversity, as they form the most diverse group of organisms on the planet. The number of species, diversity of adaptations, their biomass and ecological impact exceed those of all other animal groups [2].

*mafonso@ioc.fiocruz.br

smiranda@ensp.fiocruz.br

\$ elizabethrangel@fiocruz.br

Insect vectors of human pathogens: Adaptation of mouth apparatus and hematophagy

Insect vectors have been transmitting pathogens to human beings since ancient times, and the mortality rate associated with these infections exceeds thousands of cases every year. These insects can host and carry bacteria, viruses and protozoa that cause diseases such as yellow fever, dengue fever, malaria, leishmaniasis, chagas disease, filariasis, etc.

Insect mouth parts consist of a pair of mandibles and two pairs of maxillae (maxillary palps and labial palps). Mouth appendages suffer morphological changes according to the insect's eating habits. Mouth apparatus can be classified as: (1) chewing, as in cockroaches and grasshoppers; (2) piercing-sucking, present in *Anopheles*, Culicidae, Phlebotominae and Hemiptera; (3) licking, as in house flies. The piercing-sucking type mouth apparatus, found in all hematophagous insects, is characterized by the adaptation of the mouth parts, or some of them, to the function of puncturing the skin; they have become a set of thin, hard styli, either pointed or serrated at their end [3].

The mouth parts of hematophagous insects have evolved in different ways, which influence the feeding mechanism: (1) selenophagy: thin, long styli puncture the skin to make way for thin, tubular parts which reach the capillaries and directly tap the blood. During the draining of the blood, drops of saliva are released from the end of a parallel, thinner tube, the salivary tube, connected to the deferent ducts of the salivary glands. This mode of feeding has several advantages: the host normally does not notice the piercing, and microorganisms are tapped/injected directly into the host's bloodstream; (2) pool feeding: the mouth parts are short and/or wide, which prevents deep penetration and direct piercing of the vessels. As a consequence, these vectors tear the victim's skin and tissues, causing a hemorrhage from which they suck the blood, cells and lymph leaking from the minuscule torn capillaries. This type of feeding rarely goes unnoticed, but it favors the collection of parasites that tend to concentrate in other tissues rather than in blood [4].

Some insect orders are important vectors of pathogens, in particular, the orders Diptera and

Hemiptera, which transmit malaria, dengue fever, filariasis, yellow fever, leishmaniasis, bartonellosis, arbovirus diseases, onchocercosis, chagas disease, among others [4].

MATERIALS AND METHODS

For specific bibliography, searches were performed using the following keywords: Feeding Habits, Dengue Fever, Chagas Disease, ELISA/Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Yellow Fever, Leishmaniasis, Malaria, Onchocerciasis, Food Preferences, Phlebotominae/ Psychodidae, Polymerase Chain Reaction, Precipitin Tests, in the site health Sciences Descriptors - <http://decs.bvs.br/>. Some databases were considered in this review: thesis database - <http://www.capes.gov.br/servicos/banco-de-teses>, LILACS - <http://lilacs.bvsalud.org/>, MEDLINE - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>, OMS - www.who.int, SciELO - <http://www.scielo.org>, Ministério da Saúde www.saude.gov.br.

RESULTS AND DISCUSSION

Classification of hematophagous insects according to their feeding pattern

Insects can be classified as active hunters (those that have a feeding preference and seek the food that attracts them the most) or passive opportunists (opportunistic insects that feed on the nearest host, regardless of it being attractive or not) [5]. They may also be simple feeders (a single blood meal) or multiple feeders (more than two feedings) [6, 7].

Importance of alimentary identification in hematophagous insects

Interest in the identification of the food sources of hematophagous insects has increased as new discoveries were made regarding their involvement in disease transmission. Establishing the feeding pattern of hematophagous insects is very important to understand their biology, other than having a fundamental role in terms of Public Health [7]. It is an important piece of information used to outline control strategies for various diseases transmitted by these invertebrates [8, 9, 7].

In entomological surveillance actions, the information obtained about the biology of vectors, in particular about their interaction with reservoir

animals, in association with environmental factors, may point towards alterations in the transmission profile of diseases [10]. Thanks to studies on food sources, it is possible to learn about the behavior of hematophagous insects in various circumstances, as it is known that their behavior suffers modifications according to environmental alterations and the food that is available [6, 7]. Attraction to a certain host also suffers variation according to other aspects, such as host size and, as a consequence, the body surface that is exposed [11].

Techniques for the evaluation of food sources in hematophagous insects

In order to properly evaluate feeding habits, it is necessary to know the biology of the insect under scrutiny, the fauna of vertebrate hosts in the area and the environment in which it is found; this information will influence the choice of technique that is to be used, taking into consideration its advantages, disadvantages, sensitivity, specificity, cost, etc. [7].

Some of the most popular techniques are: (1) the use of animals as bait; (2) non-immunological methods (hemoglobin crystallization, histological slides and PCR – molecular analysis); and (3) immunological methods (precipitation tests, immune-enzymatic tests).

The use of animal (and even human) baits to collect insects has brought to light important information about the biology of these vectors, although it is currently admitted that laboratory-processed techniques can give more accurate answers about the feeding habits of insects, complementing the preliminary information collected in the field [12]. In a Technical Note, the Brazilian Ministry of Health allows the capture of *Anopheles* using human baits (a procedure in use since the 60's), because this is considered the only efficient method to target and evaluate the impact of entomology and control actions against malaria vectors, provided that the agents are equipped with personal protection equipment and that capture takes place before the blood meal [13]. It is important to note that the use of human baits with body and face exposure is currently not recommended by the Ethics Committees related to Human Research or by the World Health

Organization, as identification techniques for the type of blood ingested by pathogen-transmitting insects are constantly advancing [14].

In the hemoglobin crystallization method, the contents of the stomach are placed in contact with a saturated solution of ammonium oxalate, forming crystals. The controls are known samples of crystallized hemoglobin [15].

The use of histological sections of insect abdomens makes it possible to analyze the digestion process and the formation of the peritrophic membrane, thus making it possible to identify multiple meals [16].

The advent of DNA amplification has made it possible to use this important diagnostic tool to determine the origin of the food source, amplifying genes or small fragments that are later amplified and sequenced. Thanks to these characteristics, this technique is more sensitive and specific than the others.

In studies about the identification of food sources of arthropod vectors [17], the precipitin reaction has contributed to demonstrate the attraction between vectors and probable parasite hosts, in addition to improving the evaluation of the level of anthrophilia. Basically, immune-enzymatic tests are used on ingurgitated specimens or on those with some residual blood meal. According to the size of the insect under study, the evaluation can be carried out by dissecting its abdomen, in the case of small insects such as Phlebotominae, or the material can otherwise be collected on filter paper by squeezing the abdomen, as in the case of Triatominae.

Distinct procedures based on precipitation have been described [18, 19, 20] that can be carried out in liquid or gel [7].

Even though the technical specificity of precipitin was well known, new investments were made in new technologies that presented a higher level of sensitivity. This is how immune-enzymatic techniques (ELISA) came to be used to study the feeding habits of mosquitoes [21], Triatominae [7] and Phlebotominae [11, 22, 23, 24, 25, 26]. This technique is efficient due to its high specificity and sensitivity when compared to other food content evaluation methods [7, 27]. After the standardization of the technique executed by

Burkot [21], other modifications were introduced, such as direct ELISA, sandwich ELISA, competitive ELISA, DOT-ELISA and DOT-PAP [7].

Among the main techniques used to identify the feeding habits of insect vectors, the most widely used are precipitin and ELISA. The precipitin technique offers a few advantages: it is cheap, fast and, most importantly, easy to perform, although not very sensitive. It requires the use of large amounts of antiserum, and, in small insects with small amounts of blood collected, some studies prefer to use a pool of insects. Another drawback is that its reading is visual (without quantification), which makes it less reliable. On the other hand, the immune-enzymatic technique has greater sensitivity, and its specificity can be increased according to the cut off variation and the questions the study intends to address; its reading is more objective, and, as it requires only a small amount of antiserum, more varieties of possible reservoirs can be tested. It is, however, a complex technique that requires specialized training and has high initial costs.

Serologic methods have been criticized due to possible cross reactions and variations in sensitivity and specificity. The PCR technique minimizes these problems by using specific sequences – primers that can specifically identify each target (food source to be investigated). Among the selected targets are the genes used in phylogenetic studies [28], preserved sequences and with numerous copies.

Another advantage of the PCR technique is that, thanks to the use of different primers, it is possible to identify the food source and the presence of a natural infection in the same specimen. This joint identification, in particular in Phlebotominae studies, combines two important pieces of information, crucial for the study of the eco-epidemiology of the species, making it possible to generate important data for studies on the reservoirs of leishmaniasis.

A few studies with vectors of human pathogens

The analysis of *Anopheles gambiae* using polymerase chain reaction (PCR) and specific primers originated from individuals who took part in the study as human bait, showed that 35-39% of the profiles generated were identical to the

DNA of the subjects who had participated in the study [29]. The sensitivity of multiplex PCR for the detection of human blood was possible for up to 3 days following the blood meal of *Aedes aegypti*; as the mosquito can maintain its life cycle by feeding from other hosts, the authors suggested that the feeding pattern must be taken into consideration during the implementation of a control strategy [30]. Blood meal identification and the detection of avian malaria parasite from mosquitoes (Diptera: Culicidae) were done by polymerase chain reaction-based methods for field samples collected in coastal areas of Tokyo Bay, Japan. The obtained results gave evidence of direct contact between *Cx. pipiens pallens* and both resident and migratory birds infected with avian malaria parasites in Japan, suggesting this culicidae as the principal vector in transmission of the parasite in Japanese wild bird communities [31].

Microdot-ELISA, a variation of standard ELISA assays, successfully evaluated the “anthropophilic index” of *Anopheles subpicus*, *Anopheles culicifacies* and *Anopheles annulatus* [32], so that it was no longer necessary to use human bait to collect the insects.

By studying the feeding pattern of *Aedes albopictus*, [9] used the precipitin technique to screening the material and the ELISA technique to confirm the results. The females were fed in the laboratory with human and rabbit blood, and killed at different hours after the meal. The ELISA assay was capable of detecting positive samples in up to 30 hours after the meal. Studies applying a double-antibody enzyme-linked immunosorbent were conducted in order to determine the blood meal sources of adult mosquitoes (Diptera: Culicidae) from encephalitis vector surveillance mosquito traps in Western Australia. Besides, blood meals from a variety of vertebrate hosts were identified in different mosquitoes species and the results suggest that other mosquitoes, apart from *Ae. camptorhynchus* and *Cx. annulirostris* also may have a role in enzootic and/or epizootic transmission of arboviruses [33].

A few studies have been carried out that revealed important epidemiological aspects of chagas disease. Samples of *Triatoma rubrovaria*, collected

at Quaraí (RS, south of Brazil), infected with *Trypanosomatidae* and analyzed with the precipitin test, showed positivity for rodent, goat, pig and human antiserum. These findings confirm the eclectic feeding habits of this species, an epidemiologically important piece of information, and highlight the need for surveillance as this is a wild species that lives near human-inhabited areas, having taken the place of *Triatoma infestans* [34]. Samples of *T. infestans* collected in Bolivia, an area with high levels of human infection, were analyzed using PCR. Results showed that 48% of the samples had fed from more than one source and preferred domestic (dogs) and peridomestic (birds and pigs) animals. From the epidemiological point of view, the results confirmed the importance of domestic and peridomestic animals in the dynamics of infection by *Tripanossoma cruzi*, as well as in the regulation of the dispersion of *T. infestans* in the region. [35].

Evaluating the ecological parameters of *Triatoma brasiliensis* in the Brazilian north-eastern state of Ceará, in dry and rainy seasons alike, ELISA tests found that the main sources of food were birds and armadillos, and were more frequent in the rainy season. This result, together with the lower nutritional pattern, low infection rates and easier capture, resulting in an increased demand for blood meals in the dry season, highlighted the importance of epidemiological interventions and defined the period in which Triatominae tend to invade the peridomestic environment more intensely, in search of food and possibly in an attempt to re-colonize artificial structures [36].

The sandflies and leishmaniasis

Sand flies are natural vectors of some etiological agents of human and animal diseases, such as protozoa of the genus *Leishmania* and other trypanosomatids, bacteria of the genus *Bartonella* and numerous arboviruses [37].

Leishmaniasis are protozoonoses, caused by protozoa flagellate heteroxenos of the genus *Leishmania* (Ross 1903) (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). They are transmitted through the bite of sand flies, order Diptera, family Psychodidae and subfamily Phlebotominae, of the genus *Lutzomyia* in the Americas and

Phlebotomus in the Old World (Young & Duncan 1994). These diseases are major public health problems, affecting men, women and children, lying, overall, among the six most important parasitic diseases on the world; they are also considered neglected diseases [14]. In the New World, are occurring as American Cutaneous Leishmaniasis (ACL) which has a distinct pattern of clinical features (cutaneous, mucosa, mucocutaneous, and anergic diffuse), and American Visceral Leishmaniasis (AVL) with tropism of the parasite to the mononuclear phagocytic system of the spleen and liver, leading to hyperplasia and hypertrophy of these organs [38,39].

In Brazil, leishmaniasis, are included in the National System of Compulsory Notification Diseases/SNDC, by the Ministry of Health, and are present in all the federal units. Over the past twenty years, its incidence has been increased in all Brazilian States [40, 38, 39], clearly showing a process of expanding to major cities [14].

Importance of the evaluation of feeding habits of phlebotominae

Knowing the feeding pattern of these flies is very important in the understanding of the eco-epidemiology of leishmaniasis, as it makes it possible to comprehend the interactions between the links of the epidemiological chain. The result is a significant contribution from the epidemiological point of view and in the research into likely leishmaniasis hosts, other than getting to know the level of anthropophilia of the species.

As Brazil has been facing an expansion of ACL and AVL, the latter having a high mortality rate, it is crucial to acquire knowledge regarding the determining factors of these new epidemiological profiles. The evaluation of the feeding habits of Phlebotominae vectors provides important information regarding their attraction to potential reservoirs, which, of course, would be a part of the enzootic cycle, or others that presumably help maintain the epidemiological chain in the rural and/or urban environments. It is important to highlight that the role of some species of mammals is still under discussion regarding their ability to occupy and establish themselves in new areas, contributing to the alterations in the transmission profile and in its expansion process [38, 39].

About the feeding habits of phlebotominae

Some studies carried out in the Old and New World about food sources for adults should be highlighted, as they have provided important information from the epidemiological point of view.

Precipitin studies carried out in the west of Bengal (India) revealed that *Phlebotomus argentipes*, a vector of visceral leishmaniasis in the country, and originally a zoophilic species, can now be found in households, and prefers to feed on humans, mostly in areas in which no bovines are found. The authors alerted to the fact that the behavioral changes described may influence the occurrence of outbreaks in the region [41].

Phlebotomus perniciosus, one of the species responsible for the transmission of *Leishmania*, were collected in four different places in Spain and submitted to an ELISA test (avidin-biotin method). The species showed an opportunistic behavior, feeding on whatever animals were more readily accessible. However, a few trends were observed: the species did not feed on birds and showed high positivity for canine antiserum, higher than expected, based on the dog-human ratio. The authors pointed out that the composition of the local fauna plays a very important role in the dynamics of the transmission of *Leishmania*; in peri-urban areas the risk of transmission to humans is higher, as humans are the most numerous vertebrate, while in rural areas the *Leishmania*-human transmission is reduced because of the presence of several other mammals, besides a higher number of dogs [22].

Studies were carried out in Kenya, using animal baits to capture *Phlebotomus guggisbergi*, vector of *Leishmania tropica*, causative agent of CL in Laikipia. The purpose was to identify its rural reservoir. Goats and sheep proved to be the most attractive reservoirs, while small mammals such as hamsters and hyraxes were the least attractive. The authors concluded that larger animals were proportionally more attractive to females of this species. Although the study did not reveal non-human reservoirs, it provided evidence for further investigation [42].

In a study conducted in the province of Macerata, in Italy, the ELISA technique detected specimens of *P. perniciosus* which had fed on humans, dogs,

horses, sheep and birds; *Phlebotomus perfiliewi* on dogs, horses, sheep and birds; and *Phlebotomus papatasi* on dogs, horses and birds. Ninety-five percent of the specimens had fed on the animals in the shelter where they had been gathered, showing that the choice of food source was related to its availability (size and number) and not to a specific level of attractiveness. The feeding habits of these leishmania vectors have epidemiological implications (in urban and peri-urban areas), as the females can seek other sources of food, such as humans and dogs, whenever other hosts are unavailable [43]. Studies in outbreak sites of CL in Sanliurfa, Turkey, using the ELISA technique, showed the feeding preferences of *Phlebotomus sergenti* and *P. papatasi*. Both species proved to be attracted to birds and mammals, in particular rodents, which are abundant in the households and play an important role in the circulation of the parasite [44].

In a study conducted in Nepal, an endemic area of VL, specimens of *P. argentipes*, the only VL vector described on the Indian subcontinent, were fed with human and hamster blood and submitted to blood testing using ELISA and precipitin techniques. The ELISA assay proved to be more sensitive and specific, with 100% of sensitivity up to 72 hours after the meal, while in the precipitin technique this value drops to 48 hours. The understanding of the feeding behavior of this vector can be used in local intervention programs [45].

By analyzing the species *Phlebotomus perfiliewi transcaucasicus* using the RFLP-PR technique, employing regions of cytochrome B of mitochondrial DNA (Xho I and Hae III), it was possible to differentiate human feeding from that on other vertebrates (cows and dogs), showing their epidemiological role in Iran [46].

Due to its natural shelters, lower flying patterns and low anthropophilic tendency, it is known that *Lutzomyia flaviscutellata* prefers to feed on rodents [47, 48], which allows for a more efficient collection method in which rodents are ideal bait [49, 50, 51] in Disney traps [47]. This kind of trap is recommended for epidemiological studies in situations in which human cases were recorded in areas of transmission of *Leishmania (L.) amazonensis*, [39]. In Mato Grosso do Sul, in

central Brazil, modified Disney traps successfully captured *Bichromomyia flaviscutellata* (second most prevalent species, corresponding to 41.4% of the specimens collected) using a rodent as bait (*Mesocricetus auratus*). The finding of vector *B. flaviscutellata* and of *L. (L.) amazonensis* (isolated from sentinel hamsters) can be considered a prediction factor for the occurrence of leishmaniasis in the local population.

Using animal bait, such as marsupials, birds, reptiles and rodents, other than taking into consideration the samples that bit the collectors during studies carried out in the National Park of Serra dos Órgãos, in the southern state of Rio de Janeiro, it was observed that cockerels and men were the most attractive bait for *Lutzomyia ayrozai* and *Lutzomyia hirsuta*; most bites took place near ground level and mostly between 5 p.m. and midnight [52]. These species have been related to the transmission of ACL in other parts of Brazil [53, 54, 55]. On the São Luís Island (in the northern state of Maranhão), Carvalho *et al.* [56] successfully used chicken as bait to collect Phlebotominae; it is known that chicken coops near houses attract Phlebotominae and function as incubators; these factors contribute to closer contact between vectors and humans, as they facilitate vector domiciliation.

In Panama, Tesh *et al.* [57] observed that *Lutzomyia shannoni* is strongly attracted to rodents and toothless mammals, while *Lutzomyia ylephiletor* (or *ylephiletrix*) was only attracted to toothless mammals. They also found in *Lutzomyia vespertilionis* a reaction against the antiserum of bats. In the central Amazonia region, specimens of the *shannoni* group were mostly found to have fed on sloths [58], a fact with high epidemiological significance as sloths are reservoirs of *Leishmania guyanensis* in Panama.

In Peru, Ogosuku *et al.* [59] observed the eclectic feeding habits of *Lutzomyia peruensis* and *Lutzomyia verucarum*, although the former proved to be more anthrophilic; from among the samples with different food sources, most specimens had fed on sources that usually remain inside the house and on a second source located outside the house. Multiple feedings are a consequence of the difficulty faced by some species in obtaining a full meal from a single host.

This characteristic is an important transmission factor for leishmaniasis.

Studies conducted in the town of Mandaguari (Paraná, southern Brazil) showed that *Nyssomyia whitmani*, *Pintomyia fischeri*, *Migonemyia migonei*, *Nyssomyia neivai* did not present particular preferences among the available bait (pig, dog, rabbit and chicken), once again confirming the opportunistic character of female Phlebotominae, which probably adjust their feeding habits to the available hosts. This suggests eclectic feeding habits in anthropic environments [60]. In Baturité, in the Brazilian state of Ceará, an outbreak area of ACL, a study proved the hematophagous activity of *Lutzomyia whitmani* and *Lutzomyia migonei*. Although both species had fed on humans, *L. whitmani* was more frequent on this bait, while *L. migonei* was more abundant during collections using animal bait (horses). This hematophagous behavior, together with the presence of naturally infected specimens, suggested that these two species function as ACL vectors in the region [61, 62, 55].

In Axixá, a community with one of the highest rates of human ACL cases in the northern state of Maranhão, specimens of *L. (N.) whitmani*, the main vector of ACL in the state, were collected. Using the precipitation technique, a study was conducted to understand the feeding preferences of this species. The results showed a higher attraction for chickens, rodents and mainly humans, other than domestic and synanthropic animals, which play an important role in the transmission cycle of ACL and explaining the cases of this disease in the city [63].

Specimens of *Lutzomyia umbratilis* collected in the northern state of Amazonas were analyzed using the precipitin method, and were mostly positive for rodent blood, unlike previous reports that showed that this species was attracted to sloths [64].

In the state Rio de Janeiro, Afonso *et al.* [65] while studying *Lutzomyia (N.) intermedia*, a vector of ACL, observed positivity in the domestic and peri-domestic environment for the antiserum of rodents, birds, dogs, horses and humans, a proof of the eclectic feeding habits of this vector. In both environments, higher positivity

was found for rodents, showing the species' intense attraction to these animals, suggested as possible primary reservoirs of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in the north-eastern state of Pernambuco [66].

In a study conducted in Buriticupu, in the Amazon, an area of ACL transmission, the precipitin test applied resulted in 87.6% of simple reactions, 8% of double reactions and 4.4% of non-reactive tests. The authors believe that the finding of samples containing, at the same time, human blood, blood of synanthropic animals (rodents and mucus) and domestic animals (dogs and horses) confirms the hypothesis that transmission occurs in this peri-domestic environment, which explains the occurrence of autochthonous human cases of ACL in the region [67].

Morrison *et al.* [68] while working in Colombia, an endemic area for CL, showed the opportunistic character of *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*, as well as its low anthrophilic nature and its attraction for dogs, considered to be, intermediate hosts of AVL. Females of *L. (L.) longipalpis* collected in the city of Raposo, in the state of Rio de Janeiro, were analyzed using the precipitin technique. Birds (chickens) were found to be the most reactive animals [69]. Alexander *et al.* [70] described how attractive birds are to male and female specimens of *L. (L.) longipalpis*. Although birds are refractory to *Leishmania*, they function as food sources for Phlebotominae and attract potential reservoirs of *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* closer to residences, making the installation and maintenance of the transmission cycle possible in the rural environment and near city suburbs [71].

Data from research studies in Araçatuba, in the state of São Paulo, regarding the food sources of *L. (L.) longipalpis* analyzed using the precipitin technique, revealed that 91.4% of reactive samples were positive for canine blood. This fact was correlated to the abundance of this mosquito and to the presence of dogs in the peri-domestic environment. The epidemiological role of dogs in the transmission chain of AVL in Araçatuba is very significant, considering that the canine enzootic precedes transmission to humans. It is also important to highlight that this species shows a high level of attraction to dogs [72].

Marassá *et al.* [23] detected the efficacy of the avidin-biotin method in female specimens of *L. (L.) longipalpis*, laboratory fed, between 12 and 24 hrs, after the meal. According to the authors, the test can be successfully used to identify the source of food, as females can be found in nature during the process of blood digestion (an amount of blood similar to the one used in the experiments).

In an analysis made with specimens of *L. (L.) longipalpis* from Campo Grande, an endemic area for AVL, Oliveira *et al.* [73] used the ELISA immune-enzymatic test (avidin-biotin) to show the opportunistic and eclectic character of this mosquito and the factors that maintained the transmission of *L. (L.) infantum chagasi*. They also suggested new investigations regarding the actual role played by dogs in the VL epidemiology in this area, and the possibility that man is a source of infection for mosquitoes, as high levels of positivity were found for human antiserum.

Afonso *et al.* [26], analyzing populations of *L. (L.) longipalpis* from the north-east of Brazil (Jequié, in the state of Bahia; Teresina, capital of the state of Piauí; Sobral and Massapê, in the state of Ceará), used the ELISA technique to verify significant percentages of positivity for bird antiserum. Specimens were found that had fed on humans, dogs (domestic VL reservoirs) and opossums (synanthropic animals, possible reservoirs of *Leishmania (L.) infantum chagasi*). The finding of reactivity for more than one source of blood was common, confirming the eclectic feeding behavior of this species, suggested as an adaptation factor to different habitats. In the same study location, Deane [74] found proof of the role of dogs as important reservoirs of *L. (L.) infantum chagasi* and as a source of infection for *L. (L.) longipalpis*, after carrying out xenodiagnosis in infected dogs. In several VL transmission areas, epidemiological evidence shows that dogs are domestic reservoirs [71]. Silva *et al.* [75], while performing studies on the vectorial competence of *L. (L.) longipalpis* in the area of Bela Vista, in the north-eastern city of Teresina, found 1.1% of infected female specimens, relating these data to the existence of dogs with VL in the surrounding areas.

According to the studies of Afonso *et al.* [26], a significant fact was the finding of females of *L. (L.) longipalpis*, from Jequié (in the state of Bahia), Sobral and Massapê (in the state of Ceará), that were positive for opossum antiserum. This information requires further detailed analysis, as the opossum *Didelphis albiventris* has been suggested as a possible reservoir of *L. (L.) infantum chagasi* according to isolated samples obtained in Jacobina (Bahia), in which 2 animals out of 84 were found to be positive. For some authors, this is not epidemiologically significant [76, 77], although other, later studies reported the natural infection of *Didelphis marsupialis* by *Leishmania* spp., possibly *L. (L.) infantum chagasi*, therefore taking into consideration the role of these mammals as potential reservoirs for VL [78, 79, 38].

Heouas *et al.* [28] studying the food sources of *Phlebotomus duboscqi*, used a single copy PNOC gene (prepronociceptin gene) and mitochondrial cytochrome B. These genes were selected for their use in phylogenetic studies in different mammalian species and proved to be good targets for studying the origin of the food contents of sucking insects. The analyzes were performed with insects fed on humans and wild mammals, demonstrating that this analysis can generate important information in the study of new reservoirs and allow a better understanding of complex parasite life cycles.

Sant'Anna *et al.* [80], used a multiplex PCR to identify food sources and natural infection by *Leishmania* in specimens of *L. (L.) longipalpis*

collected in an endemic area of AVL in Brazil. The results showed a clear attraction of specimens to birds (probably chicken), an important determinant factor in the urbanization process of the disease [70], considering the proximity to chickens as a risk factor of transmission to man [81, 82, 83]. The greater sensitivity of the method reported here means that information can be obtained from specimens that have ingested relatively small amounts of blood [80].

A very recent study of DNA samples isolated from engorged *Psychodopygus lloydi*, using cytochrome b gene (cytB) in polymerase chain reaction (PCR), discussed the importance of using this methodologies as a tool for identifying the food sources of female sand flies [84].

CONCLUSION

Among the techniques mentioned here, the immunological are still the most widely used (Precipitin and ELISA), although the PCR technique, has been employed more often. All these techniques give good results, varying in sensitivity and specificity; however several parameters must be considered (Table 1). The knowledge of feeding habits of insects of medical importance, not only contribute to the increase of information on their habits, but can provide important epidemiological evidences. In the context of leishmaniasis, probably the adaptation of sand fly vector to new habitats, in part is due to feeding plasticity which could be a determinant in the process of expansion and urbanization of the disease and the emergence of new epidemiological profiles.

Table 1. Main characteristics of techniques: Precipitin, ELISA and PCR.

Techniques	Precipitin	Elisa	PCR
Characteristics			
Sensibility	Variable	High	High
Specificity	Variable	High/Variable	High
Processing	Simple	Complex	Complex
Diagnosis	Fast	Fast	Fast/Variable
Cost	Low	High	High
Reading	Subjective	Objective/Quantified	Objective/Quantified
Amount of antisera	High	Low	Low

REFERENCES

1. Ruppert, E. E. and Barnes, R. D. 1996, São Paulo, Toca (Ed.), 1029.
2. Félix, M., Almeida, C. E., Serra-Freire, N. M. and Costa, J. 2010, Otten (Ed.), Rio de Janeiro, Brasil, 375.
3. Rey, L. 1991, Rio de Janeiro, Ganabara Koogan (Ed.), 731.
4. Lourenço-de-Oliveira, R. 2005, Guanabara Koogan (Ed.), Rio de Janeiro, 2096.
5. Edman, J. D., Weber, L. A. and Kale, H. W. 1972, *J. Méd. Entomol.*, 9, 429-434.
6. Boreham, P. F. L. and Garret, J. C. 1973, *Bull Who*, 48, 605-614.
7. Duarte, R. 1997, IOC-FIOCRUZ, 103.
8. Ngumbi, P. M., Lawyer, P. G., Johnson, R. N., Kiilu, G. and Assiago, C. 1992, *Med. Vet. Entomol.*, 6, 385-388.
9. Savage, H. M., Niebylski, M. L., Smith, G. C., Mitchell, C. J. and Craig Jr. G. B. 1993, *J. Med. Ent.*, 30, 27-34.
10. Gomes, A. C. 2002, *Informe Epidemiológico do SUS*, 11, 79-80.
11. Quinnell, R. J., Dye, C. and Shaw, J. J. 1992, *Vet. Entom.*, 6, 195-200.
12. Dias-Sversutti, A., Scodro, R. B., Reinhold-Castro, K. R., Neitzke, H. C. and Teodoro U. 2007, *Neotrop. Entomol.*, 36, 953-959.
13. Brasil Ministério da Saúde, 2006, Brasília, Ministério da Saúde (Ed.), 52.
14. Organização Mundial de Saúde, 2011, <http://www.who.int>.
15. Washino, R. K. and Else, J. G. 1972, *Am. J. Of Trop. Med. Hyg.*, 21, 120-122.
16. Rosemser, W. S., Edman, J. D., Lornz, L. H. and Scott, T. 1989, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 41, 737-742.
17. Bull, C. G. and King, W. V. 1923, *Am. J. Hyg.*, 3, 491-496.
18. Siqueira, A. F. 1960, *Rev. Inst. Med. Trop.*, 2, 294-297.
19. Crans, J., Duarte, R. and Msrchon, S. 1995, *Mosq. News*, 29, 563-566.
20. Tesh, R. B., Chaniotis, B. N., Aranson, M. D. and Jahnson, K. M. 1971, *J. Trop. Med. Hyg.*, 20, 150-156.
21. Burkot, T. R., Goodman, W. G. and Defoliart, G. R. 1981, *Am. J. Trop. Hyg.*, 30, 1336-1341.
22. Colmenares, M., Portús, M., Botet, J., Dobaño, C., Gállego, M., Wolff, M. and Seguí, G. 1995, *J. Med. Entomol.*, 32, 229-233.
23. Marassá, A. M., Consales, C. A. and Galati, E. A. B. 2004, *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 37, 441-446.
24. Afonso, M. M. S. 2008, Universidade Federal de Viçosa, 88.
25. Afonso, M. M. S., Duarte, R., Miranda, J. C., Souza, L. C. and Rangel, E. F. 2008, 6th International Symposium ons Phelebotomine Sandflies, Peru.
26. Afonso, M. M., Duarte, R., Miranda, J. C., Caranha, L. and Rangel, E. F. 2012, *J. Trop. Med.*, ID 858657, doi:10.1155/2012/858657.
27. Gomes, L. A. M., Duarte, R., Lima, D. C., Diniz, B. S., Serrão, M. L. and Labarthe, N. 2001, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 96, 693-695.
28. Heouas, N., Pesson, B., Boudabous, R., Dedet, J. P., Babba, H. and Ravel, C. 2007, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 77, 1054-1059.
29. Gokool, S., Curtis, C. F. and Smith, D. F. 1993, *Med. Vet. Entomol.*, 7, 208-205.
30. Siriyaasatien, P., Pengsakul, T., Kittichai, V., Phumee, A., Kaewsaitiam, S., Thavara, U., Tawatsin, A., Asavadachanukorn, P. and Mulla, M. S. 2010, *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 41, 43-47.
31. Kim, K. S., Tsuda, Y. and Yamada, A. 2009, *J. M. Entomol.*, 46, 1231-1234.
32. Roy, A. and Sharma, V. P. 1991, *J. Am. Control. Assoc.*, 7, 11-14.
33. Johansen, C. A., Power, S. L. and Broom, A. K. 2009, *J. of Med. Entomol.*, 46, 1167-1175.
34. Martins, L. P., Castanho, R. E., Casanova, C., Caravelas, D. T., Frias, G. T., Ruas-Neto, A. L. and Rosa, J. A. 2006, *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 39, 198-202.
35. Pizarro, J. C. and Stevens, L. 2008, *PLoS One*, 3, 3585.
36. Sarquis, O., Carvalho-Costa, F. A., Oliveira, L. S., Duarte, R. D., Andrea, P. S., de Oliveira, T. G. and Lima, M. M. 2010, *J. Vector. Ecol.*, 385-394.
37. Shaw, J., Rosa, A. T. and Souza, A. 2003, FIOCRUZ (Ed.), Rio de Janeiro, Brasil, 337-352.
38. Brasil Ministério da Saúde, 2006, Brasília, Ministério da Saúde (Ed.), 120.

39. Brasil, Ministério da Saúde, 2007, Brasília, Ministério da Saúde (Ed.), 182.
40. Rangel, E. F. 1995. *Tropical Disease, Society and the Environment*, 2, 103-110.
41. Das, S., Boreham, P. F. and Bhattacharya, N. C. 1976, *Indian J. Med. Res.*, 64, 1307-1313.
42. Johnson, R. N., Ngumbi, P. M., Mwanyumba, J. P. and Roberts, C. R. 1993, *Vet. Entomol.*, 7, 216-8.
43. Bongiorno, G., Habluetzel, A., Khoury, C. and Maroli, M. 2003. *Acta Trop.*, 88, 109-16.
44. Svobodová, M., Sádlová, J., Chang, K. P. and Volf, P. 2003, *Microbes Infect.*, 5, 361-4.
45. Burniston, I., Roy, L., Picado, A., Das, M., Rijal, S., Rogers, M., Coosemans, M., Boelaert, M., Davies, C. and Cameron, M. 2010, *J. Med. Entomol.*, 47, 902-906.
46. Mohammad, A., Oshaghi, N. M. R., Ezat-Aldin, J., Mehdi, M., Homa, H., Zabiholah, Z., Fatemeh, M. and Yavar, R. 2012, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 81, 4572-4577.
47. Disney, R. H. L. 1966. *Bull. of Entomol. Research*, 56, 445-451.
48. Lainson, R. and Shaw, J. J. 1968, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 62, 385-395.
49. Shaw, J. J. and Lainson, R. 1968, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 62, 396-405.
50. Shaw, J. J., Lainson, R. and Ward, R. D. 1972, *Trans. of the Royal Society of Tropical Med. and Hyg.*, 66, 718-723.
51. Rangel, E. F. and Lainson, R. 2003, *Rio de Janeiro, FIOCRUZ (Ed.)*, 291-310.
52. de Aguiar, G. M. and Soucasaux, T. 1984. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 79, 197-209.
53. Arias, J. R., Miles, M. A., Naiff, R. D., Pova, M. M., de Freitas, R. A., Biancardi, C. B. and Castellon, E. G. 1985, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 34, 1098-1108.
54. Lainson, R., Shaw, J. J., Silveira, F. T., Braga, R. R. and Ishikawa A. Y. 1990, *An. Paras. Hum. Comp.*, 65, 282-284.
55. Rangel, E. F. and Lainson, R. 2009, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, 104, 937-54.
56. Carvalho, M. L., Rebêlo, J. M. M., Araújo, J. C. and Barros, V. L. L. 2000, *Entomol. Vectores*, 7, 19-32.
57. Tesh, R. B., Chaniotis, B. N., Aranson, M. D. and Jahnson, K. M. 1971, *J. Trop. Med. Hyg.*, 20, 150-156.
58. Christensen, H. A., Alias, J. A., Vasquez, A. M. and Freitas, R. A. 1982. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 31, 239-242.
59. Ogosuku, E., Perez, J. E., Paz, L., Nieto, E., Monje, J. and Guerra, H. 1994. *Ann. Trop. Med. and Parasitol.*, 88, 329-335.
60. Muniz, L. H. G., Rossi, R. M., Neitzke, H. C., Monteiro, W. M. and Monteiro, U. 2006. *Rev. Saúde Pública*, 40, 1087-1093.
61. Azevedo, A. C., Rangel, E. F., Costa, E. M., David, J., Vasconcelos, A. W. and Lopes, U. G. 1990. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 85, 251.
62. Azevedo, A. C. and Rangel, E. F. 1991, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 86, 405-10.
63. Fonteles, R. S., Vasconcelos, G. C., Azevêdo, P. C., Lopes, G. N., Moraes, J. L., Lorosa, E. S., Kuppinger, O. and Rebêlo, J. M. 2009. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 42, 647-50.
64. Nery, L. C. R., Lorosa, E. S. and Franco, A. M. R. 2004, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 99, 571-574.
65. Afonso, M. M., Gomes, A. C., Meneses, C. R. and Rangel, E. F. 2005, *Cad. Saúde Pública*, 21, 1816-1820.
66. Brandão, S. P., Brito, M. E., Carvalho, F. G., Ishikawa, E., Cupolillo, E., Floeter-Winter, L. and Jefferey, J. 2003, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 97, 291-296.
67. Oliveira-Pereira, Y. N., Moraes, J. L. P., Lorosa, E. S. and Rabelo, J. M. M. 2008, *Cad. Saúde Pública*, 24, 2183-2186.
68. Morrison, A. C., Ferro, C. and Tesh, R. B. 1993, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 49, 68-75.
69. Dias, F. O., Lorosa, E. S. and Rebêlo, J. M. 2003, *Cad. Saúde Pública*, 19, 1373-1380.
70. Alexander, B., Carvalho, R. L., McCallum, H. and Pereira, M. H. 2002. *Emerg. Infect. Dis.*, 8, 1480-1485.
71. Lainson, R. and Rangel, E. F. 2005, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 100, 811-827.
72. Camargo-Neves, V. L. F., Rodas, L. A. C. and Gomes, A. C. 2007, *Bol. Epidemiológico Paulista*, 4, 2-7.
73. Oliveira, G. O., Marassá, A. M., Consales, C. A., Dorval, M. E. C., Fernandes, C. E., Oliveira, G. R., Brazil, R. P. and Galati, E. A. B. 2008, *Acta Tropica*, 107, 238-241.
74. Deane, L. M. 1956. *Brasil, Serviço Nacional de Educação Sanitária*, 162.

75. Silva, J. G. D., Werneck, G. L., Cruz, M. S. P., Costa, C. H. N. and Mendonça, I. L. 2007, *Cad. Saúde Pública*, 23, 1715-1720.
76. Sherlock, I. A., Miranda, J. C., Sadigursky, M. and Grimaldi, Jr. G. 1984, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 7, 511.
77. Sherlock, I. A., Miranda, J. C., Sadigursky, M. and Grimaldi, Jr. G. 1988, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 83, 141.
78. Schallig, H. D., da Silva, E. S., Van Der Meide, W. F., Schoone, G. J. and Gontijo, C. M. 2007, *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 7, 387-393.
79. Cabrera, M. A. A., Paula, A., Camacho, L. A. B., Marzochi, M. C., Xavier, S., Silva, A. V. M. and Jansen, A. M. 2003, *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 45, 79-83.
80. Sant'anna, M. R., Jones, N. G., Hindley, J. A., Mendes-Sousa, A. F., Dillon, R. J., Cavalcante, R. R., Alexander, B. and Bates, P. A. 2008, *Acta Trop.*, 107, 230-237.
81. Lainson, R. 1988, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 31, 389-404.
82. Genaro, O. 1993, Belo Horizonte, UFMG.
83. Caldas, A. J., Costa, J. M., Silva, A. A., Vinhas, V. and Barral, A. 2002, *Soc. Trop. Med. Hyg.*, 96, 21-28.
84. Quaresma, P. F., Carvalho, M. L., Ramos, M. C. N. and Andrade Filho, J. D. 2012, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 107, 480-485.

A U T O R I Z A Ç ã O

Autorizo a EDITORA FIOCRUZ a publicar o texto de minha autoria, intitulado *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis: Fatores Associados ao Processo de Expansão e Urbanização da Leishmaniose Visceral Americana* como parte da obra “Leishmanioses do Continente Americano”, sob organização de Fátima da Conceição Silva e Carlos Roberto Alves.

Neste mesmo ato e por este instrumento autorizo Fátima da Conceição Silva e Carlos Roberto Alves a negociarem junto à EDITORA FIOCRUZ, da forma que lhes convier, os direitos patrimoniais sobre a obra acima referida, inclusive assinando em meu nome.

Rio de Janeiro, 28 de janeiro de 2013.

Nome: Margarete Martins dos Santos Afonso

CPF: 086730017-57

***Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*: Fatores Associados ao Processo de Expansão e Urbanização da Leishmaniose Visceral Americana**

Maurício L. Vilela, Margarete M. S. Afonso, Simone M. Costa, Wagner A. Costa & Elizabeth F. Rangel.

Laboratório de Transmissores de Leishmanioses, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ

Introdução

A leishmaniose visceral americana (LVA) tornou-se uma das doenças mais importantes no Brasil no contexto atual, devido a sua incidência com caráter de evolução crônica e envolvimento sistêmico resultando em alta letalidade, sobretudo em indivíduos não tratados e crianças desnutridas devido à baixa condição socioeconômica. Além disso, é considerada emergente em indivíduos portadores de infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida¹.

Outro fator preponderante para o agravamento da situação da LVA no Brasil está relacionado ao processo de urbanização que a doença começou a apresentar no início da década de 80, situação distinta do padrão dito clássico, onde os determinantes estavam fortemente relacionados aos aspectos socioeconômicos das populações acometidas pelo agravo. Como consequência, nesse novo cenário, foi necessário incorporar outras abordagens para o enfrentamento da situação, onde os aspectos relacionados à vigilância entomológica ganharam um papel destacado frente a essa realidade. Vale mencionar que, diante do novo padrão de transmissão, as ações focadas para o controle da LVA no ambiente urbano tornaram-se problemas de premente necessidade em sua resolução. A maioria dos casos humanos está ocorrendo em municípios de médio e grande porte no país, envolvendo diferentes aspectos que contribuem para o surgimento de novos casos; neste contexto estão áreas submetidas a desordens ambientais, pela ocupação do espaço, relacionadas às invasões em áreas periurbanas, com o estabelecimento de moradias precárias decorrentes de processos migratórios. É importante frisar que essa mobilidade das populações humanas pode ser um fator importante no contexto das doenças transmitidas por vetores, uma vez que pode modular a exposição aos vetores e, consequentemente, a transmissão de patógenos. Este aspecto transcende a relação espaço e tempo, resultando em interferências sobre a dinâmica de doenças, como exemplo a dengue, mas que pode ser

inferido no tocante a LVA². É digno de destaque que além das potenciais situações citadas, o contexto ambiental favorece o estabelecimento dos elos da cadeia epidemiológica.

Desenvolvimento

A LVA é uma doença grave que tem revelado expressiva expansão geográfica no Brasil. Há décadas passadas seu foco era voltado principalmente para os estados das regiões Nordeste e Norte do país. Atualmente, devido a vários fatores, ganha importância nas regiões Sudeste e Centro Oeste, além da situação recente de registros de casos humanos na fronteira do Brasil com a Argentina, no município de São Borja, estado do Rio Grande do Sul¹. Na América Latina já foi descrita em doze países, e o Brasil está entre os países que mais contribui com o número de casos humanos no mundo¹.

O agente etiológico da LVA no Continente Americano é a *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*, o principal vetor é *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*³ (Lutz & Neiva, 1912), espécie que reúne fortes evidências quanto à sua competência vetorial, assim como está intimamente ligada ao processo de expansão da doença, já que revela ampla distribuição geográfica nas Américas; no Brasil, até o momento, não foi registrado nos estados do Acre, Amazonas, Amapá, Rondônia e Santa Catarina (Figura 1), se constituindo num flebotomíneo que mostra forte adaptação aos ambientes modificados pela ação antrópica.

As primeiras contribuições relevantes para o estudo da epidemiologia da LVA no Brasil relativas ao vetor foram obtidas em pesquisas conduzidas por Deane & Deane no Estado do Ceará: o achado de “leptomonas”, possivelmente *L. (L.) infantum chagasi*, em espécimes de *L. (L.) longipalpis*; a constatação de que a distribuição espacial do vetor coincidia com os sítios de transmissão da doença, já que este flebotomíneo correspondia a 97% dos exemplares capturados, com elevada incidência nos domicílios das áreas de transmissão⁴.

Os estudos pioneiros sobre a epidemiologia da LVA no Ceará descreveram raposas infectadas com amastigotas, além da forte atração que exerciam sobre os flebotomíneos, que se tornavam infectados, sugerindo serem estes mamíferos reservatórios primários da LVA. Também, foi demonstrado através de xenodiagnóstico que *L. (L.) longipalpis* picava avidamente cães, observando que cerca de 30% dos flebotomíneos se infectaram, sendo

este aspecto relevante para sugerir o cão como importante fonte de infecção para o vetor no ambiente domiciliar⁵.



Figura 1 – Distribuição geográfica de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* no Brasil
Fonte: LTL/IOC/FIOCRUZ

Posteriormente, evidências reforçaram a competência vetorial de *L. (L.) longipalpis*, através da transmissão experimental de *L. (L.) infantum chagasi*, pela picada (hamster a hamster)⁶ e, ainda, no Estado do Pará, detectaram taxa de infecção natural de flebotomíneos variando entre 7% a 14%, sendo os exemplares de *L. longipalpis* capturados nas moradias onde residiam pessoas e cães doentes⁷.

No Brasil, *L. (L.) longipalpis* é também o principal vetor de LVA em todas as regiões, sendo registrado nos seguintes estados: Alagoas, Bahia, Ceará, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Rondônia, Roraima, São Paulo e Tocantins². Investigações recentes desenvolvidas no

estado do Paraná registraram o encontro do vetor na área urbana do município de Foz do Iguaçu⁸.

A LVA no Brasil tem apresentado mudanças importantes no padrão de transmissão, em virtude das alterações ambientais, não apenas decorrentes dos impactos naturais, mas também como consequência de ações antrópicas, intenso fluxo migratório de populações, um componente socioeconômico importante neste contexto, ocasionando transformações e degradação nos ecossistemas.

Inicialmente, a doença tinha um caráter eminentemente rural, mas a partir da década de 80 iniciou um processo de expansão para áreas urbanas de médio e grande porte^{9,10,11}. Nos anos 80, surtos de LVA em Teresina e São Luís motivaram o desenvolvimento de estudos epidemiológicos, em parte focados para *L. (L.) longipalpis*. No estado do Piauí, com a propagação da doença, a área urbana de Teresina registrou um grande número de casos em humanos, confirmando em seguida a concentração da doença dentro dos limites da cidade. *Lutzomyia (L.) longipalpis* foi registrado dentro das habitações humanas, o que suscitou a hipótese de uma correlação positiva entre o número de casos humanos e índice de infestação do vetor. Em 1994, espécimes de *L. (L.) longipalpis* infectados foram capturados em Teresina, no ambiente urbano^{12,13,14}. Posteriormente, *L. (L.) longipalpis* pôde ser capturado em habitações humanas em várias regiões do Piauí, demonstrando claramente sua adaptação ao ambiente urbano¹⁵.

O surto de LVA em São Luís, Maranhão, em 1983, incrementou as pesquisas sobre o vetor, demonstrando a antropofilia de *L. (L.) longipalpis* bem como o registro de espécimes naturalmente infectados com promastigotas do tipo Suprasyllaria, sugeridas como *Leishmania* sp. Desde então, vários estudos voltados para o vetor de LVA indicaram que *L. (L.) longipalpis* encontrava-se adaptado ao ambiente domiciliar^{16,17}.

Certamente, Mato Grosso do Sul é um dos estados onde a LVA representa um sério problema de saúde pública, denotando um caráter endêmico desde 1980 em algumas cidades classificadas como de transmissão intensa¹⁸. Os primeiros relatos de casos humanos autóctones em Campo Grande se deram em 2002, com um aumento gradual no número de casos notificados. Recentemente, estudos sobre a fauna flebotomínica na área urbana de Campo Grande mostraram claramente que *L. (L.) longipalpis* foi o flebotomíneo mais abundante (92,22%) no ambiente domiciliar, apontando para um aumento de seis vezes na densidade em comparação aos estudos realizados no período de 1999-2000. O estudo

sugere que a elevada densidade desse vetor é o principal fator de risco para transmissão da LVA na área urbana¹⁹.

Os dados epidemiológicos das últimas décadas revelam a periurbanização e a urbanização da leishmaniose visceral, destacando surtos em Santarém (Pará), Corumbá, Três Lagoas e Campo Grande (Mato Grosso do Sul), Natal (Rio Grande do Norte), São Luís, Caxias e Imperatriz (Maranhão), Teresina (Piauí), Belo Horizonte e Montes Claros (Minas Gerais), Araçatuba, Bauru e Piracicaba (São Paulo), Rio de Janeiro (Rio de Janeiro), Fortaleza (Ceará), Aracaju (Sergipe), Jequié e Camaçari (Bahia), Palmas e Araguaína (Tocantins), Brasília (Distrito Federal), Várzea Grande (Mato Grosso) com cerca de 1.600 municípios apresentando transmissão autóctone^{20,21,22,23}.

Entre 1980 e 2005, o Brasil registrou 59.129 casos de LVA, sendo 82,5% na Região Nordeste. Gradativamente, a doença expandiu-se para as regiões Centro-Oeste, Norte e Sudeste, onde houve um incremento de 15% dos casos, em 1998, para 44% em 2005. Durante o mesmo período foram registrados casos autóctones em 1.904 diferentes municípios brasileiros (34,2%)⁹. A estratificação no período entre 2006-2008 revela que os casos humanos estão concentrados atualmente em 3,9% dos municípios brasileiros, onde, 129 são classificados como áreas de transmissão intensa, 88 como áreas de transmissão moderada, 1040 como áreas de transmissão esporádica e 4308 não registraram casos no período²⁴.

Até o final da década de 70 a doença mostrava um perfil de transmissão conhecido como clássico intimamente associado ao ambiente rural, onde a composição fisiogeográfica era formada por vales e montanhas, popularmente chamados de “boqueirões” e “pés de serra”. Nesta situação é importante considerar o nível socioeconômico de baixa qualidade, fortemente associado com aos bolsões de miséria e pobreza. Este cenário esteve por muitos anos relacionados às cidades de médio e pequeno porte do nordeste brasileiro, onde se concentravam a quase totalidade dos casos humanos. Com a mudança de padrão de transmissão, e conseqüentemente a presença da LVA no ambiente urbano, hoje verifica-se que a doença se dispersou da região Nordeste para as regiões Centro Oeste e Sudeste e continua em franca expansão para outras regiões geográficas. Um dado recente mostra de forma categórica a expansão territorial da LVA, quando casos humanos foram registrados na região Sul do Brasil, no município de São Borja, fronteira com a Argentina. No final de 2008 foram registrados os primeiros casos suspeitos de leishmaniose visceral canina no

município e posteriormente, confirmados sorologicamente como *Leishmania infantum chagasi* e autóctones. No início de 2009, foi confirmado o primeiro caso humano de LVA, e um ano após, esse número se elevou para cinco, onde quatro evoluíram para cura e um óbito registrado. A investigação e o levantamento entomológico revelaram a presença de *L. (L.) longipalpis* no município, assim como em Itaqui e Uruguaiana, localizados na mesma região²⁵.

Analisando espacialmente a LVA, é evidente a heterogeneidade de ambientes onde a doença ocorre, em associação com a distribuição do vetor e outros fatores biológicos, fisiogeográficos e sociais, determinantes no processo de instalação e manutenção da doença.

De forma inequívoca, a história da epidemiologia da LVA no Brasil revelou o papel importante desempenhado pelo vetor, *L. (L.) longipalpis*. A habilidade de se alimentar frequentemente em animais domésticos e sinantrópicos, assim como sua notável antropofilia, favoreceu sua adaptação aos ambientes modificados, permitindo a manutenção do ciclo de transmissão no ambiente rural e, ao mesmo tempo a dispersão da doença.

Os primeiros estudos sobre LVA no Brasil negligenciaram a origem silvestre de *L. (L.) longipalpis*. Pesquisas desenvolvidas na Amazônia demonstraram que este flebotomíneo é primordialmente silvestre, podendo mesmo ser capturado em áreas bem afastadas das habitações humanas. Evidências foram acumuladas em estudos epidemiológicos no Pará, que davam conta da natureza silvestre do vetor, mas ao mesmo tempo revelavam sua capacidade de se adaptar ao ambiente domiciliar³.

A literatura tem registrado, com base em trabalhos de campo, o ecletismo de *L. (L.) longipalpis* em se alimentar em uma variada gama de mamíferos e aves, que incluem cães, porcos, equinos, gado e galinhas^{5,26,27,28}. Recentes estudos de identificação de fontes alimentares na região Nordeste foram capazes de demonstrar a elevada plasticidade alimentar deste flebotomíneo, onde foram coletados exemplares que haviam se alimentado em aves, canídeos, caprinos, didelfídeos, equídeos, felídeos, humanos, ovinos e roedores, sendo a maior positividade encontrada para o antissoro de ave, confirmando seu importante papel no processo de adaptação ao ambiente doméstico; as análises demonstraram ainda a frequência da alimentação de *L. (L.) longipalpis* em cães, os reservatórios domésticos da doença²⁹. Os resultados revelaram a associação entre essa espécie de flebotomíneo e didelfídeos. Cabe ressaltar estudos anteriores no estado da Bahia, em áreas de transmissão

de LVA, onde é sugerida a importância de gambás como possíveis reservatórios^{30,31}. Este dado, reforça a necessidade de avaliações aprofundadas sobre o papel destes mamíferos sinantrópicos na cadeia de transmissão da LVA. A aptidão de *L. (L.) longipalpis* em se alimentar em mais de uma fonte sanguínea, confirma o ecletismo da espécie, fator que possivelmente favorece sua adaptação a diferentes habitats, ambientes modificados, com tendência a ter sua atividade ligada ao ambiente domiciliar, notadamente aqueles relacionados aos abrigos de animais domésticos, fato que sustenta a transmissão da LVA no ambiente rural e a expansão da doença para áreas urbanizadas, determinando os dois perfis de transmissão encontrados no Brasil.

As doenças de transmissão vetorial, frequentes nos países de clima tropical, aparecem como um dos principais problemas de Saúde Pública, e diante do fenômeno do aquecimento global, pode merecer uma importância destacada no cenário mundial. O contexto de mudanças climáticas e ambientais globais, onde incertezas sobre a natureza de seu impacto na escala dos ecossistemas locais se somam às complexidades das novas realidades de um Brasil urbano, sugerem novas questões no enfrentamento do problema das doenças transmitidas por artrópodes, no contexto da Saúde Pública. A sinergia existente entre os processos sociais e os ecossistemas sobre os quais eles se desenvolvem, associada à persistência de condições inadequadas de vida, tem possibilitado a proliferação dessas doenças em novos contextos, como exemplo a LVA ocorrendo em grandes cidades brasileiras com características particulares³².

Em relação aos futuros impactos das mudanças climáticas na saúde, espera-se em todo o mundo que estes fenômenos venham significar um agravante às situações-problema já existentes, podendo aumentar sua intensidade, gravidade, duração ou ampliação da sua distribuição no espaço geográfico. Desta forma, estimam-se para o Brasil impactos adicionais em relação doenças infecciosas endêmicas³³.

Sistemas ecológicos, onde se encontram estabelecidos focos naturais de doenças infecciosas, sob forte pressão antrópica se tornam um risco para a saúde humana. Por isso, um dos principais indicadores de ocorrência de doença de um ecossistema é a elevada prevalência de doenças infecciosas.

O impacto das drásticas alterações ambientais, determinadas pela ação humana, vem alterando a ecologia de algumas espécies de leishmânias e flebotomíneos, e, conseqüentemente o padrão epidemiológico das leishmanioses. Neste modelo, que emerge

do desmatamento, algumas espécies de mamíferos silvestres, hospedeiros do parasito, podem passar a frequentar áreas habitadas pela população humana, principalmente as áreas peridomiciliares, possibilitando, assim, que os flebotomíneos vetores dotados de plasticidade alimentar possam facilmente sustentar uma curva populacional ascendente.

Ao correlacionar propriedades dos ecossistemas com surtos e epidemias, é possível identificar pontos de risco e realizar sua previsibilidade e controle. No caso da LVA, um sistema ecológico saudável estaria relacionado com as inter-relações entre os vetores, parasita e reservatórios no ambiente silvestre. Neste contexto, avaliar os elos da cadeia epidemiológica da LVA em associação com a pressão antrópica permite entender o processo de evolução do sistema ecológico.

A construção de usinas hidrelétricas são exemplos de obras de grande porte, que geram mobilidade humana através do fluxo migratório que se estabelece; posteriormente, no curso da execução do empreendimento, ocorre o desmatamento, o surgimento do lago após o represamento do rio, potencializando impactos ambientais que podem favorecer ao estabelecimento de surtos epidêmicos de doenças de transmissão vetorial, como exemplo, as leishmanioses.

Este cenário foi observado no município de Porto Nacional (caracterizado como área de transmissão intensa de LVA), no centro sul do Estado do Tocantins, um dos municípios diretamente impactados pela Usina Hidrelétrica Luis Eduardo Magalhães (UHE Lajeado) concluída em 2002. Estudos posteriores realizados neste município avaliando a fauna flebotomínica e buscando associar o perfil de *L. (L.) longipalpis* com fatores determinantes no processo de expansão da LVA correlacionou através de análise espacial com variáveis ambientais; foi demonstrando que *L. (L.) longipalpis* foi a espécie de maior abundância na zona urbana quando comparado a zona rural. Quanto aos aspectos climáticos, foi observada fraca correlação positiva entre abundancia do vetor, temperatura ($r = 0,099$) e umidade ($r = 0,071$) e correlação negativa insignificante com precipitação ($r = -0,039$) (Figura 2)³⁴.

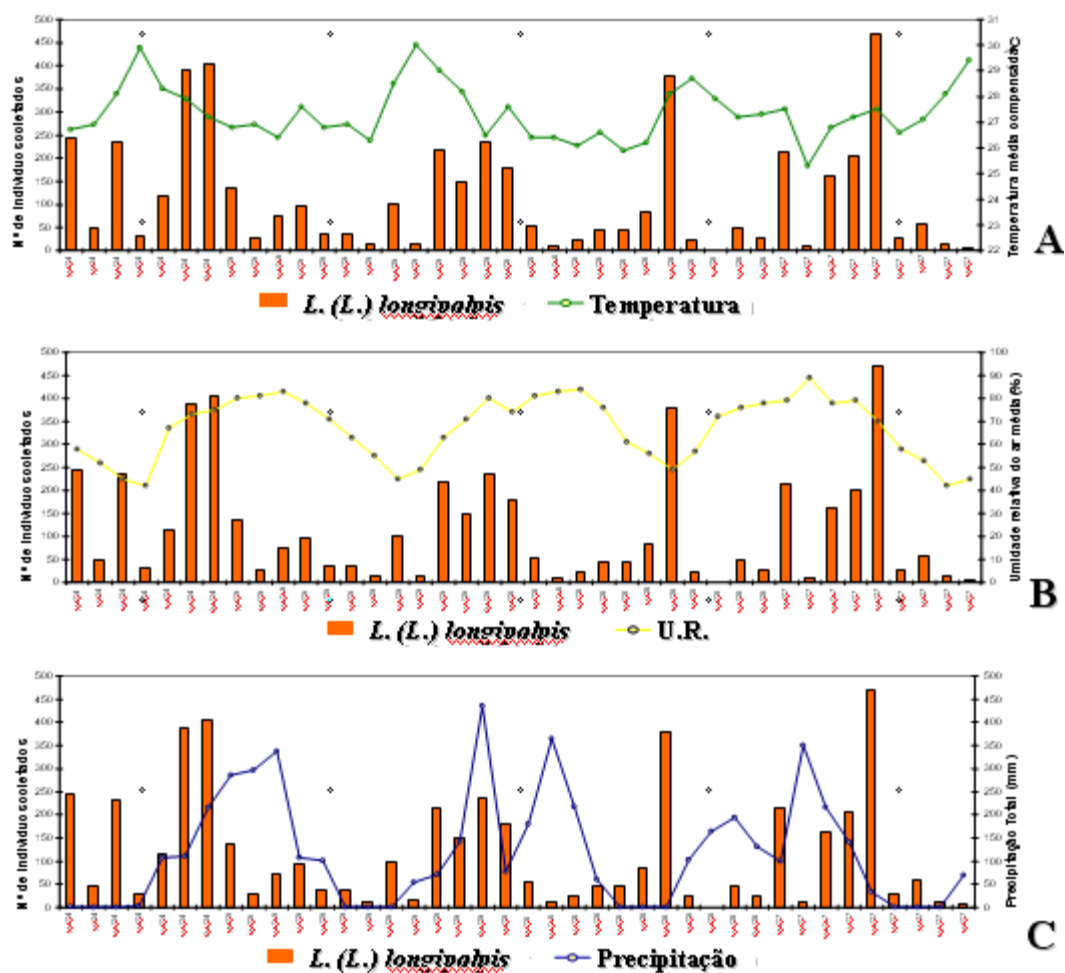


Figura 2: Correlação entre *Lutzomyia (L.) longipalpis* com a temperatura (A), umidade relativa (B) e precipitação (C) em Porto Nacional/TO.

Fonte: LTL/IOC/FIOCRUZ, INIMET.

No que se refere ao uso do solo, os pontos de coletas da zona rural estão presentes principalmente no mesmo tipo de solo, o latossolo vermelho-amarelo, enquanto que os pontos da zona urbana no gleisolo háplico; em relação à vegetação, todos os pontos de registro do vetor relacionaram-se com elementos do ambiente do Cerrado³⁵ (Figura 3).

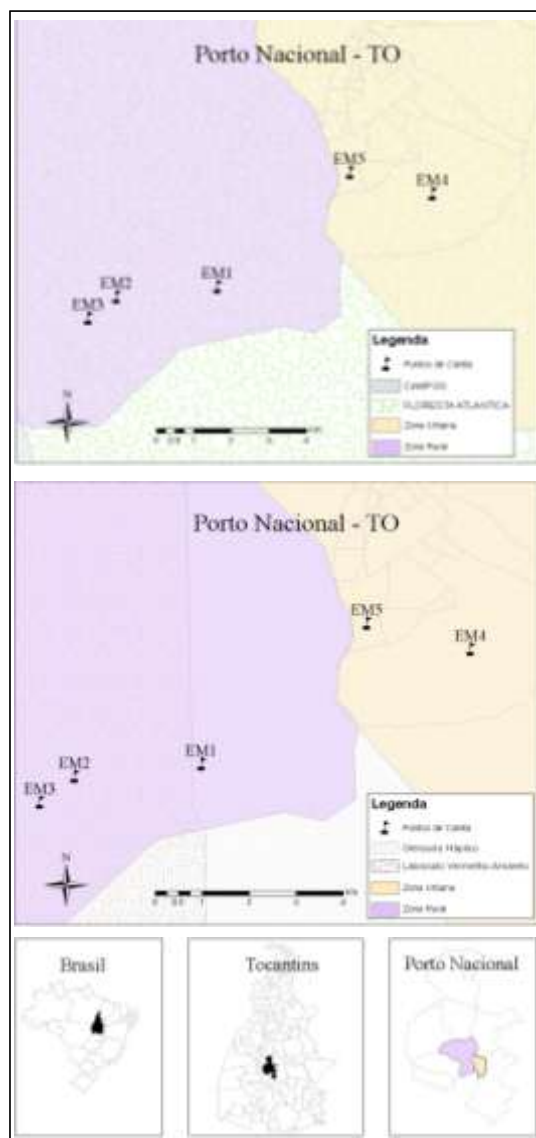


Figura 3: Associação entre *Lutzomyia (L.) longipalpis* entre o tipo de vegetação (A) e solo (B) em Porto Nacional/TO.

Fonte: IBGE, LTL/IOC/FIOCRUZ. Estruturação do mapa: LABGEO/LIS/ICICT/FIOCRUZ.

Estudos desenvolvidos no estado da Bahia, após o fenômeno El Nino, revelaram um aumento significativo na densidade de flebotomíneos e nos números de casos de LVA humana e canina no período entre 1989 e 1995, sendo constatada a correlação positiva entre este fenômeno e a incidência anual da LVA³⁶. Neste mesmo contexto foi sugerido, ainda, que no estado do Maranhão a ocorrência de LVA nos limites do Parque Estadual de Lençóis Maranhenses, em áreas rurais e urbanas, teria relação com o impacto das atividades turísticas, desenvolvidas sem o devido planejamento, aliado a degradação ambiental³⁷. Estudos realizados em área urbana de Bonito, Mato Grosso do Sul, região que sofreu intensa alteração ambiental, revelaram um aumento da densidade de *L. (L.) longipalpis* junto às populações humanas (frequência de 90,4% no ambiente domiciliar) e um progressivo processo de introdução de LVA na área urbana³⁸.

Claramente, embora outros flebotomíneos sejam considerados como potenciais vetores de LVA, tais como *Lutzomyia cruzi* e *Lutzomyia migonei*^{39,40,41}, a espécie *L. (L.) longipalpis* se apresenta como o elo mais importante da cadeia de transmissão da LVA e é, sem dúvida, uma fator biológico de risco, absolutamente essencial no processo de transformação do perfil epidemiológico e no incremento da urbanização da doença. O melhor entendimento de fatores de risco ambiental para a adaptação do vetor permitirá uma avaliação mais apurada sobre a urbanização da LVA, bem como traçar estratégias e ações preventivas e de controle.

Conclusões e Perspectivas

O processo de urbanização da LVA no Brasil remete a reflexões de diferentes ordens, no sentido de produção de conhecimento para o enfrentamento do agravo. Com isso, é necessário o emprego de ferramentas, abordagens e análises distintas no tocante aos aspectos relacionados à vigilância entomológica de vetores da doença. Tais estudos, certamente, são de fundamental importância para detectar e compreender possíveis alterações que possam ocorrer na biologia e comportamento das espécies vetoradas envolvidas nos ciclos de transmissão, fundamentalmente focados no principal vetor da LVA nas Américas, *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*.

No atual cenário em que mudanças globais e de grande magnitude se configuram, potencializando implicações na saúde das populações, é fundamental a intensificação das pesquisas voltadas para as doenças relacionadas ao ambiente, como as de transmissão vetorial, como exemplo, a LVA. Sendo assim, há a extrema urgência no avanço do conhecimento sobre os potenciais vetores num cenário de modificações climáticas e ambientais, gerando subsídios para o planejamento de estratégias com o objetivo de controlar, e fundamentalmente, diminuir a incidência de casos humanos.

Referências Bibliográficas

- 1- Departamento de Vigilância Epidemiológica, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Brasília: Ministério da Saúde; 2003.
- 2- Stoddard ST, Morrison AM, Vazquez-Prokopec GM, Soldan VP, Kochel TJ, Kitron U, Elder JP, Scott TW. The Role of Human Movement in the Transmission of Vector-Borne Pathogens. *Plos Neglected Tropical Diseases*, 3(Issue 7): e481, 2009.
- 3- Lainson R, Rangel EF. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*; 100: 811-27, 2005.
- 4- Deane MP, Deane LM. Infecção natural do *Phlebotomus longipalpis* por leptomonas, provavelmente de *Leishmania donovani*, em foco de calazar, no Ceará. *O Hospital*, 45: 697-702, 1954.
- 5- Deane LM. Leishmaniose visceral no Brasil. Estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará. Rio de Janeiro: Serviço Nacional de Educação Sanitária; 1956.
- 6- Lainson R, Ward RD, Shaw JJ. Experimental transmission of *Leishmani chagasi* causative agent of neotropical visceral leishmaniasis, by the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. *Nature (London)* 266: 628-630, 1977.
- 7- Lainson R, Shaw JJ, Ryan L, Silveira FT. 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. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 79: 223-226, 1985.

- 8- Santos DR, Ferreira AC, Bisetto Junior A. The first record of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotomine) in the State of Paraná, Brasil. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* 45(5): 643-645, 2012.
- 9- Costa CHN. Characterization and speculations on the urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. *Cad. Saúde Pública*, 24(12): 2959-2963, 2008.
- 10- Maia-Elkhoury NA, Alves WA, Souza-Gomes ML, Sena JM, Luna EA. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. *Cad. Saúde Pública*, 24(12): 2941-2947, 2008.
- 11- Rangel EF & Vilela ML. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. *Cad. Saúde Pública*, 24(12): 2948-2952, 2008.
- 12- Costa CH, Pereira HF, Araújo MV. Epidemia de leishmaniose visceral no Estado do Piauí, Brasil 1980-1986. *Rev Saúde Pública* 24: 361-72, 1990.
- 13- Costa CHN. Urbanization of kala-azar in Brazil: kala-azar in Teresina, Piauí, Brazil. In: Research and Control of Leishmaniasis in Brazil, Proceedings of a National Workshop. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz,. p. 109-24, 1993.
- 14- Vexenat JA, Fonseca-de-Castro JA, Cavalcante R, Tavares JP, Da Silva MR, Batista WH, et al. Visceral leishmaniasis in Teresina, State of Piaui, Brazil: preliminary observations on the detection and transmissibility of canine and sandfly infections. *Mem Inst Oswaldo Cruz*; 89: 131-5, 1994.
- 15- Andrade-Filho JD, Silva ACL, Falcão AL. Phlebotomine sand flies in the State of Piauí, Brazil (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 96: 1085-7, 2001.
- 16- Soares MRA, Rebêlo JMM, Barros VLL, Moraes JLP, Santos LS, Fonteles RS, et al. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) identificados de duas áreas endêmicas de leishmaniose visceral americana na Ilha de São Luís – MA. *Rev Soc Bras Med Trop*, 39 Suppl 1: 77, 2006.
- 17- Penha TA, Abreusilva AL, Oliveira AC, Santos ACG, Moraes JLP, Rebêlo JMM, et al. Flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose visceral canina no Município de São Luís Maranhão. *Rev Soc Bras Med Trop*, 39 Suppl 1: 77, 2006.

- 18- Nunes VLB, Yamamoto YY, Rego Junior FA, Dorval MEC, Galati EAB, Oshiro ET. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral em cães de Corumbá, Mato Grosso do Sul. *Pesqui Vet Bras*, 8: 17-21, 1988.
- 19- Oliveira AG, Galati EAB, De Oliveira O, De Oliveira GR, Espindola IA, Dorval ME, et al. Abundance of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) and urban transmission of visceral leishmaniasis in Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 101: 869-74, 2006.
- 20- Costa JML, Viana GMC, Saldanha ACR, Nascimento MDSB, Alvim AC, Burattini MN, et al. Leishmaniose visceral no Estado do Maranhão, Brasil. A evolução de uma epidemia. *Cad Saúde Pública*, 11: 321-4, 1995.
- 21- Jeronimo SM, Oliveira RM, McKay S, Costa RM, Sweet J, Nascimento ET, et al. An urban outbreak of visceral leishmaniasis in Natal, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 88: 386-8, 1994.
- 22- Silva ES, Gontijo CMF, Pacheco RS, Fiuza VOP, Brazil RP. Visceral leishmaniasis in the metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 96: 285-91, 2001.
- 23- Ministério da Saúde. Tópicos de saúde: leishmaniose visceral. http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=22141 (accessado em 02/09/2010).
- 24- Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Sistema de Informação de Agravos de Notificação, 2009.
- 25- Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis & Centro Estadual de Vigilância em Saúde, Secretaria da Saúde do Estado do Rio Grande do Sul. Nota Técnica conjunta sobre a situação da Leishmaniose Visceral na fronteira do Estado do Rio Grande do Sul com a Argentina, 2010.
- 26- Rosabal R, Trejos A. *Phlebotomus* de El Salvador (Diptera: Psychodidae). II. Observaciones sobre su biología con especial referencia a *P. longipalpis*. *Rev Biol Trop*, 13: 219-28, 1965.
- 27 - Zeledon R, Murillo J, Guitierrez H. Ecology of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) and possibilities of the existence of visceral leishmaniasis in Costa Rica. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 79: 455-9, 1984.

- 28- Rangel EF, Lainson R. Ecologia das leishmanioses. *Lutzomyia longipalpis* e a eco-epidemiologia da leishmaniose visceral americana. In EF Rangel, R Lainson (eds), *Flebotomíneos do Brasil*, Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 311-336, 2003.
- 29- Afonso MMS, Rosemere D, Rangel EF. Diversidade alimentar de *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), procedente de áreas endêmicas de leishmaniose visceral americana no nordeste do Brasil. Anais do XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 2010: Março 14-18, Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil, 2010.
- 30- Sherlock IA, Miranda JC, Sadigursky M, Grimaldi G. Natural infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia: Didelphidae) with *Leishmania donovani* in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 79: 511, 1984.
- 31- Sherlock IA, Miranda JC, Sadigursky M, Grimaldi G. Observações sobre calazar em Jacobina, Bahia. VI. Investigações sobre reservatórios silvestres e comensais. *Rev Soc Bras Med Trop* 21: 23-27, 1988.
- 32- Brasil. Ministério da Saúde. Organização Pan-Americana da Saúde. Mudanças climáticas e ambientais e seus efeitos na saúde: cenários e incertezas para o Brasil, 2008.
- 33- Confalonieri UEC, Marinho DM. Mudança Climática Global e Saúde: Perspectivas para o Brasil. *Revista Multiciência*, 2007; 8: 48-64.
- 34- Carvalho BM. Estudo Sobre os Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) do Município de Porto Nacional, Estado de Tocantins [monografia]. Rio de Janeiro: Universidade Estácio de Sá, 2008.
- 35- Afonso MMS, Rangel EF, Carvalho BM, Costa SM, Goldstein RA, Chaves SAM. *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), frente à expansão da Leishmaniose Visceral Americana, no Município de Porto Nacional, Estado do Tocantins: dados preliminares. Anais do XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 2010: Março 14-18, Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil, 2010.
- 36- Bavia ME, Carneiro DD, Gurgel HdaC, Madureira Filho c & Barbosa MG. Remote sensing and geographic information systems and risk of America visceral leishmaniasis in Bahia, Brazil. *Parassitologia* 47:165-169, 2005.
- 37- Resende MC, Camargo MC, Vieira JR, Nobi RC, Porto MN, Oliveira CD, Pessanha JE, Cunha Mda C, Brandão ST. Seasonal variation of *Lutzomyia longipalpis* in Belo Horizonte,

State of Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 39: 51-55, 2006.

38- Nunes VLB, Galati EAB, Cardozo C, Rocca MEG, Andrade ARO, Santos MFCS, Aquino RB, & da Rosa D. Estudo de flebotômíneos (Diptera, Psychodidae) em área urbana do município de Bonito, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev Bras Entomol* 52(3): 446-451, 2008.

39- Santos SO, Arias J, Ribeiro AA, Hoffmann MP, Freitas RA, Malacco MAF. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American visceral leishmaniasis. *Med Vet Ent* 12: 315-317, 1998.

40- Salomon, OD, Quintana, MG, Bezzi, G, Morán, ML, Betbeder, E, Valdéz, DV, 232 *Lutzomyia migonei* as putative vector of visceral leishmaniasis in La Banda, 233 Argentina. *Acta Trop.* 113: 84–87, 2010.

41- Carvalho MR, Valença HF, da Silva FJ, Pita-Pereira D, Pereira TA, Britto C, Brazil RP, Brandão Filho S. Natural *Leishmania infantum* infection in *Migonemyia migonei* (Franc, a, 1920) (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil. *Acta Trop.* 116: 108-110, 2010.

Contribuição ao Conhecimento do Processo de Expansão da Leishmaniose Visceral Americana no Estado do Tocantins

Margarete Martins dos Santos Afonso^{1,2}, Sérgio Augusto de Miranda Chaves², Mônica de Avelar Figueiredo Mafra Magalhães³, Renata Gama Gracie³, Carina Graser Azevedo⁴, Elizabeth Ferreira Rangel¹.

¹Laboratório de Ecologia, Departamento de Endemias, Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca - Fundação Oswaldo Cruz, ²Laboratório de Transmissores de Leishmanioses, Laboratório de Referência em Vigilância Entomológica: Taxonomia e Ecologia de Vetores das Leishmanioses, Instituto Oswaldo Cruz - Fundação Oswaldo Cruz, ³Laboratório de Informação em Saúde - Geoprocessamento, Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde – Fundação Oswaldo Cruz, ⁴Secretaria de Saúde do Estado de Tocantins, Palmas – TO

INTRODUÇÃO

No Brasil, as leishmanioses são apresentadas como sérios problemas de Saúde Pública, cuja expansão geográfica tem possibilitado o seu estabelecimento em áreas urbanas das médias e grandes cidades brasileiras¹.

Processos contínuos de desmatamentos, queimadas, instalação de garimpos, implantação de projetos agrícolas, atividades ligadas ao agro-negócio, construções de barragens e usinas hidrelétricas, são exemplos de situações que têm proporcionado um aumento de pessoas infectadas ou expostas a situações de risco, e propiciado o surgimento de surtos epidêmicos de leishmanioses num novo contexto eco-epidemiológico^{2,3}.

Na última década, o estado de Tocantins tem sido submetido a alterações ambientais, ligada às atividades agropecuárias e construção de usinas hidrelétricas (Figura 1). Tais cenários refletem uma realidade presente em algumas regiões do Estado que vem apresentando índices elevados de casos humanos de leishmanioses. Neste contexto, a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) está presente em todos os municípios e a Leishmaniose Visceral Americana (LVA) registrada em 120, dos 139 municípios⁴ (Figura 2).

De acordo com a metodologia preconizada para a estratificação dos municípios brasileiros para LVA¹, dezesseis municípios tocantinenses foram classificados como áreas de transmissão intensa, em 2001: Ananás, Araguacema, Araguatins, Araguaína,

Augustinópolis, Buriti do Tocantins, Carmolândia, Colinas do Tocantins, Colméia, Filadélfia, Miracema do Tocantins, Palmas, Paraíso do Tocantins, Porto Nacional, Santa Fé do Araguaia e Wanderlândia⁵; sendo Araguaína, segundo o Ministério da Saúde, em 2007, 2008 e 2012 o município com maior número de casos humanos de LVA do Brasil⁴.

Os Sistemas de Informação Geográfica (SIG) têm possibilitado valiosa contribuição no controle e predição de doenças transmitidas por vetores^{6,7}, além de avaliar a influência de fatores ambientais que podem estar associados com os habitats dos vetores, hospedeiros e o risco de transmissão para os humanos^{8,9}. Estudos dessa natureza objetivam caracterizar e monitorar os perfis espaciais e temporais e, conseqüentemente, identificar padrões epidemiológicos, através do detalhamento da relação das doenças com o espaço onde elas se reproduzem, traduzindo em informações que podem ser ferramentas de grande valor quando do planejamento das ações de controle.

O objetivo deste estudo foi analisar a expansão da LVA no Estado do Tocantins, correlacionando o incremento de desflorestamento e a estratificação da doença, e as classes do uso do solo com a presença do vetor *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*.

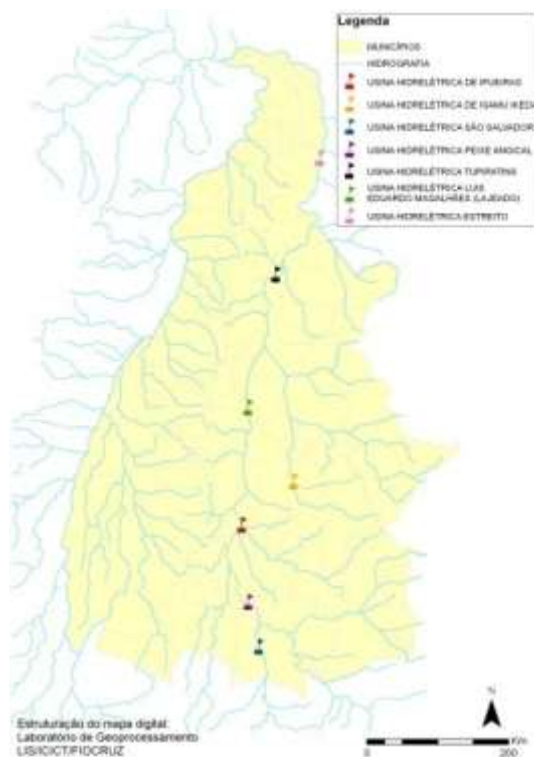


Figura 1. Usinas Hidrelétricas no Estado do Tocantins, Brasil. Estruturação do mapa digital: Geoprocessamento LIS/ICIT/FIOCRUZ.

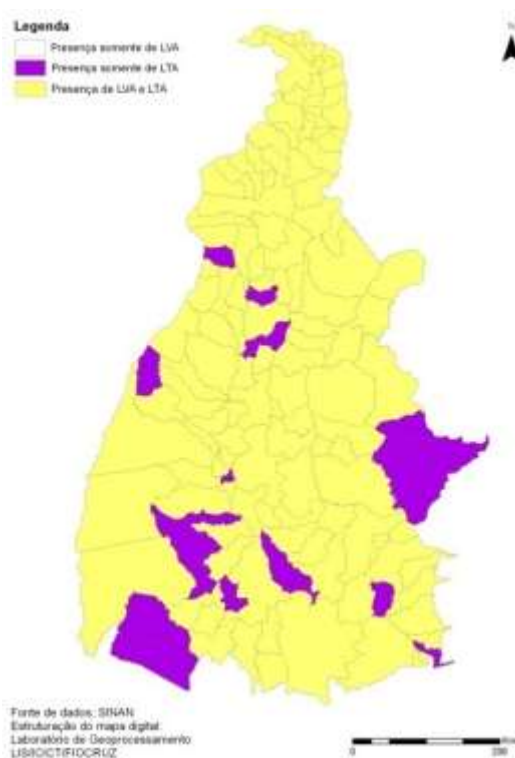


Figura 2. Presença de leishmaniose visceral americana (LVA) e leishmaniose tegumentar americana (LTA) no Estado do Tocantins, Brasil. Fonte: SINAN. Estruturação do mapa digital: Geoprocessamento LIS/ICIT/FIOCRUZ.

METODOLOGIA

Descrição da área. Tocantins é o mais novo dos 26 estados brasileiros, o território apresenta 277.620,914 km² de extensão e densidade demográfica de 4,98 hab/km², está localizado no centro geográfico do país, na região Norte, em limite com estados da região Nordeste, Centro-Oeste e Norte. A maior parte do estado é formada por planícies ou áreas suavemente onduladas, estendendo-se por planaltos e chapadões, a maior bacia hidrográfica brasileira, a bacia do rio Tocantins-Araguaia. Tocantins é um dos nove estados que formam a região Amazônica, sua vegetação consiste em 88% de bioma Cerrado e 12% de bioma Amazônico (Figura 3). Apresenta clima tropical semi-úmido, caracterizado por uma estação chuvosa e uma seca. Sua temperatura média anual varia entre 25⁰C e 29⁰C e precipitação média em torno de 1.200 mm a 2.100 mm^{10, 12}.

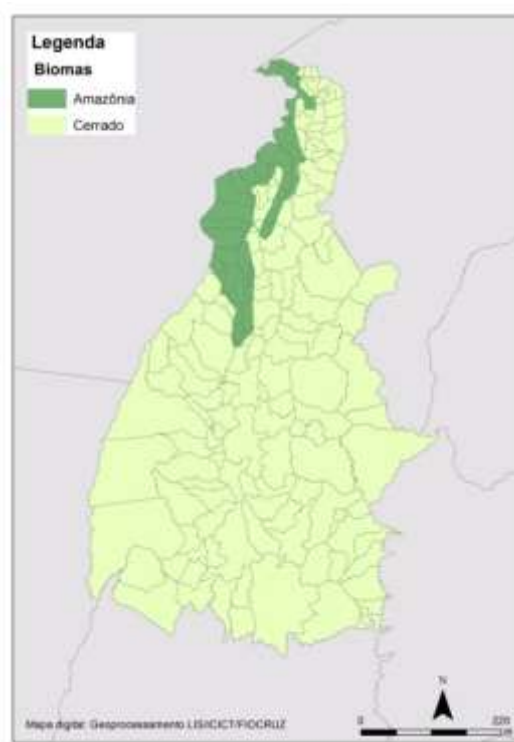


Figura 3. Biomas (Cerrado e Amazônico) do Estado do Tocantins, Brasil. Estruturação do mapa digital: Geoprocessamento LIS/ICIT/FIOCRUZ.

Malha municipal. O limite dos municípios, ano de 2005, do Estado de Tocantins foi obtido no site do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)¹³.

Uso do solo. Os dados sobre uso do solo referentes ao bioma Cerrado foram disponibilizado pela Universidade Federal de Goiás através de arquivo no formato *shape* (extensão do *software* ArcGis) e dos dados referentes ao bioma Amazônico foram retirados no site IBGE. Os mapas de uso do solo e limite municipal foram integrados através de operações geográficas no software de SIG ArcGis 10 o que possibilitou o cálculo das porcentagem de cada classe do uso do solo em cada município.

Ocorrência de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*. Para caracterizar os municípios com a presença do vetor *L. (L.) longipalpis*, foram realizadas consultas bibliográficas nas bases de dados: LILACS¹⁴, MEDLINE¹⁵, SciELO¹⁶, utilizando os descritores¹⁷: *Lutzomyia* e Leishmaniose Visceral Americana, além das palavras-chaves: *L. (L.) longipalpis* e Tocantins; somado a informações cedidas pela Secretaria de Saúde do Estado de Tocantins⁵. Para os municípios sem informação, trabalhou-se com a hipótese de ocorrência de *L. (L.) longipalpis* onde existem casos humanos de LVA, uma vez que, até o momento *L. (L.) longipalpis* é a única espécie associada a transmissão de LVA no estado e, segundo a Secretaria de Saúde do Estado de Tocantins⁵, não há registro de *Lutzomyia cruzi*.

Incremento do desflorestamento. Foram obtidas taxas anuais do desflorestamento da Amazônia Legal produzidas por classificação digital de imagens disponibilizadas pelo projeto PRODES¹⁸, do período de 2001 a 2010.

Ocorrência de casos humanos por leishmaniose visceral americana. Os números de casos humanos por LVA foram obtidos no banco de dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAN⁴. Foram considerados os casos confirmados, diagnosticados por residência, ocorridos no período de 2001 a 2011.

Estratificação da leishmaniose visceral americana. O Programa de Controle da Leishmaniose Visceral, para melhor desenvolver as ações preconizadas, classifica os municípios como áreas de transmissão esporádica, moderada ou intensa, baseando-se na média dos casos humanos dos últimos três anos¹. Os dados sobre a estratificação do estado foram cedidos pela Secretaria de Saúde do Estado do Tocantins.

Análise espacial dos dados. As análises espaciais e estruturação dos mapas digitais foram realizadas no Geoprocessamento, do Laboratório de Informação em Saúde / FIOCRUZ. Foi utilizado o software de SIG Arcgis 10 e através de técnicas de operação entre camadas (ou níveis de informação), foi possível integrar informações gráficas e informações tabulares.

Análise estatística. Para a análise de correlação entre as classes do uso do solo, a presença do vetor *L. (L.) longipalpis* e o número de casos humanos por LVA, foi utilizado o teste não-paramétrico de Spearman, utilizando o programa SPSS versão 19, a um nível de significância de 0,95 e 0,99.

RESULTADOS

Uso do solo. Dentre as regiões fitoecológicas encontradas no estado, a classe savana arborizada e as áreas de agropecuária apresentam maior representatividade (Tabela 1).

Tabela 1. Porcentagem (por município) das classes do uso do solo no Estado do Tocantins.

Classe do uso do solo	Calculo por área (%)
Savana arborizada	42,7493
Agropecuária	40,1896
Savana florestada	13,2764
Savana parque	13,1923
Floresta ombrófila	10,0814
Vegetação secundária	8,2232
Savana gramíneo-lenhosa	7,0160
Floresta estacional	2,0238
Água	1,4085
Área com influência urbana	0,2806
Formações pioneiras	0,2441
Influência urbana	0,0169
Reflorestamento	0,0067
Áreas indiscriminadas	0,0015

Ocorrência de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*. Considerando a ocorrência de *L. (L.) longipalpis* em todos os municípios onde há registros de casos humanos autóctones por LVA⁵, além das informações da literatura^{19,20,21,22,23,24,25,26,27,28}, sugere-se que o vetor está presente em todas as classes do uso do solo: floresta estacional, floresta ombrófila, savana arborizada, savana parque, savana florestada, savana gramíneo-lenhosa e vegetação secundária (Figura 4).

Incremento do desflorestamento. No Estado do Tocantins, as áreas de incremento do desmatamento se mantiveram constantes no período de 2001 a 2010, ocorrendo principalmente na região norte e oeste do estado (Figura 5).

Os municípios que tiveram maior incremento do desflorestamento foram: Araguaína, Araguatins, Bandeirantes do Tocantins, Arapoema, Xambioá, Santa Fé do Araguaína, Ananás, Pau d'Arco, Guaraí, Aragominas, Muricilândia, Bernardo Sayão, Itaporã do Tocantins, Pequizeiro, Nova Olinda, Piraquê, Coméia, Araguanã, Colinas do Tocantins e Riachinho.

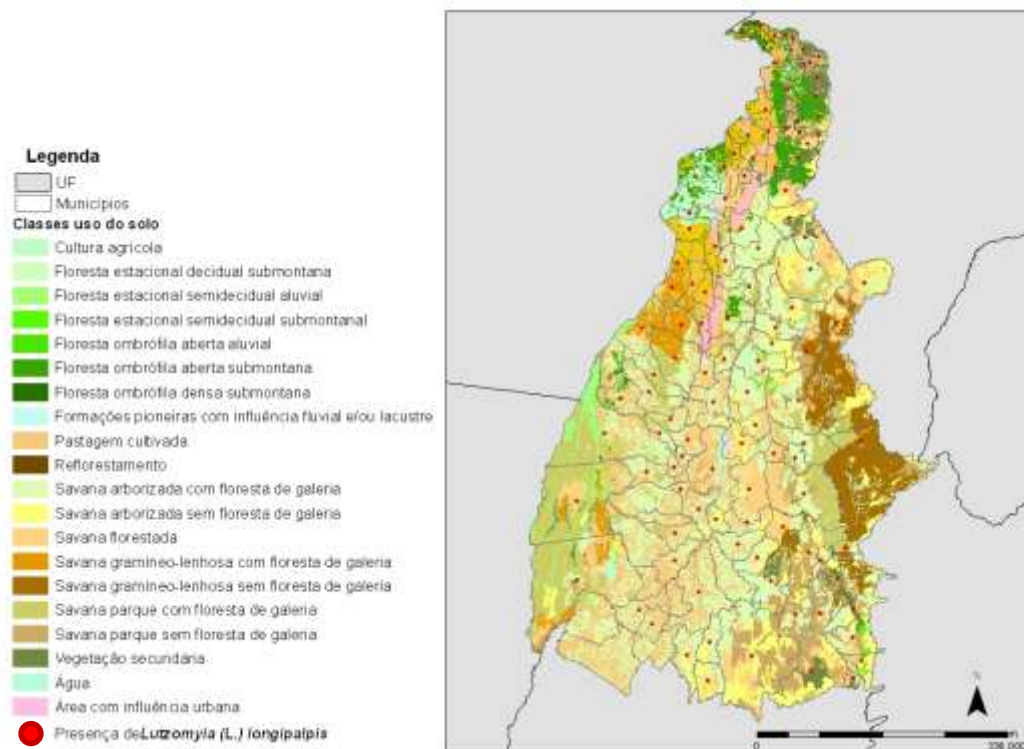


Figura 4. Mapa do Estado do Tocantins com a descrição do uso do solo em associação com a possível presença de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*. Fonte: LAPIG/UFG. Estruturação do mapa digital: Geoprocessamento LIS/ICIT/FIOCRUZ.

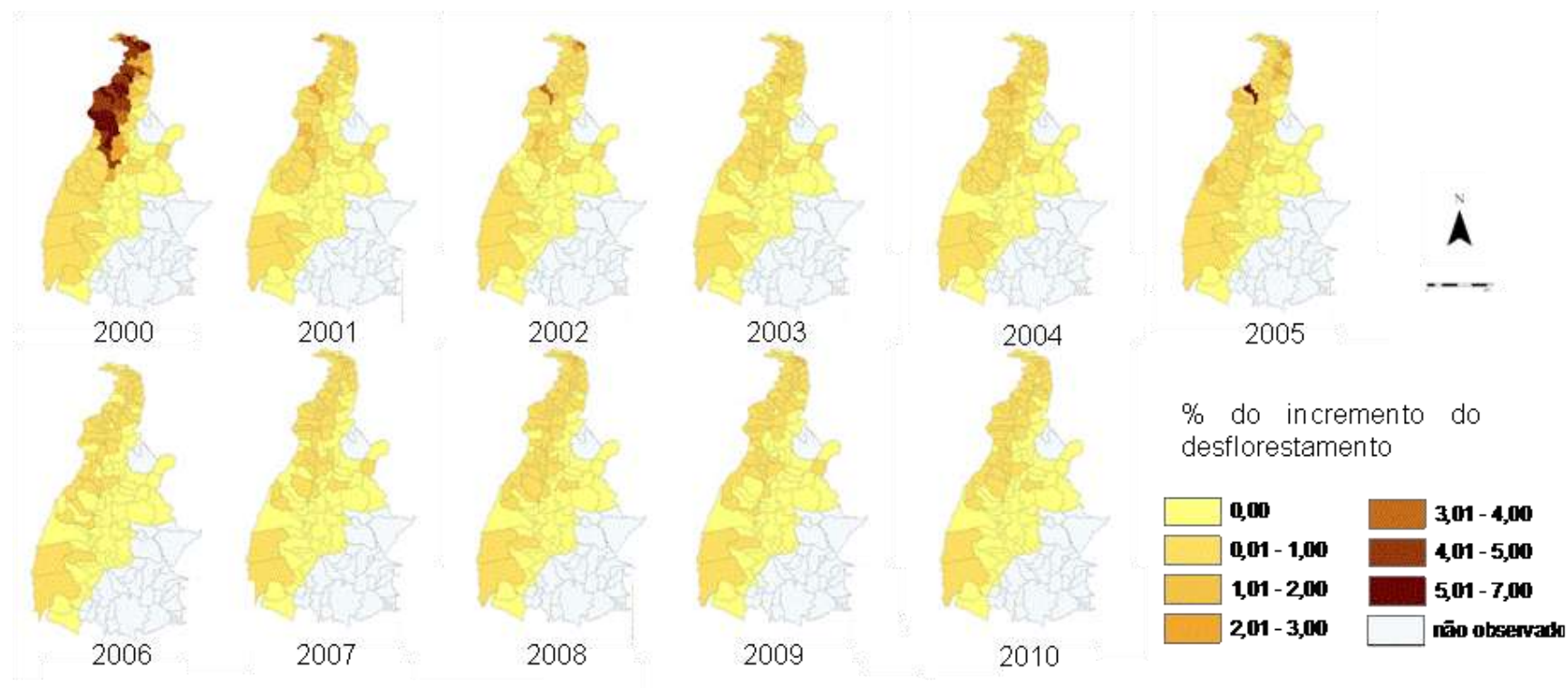


Figura 5. Perfil espaço e temporal do incremento do desflorestamento no Estado do Tocantins, no período de 2000 a 2010. Fonte: PROBES.
Estruturação do mapa digital: Geoprocessamento LIS/ICIT/FIOCRUZ.

Ocorrência de casos humanos por leishmaniose visceral americana. Já foram registrados casos humanos por LVA em 120 dos 139 municípios no Estado do Tocantins. No período de 2001 a 2012, foram registrados 3.560 casos com 186 óbitos⁴.

O mapa espaço-temporal demonstra que os casos humanos de LVA no estado se concentram nos municípios de Araguaína, Palmas, Porto Nacional e Paraíso do Tocantins (Figura 6), com destaque para o município de Araguaína, responsável pela maior produção de casos humanos, e apresentando o mesmo perfil do estado (Figura 7).

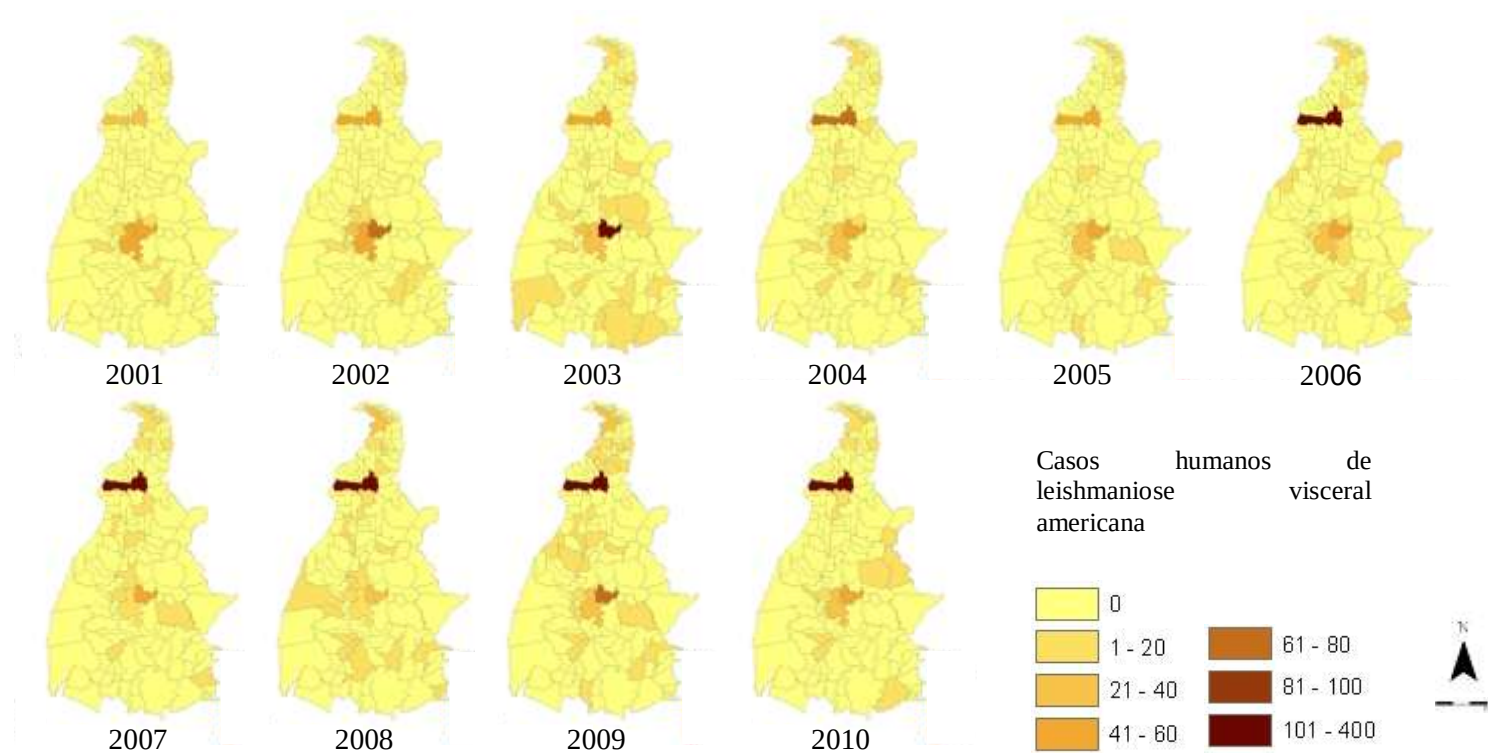


Figura 6. Perfil espaço e temporal dos casos humanos por leishmaniose visceral americana, no Estado do Tocantins, no período de 2001 a 2010.

Fonte: SINAN. Estruturação do mapa digital: Geoprocessamento LIS/ICIT/FIOCRUZ.

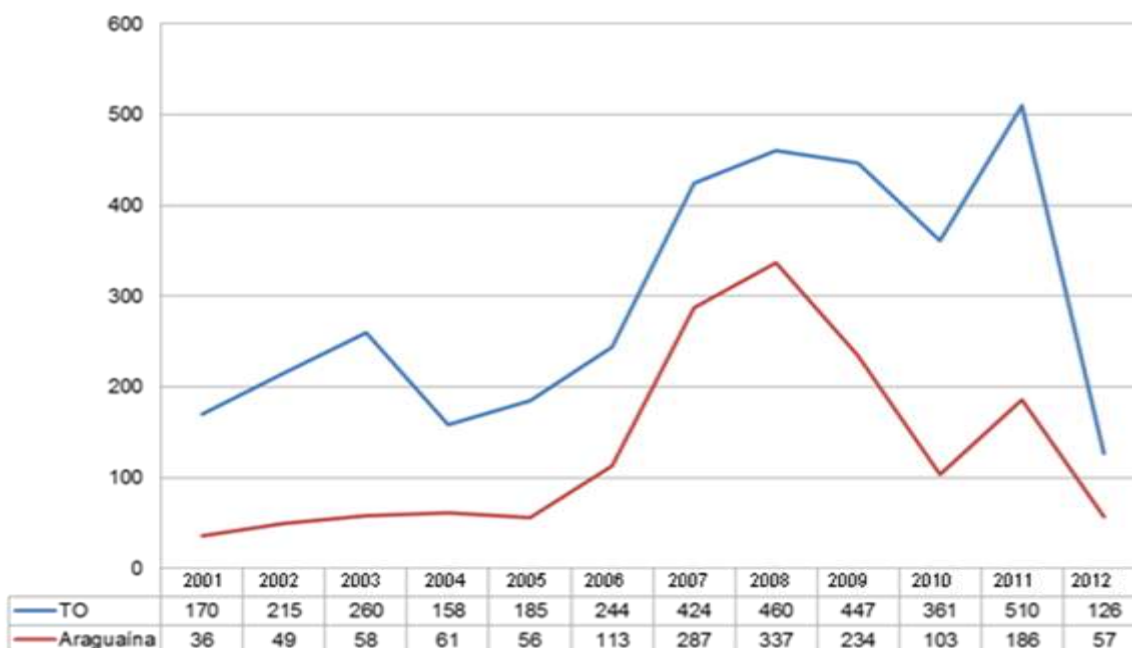


Figura 7. Distribuição dos casos humanos por leishmaniose visceral americana no município de Araguaína e no Estado do Tocantins, no período de 2001 a 2012. Fonte: SINAN.

Estratificação da leishmaniose visceral americana. Dos 139 municípios tocantinenses, 120 apresentam registro de casos humanos. O perfil espaço-temporal no período de 2004 a 2011, em relação a estratificação da LVA no estado, revela que algumas áreas se mantiveram com transmissão intensa, principalmente na região norte e região central, demonstrando que o número de casos humanos se manteve elevado (Figura 8).

Os municípios de Araguaína, Paraíso do Tocantins, Porto Nacional e Palmas conservaram a transmissão intensa, enquanto que em Campos Limpos, Gurupi e Novo Acordo com transmissão esporádica (Tabela 2). Aguiarnópolis, Ananás, Araguacema, Araguatins, Axixá do Tocantins, Buruti do Tocantins, Cachoeirinha, Carmolândia, Dianópolis, Juarina, Luzinópolis, Miracema do Tocantins, Pau d'Arco, Piraquê, Recursolândia, Sampaio, Santa Fé do Tocantins, Santa Maria do Tocantins, Santa Rita do Tocantins e Tupiratins, tiveram acréscimo no número de casos humanos; outros 34 municípios apresentaram decréscimo com posterior acréscimo do número de casos, totalizando 40% dos municípios com expansão de LVA (Tabela 2).

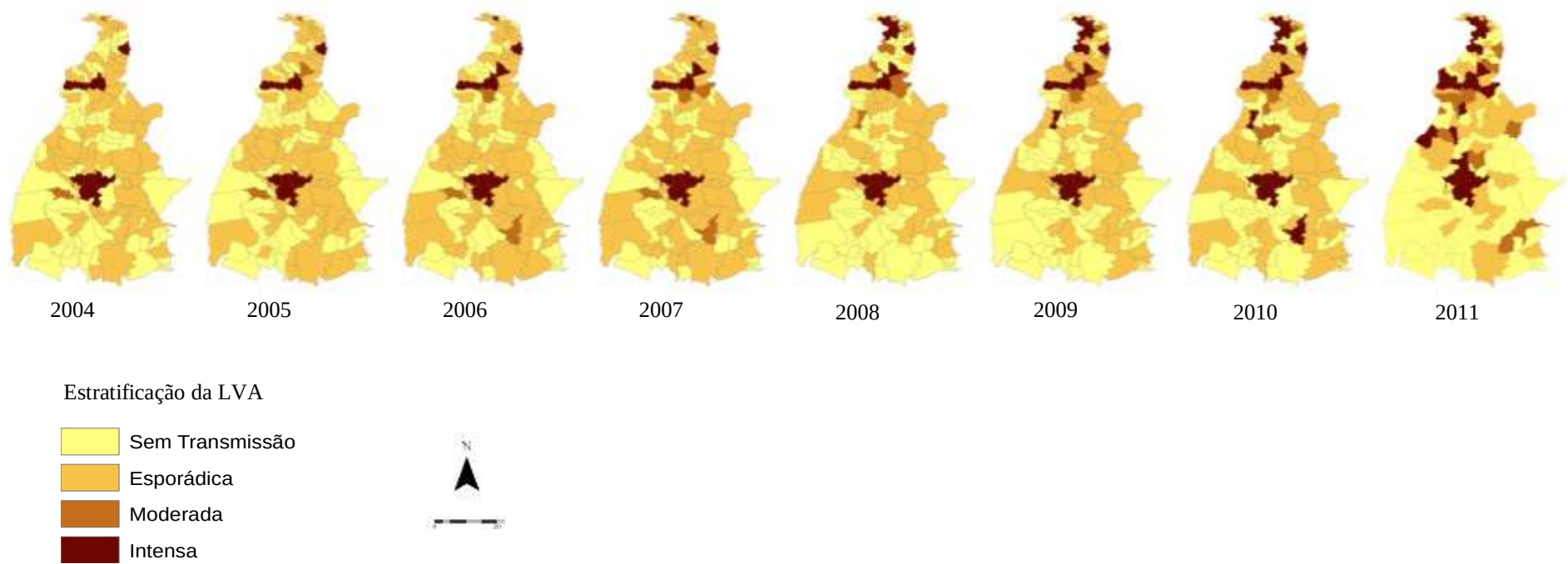


Figura 8. Perfil espaço e temporal da estratificação da leishmaniose visceral americana no Estado do Tocantins. Fonte: Secretaria de Saúde do Estado do Tocantins Estruturação do mapa digital: Geoprocessamento LIS/ICIT/FIOCRUZ.

Tabela 2. Perfil da estratificação da LVA no período de 2004 a 2011, para os municípios que apresentaram aumento no número de casos no Estado do Tocantins.
Fonte: Secretaria de Saúde do Estado do Tocantins.

Municípios que se mantiveram com transmissão intensa			
Araguaína	Paraíso do TO	Porto Nacional	Palmas
Municípios que se mantiveram com transmissão esporádica			
Campos Limpos	Gurupi	Novo Acordo	
Municípios que exibiram acréscimo do número de casos humanos			
Aguiarnópolis	Cachoeirinha	Luzinópolis	Sampaio
Ananás	Carmolândia	Miracema TO	Santa Fé do
Araguacema	Colinas do TO	Pau D'Arco	Araguaia
Araguatins	Dianópolis	Piraquê	Sta Maria TO
Axixá do TO	Juarina	Recursolândia	Sta Rita do TO
Buriti do TO			Tupiratins
Municípios que exibiram decréscimo e posterior acréscimo no número de casos humanos			
Abreulândia	Divinópolis do TO	Lagoa do TO	Praia Norte
Aragominas	Dois Irmãos do TO	Monte do Carmo	Riachinho
Arapoema	Esperantina	Nova Olinda	Sta Terezi. TO
Bandeirantes TO	Filadélfia	Nova Rosalândia	Silvanópolis
Carrasco Bonito	Goianorte	Palmeirante	São Seb. TO
Chapada da Natividade	Goiatins	Paranã	Taguatinga
Colméia	Itacajá	Pedro Afonso	Tocantínia
Conceição do TO	Itaporã do TO	Pindorama do TO	Wanderlândia
Darcinópolis			

Correlação entre as classes do uso do solo e a presença do vetor *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*. Na correlação entre presença de *L. (L.) longipalpis* e as classes do uso do solo, foi identificada apenas correlação negativa significativa para pastagem cultivada ($\rho=-0,214$ e $p=0,011$) (Tabela 3).

Correlação entre as classes do uso do solo e os casos humanos por leishmaniose visceral americana. Na correlação entre os casos humanos, no período de 2001 a 2011, e as classes do uso do solo, foi identificada correlação positiva com nível significância: ecótono savana e floresta ombrófila ($\rho=0,259$ e $p=0,002$), floresta ombrófila aberta submontana ($\rho=0,248$ e $p=0,003$), pecuária ($\rho=0,241$ e $p=0,004$), savana arborizada ($\rho=0,203$ e $p=0,017$), savana gramíneo-lenhosa ($\rho=0,175$ e $p=0,039$) e vegetação secundária ($\rho=0,202$ e $p=0,017$). Correlação negativa com nível de significância foi verificada em: pastagem cultivada ($\rho=-0,196$ e $p=0,021$), savana arborizada com floresta de galeria ($\rho=-0,278$ e $p=0,001$) e savana parque com floresta de galeria ($\rho=-0,192$ e $p=0,023$) (Tabela 4).

No período de 2001 a 2011, as classes do uso de solo que apresentaram maior frequência de correlação positiva foram: área com influência urbana (2001, 2002, 2004, 2005, 2006, 2008), ecótono savana e floresta ombrófila (2007, 2008, 2009, 2010, 2011), floresta ombrófila aberta aluvial (2003, 2004, 2011), floresta ombrófila densa submontana (2007, 2009, 2011), influência urbana (2002, 2005, 2009), pecuária (2007, 2009, 2011) e savana arborizada sem floresta de galeria (2003, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011). Já as áreas com maior frequência de correlações negativas são: savana arborizada (2008, 2009, 2010, 2011) e savana parque (2007, 2008, 2009, 2011) (Anexos 1 – 11).

As classes que não tiveram correlação com o número de casos humanos foram: floresta estacional decidual montana, floresta ombrófila densa aluvial, formações pioneiras com influência fluvial e/ou lacustre, área de pecuária com região de floresta ombrófila aberta, áreas de reflorestamento, savana florestada e savana parque sem floresta de galeria (Anexos 1 – 11).

Tabela 3. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e a presença do vetor *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*, no Estado do Tocantins.

Classe do uso do solo	Coefficiente de correlação	p-valor
Agropecuária	0,053	0,535
Água	0,090	0,290
Área com influência urbana	0,115	0,179
Cultura agrícola	-0,034	0,689
Ecotono savana e floresta estacional	0,000	1,000
Ecotono savana e floresta ombrófila	0,050	0,556
Floresta estacional decidual montana	-0,113	0,184
Floresta estacional semidecidual aluvial	0,011	0,895
Floresta estacional semidecidual submontana	0,042	0,625
Floresta estacional semidecidual submontana	0,052	0,543
Floresta ombrófila aberta aluvial	-0,120	0,159
Floresta ombrófila aberta submontana	0,101	0,238
Floresta ombrófila densa aluvial	0,023	0,786
Floresta ombrófila densa submontana	0,085	0,323
Formações pioneiras com influencia fluvial e/ou lacustre	-0,047	0,582
Indiscriminada	0,042	0,625
Influencia urbana	-0,001	0,991
Pastagem cultivada	-0,214*	0,011
Pecuária	0,075	0,556
Pecuária região de floresta ombrófila aberta	0,042	0,625
Reflorestamento	-0,052	0,542
Savana arborizada	-0,019	0,823
Savana arborizada com floresta de galeria	-0,125	0,142
Savana arborizada sem floresta de galeria	0,073	0,395
Savana florestada	0,086	0,312
Savana gramíneo-lenhosa	0,104	0,222
Savana gramíneo-lenhosa com floresta de galeria	-0,142	0,095
Savana gramíneo-lenhosa sem floresta de galeria	-0,059	0,489
Savana parque	-0,023	0,784
Savana parque com floresta de galeria	-0,059	0,493
Savana parque sem floresta de galeria	0,101	0,235
Vegetação secundária	0,127	0,137

* Correlação significativa com nível de 0,05

Tabela 4. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana no período de 2001 a 2011, no Estado do Tocantins.

Classe do uso do solo	Coeficiente de correlação	p-valor
Agropecuária	0,137	0,109
Água	0,067	0,431
Área com influência urbana	0,156	0,067
Cultura agrícola	-0,103	0,228
Ecótono savana e floresta estacional	0,122	0,151
Ecótono savana e floresta ombrófila	0,259**	0,002
Floresta estacional decidual montana	-0,109	0,200
Floresta estacional semidecidual aluvial	-0,036	0,673
Floresta estacional semidecidual submontana	0,139	0,103
Floresta estacional semidecidual submontana	-0,077	0,365
Floresta ombrófila aberta aluvial	-0,090	0,294
Floresta ombrófila aberta submontana	0,248**	0,003
Floresta ombrófila densa aluvial	0,163	0,055
Floresta ombrófila densa submontana	0,100	0,243
Formações pioneiras com influencia fluvial e/ou lacustre	-0,085	0,320
Indiscriminada	0,122	0,154
Influência urbana	0,153	0,072
Pastagem cultivada	-0,196*	0,021
Pecuária	0,241**	0,004
Pecuária região de floresta ombrófila aberta	0,101	0,235
Reflorestamento	-0,099	0,245
Savana arborizada	0,203*	0,017
Savana arborizada com floresta de galeria	-0,278**	0,001
Savana arborizada sem floresta de galeria	-0,033	0,696
Savana florestada	0,101	0,235
Savana gramíneo-lenhosa	0,175*	0,039
Savana gramíneo-lenhosa com floresta de galeria	-0,039	0,646
Savana gramíneo-lenhosa sem floresta de galeria	-0,050	0,556
Savana parque	0,069	0,422
Savana parque com floresta de galeria	-0,192*	0,023
Savana parque sem floresta de galeria	-0,033	0,701
Vegetação secundária	0,202*	0,017

* Correlação significativa com nível de 0,05

** Correlação significativa com nível de 0,01

Correlação entre o incremento do desflorestamento e a estratificação da leishmaniose visceral americana. A região Norte de Tocantins apresentou constatare incremento do desmatamento e elevados número de casos por LVA (Figura 9).

Os municípios de Araguaína, Araguatins, Bandeirantes do Tocantins, Arapoema, Santa Fé do Araguaia, Ananás, Pau d'Arco, Itaporã do Tocantins, Nova Olinda, Colméia, Colinas do Tocantins e Riachinho estão entre os municípios que apresentaram maior incremento do desmatamento, além de terem apresentado expansão no registro de casos humanos por LVA, no período de 2004 a 2011 (Tabela 5).

Tabela 5. Municípios com maior incremento do desmatamento (até 2011) e classificação da estratificação da leishmaniose visceral americana (de 2004 a 2011).
Fonte: PRODES, Secretaria de Saúde do Estado do Tocantins.

Município	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Araguaína	TI	TI	TI	TI	TI	TI	TI	TI
Araguatins	TE	TE	TE	TE	TI	TI	TI	TI
Bandeirantes do TO	ST	ST	ST	ST	TE	TE	ST	TM
Arapoema	TE	TE	TE	TE	ST	ST	TE	TM
Xambioã	TE	TE	TE	TE	ST	TE	TE	ST
Santa Fé do Araguaia	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TI
Ananás	ST	ST	ST	TE	TM	TI	TI	TI
Pau d'Arco	ST	ST	ST	ST	ST	ST	TE	TE
Guaraí	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TM	TE
Aragominas	TE	TE	ST	TE	TE	TE	TE	TE
Muricilândia	ST	ST	ST	ST	TE	TE	TE	ST
Bernardo Sayão	ST	ST	ST	ST	ST	ST	ST	ST
Itaporã do TO	ST	ST	TE	TE	ST	ST	ST	TE
Pequizeiro	ST	ST	ST	TE	TM	TI	TI	ST
Nova Olinda	TE	TE	TM	TM	TE	TM	TM	TM
Piraquê	ST	ST	ST	ST	ST	TE	TE	TE
Colméia	TE	TE	TE	TE	ST	TE	TM	TI
Araguanã	ST	ST	ST	ST	TM	TM	TE	TE
Colinas do TO	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TM	TI
Riachinho	ST	TE	TE	TE	ST	TE	TE	TE

TI - Transmissão intensa, TM - transmissão moderada, TE - transmissão esporádica, ST - sem transmissão.

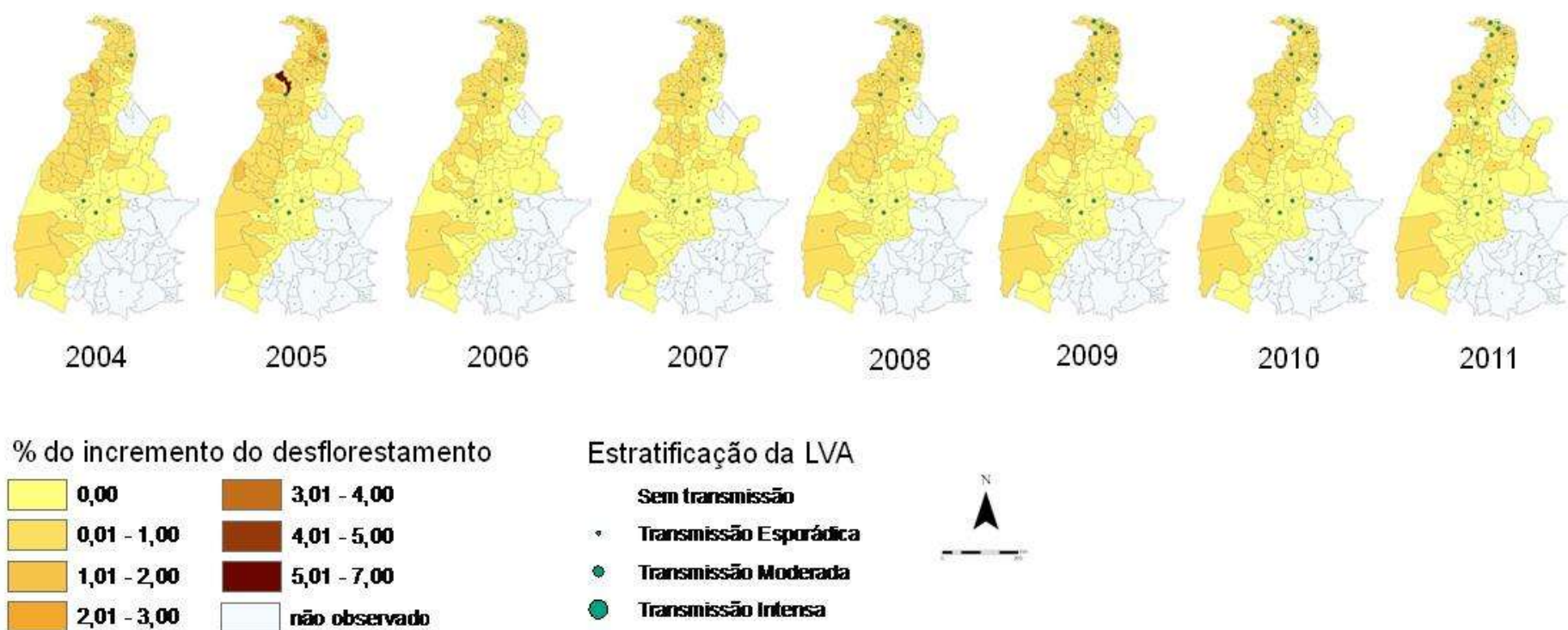


Figura 9. Associação entre o incremento do desflorestamento e a estratificação da leishmaniose visceral americana no Estado do Tocantins. Fonte: PROBES, Secretaria de Saúde do Estado do Tocantins. Estruturação do mapa digital: Geoprocessamento LIS/ICIT/FIOCRUZ.

DISCUSSÃO

A LVA é uma doença grave que tem revelado expressiva expansão geográfica no Brasil. Há décadas passadas seu foco era voltado principalmente para os estados das regiões Nordeste e Norte do país. Atualmente, devido a vários fatores, ganhou importância nas regiões Sudeste e Centro Oeste, e recentemente no Sul^{1,29}.

Lutzomyia (L.) longipalpis está presente em todos os Estados do Brasil, exceto no Santa Catarina, Acre, Amazonas e Amapá, demonstrando a elevada capacidade de adaptação a diferentes tipos de vegetação, climas, habitats e plasticidade alimentar^{30,31}.

O Estado de Tocantins apresenta carência de estudos entomológicos, com registro de *L. (L.) longipalpis*, principal vetor de LVA, em apenas 26 dos seus 139 municípios^{19,20,21,22,23,24,25,26,27,28}, enquanto que há registro de casos humanos em 120⁴. Estes fatos evidenciam a necessidade de novos estudos entomológicos, face a considerável distribuição da doença no estado.

A aplicação de técnicas e produtos de sensoriamento remoto em estudos epidemiológicos teve início na década de 70³², e conjuntamente com o uso de Sistema de Informações Geográficas vem facilitando a integração de parâmetros ambientais e dados de saúde no desenvolvimento de modelos de monitoramento³³, sendo possível seu uso para a compreensão dos perfis da LVA.

Poucos estudos se utilizam do geoprocessamento como ferramenta importante de análise de distribuição espacial de vetores de leishmanioses. Em Belo Horizonte, área que apresenta um dos maiores índices de LVA humana e canina do Brasil, foi possível correlacionar as situações ambientais da caracterização de peri-domicílio e os vetores encontrados. *Lutzomyia (L.) longipalpis* apresentou maior abundância nas áreas do peridomicílio, regiões com condições higiênicas inadequadas, que favorecem o desenvolvimento de flebotomíneos. Já a proximidade de áreas com vegetação exerceu pouca influência sobre a incidência de LVA, corroborando com seu perfil urbano³⁴.

Em estudos no Maranhão, *L. (L.) longipalpis* foi a espécie mais abundante, encontrada no Cerrado; na Bahia, foram capturados espécimes em áreas de Caatinga e Floresta Atlântica, demonstrando sua alta adaptação aos distintos ambientes^{35,36,37}.

Considerando a hipótese da presença de *L. (L.) longipalpis* nos municípios onde há registros autóctones de casos humanos por LVA no Tocantins, o vetor está presente em todas as classes do uso do solo, mostrando-se adaptado a todos os ambientes,

encontrado em áreas remanescentes bem como em áreas antropizadas, corroborando com estudos que discutem sua elevada adaptação a ambientes modificados^{27,30,31,38}.

Na correlação entre a presença de *L. (L.) longipalpis* e as classes do uso do solo, em Tocantins, não foram observadas correlações positivas, indicando que o vetor não apresenta preferência quanto à vegetação encontrada, apresentando correlação negativa apenas para as áreas de pastagem cultivada (áreas agrícolas onde há a presença de culturas diversas³⁹). Tal evidência pode ser sugerida pelo uso crescente de insumos químicos, uma vez que, a aplicação de inseticidas em zonas agropecuárias pode reduzir o número de insetos^{40,41,42,43}, inclusive de flebotomíneos^{44,45,46,47} e, consequentemente, uma diminuição no número de casos humanos.

No Estado do Mato Grosso, a distribuição espacial de *L. (L.) longipalpis* ocorreu nos biomas Cerrado, Zona de Transição e Floresta, sugerido por alguns autores como um criadouro potencial para este flebotomíneo⁴⁸, enquanto que *L. cruzi*, outro vetor comprovado de LVA no estado, esteve mais presente no Cerrado e no Pantanal. A ocorrência de *L. (L.) longipalpis* em diferentes biomas confirma seu caráter generalista, adaptadas a diversificados habitats⁴⁹.

Na Bahia, *L. (L.) longipalpis* foi associado com áreas de Caatinga, enquanto que *L. (N.) whitmani* às áreas de Floresta Tropical; demonstrando que os limites geográficos das espécies de vetores de leishmanioses visceral e cutânea são claramente definidos pelas características biológicas e fitogeográfica³⁷.

Correlacionando a ocorrência de LVA humana, canina e o vetor, *Lutzomyia (L.) longipalpis*, em Belo Horizonte, foi possível definir áreas de concentração de leishmaniose canina. A análise dos dados mostrou também que 84,2% dos casos de leishmaniose humana foram relacionados com casos de leishmaniose canina. Quanto a análise biogeográfica (altitude, a área de influência da vegetação, hidrografia e áreas de pobreza), a altitude entre 780 e 880 m acima do nível do mar, demonstrou uma maior associação com os casos humanos, caninos, bem como com a abundância de flebotmíneos⁵⁰.

No município de Porto Nacional, Estado do Tocantins, *L. (L.) longipalpis* foi mais abundante em áreas urbanas, quando comparado a áreas rurais, confirmando sua adaptação a estes ambientes, além disso, seu comportamento antropofílico e plasticidade alimentar possivelmente contribuíram para a instalação do ciclo de transmissão da LVA no meio urbano e sua manutenção em zonas rurais²⁷.

As alterações ambientais, climáticas ou antrópicas vêm sendo analisadas por diversos autores, onde a distribuição de doenças tropicais é sugerida como um dos reflexos destas interferências^{51,52,53,54,55}, como por exemplo os desmatamentos, que intervêm na dinâmica ambiental, afetando potencialmente os nichos ecológicos dos vetores das leishmanioses⁵⁶; já que o desmatamento de florestas, como o que aconteceu com a mata atlântica por atividades antrópicas, pode favorecer a expansão de outros tipos de vegetação.

O Estado do Tocantins apresentou constante incremento de desmatamento nas regiões Norte e Oeste, áreas com ocorrência de casos humanos de LVA, com destaque para os municípios de Araguaína, Araguatins, Bandeirantes do Tocantins, Arapoema, Santa Fé do Araguaia, Ananás, Pau d'Arco, Itaporã do Tocantins, Nova Olinda, Colméia, Colinas do Tocantins e Riachinho, além da expansão no registro de casos humanos.

Neste cenário, Araguaína se destaca por ter sido escolhido pelo Ministério da Saúde, como um dos municípios prioritários para a execução de ações de vigilância e controle para LVA. Nos últimos anos, este município vem produzindo elevados números de registros de LVA, e em 2007, 2008 e 2012 apresentou o maior quantidade de casos humanos do Brasil⁴.

É sabido que a LVA têm apresentado um quadro de persistência em áreas com alterações ambientais, como por exemplo, áreas de desmatamento⁵⁷. Por outro lado, discute-se que processos contínuos de desmatamentos, proporcionam o aumento de pessoas expostas e/ou infectadas, criando condições para o surgimento de surtos epidêmicos^{2,3}, pois alteram as condições naturais e habitats de algumas espécies de mamíferos silvestres, hospedeiros do parasito, que passam a frequentar áreas habitadas pela população humana. Este fato possibilita que flebotomíneos vetores, dotados de plasticidade alimentar, como *L. (L.) longipalpis*, tornem-se aptos a transmitir o parasito para o homem^{2,30,58,59}.

No presente estudo, a análise da correlação dos casos humanos por LVA com as classes do uso do solo mostrou correlações distintas ao longo dos anos, demonstrando mais uma vez, que *L. (L.) longipalpis* está adaptado a diferentes tipos de vegetação. As áreas que apresentaram correlação positiva com mais frequência foram: área com influência urbana, ecótono savana e floresta ombrófila, influência urbana, pecuária e savana arborizada. Vale destacar o encontro de correlação com áreas de influência urbana (áreas que sofrem influência urbana, mas não são totalmente urbanizadas) e

influência urbana (ambiente totalmente urbanizado)^{10,60}. Nestas áreas foi demonstrando que os casos humanos estão presentes no ambiente urbanizado e em áreas em processo de urbanização, evidenciando que *L. (L.) longipalpis* estaria próximo das áreas urbanas dos municípios do Estado do Tocantins, corroborando com estudos que indicam sua adaptação este tipo de ambiente modificado^{1,30}.

Em área urbana de Campo Grande (MS), foi encontrada correlação entre a abundância de *L. (L.) longipalpis*, porcentagem da cobertura vegetal e o índice de vegetação médio. Entretanto, não houve associação significativa entre a heterogeneidade de habitats e a abundância do vetor; os autores sugerem que árvores de grande porte podem oferecer melhores condições microambientais, favorecendo a reprodução dos flebotomíneo⁶¹.

A urbanização altera o clima dentro das cidades e localidades próximas, formando ilhas de calor através dos poluentes atmosféricos, resultando em temperaturas médias mais quentes quando comparado às áreas menos antropizadas^{62,63}. As mudanças de temperatura aumentam a capacidade vetorial ou suas forças de transmissão, que determinam a forma da amplificação e curvas epidêmicas, estabelecendo a receptividade de novas áreas para a invasão do patógeno⁶³.

Estudo realizado no nordeste brasileiro demonstrou que *L. (L.) longipalpis*, não apresentou correlação significativa com as médias mensais de temperatura, umidade relativa do ar ou chuva, mostrando-se adaptado as diferentes condições climáticas⁶⁴. Em Barra do Graça (MT), município prioritário para o Ministério da Saúde, foi verificado que *L. (L.) longipalpis*, foi a espécie mais abundante, apresentando picos de ocorrência durante a estação chuvosa, além de correlação com a umidade relativa do ar, em áreas urbanas, anteriormente restrito a zona rural⁶⁵.

Há que se considerar, como fator determinante da manutenção da doença, a diversidade de ambientes onde a LVA ocorre somado aos fatores biológicos, fisiogeográficos e sociais⁶⁶. Esta evidência tem uma correlação com os dados epidemiológicos das últimas décadas, que revelam a periurbanização e a urbanização da doença, com surtos em grandes cidades e capitais¹.

As leishmanioses apresentam grandes impactos na saúde humana, consequência das alterações ambientais e do aquecimento global, principalmente pela possível expansão das áreas de transmissão, neste contexto, as geotecnologias têm possibilitado valiosa contribuição no seu controle e predição^{67,68}. Estudos desta natureza podem contribuir para a caracterização e monitoramento dos perfis espaciais e temporais, e

consequentemente, identificar padrões epidemiológicos, traduzindo em informações que poderão ser ferramentas de grande valor na implantação de medidas de prevenção e controle.

A maior parte do Estado do Tocantins encontra-se no bioma Cerrado, onde até 2009 já havia perdido 48% de sua cobertura vegetal, devido a intervenções ambientais de origem humana⁶⁹. Desta forma, se faz necessário o planejamento e a implementação de políticas públicas, a fim de minimizar os resultados dos impactos ambientais de origem antrópica. Os resultados demonstram a necessidade de incorporação de ações integradas, uma vez que a LVA encontra-se em franca expansão, como um resultado dos impactos ambientais e a adaptação do vetor, *L. (L.) longipalpis* a vários habitats.

Anexo 1. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2001, no Estado do Tocantins.

Classe do uso do solo	Coeficiente de correlação	p-valor
Agropecuária	0,055	0,520
Água	0,026	0,761
Área com influência urbana	0,283**	0,001
Cultura agrícola	0,008	0,928
Ecótono savana e floresta estacional	-,0081	0,342
Ecótono savana e floresta ombrófila	-0,075	0,382
Floresta estacional decidual montana	0,043	0,616
Floresta estacional semidecidual aluvial	-0,036	0,676
Floresta estacional semidecidualsubmontana	-0,110	0,195
Floresta estacional semidecidualsubmontana	0,005	0,957
Floresta ombrófila aberta aluvial	-0,072	0,398
Floresta ombrófila aberta submontana	-0,023	0,788
Floresta ombrófila densa aluvial	0,069	0,422
Floresta ombrófila densa submontana	0,068	0,425
Formações pioneiras com influencia fluvial e/ou lacustre	-0,073	0,394
Indiscriminada	-0,036	0,676
Influência urbana	0,127	0,137
Pastagem cultivada	0,080	0,347
Pecuária	-0,102	0,231
Pecuária região de floresta ombrófila aberta	-0,036	0,676
Reflorestamento	-0,062	0,466
Savana arborizada	0,021	0,803
Savana arborizada com floresta de galeria	0,047	0,584
Savana arborizada sem floresta de galeria	0,000	0,999
Savana florestada	0,149	0,079
Savana gramíneo-lenhosa	-0,089	0,297
Savana gramíneo-lenhosa com floresta de galeria	-0,089	0,296
Savana gramíneo-lenhosa sem floresta de galeria	-0,039	0,646
Savana parque	-0,072	0,397
Savana parque com floresta de galeria	-0,064	0,457
Savana parque sem floresta de galeria	-0,072	0,398
Vegetação secundária	-0,074	0,386

* Correlação significativa com nível de 0,05

** Correlação significativa com nível de 0,01

Anexo 2. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2002, no Estado do Tocantins.

Classe do uso do solo	Coefficiente de correlação	p-valor
Agropecuária	0,120	0,160
Água	0,041	0,632
Área com influência urbana	0,231**	0,006
Cultura agrícola	-0,033	0,703
Ecótono savana e floresta estacional	-0,030	0,726
Ecótono savana e floresta ombrófila	0,065	0,448
Floresta estacional decidual montana	-0,102	0,231
Floresta estacional semidecidual aluvial	0,162	0,057
Floresta estacional semidecidualsubmontana	-0,095	0,267
Floresta estacional semidecidualsubmontana	0,067	0,434
Floresta ombrófila aberta aluvial	0,111	0,193
Floresta ombrófila aberta submontana	-0,016	0,850
Floresta ombrófila densa aluvial	-0,057	0,503
Floresta ombrófila densa submontana	0,062	0,470
Formações pioneiras com influencia fluvial e/ou lacustre	-,012	0,885
Indiscriminada	-0,049	0,568
Influência urbana	0,225**	0,008
Pastagem cultivada	0,056	0,511
Pecuária	0,002	0,984
Pecuária região de floresta ombrófila aberta	0,124	0,145
Reflorestamento	-0,085	0,319
Savana arborizada	0,009	0,913
Savana arborizada com floresta de galeria	-0,111	0,194
Savana arborizada sem floresta de galeria	0,083	0,330
Savana florestada	0,107	0,210
Savana gramíneo-lenhosa	-0,114	0,180
Savana gramíneo-lenhosa com floresta de galeria	-0,122	0,153
Savana gramíneo-lenhosa sem floresta de galeria	0,012	0,888
Savana parque	-0,088	0,301
Savana parque com floresta de galeria	-0,083	0,334
Savana parque sem floresta de galeria	-0,013	0,878
Vegetação secundária	-0,002	0,980

* Correlação significativa com nível de 0,05

** Correlação significativa com nível de 0,01

Anexo 3. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2003, no Estado do Tocantins.

Classe do uso do solo	Coefficiente de correlação	p-valor
Agropecuária	0,021	0,808
Água	0,059	0,493
Área com influência urbana	0,142	0,095
Cultura agrícola	-0,057	0,504
Ecótono savana e floresta estacional	-0,033	0,702
Ecótono savana e floresta ombrófila	0,071	0,409
Floresta estacional decidual montana	-0,034	0,689
Floresta estacional semidecidual aluvial	0,157	0,065
Floresta estacional semidecidualsubmontana	-0,025	0,774
Floresta estacional semidecidualsubmontana	0,034	0,692
Floresta ombrófila aberta aluvial	0,178*	0,036
Floresta ombrófila aberta submontana	-0,173*	0,042
Floresta ombrófila densa aluvial	0,011	0,896
Floresta ombrófila densa submontana	0,103	0,228
Formações pioneiras com influencia fluvial e/ou lacustre	-0,045	0,597
Indiscriminada	0,141	0,099
Influência urbana	0,075	0,378
Pastagem cultivada	-0,012	0,891
Pecuária	0,057	0,505
Pecuária região de floresta ombrófila aberta	0,094	0,272
Reflorestamento	-0,104	0,224
Savana arborizada	-0,093	0,278
Savana arborizada com floresta de galeria	0,062	0,472
Savana arborizada sem floresta de galeria	,0184*	0,030
Savana florestada	0,048	0,575
Savana gramíneo-lenhosa	-0,058	0,495
Savana gramíneo-lenhosa com floresta de galeria	-0,006	0,945
Savana gramíneo-lenhosa sem floresta de galeria	-0,043	0,616
Savana parque	-0,030	0,724
Savana parque com floresta de galeria	-0,037	0,664
Savana parque sem floresta de galeria	-0,017	0,842
Vegetação secundária	0,101	0,239

* Correlação significativa com nível de 0,05

** Correlação significativa com nível de 0,01

Anexo 4. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2004, no Estado do Tocantins.

Classe do uso do solo	Coefficiente de correlação	p-valor
Agropecuária	0,034	0,693
Água	0,044	0,608
Área com influência urbana	0,248**	0,003
Cultura agrícola	0,103	0,226
Ecótono savana e floresta estacional	-0,015	0,859
Ecótono savana e floresta ombrófila	0,014	0,871
Floresta estacional decidual montana	-0,178*	0,036
Floresta estacional semidecidual aluvial	0,151	0,077
Floresta estacional semidecidualsubmontana	-0,109	0,202
Floresta estacional semidecidualsubmontana	0,050	0,560
Floresta ombrófila aberta aluvial	0,180*	0,034
Floresta ombrófila aberta submontana	-0,082	0,336
Floresta ombrófila densa aluvial	-0,020	0,820
Floresta ombrófila densa submontana	0,056	0,514
Formações pioneiras com influencia fluvial e/ou lacustre	-0,020	0,819
Indiscriminada	-0,053	0,533
Influência urbana	0,089	0,295
Pastagem cultivada	-0,169*	0,047
Pecuária	0,002	0,984
Pecuária região de floresta ombrófila aberta	-0,053	0,533
Reflorestamento	-0,093	0,276
Savana arborizada	0,007	0,939
Savana arborizada com floresta de galeria	0,143	0,093
Savana arborizada sem floresta de galeria	0,115	0,178
Savana florestada	0,156	0,066
Savana gramíneo-lenhosa	-0,175*	0,040
Savana gramíneo-lenhosa com floresta de galeria	-0,133	0,119
Savana gramíneo-lenhosa sem floresta de galeria	0,068	0,429
Savana parque	-0,107	0,212
Savana parque com floresta de galeria	0,053	0,535
Savana parque sem floresta de galeria	-0,007	0,935
Vegetação secundária	0,093	0,274

* Correlação significativa com nível de 0,05

** Correlação significativa com nível de 0,01

Anexo 5. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2005, no Estado do Tocantins.

Classe do uso do solo	Coefficiente de correlação	p-valor
Agropecuária	0,068	0,424
Água	0,101	0,236
Área com influência urbana	0,207*	0,014
Cultura agrícola	0,147	0,084
Ecótono savana e floresta estacional	0,082	0,336
Ecótono savana e floresta ombrófila	0,093	0,277
Floresta estacional decidual montana	-0,140	0,101
Floresta estacional semidecidual aluvial	0,137	0,108
Floresta estacional semidecidualsubmontana	-0,078	0,362
Floresta estacional semidecidualsubmontana	0,139	0,102
Floresta ombrófila aberta aluvial	0,115	0,179
Floresta ombrófila aberta submontana	0,005	0,949
Floresta ombrófila densa aluvial	0,011	0,899
Floresta ombrófila densa submontana	0,124	0,145
Formações pioneiras com influencia fluvial e/ou lacustre	-0,051	0,552
Indiscriminada	-0,046	0,590
Influência urbana	0,191*	0,024
Pastagem cultivada	-0,063	0,465
Pecuária	0,005	0,958
Pecuária região de floresta ombrófila aberta	-0,046	0,590
Reflorestamento	0,024	0,775
Savana arborizada	-0,125	0,143
Savana arborizada com floresta de galeria	0,101	0,234
Savana arborizada sem floresta de galeria	0,117	0,171
Savana florestada	0,125	0,141
Savana gramíneo-lenhosa	-0,041	0,632
Savana gramíneo-lenhosa com floresta de galeria	-0,038	0,653
Savana gramíneo-lenhosa sem floresta de galeria	-0,011	0,901
Savana parque	-0,108	0,206
Savana parque com floresta de galeria	0,013	0,880
Savana parque sem floresta de galeria	0,013	0,880
Vegetação secundária	0,147	0,084

* Correlação significativa com nível de 0,05

** Correlação significativa com nível de 0,01

Anexo 6. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2006, no Estado do Tocantins.

Classe do uso do solo	Coefficiente de correlação	p-valor
Agropecuária	-0,018	0,837
Água	0,046	0,590
Área com influência urbana	0,222**	0,009
Cultura agrícola	0,072	0,398
Ecótono savana e floresta estacional	0,081	0,342
Ecótono savana e floresta ombrófila	0,042	0,621
Floresta estacional decidual montana	-0,106	0,213
Floresta estacional semidecidual aluvial	0,148	0,083
Floresta estacional semidecidualsubmontana	0,023	0,791
Floresta estacional semidecidualsubmontana	0,063	0,462
Floresta ombrófila aberta aluvial	0,092	0,283
Floresta ombrófila aberta submontana	-0,048	0,573
Floresta ombrófila densa aluvial	-0,016	0,852
Floresta ombrófila densa submontana	0,078	0,361
Formações pioneiras com influencia fluvial e/ou lacustre	-0,155	0,068
Indiscriminada	-0,054	0,527
Influência urbana	0,092	0,284
Pastagem cultivada	-0,038	0,654
Pecuária	0,003	0,976
Pecuária região de floresta ombrófila aberta	-0,054	0,527
Reflorestamento	-0,094	0,269
Savana arborizada	-0,032	0,708
Savana arborizada com floresta de galeria	0,084	0,325
Savana arborizada sem floresta de galeria	0,121	0,157
Savana florestada	0,063	0,464
Savana gramíneo-lenhosa	-0,086	0,314
Savana gramíneo-lenhosa com floresta de galeria	-0,044	0,609
Savana gramíneo-lenhosa sem floresta de galeria	0,016	0,848
Savana parque	-0,104	0,225
Savana parque com floresta de galeria	0,075	0,383
Savana parque sem floresta de galeria	-0,033	0,700
Vegetação secundária	0,030	0,727

* Correlação significativa com nível de 0,05

** Correlação significativa com nível de 0,01

Anexo 7. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2007, no Estado do Tocantins.

Classe do uso do solo	Coefficiente de correlação	p-valor
Agropecuária	0,085	0,321
Água	0,154	0,071
Área com influência urbana	0,158	0,064
Cultura agrícola	0,029	0,737
Ecótono savana e floresta estacional	0,264**	0,002
Ecótono savana e floresta ombrófila	0,229**	0,007
Floresta estacional decidual montana	-0,054	0,529
Floresta estacional semidecidual aluvial	0,188*	0,027
Floresta estacional semidecidualsubmontana	-0,087	0,310
Floresta estacional semidecidualsubmontana	0,280**	0,001
Floresta ombrófila aberta aluvial	0,136	0,110
Floresta ombrófila aberta submontana	0,002	0,980
Floresta ombrófila densa aluvial	-0,007	0,931
Floresta ombrófila densa submontana	0,225**	0,008
Formações pioneiras com influencia fluvial e/ou lacustre	-0,070	0,413
Indiscriminada	-0,047	0,583
Influência urbana	0,132	0,122
Pastagem cultivada	-0,039	0,649
Pecuária	0,233**	0,006
Pecuária região de floresta ombrófila aberta	-0,047	0,583
Reflorestamento	0,015	0,857
Savana arborizada	-0,257**	0,002
Savana arborizada com floresta de galeria	-0,075	0,377
Savana arborizada sem floresta de galeria	0,230**	0,007
Savana florestada	0,081	0,342
Savana gramíneo-lenhosa	0,017	0,844
Savana gramíneo-lenhosa com floresta de galeria	0,134	0,114
Savana gramíneo-lenhosa sem floresta de galeria	-0,132	0,120
Savana parque	-0,181*	0,033
Savana parque com floresta de galeria	-0,081	0,345
Savana parque sem floresta de galeria	0,006	0,947
Vegetação secundária	0,100	0,239

* Correlação significativa com nível de 0,05

** Correlação significativa com nível de 0,01

Anexo 8. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2008, no Estado do Tocantins.

Classe do uso do solo	Coefficiente de correlação	p-valor
Agropecuária	0,070	0,412
Água	0,021	0,805
Área com influência urbana	0,235**	0,005
Cultura agrícola	0,042	0,626
Ecótono savana e floresta estacional	0,128	0,132
Ecótono savana e floresta ombrófila	0,195*	0,022
Floresta estacional decidual montana	-0,130	0,128
Floresta estacional semidecidual aluvial	0,166	0,050
Floresta estacional semidecidualsubmontana	0,108	0,206
Floresta estacional semidecidualsubmontana	0,121	0,155
Floresta ombrófila aberta aluvial	0,078	0,363
Floresta ombrófila aberta submontana	-0,117	0,169
Floresta ombrófila densa aluvial	0,035	0,681
Floresta ombrófila densa submontana	0,212*	0,012
Formações pioneiras com influencia fluvial e/ou lacustre	-0,090	0,292
Indiscriminada	0,077	0,367
Influência urbana	0,125	0,144
Pastagem cultivada	-0,003	0,974
Pecuária	0,159	0,062
Pecuária região de floresta ombrófila aberta	-0,065	0,449
Reflorestamento	-0,029	0,731
Savana arborizada	-0,231**	0,006
Savana arborizada com floresta de galeria	0,023	0,788
Savana arborizada sem floresta de galeria	0,192*	0,024
Savana florestada	0,122	0,151
Savana gramíneo-lenhosa	-0,075	0,378
Savana gramíneo-lenhosa com floresta de galeria	0,062	0,467
Savana gramíneo-lenhosa sem floresta de galeria	-0,099	0,244
Savana parque	-0,189*	0,026
Savana parque com floresta de galeria	-0,062	0,471
Savana parque sem floresta de galeria	0,041	0,634
Vegetação secundária	0,188*	0,027

* Correlação significativa com nível de 0,05

** Correlação significativa com nível de 0,01

Anexo 9. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2009, no Estado do Tocantins.

Classe do uso do solo	Coefficiente de correlação	p-valor
Agropecuária	0,122	0,152
Água	0,096	0,259
Área com influência urbana	0,114	0,180
Cultura agrícola	-0,080	0,350
Ecótono savana e floresta estacional	0,090	0,291
Ecótono savana e floresta ombrófila	0,319**	0,000
Floresta estacional decidual montana	-0,064	0,453
Floresta estacional semidecidual aluvial	0,166	0,052
Floresta estacional semidecidualsubmontana	-0,098	0,251
Floresta estacional semidecidualsubmontana	0,153	0,071
Floresta ombrófila aberta aluvial	0,089	0,297
Floresta ombrófila aberta submontana	-0,014	0,874
Floresta ombrófila densa aluvial	-0,050	0,561
Floresta ombrófila densa submontana	0,224**	0,008
Formações pioneiras com influencia fluvial e/ou lacustre	-0,012	0,888
Indiscriminada	0,146	0,086
Influência urbana	0,221**	0,009
Pastagem cultivada	-0,116	0,174
Pecuária	0,248**	0,003
Pecuária região de floresta ombrófila aberta	0,102	0,231
Reflorestamento	-0,113	0,187
Savana arborizada	-0,225**	0,008
Savana arborizada com floresta de galeria	-0,131	0,124
Savana arborizada sem floresta de galeria	0,261**	0,002
Savana florestada	-0,122	0,152
Savana gramíneo-lenhosa	0,012	0,889
Savana gramíneo-lenhosa com floresta de galeria	0,114	0,180
Savana gramíneo-lenhosa sem floresta de galeria	-0,078	0,360
Savana parque	-0,194*	0,022
Savana parque com floresta de galeria	-0,074	0,390
Savana parque sem floresta de galeria	0,072	0,398
Vegetação secundária	0,164	0,053

* Correlação significativa com nível de 0,05

** Correlação significativa com nível de 0,01

Anexo 10. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2010, no Estado do Tocantins.

Classe do uso do solo	Coefficiente de correlação	p-valor
Agropecuária	0,082	0,340
Água	-0,020	0,813
Área com influência urbana	0,111	0,194
Cultura agrícola	-0,093	0,274
Ecótono savana e floresta estacional	0,176*	0,039
Ecótono savana e floresta ombrófila	0,238**	0,005
Floresta estacional decidual montana	0,085	0,321
Floresta estacional semidecidual aluvial	0,156	0,066
Floresta estacional semidecidualsubmontana	-0,116	0,176
Floresta estacional semidecidualsubmontana	0,101	0,238
Floresta ombrófila aberta aluvial	0,065	0,447
Floresta ombrófila aberta submontana	-0,036	0,674
Floresta ombrófila densa aluvial	-0,082	0,335
Floresta ombrófila densa submontana	0,150	0,077
Formações pioneiras com influencia fluvial e/ou lacustre	-0,094	0,268
Indiscriminada	0,146	0,087
Influência urbana	0,147	0,084
Pastagem cultivada	-0,029	0,739
Pecuária	0,198*	0,019
Pecuária região de floresta ombrófila aberta	0,053	0,534
Reflorestamento	-0,049	0,565
Savana arborizada	-0,192*	0,023
Savana arborizada com floresta de galeria	-0,101	0,238
Savana arborizada sem floresta de galeria	0,233**	0,006
Savana florestada	0,021	0,804
Savana gramíneo-lenhosa	0,065	0,449
Savana gramíneo-lenhosa com floresta de galeria	0,237**	0,005
Savana gramíneo-lenhosa sem floresta de galeria	-0,134	0,117
Savana parque	-0,044	0,608
Savana parque com floresta de galeria	-0,158	0,062
Savana parque sem floresta de galeria	0,137	0,108
Vegetação secundária	0,096	0,262

* Correlação significativa com nível de 0,05

** Correlação significativa com nível de 0,01

Anexo 11. Correlação de Spearman entre as classes do uso do solo e número de casos humanos de leishmaniose visceral americana em 2011, no Estado do Tocantins.

Classe do uso do solo	Coefficiente de correlação	p-valor
Agropecuária	0,212*	0,012
Água	0,077	0,370
Área com influência urbana	0,136	0,110
Cultura agrícola	-0,071	0,409
Ecótono savana e floresta estacional	0,014	0,871
Ecótono savana e floresta ombrófila	0,278**	0,001
Floresta estacional decidual montana	-0,078	0,359
Floresta estacional semidecidual aluvial	0,147	0,084
Floresta estacional semidecidualsubmontana	-0,085	0,322
Floresta estacional semidecidualsubmontana	0,183*	0,031
Floresta ombrófila aberta aluvial	0,170*	0,046
Floresta ombrófila aberta submontana	0,019	0,828
Floresta ombrófila densa aluvial	-0,130	0,128
Floresta ombrófila densa submontana	0,296**	0,000
Formações pioneiras com influencia fluvial e/ou lacustre	-0,113	0,186
Indiscriminada	0,145	0,089
Influência urbana	0,224**	0,008
Pastagem cultivada	-0,166	0,050
Pecuária	0,301**	0,000
Pecuária região de floresta ombrófila aberta	0,142	0,095
Reflorestamento	-0,069	0,417
Savana arborizada	-0,215*	0,011
Savana arborizada com floresta de galeria	-0,149	0,081
Savana arborizada sem floresta de galeria	0,233**	0,006
Savana florestada	0,024	0,776
Savana gramíneo-lenhosa	-0,002	0,984
Savana gramíneo-lenhosa com floresta de galeria	0,106	0,213
Savana gramíneo-lenhosa sem floresta de galeria	-0,095	0,268
Savana parque	-0,220**	0,009
Savana parque com floresta de galeria	-0,101	0,235
Savana parque sem floresta de galeria	0,131	0,125
Vegetação secundária	0,122	0,153

* Correlação significativa com nível de 0,05

** Correlação significativa com nível de 0,01

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. 1th ed. Ministério da Saúde. 2006.
2. Rangel EF, Vilela ML. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Cad. Saúde Pública. 2009;24:2948-52.
3. Vilela ML. Estudos sobre os flebotomíneos e os potenciais vetores da leishmaniose tegumentar americana no Estado do Tocantins. [thesis]. Instituto Oswaldo Cruz. 2012.
4. Sistema de Informação de Agravos de Notificação [internet] [cited dez 2012]. Available from: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/>.
5. Secretaria Estadual de Saúde do Estado do Tocantins. Forthcoming. 2012.
6. Peterson AT, Shaw J. *Lutzomyia* vectors for cutaneous leishmaniasis in Southern Brazil: ecological niche models, predicted geographic distributions, and climate change effects. International Journal Parasitology. 2003;33:919-31.
7. Kalluri S, Gilruth P, Rogers D, Szczur M. Surveillance of arthropod vector-borne infectious diseases using remote sensing techniques: A review. Plos Pathogens. 2007;3(10):e116. doi:10.1371/journal.ppat.0030116.
8. Beck LR, Lobitz BM, Wood BL. Remote sensing and human health: new sensors and new opportunities. Emerg Infect Dis. 2000; 6(3):217-27.
9. Thompson RLR, Edwards M, Hart JA. An assessment of supercell and tornado forecast parameters with RUC-2 model close proximity soundings. 2002.
10. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Regiões de Influência das Cidades. [internet] [2007] [cited nov 2012]. Available from: <http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/geografia/regic.shtm>.
11. Silva JG, Werneck GL, Cruz MS, Costa CH, de Mendonça IL. Infecção natural de *Lutzomyia longipalpis* por *Leishmania* sp. em Teresina, Piauí, Brasil. 2007:1715-20.
12. Governo do Estado do Tocantins. [internet] [2011][cited dez 2012]. Available from: <http://to.gov.br/>.

13. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. [internet] [cited dez 2012]. Available from: <http://www.ibge.gov.br/>.
14. LILACS. Biblioteca Virtual em Saúde. [internet] [cited set 2012]. Available from: <http://lilacs.bvsalud.org>.
15. National Library of Medicine National Institutes of Health. PUBMED. [internet] [cited set 2012]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.
16. Scientific Electronic Library Online. Scielo. [internet] [cited set 2012]. Available from: <http://www.scielo.org>.
17. Descritores em ciência da saúde. DECS. [internet] [cited set 2012]. Available from: <http://decs.bvs.br/>.
18. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. INPE. [internet] [cited set 2012]. Available from: <http://inpe.br>
19. Andrade-Filho JD, Lima ACS, Falcão AL. Phlebotomine sand flies in the State of Piauí, Brazil (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2001. 1085-7.
20. Vilela ML, Azevedo ACR, Sena JM, Leite JH, Grajauskas A, Novo S, Afonso MMS, et al. Studies on the Vectors of Leishmaniasis in Tocantins State, Brazil. In: *The Fifth International Symposium on Phlebotomine Sandflies, 2005, Gammarth-Tunis-Tunisia. The Fifth International Symposium on Phlebotomine Sandflies. Tunisia: Archives de L'Institut Pasteur de Tunis. 2005;82:126.*
21. Vilela ML, Azevedo ACR, Afonso MMS, Silva DM, Rangel EF. Estudos dos vetores das leishmanioses na área de Influência do Aproveitamento Hidrelétrico Peixe Angical, Estado de Tocantins. In: *XLII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Teresina. 2006.*
22. Vilela ML, Azevedo ACR, Costa WA, Motta-Silva D, Rangel EF. Estudos dos Vetores das Leishmanioses na Área de Influência do Aproveitamento Hidrelétrico Peixe Angical, Estado de Tocantins. In: *XLIII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2007, Campos do Jordão. 2007.*
23. Vilela ML, Azevedo ACR, Costa SM, Costa WA, Motta-Silva D, Grajauskas A, et al. Sandfly survey in the influence area of Peixe Angical hydroelectric plant, state of Tocantins, Brazil. In: *6 th International symposium on phlebotomine sandflies. Lima, Peru. 6 th International symposium on phlebotomine sandflies. 2008.*

24. Carvalho BM. Estudo sobre os flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) do Município de Porto Nacional, Estado de Tocantins. [monograph]. Universidade Estácio de Sá. 2008.
25. Vilela ML, Godoy RE, Santos AO, Oliveira FMA, Rangel EF. Estudos sobre os flebotomíneos e os ciclos de transmissão das leishmanioses em Guaraí, estado do Tocantins. In: XXIII Congresso Brasileiro de Entomologia, Natal. Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Entomologia. 2010.
26. Bhraim LR. Levantamento da fauna flebotomínica do município de Araguaína, área de transmissão intensa de leishmaniose visceral, estado do Tocantins. [monograph]. Instituto Oswaldo Cruz. 2012.
27. Vilela ML, Azevedo CG, Carvalho BM, Rangel EF. Phlebotomine fauna (Diptera: Psychodidae) and putative vectors of leishmaniasis in impacted area by hydroelectric plant, State of Tocantins, Brazil. PLoS One. 6, 2011.
28. Machado TO, Bragança MA, Carvalho ML, Andrade-Filho JD. Species diversity of sandflies (Diptera: Psychodidae) during different seasons and in different environments in the district of Taquaruçú, state of Tocantins, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2012: 955-9.
29. Souza GD, Santos E, Andrade-Filho JD. The first report of the main vector of visceral leishmaniasis in America, *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. Mem do Inst Oswaldo Cruz. 2009:1181-2.
30. Lainson R, Rangel EF. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – A review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2005;100:811-27.
31. Maia-Elkhoury NA, Alves WA, Sousa-Gomes ML, Sena JM, Luna EA. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. Caderno de Saúde Pública. 2008;2941-7.
32. Hugh-Jones M. Applications of remote sensing to the identification of the habitats of parasites and disease vectors. Parasitol Today 1989;5:244-51.
33. Bavia ME, Ribeiro FS, Martins MS, Cardim LL, Silva MMN, Carneiro DDMT. Geotecnologias na identificação de fatores ambientais relacionados à ocorrência da leishmaniose visceral americana em Conde, Bahia, Brasil. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. 2011;12(4).

34. Saraiva L, Andrade Filho JD, Falcão AL, de Carvalho DA, de Souza CM, Freitas CR, Gomes Lopes CR, Moreno EC, Melo MN. 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 Trop.* 2011;117(2):137-45.
35. Rebêlo JM, de Oliveira ST, Silva FS, Barros VL, Costa JM. Sandflies (Diptera: Psychodidae) of the Amazônia of Maranhão. V. Seasonal occurrence in ancient colonization area and endemic for cutaneous leishmaniasis. *Brazilian Journal of Biology.* 2011:107-15.
36. Silva FS, Carvalho LP, Cardozo FP, Morais JL, Rebêlo JM. Sand flies (Diptera: Psychodidae) in a Cerrado area of the Maranhão state, Brazil. *Neotropical Entomology.* 2010:1032-8.
37. Dias-Lima AG, Guedes ML, Sherlock IA. Horizontal stratification of the sand fly fauna (Diptera: Psychodidae) in a transitional vegetation between caatinga and tropical rain forest, state of Bahia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2003:733-7.
38. Rangel O, Sampaio SM, Ciaravolo RM, Holcman MM. The distribution pattern of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in the peridomiles of a sector with canine and human visceral leishmaniasis transmission in the municipality of Dracena, São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2012:163-9.
39. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Manual Técnico da Vegetação Brasileira. Rio de Janeiro, IBGE. 1991(1):92.
40. Berardi A. Effects of the African grass *Melinis minutiflora* on plant community composition and fire characteristics of a central Brazilian savanna [dissertation]. University College London. 1994.
41. Barcellos C, Bastos FI. Geoprocessamento ambiente e saúde: uma união possível? *Caderno de Saúde Publica.* 1996;12(3):389-97.
42. Pivello VR, Shilda CN, Meirelles ST. Alien grasses in Brazilian savannas: a threat to biodiversity. *Biodiversity & Conservation.* 1999;8:1281-94.
43. Klink CA, Machado RB. Conservation of the Brazilian Cerrado. *Conserv Bio.* 2005;19:707-13.
44. Nery-Guimarães F, de Bustamante FM. DDT spraying of houses as basis of prevention of leishmaniasis; study of a focus of mucocutaneous leishmaniasis five years after periodical spraying with that insecticide. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais.* 1954:127-30.

45. Deane LM, Deane MP, Alencar JE. Observações sobre o combate ao *Phlebotomus longipalpis* pela dedetização em área endêmica de calazar no Ceará. Rev Bras Malariol. 1955;7:131-41.
46. Sherlock IA, de Almeida SP. Notes on canine leishmaniasis in the State of Bahia. Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais. 1970:231-42.
47. Magalhães PA, Mayrink W, da Costa CA, Melo MN, Dias M, Batista SM, et al. Kala-azar in the Rio Doce, Minas Gerais area. Results of prophylactic measures. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 1980:197-202.
48. Hueb M, Assis SB, Guimarães EED, Rosa DL, Fontes CJF. Ocorrência de Transmissão Autóctone de Leishmaniose Visceral em Mato Grosso. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 1996;29(3):281-2.
49. Missawa NA, Lima GB. Spatial distribution of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) and *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) in the State of Mato Grosso. Rev Soc Bras Med Trop. 2006;39:337-40.
50. Margonari C, Freitas CR, Ribeiro RC, Moura AC, Timbó M, Gripp AH, Pessanha JE, Dias ES. Epidemiology of visceral leishmaniasis through spatial analysis, in Belo Horizonte municipality, state of Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2006;101(1):31-8.
51. Ambroise-Thomas P. Emerging parasite zoonoses: the role of host-parasite relationship. International Journal for Parasitology. 2000:1361-7.
52. Curtis S, Adler R, Huffman G, Nelkin E, Bolvin D. Evolution of tropical and extratropical precipitation anomalies during the 1997-1999 ENSO cycle. International Journal of Climatology. 2000;21(8):961-71.
53. Patz JA, Gracyk TK, Geller N, Vittor AY. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. International Journal for Parasitology. 2000:1395-405.
54. Petney TN. Environmental, cultural and social changes and their influence on parasite infections. International Journal for Parasitology. 2001:919-32.
55. Molineus 2006. Fifty-three years since Hershey and Chase; much ado about pressure but which pressure is it? Virology. 2006;344(1):221-9.
56. Ximenes MFFM. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) e leishmanioses no Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil: reflexos do ambiente antrópico. Neotropical Entomology. 2007;36(1):128-37.

57. Batistella C. Análise da situação de saúde : principais problemas de saúde da população brasileira. In: O território de o processo saúde-doença. 2007; ed 1:121-58.
58. Asford RW. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *Int J Parasitol.* 2000;30:1269-81.
59. Shaw J. The leishmaniasis – survival and expansion in a changing world. A mini-review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2008 ;102(5):541-7.
60. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Manual Técnico de Uso da Terra. 2006. 2 ed (7).
61. Oliveira EF, Silva EA, Fernandes CE, Paranhos Filho AC, Gamarra RM, Ribeiro AA, Brazil RP, Oliveira AG. Biotic factors and occurrence of *Lutzomyia longipalpis* in endemic area of visceral leishmaniasis, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2012;107(3):396-401.
62. Landsberg HE. The Urban Climate. Academic Press Inc. New York. 1981;28:10-240.
63. Reisen WK. Landscape Epidemiology of Vector-Borne Diseases. 2010;461-77.
64. Costa PL, Dantas-Torres F, da Silva FJ, Guimarães VC, Gaudêncio K, Brandão-Filho SP. Ecology of *Lutzomyia longipalpis* in an area of visceral leishmaniasis transmission in north-eastern Brazil. *Acta Trop.* 2013;126(2):99-102
65. Queiroz MF, Varjão JR, Moraes SC, Salcedo GE. Analysis of sandflies (Diptera: Psychodidae) in Barra do Garças, State of Mato Grosso, Brazil, and the influence of environmental variables on the vector density of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912). *Rev Soc Bras Med Trop.* 2012;45(3):313-7.
66. Vilela ML, Afonso MMS, Costa SM, Costa WA, Rangel EF. *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*: Fatores Associados ao Processo de Expansão e Urbanização da Leishmaniose Visceral Americana. In: Leishmanioses no Continente Americano. Forthcoming 2013.
67. Cross ER, Hyams KC. The potential effect of global warming on the geographic and seasonal distribution of *Phlebotomus papatasi* in Southwest Asia. *Environ Health Perspect* 104:724–727, 1996.
68. Aparício C, Bitencourt MD. Modelagem espacial de zonas de risco da leishmaniose tegumentar americana. *Revista de Saúde Pública.* 2004;38(4):511-16.

69. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e de Recursos Naturais Renováveis. IBAMA. [internet] [cited abr 2013]. Available from: <http://siscom.ibama.gov.br/monitorabiomas/index.htm>.

Indicadores Biológicos Associados à *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera:Psychodidae:Phebotominae), Vetor de Leishmaniose Visceral Americana: Hábitos Alimentares e Infecção Natural por *Leishmania (Leishmania) infantumchagasi*(Cunha & Chagas, 1937), de Espécimes Procedentes dos Municípios de Araguaína (TO), Fortaleza (CE), Sobral (CE) e Rio de Janeiro (RJ) / Dados preliminares

Margarete Martins dos Santos Afonso^{1,2}, Sérgio Augusto de Miranda Chaves², Daniela de Pita Pereira¹, Taiana Amâncio da Costa Rego³, Antônio Luis Ferreira de Santana¹, Elizabeth Ferreira Rangel¹.

¹Laboratório de Ecologia, Departamento de Endemias, Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca - Fundação Oswaldo Cruz, ²Laboratório de Transmissores de Leishmanioses, Laboratório de Referência em Vigilância Entomológica: Taxonomia e Ecologia de Vetores das Leishmanioses, Instituto Oswaldo Cruz - Fundação Oswaldo Cruz, ³Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas - Fundação Oswaldo Cruz

INTRODUÇÃO

O Brasil enfrenta a expansão e a urbanização da Leishmaniose Visceral Americana (LVA), com elevado índice de letalidade. A presença dos vetores na área urbana é um dos maiores desafios para o Programa de Controle da Leishmaniose Visceral, que remete claramente a necessidade de melhor entender o comportamento de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*, na área urbana e os fatores de sua adaptação ao habitat.

O conhecimento dos hábitos alimentares dos flebotomíneos, vetores de leishmanioses podem auxiliar no emprego de medidas mais adequadas e eficazes para seu controle. Estudos sobre a biologia e o comportamento de flebotomíneos são importantes não apenas para um melhor entendimento da história natural da doença^{1,2}, mas, sobretudo, também apresentam grande importância nas investigações da relação hospedeiro-vetor e possibilitam um melhor entendimento sobre possíveis reservatórios que estariam atuando na manutenção do ciclo enzoótico além de melhor avaliar o grau de antropofilia da espécie^{3,4,5,6,7,8,9,10,11}.

Desta forma, o presente estudo visa combinar ferramentas moleculares diagnósticas, capazes de identificar infecção natural por *Leishmania infantumchagasi*, e a origem da fonte alimentar, em exemplares de *L. (L.) longipalpis* procedentes municípios de Araguaína/TO, Fortaleza/CE, Sobral/CE (municípios com elevados índices de LVA), e Rio de Janeiro/RJ (primeiro foco urbano da cidade), bem como, avaliar outros potenciais reservatórios de *L. (L.) infantumchagasi* na cadeia epidemiológica da LVA.

METODOLOGIA

Municípios de procedência dos espécimes. Os municípios foram escolhidos de acordo com a categorização de transmissão de LVA e perfil epidemiológico¹²: Araguaína (Tocantins), área de transmissão intensa, com perfil epidemiológico urbano (periferia da cidade); Sobral (Ceará), área de transmissão intensa, com perfil rural; Fortaleza (Ceará), área de transmissão intensa, com perfil urbano; e Rio de Janeiro (Rio de Janeiro), área de transmissão, presença de casos caninos, suspeita de caso humano, com perfil urbano (Figura 1).

Estações de coletas. As coletas foram realizadas no peridomicílio, associando com os Locais Prováveis de Infecção (LPI's) e locais cujo levantamento entomológico já tenha identificado a presença de *L. (L.) longipalpis*. Os flebotomíneos foram capturados com o uso de armadilhas luminosas do tipo CDC¹³ modificadas (modelo HP)¹⁴. As armadilhas foram instaladas no período de 18:00h até 06:00h, no ambiente peridomiciliar, aleatoriamente, totalizando 10 pontos fixos em Sobral, 6 pontos alternados no Rio de Janeiro e 10 pontos alternados em Fortaleza e Araguaína. Os exemplares foram identificados segundo os critérios de Young & Duncan¹⁵, as fêmeas contendo resíduos de sangue e os machos (usados como controle negativo), foram individualizados em tubos de eppendorf e armazenados em freezer -20°C (Anexo).

Deteção da fonte alimentar e da infecção natural. Os ensaios moleculares foram realizados no laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas/IOC, e as amostras de sangue dos animais que foram utilizadas como controles dos ensaios de fonte alimentar, foram cedidas pelo laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios/IOC.

Análises moleculares. Cada inseto foi mantido em 50µL de tampão TE 1X, incubado com 100 µg/mL de proteinase K (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CD, USA), e as amostras correspondentes estocadas a -20°C até o momento da extração do DNA total. A extração foi realizada com o emprego de minicolunas contendo Sílica, utilizando o kit comercial Wizard SV Genomic DNA Purification System (PROMEGA, Madison, WI, EUA), segundo as especificações do fabricante^{16,17}.

PCR em Tempo Real - *Hot-start* PCR. Para a análise de infecção natural e fonte alimentar, foram realizados ensaios de diagnóstico molecular através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Na avaliação de infecção natural, foi aplicado um ensaio multiplex, onde foram utilizados dois pares de *primers* simultaneamente, o primeiro par amplifica a região constante no minicírculo do kDNA do gênero *Leishmania*¹⁸, e o segundo par amplifica o gene *cacophony*, gene constitutivo específico de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia*¹⁹.

Para avaliação dos hábitos alimentares, foram utilizados quatro pares de *primers*^{20,21} para *Homo sapiens*, *Canis familiaris*, *Didelphis albiventris* e *Gallus gallus* (Tabela 1). A escolha dos alvos foi baseada nos animais que apresentam importância epidemiológica para a LVA; a ave, pois é sabido que galinheiros próximos às casas atuam como atrativo para flebotomíneos, bem como funcionam como criadouros, o que facilita a domiciliação do vetor²²; o cão, considerado importante reservatório doméstico²³ e os gambás sugerido como possível reservatório¹², e além destes, o homem. A mistura de reação, para o diagnóstico de infecção natural, foi incubada no termociclador Gene Amp PCR System 9600 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) para a ativação da enzima (*hot-start* PCR), seguida de 35 ciclos de amplificação (Tabela 1).



Figura 1. Locais de coleta. A-Sobral/CE, B-Fortaleza/CE, C-Araguaína/TO , D-Rio de Janeiro/RJ. Créditos: Margarete Afonso, Júlia Silva.

Tabela 1. *Primers* utilizados para detecção de fonte alimentar e infecção natural e as respectivas temperaturas de anelamento.

Alvo	Primers	Temperatura
<i>Homo sapiens</i>	ATACGCAAAATTAACCCCCTAATAA ATG TTT CAG GCT TCT GAG TAG AGA A	60 °C
<i>Canis familiaris</i>	CTA ACA TCT CTG CTT GAT GGA ACT T TGC GAA TAA TAG TAC AAT TCC AAT G	60 °C
<i>Gallusgallus</i>	AATTAACAACCTCCCTAATCGACCTC TGTGAAGGAAGATACAGATGAAGAA	60 °C
<i>Didelphisambiventris</i>	ATT GCA AAA CAC ATC CAC TAG TTT TCT AGT ATT CCT GT	50 °C
<i>Lutzomyia</i> sp. (<i>cacophony</i>)	GTG GCC GAA CAT AAT GTT AG CCA CGA ACA AGT TCA ACA TC	55 °C
<i>Leishmaniasp.</i>	(G/C)(G/C)(C/G) CC(A/C) CTA T(A/T)T TAC ACC AAC CCC GGG GTA GGG GCG TTC TGC GAA	55 °C
<i>L. (L.) infantmchagasi</i>	AAAAATGGGTGCAGAAAT	55 °C

Análise dos produtos amplificados. Para a detecção dos produtos amplificados (*amplicons*) foi usado o sistema de análise em fase sólida por migração eletroforética em gel de agarose, tendo como marcadores de peso molecular fragmentos de DNA com tamanhos conhecidos em pares de bases, dentro da faixa compatível de tamanho dos fragmentos de DNA amplificados. Após a eletroforese, o gel foi corado em solução de brometo de etídio, analisados e as imagens registradas através de um sistema fotográfico de documentação em gel – UVP *Bioimaging Systems* (Upland, CA, USA).

Dot-Blot– hibridização (infecção natural). Os produtos das amostras foram submetidos a uma etapa posterior de hibridização em fase sólida utilizando uma sonda biotinizada espécie-específica. O DNA foi covalentemente fixado a membrana por irradiação com luz UV em aparelho StratalinkerTM. A membrana foi lavada em SSC 2X e pré-hibridizada com solução BLOTTO e revelada utilizando Kit Luminol (Santa Cruz, USA) (Tabela 1).

RESULTADOS

Identificação dos hábitos alimentares

Foram testadas 133 fêmeas de *L. (L.) longipalpis*, obtendo-se um índice geral de positividade de 29,3%, sendo o Município de Sobral com o maior índice de positividade (36,6%). Em nenhuma das localidades foram observadas múltiplas alimentações (Tabela 2, Figura 2).

Em relação às fontes analisadas, *L. (L.) longipalpis* apresentou maior positividade para a fonte alimentar humana (61,5%), seguido de cão (28,2%) e ave (10,3%); não foram encontradas fêmeas alimentadas em gambá (Figura 3).

No Município de Araguaína as amostras revelaram maior positividade para sangue humano (61,5%), seguido de cão (38,5%). Nenhuma fêmea apresentou positividade para ave e gambá (Tabela 3, Figura 3).

Os flebotomíneos procedentes de Fortaleza e Sobral apresentaram maior percentual de positividade para sangue humano (54,5% e 66,7%), seguido de cão (27,3% e 20,0%) e ave (18,2% e 13,3%), não apresentando positividade para gambá (Tabela 3, Figura 3).

O município do Rio de Janeiro foi a única localidade onde as fêmeas analisadas não tiveram fonte alimentar detectada (Tabela 3).

Tabela 2. Distribuição do número de fêmeas de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*, positivas e negativas pela técnica de PCR, por cada área estuda.

Município	Fêmeas testadas	Número de fêmeas	
		Positivas	Negativas
		N (%)	N (%)
Araguaína – TO	41	13 (31,7%)	28 (68,3%)
Fortaleza – CE	45	11 (24,4%)	34 (75,6%)
Rio de Janeiro – RJ	6	0 (0%)	6 (100%)
Sobral – CE	41	15 (36,6%)	26 (63,4%)
Total	133	39	94
%		29,3%	70,7%

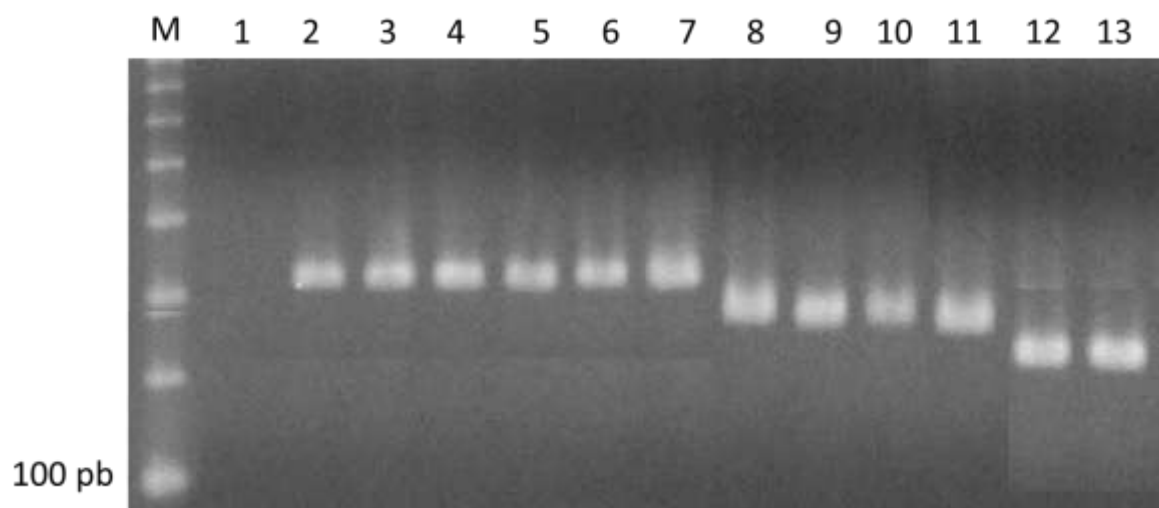


Figura 2. Resultado da avaliação dos hábitos alimentares de fêmeas de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*. M - Marcador de peso molecular, 1 – controle negativo da reação, 2-6 – amostras positivas para humano, 7 – controle positivo humano, 8-10 amostras positivas para cão, 11 –controle positivo cão, 12 – amostra positiva ave, 13 – controle positivo ave.

Tabela 3. Distribuição de número e percentual das fêmeas positivas pela técnica de PCR, para identificação de fontes alimentares, por cada área estudada.

Reagentes	Ave	Cão	Gambá	Humano
Araguaína – TO				
Total	NR	5	NR	8
%	-	38,5%	-	61,5%
Fortaleza – CE				
Total	2	3	NR	6
%	18,2%	27,3%	-	54,5%
Rio de Janeiro – RJ				
Total	NR	NR	NR	NR
%	-	-	-	-
Sobral				
Total	2	3	NR	10
%	13,3%	20,0%	-	66,7%
NR – não reativo				

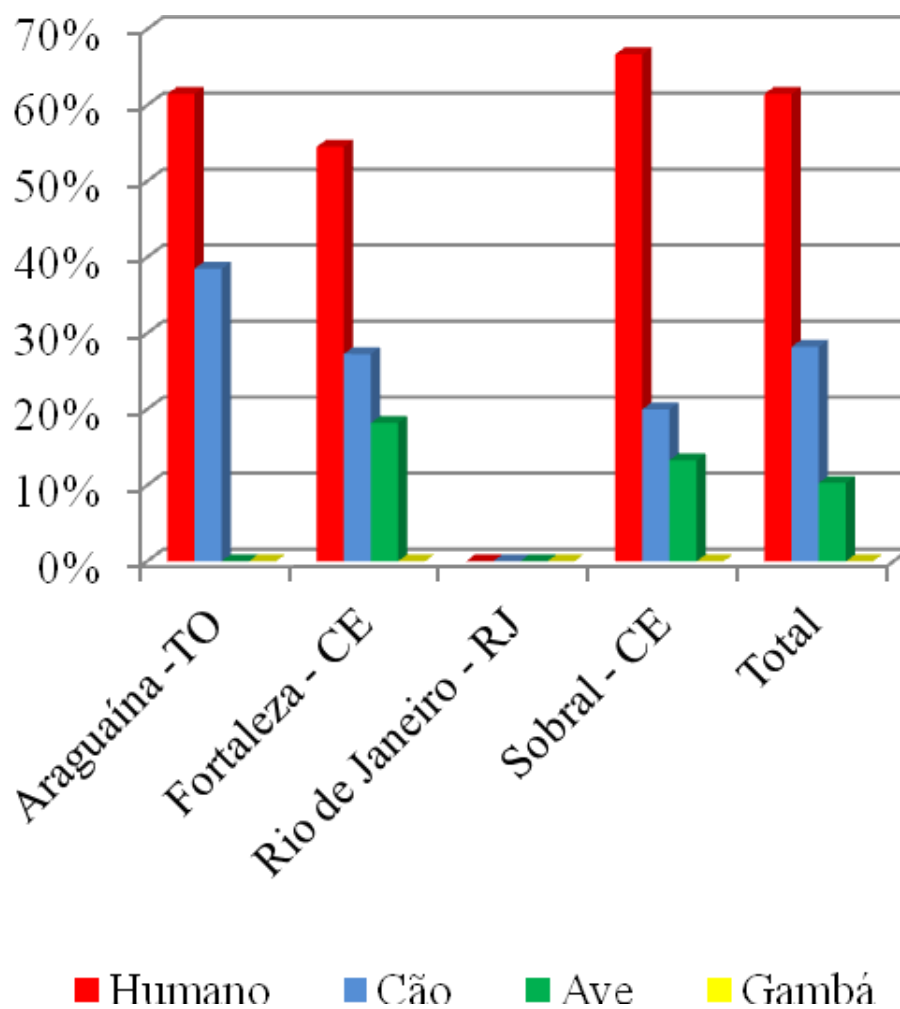


Figura 3. Comparação da distribuição do percentual das fontes alimentares observadas nas fêmeas positivas de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*, analisadas pela técnica de PCR, por cada área estudada.

Identificação da infecção natural por *Leishmania (Leishmania) infantumchagasi*. Foram testadas para infecção natural por *L. (L.) infantumchagasi* 133 fêmeas de *Lutzomyia (L.) longipalpis*, com um índice geral de positividade de 4,61%. Foram encontradas um total de 6 exemplares positivos, sendo 2 (4,9%) em Araguaína e 4 (9,75%) em Sobral (Tabela 4, Figura 4, 5).

Tabela 4. Fêmeas de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* submetidas à pesquisa de infecção natural por *Leishmania (Leishmania) infantumchagasi*, por cada área estudada.

Município	Positivo N (%)	Negativo N	Total N
Araguaína – TO	2 (4,9%)	39	41
Fortaleza – CE	0 (0%)	45	45
Rio de Janeiro – RJ	0 (0%)	6	6
Sobral – CE	4 (9,75%)	37	41
N	6 (4,51%)	127	133

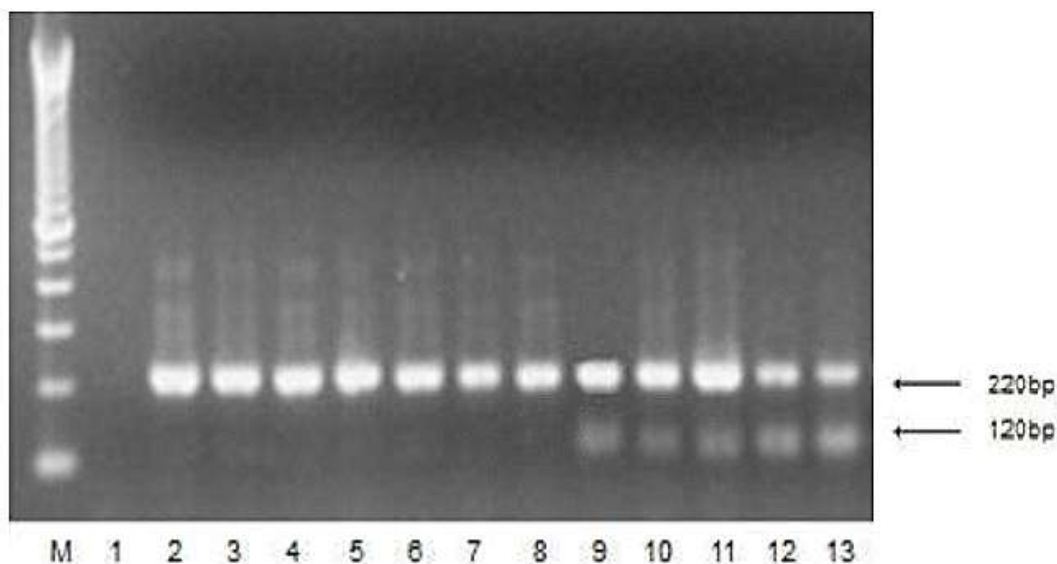


Figura 4. Resultado da pesquisa de infecção natural de *Leishmania (Leishmania) infantumchagasi*, em *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*, procedente de Sobral. Eletroforese em gel de agarose a 1,5%. M - Marcador de peso molecular, 1 – controle negativo da reação, 2-3 – Machos de *Lutzomyia (L.) longipalpis*, 4-8 – fêmeas negativas de *Lutzomyia (L.) longipalpis*, 9-12 – fêmeas positivas de *Lutzomyia (L.) longipalpis*, 13 – controle positivo da reação.

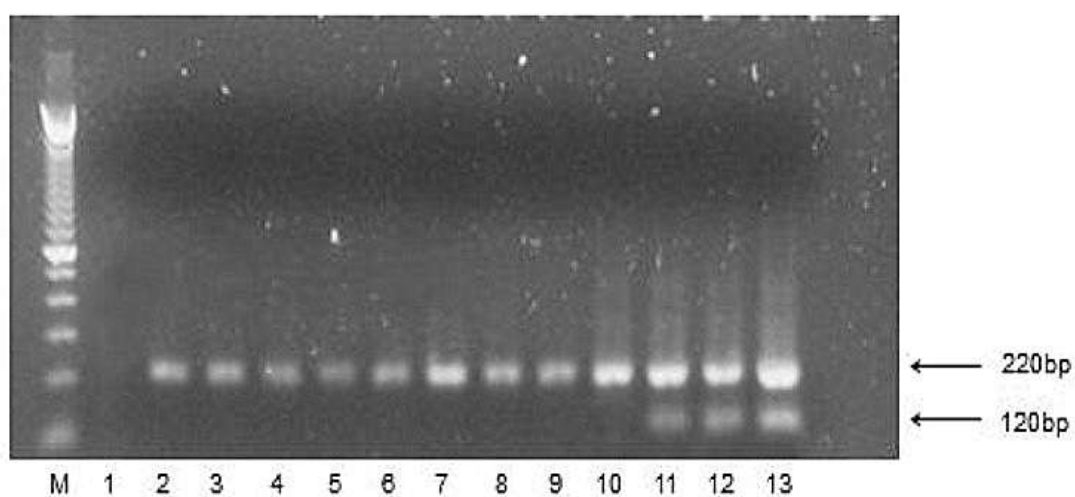


Figura 5. Resultado da pesquisa de infecção natural de *Leishmania (Leishmania) infantumchagasi*, em *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*, procedente de Araguaína. Eletroforese em gel de agarose a 1,5%. M - Marcador de peso molecular, 1 – controle negativo da reação, 2-3 – Machos de *Lutzomyia (L.) longipalpis*, 4-10 – fêmeas negativas de *Lutzomyia (L.) longipalpis*, 11-12 – fêmeas positivas de *Lutzomyia (L.) longipalpis*, 13 – controle positivo da reação.

Associação entre a identificação dos hábitos alimentares e infecção natural. Das 133 fêmeas de *L. (L.) longipalpis*, em 5 (3,8%) exemplares foi possível identificar concomitantemente a infecção natural e a fonte alimentar.

No município de Araguaína foi encontrado 1 fêmea de *L. (L.) longipalpis* infectada por *L. (L.) infantumchagasi* alimentada em sangue de cão e 1 fêmea alimentada em sangue humano. Já no município de Sobral, foram encontradas 3 fêmeas naturalmente infectadas e alimentadas em sangue humano (Tabela 5).

Tabela 5. Associação das fêmeas identificadas com infecção natural e a identificação do hábito alimentar, pela técnica de PCR, por cada área estudada.

Município	N	Cão	Humano	Alimentação não identificada
Araguaína – TO	2	1	1	-
Fortaleza – CE	0	-	-	-
Rio de Janeiro – RJ	-	-	-	-
Sobral – CE	4	-	3	1

DISCUSSÃO

Para a identificação de hábitos alimentares em flebotomíneos vem sendo empregado métodos imunológicos, através da técnica de precipitina^{3,6,9,24,25,26} e teste imunoenzimáticos^{7,11,27,28}, e recentemente métodos moleculares, utilizando a reação da cadeia em polimerase (PCR)^{20,29,30,31,32}.

A literatura tem registrado, com base em trabalhos de campo, o ecletismo de *L. (L.) longipalpis* em se alimentar em uma variada gama de mamíferos, que incluem cães, porcos, equinos, bovinos, além das aves^{23,33,34,35}. Aliada às condições ambientais favoráveis, a abundância de fontes alimentares é fator determinante no crescimento populacional do vetor, especialmente em áreas periurbanas, o que propicia sua aproximação ao homem.

Os dados do presente estudo revelaram que os espécimes das populações de Araguaína (TO), Fortaleza e Sobral (CE), alimentaram-se principalmente em humanos. A antropofilia de *L. (L.) longipalpis* já foi descrita em diversos trabalhos^{33,23}, sendo este um dos critérios essenciais para que a espécie seja incriminada como vetor³⁶. No Ceará³⁴, já foi descrito a alta atração de *L. (L.) longipalpis* por homem, e eventualmente em indivíduos oriundos de Massapê (CE), detectou-se, através do teste de ELISA a ingestão de sangue humano¹¹.

Alguns dos estudos em Campo Grande (MT) e na Ilha de Marajó (PA) demonstram a elevada atração do vetor por homens^{5,10}, contrariando investigações, na Colômbia e em Araçatuba (SP), que sugeriram baixa antropofilia^{24,25}. A antropofilia de *L. (L.) longipalpis* observada nas populações de Araguaína, Fortaleza e Sobral, certamente tem um papel relevante na classificação de transmissão intensa para LVA, atribuída a estes municípios. Por outro lado, os dados não sugerem que as populações dos diferentes biomas tem hábitos diferenciados, com relação à atração por humanos.

Ultimamente, muito tem sido questionado sobre as ações de controle voltadas para os cães e, até mesmo tem se discutido a possibilidade da manutenção da transmissão de LVA sem a participação deste reservatório na cadeia epidemiológica.

A alimentação em cães foi frequente em Araguaína, Fortaleza e Sobral, áreas que apresentam alta densidade de cães, e elevada incidência de leishmaniose visceral canina. Na década de 50, em Sobral³³, o cão já havia sido sugerido como um importante reservatório doméstico da *L. (L.) infantumchagasi* e como fonte de infecção para *L. (L.) longipalpis*. Na Colômbia, área endêmica de LVA, este vetor apresentou atração por

cães²⁴; em Araçatuba (SP), observou-se a maior porcentagem de alimentação em sangue canino, correlacionando seu papel epidemiológico na cadeia de transmissão da LVA, com a hipótese de que a enzootia canina precede a transmissão humana²⁶.

Os dados deste estudo apresentaram fraca atração de *L. (L.) longipalpis* por aves, diferente das análises que demonstram a forte atração, em áreas do Nordeste¹¹ e em Raposo (MA)²⁵. É sabido que galinheiros próximos às casas atuam como atrativos para flebotomíneos, que servem como criadouros, uma vez que as formas imaturas se desenvolvem no solo rico em matéria orgânica. Neste contexto, aumenta o contato entre os vetores e os humanos, além de possibilitar a domiciliação do vetor, e consequentemente a instalação e manutenção do ciclo no ambiente domiciliar, tanto na área rural como na periferia das cidades^{22, 23}.

As análises do presente estudo não revelaram positividade de *L. (L.) longipalpis* para gambá (animal sinantrópico, sugerido como reservatório de *L. (L.) infantumchagasi*), tal como já observado nas populações de Sobral (CE), Massapê (CE) e Jequié (BA)¹¹, Brasil, e na Colômbia²⁴. Alguns estudos relataram a infecção natural de *Didelphismarsupialis*, por *Leishmaniaspp.*, possivelmente *L. (L.) infantumchagasi*, discutindo assim o papel destes mamíferos como potenciais reservatórios para a LVA^{12,37,38}. Vale ressaltar que os resultados moleculares para gambá não foram satisfatórios em algumas análises, e novos alvos serão desenhados com o intuito de melhor identificar o papel do gambá como fonte alimentar.

Como outros estudos já demonstraram *L. (L.) longipalpis* é uma espécie eclética e oportunista na busca de fontes alimentares^{10, 11,23,24,25,26,27}. A não positividade no contexto geral deste estudo, cerca de 71% dos espécimes analisados, possivelmente tem uma relação direta com os alvos escolhidos. Nas áreas de coleta, além das fontes testadas (homem, cão, ave e gambá), foi possível a observação de outras potenciais fontes de alimento, como porcos, gatos, bois, cavalos, roedores, cabras, ovelhas e raposas.

Em relação às análises realizadas com os poucos exemplares do Rio de Janeiro (RJ), nenhuma alimentação foi detectada das 6 fêmeas testadas. É provável que outros animais estejam envolvidos na transmissão local, possivelmente os roedores, animais frequentemente observados durante as coletas.

Neste estudo, foi possível detectar a infecção natural de fêmeas de *L. (L.) longipalpis* por *L. (L.) infantum chagasi* em Araguaína e Sobral, áreas de transmissão intensa de LVA, com taxas de 4,9% e 9,75% respectivamente. Em estudo³⁹ realizado

em Mesquita, foi detectada taxa de infecção natural igual a 3,9%. Tais resultados reforçam a importância da utilização de técnicas moleculares na identificação de infecção natural, uma vez que, é sabido que são baixas as taxas de infecção natural na natureza, mesmo em áreas endêmicas para LVA.

Foi possível realizar associação entre a identificação alimentar e a detecção de infecção natural por *L. (L.) infantum chagasi* em 6 espécimes; 4 espécimes de *L. (L.) longipalpis* realizaram repasto sanguíneo em humano, e 1 em cão, este último com seu papel já amplamente discutido na transmissão da LVA, como reservatório doméstico^{19,12,26,41}. A não identificação da origem da fonte alimentar em 1 fêmea de *L. (L.) longipalpis*, procedente de Sobral, corrobora a idéia que, possivelmente, outros mamíferos estejam atuando como reservatórios naturais.

A presença de *L. (L.) longipalpis* na área urbana é um dos maiores desafios para o Programa de Controle da Leishmaniose Visceral, desta forma, os dados preliminares aqui apresentados reforçam a importância do entendimento do comportamento deste vetor em área urbana, bem como seus fatores de adaptação ao habitat.

Novas análises serão realizadas: (1) aumentando o n amostral para cada localidade, (2) na busca da identificação da fonte alimentar, 2 novos alvos serão incluídos, a raposa e o roedor; a raposa, por ser considerado reservatório silvestre de *L.(L.) infantumchagasi*, e o roedor por ser frequentemente observado na área do foco urbano (Cemitério do Caju e entorno), no Rio de Janeiro; e (3) novos primers para a identificação do gambá como fonte alimentar serão desenhados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

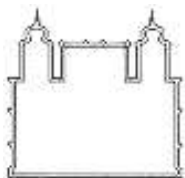
1. Forattini OP 1973. Entomologia médica. São Paulo, E. Blucher/EDUSP, 658.
2. Dias-Sversutti A, Scodro RB, Reinhold-Castro KR, Neitzke HC, Teodoro U. Estudo preliminar de preferência alimentar de *Nyssomyia neivai* (Pinto) e *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho) (Diptera: Psychodidae) em área rural do Paraná. Neotropical Entomology. 2007;36: 953-59.
3. Tesh RB, Chaniotis BN, Aranson MD, Jahnsen KM. Natural host preference of Panamanian phlebotomine sandflies as determined by precipitin test. J Trop Med Hyg. 1971;20:150-6.

4. Christensen HA, Alias JA, Vasquez AM, Freitas RA. Hosts of sandfly vectors of *Leishmania brasiliensis gyanensis* in the Central Amazon in Brazil. *Am J Trop Med Hyg.*1982;31:239-42.
5. Quinnell RJ, DYE C, Shaw JJ. Host preference of the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Amazonian Brazil. *Med. Vet. Entom.* 1992;6:195-200.
6. Ogosuku E, Perez JE, Paz L, Nieto E, Monje J, Guerra H. Identification of bloodmeal sources of *Leishmania* spp. in Peru. *Ann Trop Med and Parasitol.* 1994;88:329-35.
7. Colmenares M, Portús M, Botet J, Dobaño C, Gállego M, Wolff M, Seguí G. Identification of blood meals of *Phebotomus perniciosus* (Diptera: Psychodidae) in Spain by a competitive enzyme-linked immunosorbent assay biotin/avidin method. *J Med Entomol.* 1995;32:229-33.
8. Nery LCR, Lorosa ES, Franco, AMR. Feeding preference of the sand flies *Lutzomyia umbratilis* and *Lutzomyia spathotrichia* (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) in an urban forest patch in the city of Manaus, Amazonas, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004;99:571-4.
9. Afonso MMS, Gomes AC, Meneses CRV, Rangel EF. Studies on the feeding habits of *Lutzomyia (N.) intermedia* (Diptera, Psychodidae), vector of cutaneous Leishmaniasis in Brazil. *Cad de Saúde Pública.* 2005;21:109-18.
10. Oliveira-Pereira YN, Moraes JLP, Lorosa ES, Rabelo JMM. Preferência alimentar sanguínea de flebotomíneos da Amazônia do Maranhão, Brasil *Cad Saúde Pública.* 2008;24:2183-6.
11. Afonso MMS, Duarte R, Miranda JC, Caranha L, Rangel EF. Studies on the feeding habits of *Lutzomyia (L.) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) populations from endemic areas of American leishmaniasis in northeastern Brazil. *J Trop Med.* 2012;2012:858657. doi: 10.1155/2012/858657.
12. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. 1th ed. Ministério da Saúde. 2006.
13. Sudia WA, Chamberlain RW 1962. Battery operated light trap, an improved model. *Mosquito News.* 1962;22 126-9.

14. Pugedo H, Barata RA, França-Silva JC, Silva JC, Dias ES. HP: an improved model of suction light trap for the capture of small insects. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2005;38:70-2.
15. Young DC, Duncan NA. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sandflies in México, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Mem AnEntomolInstitut* 1994;54:1-881.
16. de Pita-Pereira D, Alves CB, Souza MB, Brazil RP, Bertho AL, Barbosa AF, Britto CC. 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. *Trans R Soc Trop Med Hg.* 2005;99:905-13.
17. de Pita-Pereira D, Souza GD, Zwetsch A, Alves CR, Britto C, Rangel EF. First report of *Lutzomyia (Nyssomyia) neivai* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) naturally infected by *Leishmania (V.) braziliensis* in a periurban area of South Brazil, State Of Rio Grande do Sul, using a PCR multiplex assay. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 2009;80:593-95.
18. Passos VM, Lasmar EB, Gontijo CM, Fernandes O, Degraive W. Natural infection of a domestic cat (*Felis domesticus*) with *Leishmania (Viannia)* in the metropolitan region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1996;91(1):19-20.
19. Lins RM, Oliveira SG, Souza NA, de Queiroz RG, Justiano SC, Ward RD, et al. Molecular evolution of the *cacophony* IVS6 region in sandflies. 2002;11(2):117-22.
20. Silva VPM. Preferência alimentar e identificação das principais fontes de repasto sanguíneo de fêmeas de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) em áreas endêmicas para leishmaniose visceral na Grande Natal [dissertation]. Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2008.
21. Lavergne A, Verneau O, Patton JL, Catzefflis FM. Molecular discrimination of two sympatric species of opossum (genus *Didelphis*: Didelphidae) in French Guiana. *Mol Ecol* 1997;6(9):889-91.
22. Alexander B, Carvalho RL, McCallum H, Pereira MH. Role of the domestic chicken (*Gallus gallus*) in the epidemiology of urban visceral leishmaniasis in Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2002;8:1480-5.

23. Lainson R, Rangel EF. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – A review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2005;100:811-27.
24. Morrison AC, Ferro C, Tesh RB. Host preference of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* at an endemic focus of american visceral Leishmaniasis in Colômbia. Am J Trop Med Hyg. 1993;49:68-75.
25. Dias FO, Lorosa ES, Rebêlo JM. Blood feeding sources and peridomiciliation of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). Cad Saúde Pública. 2003;19:1373-80.
26. Camargo-Neves VLF, Rodas LAC, Gomes AC. Avaliação do hábito alimentar de *Lutzomyia longipalpis* no Estado de São Paulo. Boletim Epidemiológico Paulista. 2007;4:2-7.
27. Quinell RJ, Dye C, Shaw JJ. Host preference of the phlebotominae sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Amazonian Brazil. Med Vet Entom. 1992;6:195-200.
28. Marassá AM, Consales CA, Galati EAB. Padronização da técnica imunoenzimática do ELISA de captura, no sistema avidina-biotina para a identificação de sangue ingerido por *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912). Rev Soc Bras Med Trop. 2004;37:441-6.
29. Heouas N, Pesson B, Boudabous R, Dedet JP, Babba H, Ravel C. Development of molecular tool for the identification of *Leishmania* reservoir hosts by blood meal analysis in the insect vectors. Am J Trop Med Hyg. 2007;77(6):1054-9.
30. Sant'anna MR, Jones NG, Hindley JA, Mendes-Sousa AF, Dillon RJ, Cavalcante RR, Alexander B, Bates PA. Blood meal identification and parasite detection in laboratory-fed and field-captured *Lutzomyia longipalpis* by PCR using FTA databasing paper. Acta Trop. 2008;107(3):230–7.
31. Paiva BR. Utilização da PCR na identificação de espécimes de leishmânia e hábitos alimentar de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de regiões do Mato Grosso do Sul [dissertation]; 2009.
32. Quaresma PF, Carvalho GM, Ramos MC, Andrade Filho JD. Natural *Leishmania* sp. reservoirs and phlebotomine sandfly food source identification in Ibitipoca State Park, Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2012;07(4):480-5.

33. Deane LM. Leishmaniose visceral no Brasil. Estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará. Rio de Janeiro, Serviço Nacional de Educação Sanitária. 1956.
34. Rosabal R, Trejos A. *Phebotomus* in El Salvador (Diptera: Psychodidae). II Observation sobre su biologia con especial referencia a *P. longipalpis*. Ver Biol Trop. 1965;13:219-28.
35. Zeledon R, Murillo J, Guitierrez. Ecology of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) and possibilities of the existence of visceral leishmaniasis in Costa Rica. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1984;19:455-9.
36. Killick-Kendrick, R. Phlebotomine vectors of leishmaniasis: A review Medical and veterinary entomology. 1990;4:1-24.
37. Schalling HD, da Silva ES, Van der Meide WF, Schoone GJ, Gontijo CM. *Didelphis marsupialis* (common opossum): a potential reservoir host for zoonotic leishmaniasis in the metropolitan region of Belo Horizonte (Minas Gerais, Brazil). Vector Borne Zoonotic Dis. 2007;7:387-93.
38. Cabrera MAA, Paula A, Camacho LAB, Marzochi MC, Xavier S, Silva AVM, Jansen AM. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of risk factors. Rev Inst Med Trop. 2003;45:79-83.
39. Rangel EF, Azevedo ACR, Andrade CA, Souza NA, Wermwlinger ED. Studies on sandfly fauna (Diptera: Psychodidae) in a focus of Cutaneous Leishmaniasis in Mesquita, Rio de Janeiro. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1990;85:39-45.



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Oswaldo Cruz
Laboratório de Transmissores de Leishmanioses
Serviço de Referência Nacional em vigilância entomológica:
taxonomia e ecologia de vetores das leishmanioses
Av. Brasil, 4365 - Pavilhão Carlos Chagas, 5º andar salas:
43, 44 e 45
CEP 21040-360 – Rio de Janeiro – RJ – BRASIL
Tel.: (21) 2562-1303 e (21) 2562-1375

ANEXO

Procedimento Operacional Padrão - em fase de elaboração

Métodos de captura e as formas de preparação de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) adultos para análise molecular

Margarete Martins dos Santos Afonso, Adriana Zwetsch

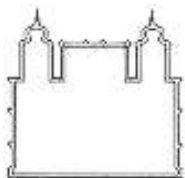
Laboratório de Transmissores de Leishmanioses, Laboratório de Referência em Vigilância Entomológica: Taxonomia e Ecologia de Vetores das Leishmanioses - Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ/RJ

1. Métodos de captura de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) adultos:

Armadilha luminosa modelo HP (HP Biomedical, Pugedo et al. 2005) e/ ou Armadilha luminosa do tipo CDC (*Center for Disease Control*, Sudia & Chamberlain 1962), ou ainda capturam-se os flebotomíneos com auxílio de capturador manual de Castro (Castro 1939), na armadilha luminosa de Shannon (Shannon 1939).

As armadilhas luminosas têm a disposição diferentes tipos de gaiola (retrátil de náilon e/ ou cubiforme de náilon e/ ou potes) e o capturador manual de Castro, conta com um tubo de acrílico para o confinamento dos flebotomíneos adultos (o tubo deverá ser fechado com o auxílio de algodão e fita de autoclave, até que os exemplares sejam transferidos para uma gaiola ou até a anestesia e eutanásia).

As gaiolas usadas no campo têm os dados da captura registrados (local, método e data) a lápis em etiquetas, afixadas (na parte interna e externa) nas próprias gaiolas de capturas. Registros complementares são executados em caderno de protocolo, para cada armadilha luminosa em cada dia de captura. Informações: Data de captura; Nome dos responsáveis pela captura; Método de captura; Informações climáticas/geográficas (umidade, temperatura, vento, chuva e fase lunar); Local de captura (coordenadas geográficas); Horário da captura (para captura ativa); Descrição detalhada do local (presença de humanos ou/ não e neste caso a quantidade de humanos, presença de



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Oswaldo Cruz
Laboratório de Transmissores de Leishmanioses
Serviço de Referência Nacional em vigilância entomológica:
taxonomia e ecologia de vetores das leishmanioses
Av. Brasil, 4365 - Pavilhão Carlos Chagas, 5º andar salas:
43, 44 e 45
CEP 21040-360 – Rio de Janeiro – RJ – BRASIL
Tel.: (21) 2562-1303 e (21) 2562-1375

animais ou/ não e descrição (quantidade e espécies) dos animais) e outras informações relevantes.

2. Transporte de flebotomíneos do campo para as dependências de laboratório

Para transportar os flebotomíneos, a gaiola usada no campo é individualmente envolta em saco plástico preto, e acondicionada em isopor.

3. Procedimento para anestesia e eutanásia de flebotomíneo nas dependências de laboratório

No laboratório em equipamento de refrigerador, transferir a gaiola envolta no saco preto e/ou o capturador manual de Castro para o compartimento freezer (temperatura aproximada -18° C) por aproximadamente 2 horas.

4a. Preparação e armazenamento de insetos

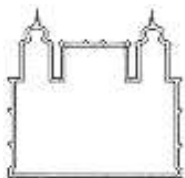
Depositam-se todos os insetos contidos numa gaiola em uma superfície branca (papel). Embalagem plástica, do tipo bandeja fornece um aparato mecânico contra a dispersão. O uso de máscara durante o processo faz com que a respiração do operador não disperse os insetos durante o manuseio.

Lentamente transferem-se com auxílio de um pincel todos os insetos para o interior de um tubo de polipropileno (tubo falcon® de capacidade 15 ou 50 mL a capacidade do tubo deverá ser escolhida de acordo com a quantidade de material coletado). Os tubos de polipropileno utilizados não necessariamente deverão ser novos, mas é importante estarem limpos e vazios.

A etiqueta com os dados da captura que estava aderida a gaiola é transferida para o tubo.

Revise detalhadamente a gaiola, pois existe a possibilidade de aderência dos insetos nas reentrâncias e saliências deste reservatório, evitando perda de material e contaminações em futuras capturas.

Leve para o interior de um equipamento do tipo refrigerador, o tubo de polipropileno (tubo falcon® de capacidade 15 ou 50 mL) que contém os insetos e mantenha-o



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Oswaldo Cruz
Laboratório de Transmissores de Leishmanioses
Serviço de Referência Nacional em vigilância entomológica:
taxonomia e ecologia de vetores das leishmanioses
Av. Brasil, 4365 - Pavilhão Carlos Chagas, 5º andar salas:
43, 44 e 45
CEP 21040-360 – Rio de Janeiro – RJ – BRASIL
Tel.: (21) 2562-1303 e (21) 2562-1375

armazenado sob-refrigeração no compartimento geladeira (temperatura aproximada 4° C).

O transporte dos tubos até o local de triagem deverá ser feito em caixa refrigerada ou a temperatura ambiente.

Observação: caso domine a técnica necessária e sinta-se seguro para executar efetue a triagem de flebotomíneo, como será detalhada abaixo. Caso contrário siga para o passo 5.

4b.Triagem de flebotomíneo

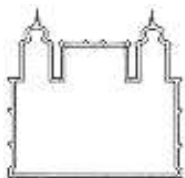
Com todos os insetos da gaiola sob a superfície branca, com uma pinça de relojoeiro e/ou pincel, valendo-se da utilização de lupa manual ou do equipamento microscópio estereoscópio (aumento sugerido 0,4 X a 4 X) realiza-se a triagem dos flebotomíneos, onde os mesmos são separados de outros insetos, por suas características fenotípicas expressivas.

Realiza-se a triagem dos flebotomíneos observando os caracteres morfológicos da cabeça (olhos, palpos, etc) e do tórax (nervura da asa, patas, etc) que são as estruturas mais indicadas para distinguir os flebotomíneos de outros insetos.

Observação: durante o processo de triagem, os tubos deverão ser retirados do refrigerador individualmente e logo que esta tenha sido concluída os tubos deverão ser acondicionados novamente sob-refrigeração. Durante o processo os tubos deverão permanecer em caixa térmica contendo gelo picado (para que a temperatura seja mantida).

O processo de triagem deve ser feito por dois profissionais, para que seja possível a revisão do material analisado.

Lentamente transferem-se com auxílio de uma pinça de relojoeiro e/ ou pincel os flebotomíneos machos para o interior de um tubo de polipropileno (tubo falcon® de capacidade 15 ou 50 mL) ou microtubos (do tipo eppendorf®).



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Oswaldo Cruz
Laboratório de Transmissores de Leishmanioses
Serviço de Referência Nacional em vigilância entomológica:
taxonomia e ecologia de vetores das leishmanioses
Av. Brasil, 4365 - Pavilhão Carlos Chagas, 5º andar salas:
43, 44 e 45
CEP 21040-360 – Rio de Janeiro – RJ – BRASIL
Tel.: (21) 2562-1303 e (21) 2562-1375

As fêmeas necessitam de análise mais detalhada, exemplares ingurgitadas (com resquícios de sangue) deverão ser individualizadas em microtubos (do tipo eppendorf®).

Durante o procedimento de triagem efetue o manuseio pelas patas e asas.

Os demais insetos são descartados de acordo com o Descarte de Resíduo Biológico.

A etiqueta com os dados da captura que estava aderida a gaiola é transferida para o tubo de polipropileno. Quando se utiliza o microtubo é necessário identifica-lo numericamente, associando seus dados de captura aos registros em caderno de protocolo.

Leve para o interior de um equipamento do tipo refrigerador, o tubo de polipropileno (tubo falcon® de capacidade 15 ou 50 mL) que contém os machos de flebotômíneos e os microtubos (do tipo eppendorf®) com as fêmeas e mantenha-os armazenados sob-refrigeração no compartimento freezer (temperatura aproximada -18° C).

Registros complementares são executados em caderno de protocolo. Informações: Data da triagem e responsáveis pela triagem.

5. Destino do material em conservação

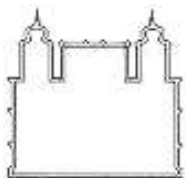
O material armazenado no compartimento freezer (temperatura aproximada -18° C) está no método de conservação a seco em baixas temperaturas e mantém os flebotômíneos em condições para análise molecular. O material não poderá descongelar, para isso é importante acompanhar o desempenho do equipamento.

Transporte os tubos de polipropileno (tubo falcon® de capacidade 15 ou 50 mL) ou microtubos (do tipo eppendorf®) com o material, acondicionados em isopor ou em caixa térmicos sempre contendo gelo reciclável.

As fêmeas serão destinadas ao Laboratório de Transmissores de Leishmanioses e os machos ao CEPA/LACEN/SVS/SES/RJ.

6. Referências Bibliográficas:

Castro GMO 1939. Hábitos de alguns flebótomos brasileiros. *Jornal do Comércio*, Rio de Janeiro, p.4.



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Oswaldo Cruz
Laboratório de Transmissores de Leishmanioses
Serviço de Referência Nacional em vigilância entomológica:
taxonomia e ecologia de vetores das leishmanioses
Av. Brasil, 4365 - Pavilhão Carlos Chagas, 5º andar salas:
43, 44 e 45
CEP 21040-360 – Rio de Janeiro – RJ – BRASIL
Tel.: (21) 2562-1303 e (21) 2562-1375

Pugedo H, Barata RA, França-Silva JC, Silva JC, Dias ES 2005. HP: an improved model of suction light trap for the capture of small insects. *Rev Soc Bras Med Trop* 38:70-72.

Shannon R 1939. Methods of collecting and feeding mosquitoes in jungle yellow fever studies. *Am J Trop Med Hyg* 19: 131-148.

Sudia WA, Chamberlain RW 1962. Battery operated light trap, an improved model. *Mosquito News* 22: 126-129.

7. Em caso de dúvidas, contato:

Margarete Afonso -mafonso@ioc.fiocruz.br

Tel. (21) 2562-1303 ou cel. (21) 8876-6778

CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação dos hábitos alimentares em insetos de interesse médico fornece importantes evidências epidemiológicas, capazes de responder questões sobre o comportamento, ecologia e adaptação dos vetores. Dentre as técnicas já descritas para este tipo de estudo, as mais utilizadas ainda são as imunológicas (Precipitina e ELISA), embora a técnica molecular (PCR) atualmente vem sendo utilizada com maior frequência. **As três técnicas apresentam bons resultados, entretanto durante a escolha, alguns parâmetros devem ser considerados, tais como: sensibilidade, especificidade, processamento, tempo de diagnóstico, custo, leitura e quantidade de material utilizado.**

No contexto das leishmanioses, a adaptação dos flebotomíneos vetores a novos habitats ocorre, dentre outros, pela sua plasticidade alimentar, fator determinante no processo de expansão e urbanização, bem como no surgimento de novos perfis epidemiológicos. **Informações sobre os vetores relacionadas com identificação da fonte alimentar, somada a presença de infecção natural, permite a detecção de duas informações importantes para o estudo da ecoepidemiologia, que combinadas, geram evidências para os estudos sobre os reservatórios de leishmânias.**

Dentro do atual cenário, em que mudanças globais e de grande magnitude potencializam implicações na saúde das populações, é fundamental a intensificação de estudos voltados para as doenças relacionadas ao ambiente, em especial as de transmissão vetorial, como a LVA. ***L. (L.) longipalpis* se apresenta como o elo mais importante da cadeia de transmissão da LVA e é, sem dúvida, um fator biológico de risco, absolutamente essencial no processo de transformação do perfil epidemiológico e do incremento da urbanização da doença. Claramente, a urbanização do vetor tem sido o principal desafio para as ações de vigilância e controle da doença.**

As áreas de incremento do desmatamento se mantiveram constantes no Estado de Tocantins, principalmente nas regiões Norte e Oeste, áreas que também apresentaram expansão no registro de casos humanos de LVA, com destaque para o Município de Araguaína. Tais resultados corroboram com estudos que associam o desmatamento ao surgimento de surtos epidêmicos, já que a LVA têm apresentado um quadro de persistência em áreas com alterações ambientais.

Ainda, em Tocantins, *L. (L.) longipalpis* se mostrou presente em todas as classes do uso do solo, com correlação negativa apenas para pastagem cultivada. Mostrando-se adaptado a todos os ambientes, encontrado em áreas remanescentes bem como em áreas antropizadas, demonstrando mais uma vez, sua adaptação a ambientes antropizados. A análise da correlação dos casos humanos por LVA com as classes do uso do solo mostrou correlações distintas ao longo dos anos, sugerindo mais uma vez, que *L. (L.) longipalpis* está adaptado a diferentes tipos de vegetação. As áreas que apresentaram correlação positiva com mais frequência foram: área com influência urbana, ecótono savana e floresta ombrófila, influência urbana, pecuária e savana arborizada. A correlação dos casos humanos com áreas em processo de urbanização, bem como de ambiente urbanizado, sugere que o vetor estaria mais próximo das áreas urbanas, evidenciando sua presença e adaptação a ambientes modificados.

Os resultados demonstram a necessidade de planejamento e a implementação de políticas públicas integradas, a fim de minimizar os resultados dos impactos ambientais de origem antrópica, uma vez que a LVA encontra-se em franca expansão, como um resultado dos impactos ambientais e a adaptação do vetor, *L. (L.) longipalpis* a vários habitats.

Em relação à preferência alimentar, com índice de positividade de 29,3%, *L. (L.) longipalpis* apresentou preferência para a fonte alimentar humana, seguido de cão e ave, não sendo encontradas fêmeas alimentadas em gambá. Os resultados corroboram com outros estudos que demonstram o ecletismo e oportunismo alimentar de *L. (L.) longipalpis*: alimentação em cães, reservatórios domésticos de *L. (L.) infantum chagasi*; alimentação em aves, animais que atuam como atrativo para flebotomíneos e possibilitam sua domiciliação; além de sua antropofilia. Vale destacar que, em relação à avaliação do gambá como fonte de alimentação, os dados não foram conclusivos.

Nas populações de *L. (L.) longipalpis* procentes de Sobral e Araguaína, foi detectado índice geral de infecção natural, por *L. (L.) infantum chagasi*, igual a 4,51%, sendo 4,9% em Araguaína e 9,75% em Sobral. Tais resultados reforçam a importância da utilização de técnicas moleculares na identificação de infecção natural, uma vez que são baixas, mesmo em áreas endêmicas para LVA.

Com os dados preliminares, foi possível fazer **associação entre a identificação alimentar e a detecção de infecção natural por *L. (L.) infantum chagasi*** em 6 espécimes. Sendo que 4 espécimes de *L. (L.) longipalpis* realizaram repasto sanguíneo em humano (Araguaína e Sobral), e 1 em cão (Araguaína).