

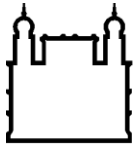
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

LEISHMANIOSE VISCERAL E LEISHMANIOSE TEGUMENTAR
AMERICANA NO MUNICÍPIO DE ALTOS, PIAUÍ: ESTUDO DOS
VETORES E SUA FONTE ALIMENTAR.

RAIMUNDO LEOBERTO TORRES DE SOUSA

Teresina-PI
2018



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

Raimundo Leoberto Torres de Sousa

Leishmaniose Visceral e Leishmaniose Tegumentar Americana no município de Altos, Piauí: estudo dos vetores e sua fonte alimentar.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical pelo Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Regis Bernardo Brandim Gomes

Co-orientador: Prof. Dr. Maurício Luiz Vilela

Teresina-PI

2018

Sousa, Raimundo Leoberto Torres de.

Leishmaniose Visceral e Leishmaniose Tegumentar Americana no Município de Altos, Piauí: Estudo dos vetores e sua fonte alimentar. / Raimundo Leoberto Torres de Sousa. - Teresina, 2018.

81 f.; il.

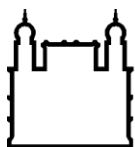
Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2018.

Orientador: Regis Bernardo Brandim Gomes.

Co-orientador: Maurício Luiz Vilela.

Bibliografia: Inclui Bibliografias.

1. Psychodidae. 2. Comportamento Alimentar. 3. sazonalidade. 4. Ecologia. 5. Fases Lunares. I. Título.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

AUTOR: RAIMUNDO LEOBERTO TORRES DE SOUSA

**LEISHMANIOSE VISCERAL E LEISHMANIOSE TEGUMENTAR
AMERICANA NO MUNICÍPIO DE ALTOS, PIAUÍ: ESTUDO DOS VETORES E
SUA FONTE ALIMENTAR.**

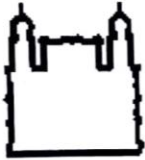
ORIENTADOR: Prof. Dr. Regis Bernardo Brandim Gomes
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Maurício Luiz Vilela

Aprovado em: 05/11/2018

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Jacenir Reis dos Santos Mallet	(Presidente) Fiocruz–IOC/Piauí
Prof. Dr. Maria Regiane Araujo Soares	(membro) - UFPI
Prof. Dr. Ivete Lopes de Mendonça	(membro) - UFPI
Prof. Dr. Veruska Cavalcanti Barros	(suplente) - UFPI
Prof. Dr. Simone Mousinho Freire	(suplente) - UESPI

Teresina, 05 de novembro de 2018



Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz

DECLARAÇÃO

Declaramos, para fins curriculares, que **Raimundo Leoberto Torres de Sousa**, sob orientação do Dr. Regis Bernardo Brandim Gomes e Dr. Mauricio Luiz Vilela, foi aprovado em 05/11/2018, em sua defesa de dissertação de mestrado intitulada: **“Leishmaniose Visceral e Leishmaniose Tegumentar Americana no município de Altos, Piauí: Estudo dos vetores e sua fonte alimentar”**, área de concentração: Diagnóstico, Epidemiologia e Controle. A banca examinadora foi constituída pelos Professores: Dr^a. Jacenir Reis dos Santos Mallet - IOC/FIOCRUZ (presidente), Dr^a. Maria Regiane Araújo Soares - UFPI/PI, Dr^a. Ivete Lopes de Mendonça - UFPI/PI e como suplentes: Dr^a. Veruska Cavalcanti Barros - UFPI/PI e Dr^a. Simone Mousinho Freire - UESPI/PI.

A Pós-graduação *Stricto sensu* em Medicina Tropical (Mestrado e Doutorado) está credenciada pela CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, de acordo com Portaria nº. 1740, de 20.12.94, do Ministro de Estado da Educação e do Desporto, e com a Portaria nº. 840, de 22.12.94, tendo validade no Brasil para todos os efeitos legais, e alcançando conceito 6 (seis) na última avaliação trienal da CAPES.

Informamos ainda que, de acordo com as normas do Programa de Pós-graduação, **a liberação do Diploma e do Histórico Escolar está condicionada à entrega da versão definitiva da dissertação/tese em capa espiral (1 cópia), juntamente com o termo de autorização de divulgação da dissertação/tese on line e o CD-rom com a dissertação completa em PDF.**

Teresina, 05 de novembro de 2018.

Martha Cecilia Suárez Mutis
Matrícula-SIAPE 1556044

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical
Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz

Documento registrado sob nº DCE-8994/18 no livro nº II, folha 43v em 05/11/2018.

Dedico esta, bem como todas as
minhas demais conquistas, aos
meus amados pais: Leopoldina
Maria e Alberto Oliveira e a minha
irmã: Leonara Maria. Obrigado
pela paciência, pelo incentivo, pela
força e principalmente pelo
carinho.

AGRADECIMENTOS

À minha família Leopoldina Maria, Alberto Oliveira e Leonara Maria por me ensinarem o caminho da retidão e da honestidade e por estarem sempre ao meu lado, principalmente nesta etapa da vida.

Ao meu orientador Régis Gomes, pela paciência e pelo apoio na concepção, correção e finalização desta dissertação.

À professora Clarissa Romero, por seu precioso reforço na preparação desta dissertação.

Ao professor Felipe Aníbal, pela ajuda e pelas colocações para a edificação deste trabalho.

Aos demais membros do Escritório Fiocruz – PI pelo apoio nas questões científico-administrativo do curso.

Aos professores Maurício Vilela e Jacenir Mallet que tão gentilmente me aceitaram em sua equipe e deram contribuições valiosas para este trabalho.

À professora Simone Mousinho que, tão prontamente, disponibilizou seu laboratório para a execução desta pesquisa.

Aos membros do Laboratório Interdisciplinar de Vigilância Entomológica em Díptera e Hemiptera – LIVEDIH – Fiocruz – RJ pelo apoio e auxílio técnico-científico na realização deste trabalho.

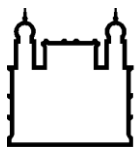
Ao Departamento de Ciências Biológicas da Escola Nacional de Saúde Pública – ENSP pelo auxílio na técnica imuno-enzimática que ajudou a enriquecer o trabalho.

À colaboradora Sílvia Alcântara Vasconcelos pela ajuda imprescindível nas capturas dos Flebotomíneos.

Aos meus colegas de turma, Léia, Darwin, Filipe, Trícia, Dilbert, Carol e Jurecir, pelo companheirismo e brincadeiras que tornaram esta caminhada mais divertida.

Não sei, só sei que foi assim! (Em: O auto da Compadecida).

Ariano Suassuna



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

LEISHMANIOSE VISCERAL E LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO MUNICÍPIO DE ALTOS, PIAUÍ: ESTUDO DOS VETORES E SUA FONTE ALIMENTAR.

RESUMO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA TROPICAL

Raimundo Leoberto Torres de Sousa

A Leishmaniose Visceral Americana (LVA) e a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) são zoonoses tropicais negligenciadas que acometem o homem e animais silvestres. A transmissão ocorre através da picada do flebótomo infectado com protozoários do gênero *Leishmania*. O objetivo deste estudo foi realizar um levantamento faunístico dos flebotomíneos, identificar potenciais vetores da LVA e da LTA em áreas de transmissão no município de Altos-PI, avaliar a interação sazonal e lunar com as espécies encontradas e analisar o conteúdo alimentar das fêmeas de flebotomíneos no sentido de determinar a fonte sanguínea. Como metodologia, foram listados os endereços com registros de LV e LTA por meio do Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Posteriormente foram instaladas armadilhas luminosas tipo CDC nas regiões com maior ocorrência de notificações. O material coletado foi conduzido ao laboratório para seleção dos flebótomos e preparo para identificação. Posteriormente foi realizada a avaliação do conteúdo alimentar das fêmeas ingurgitadas. Além disso, foram analisados variáveis meteorológicas como umidade, temperatura e pluviometria através do Instituto Nacional de Meteorologia – IMET e posteriormente foi avaliada a taxa de luminosidade lunar e fases da lua através de site especializado. Os resultados registraram as seguintes espécies: *Lutzomyia longipalpis* com 1.847 indivíduos, 01 espécime de *Lutzomyia dispar*, *Evandromyia evandroi* e *Sciopemyia sordellii*; 02 *Evandromyia lenti* e 03 *Nyssomyia whitmani*. A espécie *Lu. longipalpis* representa 99,7% dos flebotomíneos capturados. Durante o período estudado, a densidade vetorial foi maior no final da estação chuvosa correspondendo a 64,6% dos espécimes coletados. A abundância de *Lu. longipalpis* foi maior durante a fase lunar crescente côncava e quarto crescente, e a fase lunar que apresentou menor média de capturas foi a fase de lua cheia. Quanto à luminosidade lunar, observou-se que o período que obteve a maior densidade de exemplares capturados foi entre 27,20% e 63,94% e no estudo do conteúdo estomacal foi verificado um predomínio de insetos alimentados com sangue de aves e cavalo. Como conclusão, o presente estudo demonstra que a espécie mais encontrada no município de Altos foi *Lu. longipalpis*, com densidade maior no período chuvoso e lua na fase crescente côncava, e que as fontes alimentares detectadas através do estudo do conteúdo alimentar dos flebotomíneos foram preferencialmente aves e equinos.

Palavras Chave: Psychodidae, Comportamento Alimentar, Sazonalidade, Ecologia, Fases Lunares



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

VISCERAL LEISHMANIASIS AND AMERICAN CUTANEOUS LEISHMANIASIS IN THE MUNICIPALITY OF ALTOS, PIAUÍ: STUDY OF VECTORS AND THEIR FOOD SOURCE.

ABSTRACT

MASTER DISSERTATION IN TROPICAL MEDICINE

Raimundo Leoberto Torres de Sousa

American Visceral Leishmaniasis (LV) and American Cutaneous Leishmaniasis (LTA) are neglected tropical zoonoses that affect humans and wild animals. Transmission occurs through the bite of the sandfly infected with protozoa of the genus *Leishmania*. The objective of this study is to perform a fauna survey of sandflies, to identify potential vectors of LVA and LTA in transmission areas in the municipality of Altos-PI, to evaluate the seasonal and lunar interaction with the species found and to analyze the feeding content of sand flies to determine the blood supply. As a methodology, the addresses with LV and LTA records were listed through the Notification of Injury Information System. Later CDC type light traps were installed in the regions with the highest occurrence of notifications. The collected material was taken to the laboratory for selection of sandflies and preparation for identification. Subsequently, the food content of the engorged females was evaluated. In addition, meteorological variables such as humidity, temperature and rainfall were analyzed through the National Institute of Meteorology – IMET and later was evaluated the rate of lunar luminosity and phases of the moon through specialized website. The results recorded the following species: *Lutzomyia longipalpis* with 1847 individuals, 1 specimen of *Lutzomyia dispar*, *Evandromyia evandroi* and *Sciopemyia sordellii* respectively, 2 *Evandromyia lenti* and 3 *Nyssomyia whitmani*. The species *Lutzomyia longipalpis* was predominant, representing 99.7% of the captured sandflies. During the study period, the vector density was higher at the end of the rainy season, corresponding to 64,6% of the specimens collected. The abundance of *Lu. longipalpis* was higher during the lunar crescent concave phase, and the fourth crescent and the lunar phase that presented lower average catches was the full moon phase. As for the lunar luminosity, it was observed that the period that obtained the highest density of captured specimens was between 27.20% and 63.94% and in studies of the stomach contents a predominance of insects fed with blood of bird and horse was verified. It was concluded that the most extensive species was *Lutzomyia longipalpis* with higher density in the rainy season and moon in the concave crescent phase and that the most sought after host was birds and equids.

Keywords: Psychodidae, Feeding Behavior, Seasonality, Ecology, Lunar Phases

SUMÁRIO

RESUMO	IX
ABSTRACT	X
1 INTRODUÇÃO	5
1.1 Epidemiologia das Leishmanioses.....	5
1.2 Agente etiológico da Leishmaniose	6
1.3 Anatomia e Taxonomia dos Flebotomíneos.....	7
1.4 Importância Vetorial dos flebotomíneos.	9
1.5 Aspectos biológicos e comportamentais.....	10
1.6 Comportamento alimentar	12
1.7 Principais reservatórios das Leishmanioses.....	14
1.8 Justificativa.....	15
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo Geral	16
2.2 Objetivos Específicos	16
3 MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 Autorizações legais.....	17
3.2 Área de Estudo.	17
3.3 Captura e identificação de espécies.....	19
3.4 Dados Meteorológicos e astronômicos.....	21
3.5 Estudo do Conteúdo Alimentar.....	21
3.6 Análise Estatística.....	22
4 RESULTADOS	24
4.1 Descrição dos locais de captura.....	24
4.2 Levantamento Faunístico	24
4.3 Variação Sazonal das Espécies de Flebótomos.....	28
4.4 Influência do ciclo lunar na frequência de flebotomíneos.	29
4.5 Estudo do conteúdo estomacal.	31
5 DISCUSSÃO	33
6 PERSPECTIVAS	40
7 CONCLUSÕES	41
8 REFERÊNCIAS	42
9 ANEXOS	54
9.1 Autorização Legal.....	54
9.2 Revisão Integrativa enviada para submissão.	58

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1:** Ciclo de vida dos flebotomíneos com metamorfose completa: Ovo, quatro estádios larvais, pupa e adulto. **Fonte:** Sousa, RLT. 8
- Figura 2:** Armadilha luminosa modelo HP: Utilizada para captura de insetos alados, principalmente Flebotomíneos e Dípteros em geral. **Fonte:** Sousa, RLT 10
- Figura 3:** Período de digestão sanguínea de uma fêmea de flebotomíneo **Fonte:** (adaptado de Forattini, 1973). 13
- Figura 4:** Localização Geográfica da cidade de Altos **Legenda:** A = Piauí Localizado na Região Nordeste do Brasil; B = Cidade de Altos, Região Norte do Piauí. C = Cidade de Altos, Visão de Satélite. **Fonte:** Google Maps©; Qgis®. 17
- Figura 5:** Mapa do município de Altos mostrando os bairros onde as capturas dos flebotomíneos foram realizadas **Fonte:** IBGE 19
- Figura 6:** Principais locais de captura com características sugestivas ao aparecimento de flebotomíneos **Legenda:** A = Instalação de armadilha CDC em galinheiro; B = Armadilha a 1,5m do solo C = Armadilha CDC instaladas a 4,00m do solo no alto de uma cajueiro D = local com criadouro de galinhas e de cavalos **Fotos:** João Alberto 24
- Figura 7:** Terminália de machos de flebotomos de A=*Nyssomyia whitmani* e B=*Lutzomyia longipalpis*, Imagem por microscopia óptica. Aumento de 40x. **Fotos:** Sousa, RLT 25

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Classificação da correlação linear de Pearson	23
Tabela 2: Frequência absoluta de espécies e taxa de abundância relativa (%) de flebotomíneos encontrados no período de abril de 2017 a Julho de 2018, no município de Altos-PI.	25
Tabela 3: Frequência de flebotomíneos capturados no periodo de abril de 2017 a agosto de 2018 no município de Altos, Piauí.	26
Tabela 4: Coeficientes de correlação de Spearman obtidos da correlação entre a densidade de <i>Lutzomyia longipalpis</i> e as variáveis bioclimáticas (temperatura, pluviometria e umidade relativa), no município de Altos, PI. ($p < 0,05$).....	29
Tabela 5: Fontes alimentares sanguíneas individuais e cruzadas de flebotomíneos do Município de Altos-PI., abril de 2017 a julho de 2018.....	31

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Quantidade de Flebotomíneos encontrados por bairro, no município de Altos-PI.....	27
Gráfico 2: Frequência de machos e fêmeas encontrados por bairro, na cidade de Altos-PI.....	27
Gráfico 3: Relação entre a densidade vetorial de <i>Lutzomyia longipalpis</i> e a pluviometria (mm), temperatura (°C) e UR - umidade relativa (%), entre abril de 2017 a março de 2018, no município de Altos.	28
Gráfico 4: Relação entre abundância de <i>Lu. longipalpis</i> e as fases lunares Fonte Sousa, RLT.	29
Gráfico 5: Relação entre coeficiente de fração iluminada da face visível e a quantidade de flebotomíneos capturados no município de Altos-PI Fonte: Sousa, RLT.	30

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

LTA	Leishmaniose Tegumentar América
LV	Leishmaniose Visceral
L	<i>Leishmania</i>
CDC	Centro de Controle de Doenças
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
PCR	Polymerase Chain Reaction
Lu.	<i>Lutzomyia</i>
Ny.	<i>Nyssomyia</i>
D	<i>Didelphis</i>
SISBio	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SUS	Sistema Único de Saúde
IDHM	Índice de Desenvolvimento Humano Municipal
HP	Hoover Pugedo
SINAN	Sistema de Informações de Agravos de Notificação
SESAPI	Secretaria Estadual de Saúde do Piauí.
ZOOBP	Zoologia e Biologia Parasitária
UESPI	Universidade Estadual do Piauí
KOH	Hidróxido de potássio
CH ₃ COOH	Ácido Acético
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
ENSP	Escola Nacional de Saúde Pública
PBS	Tampão fosfato-salino
pH	potencial hidrogeniônico
°C	Graus Celsius
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
<i>sp</i>	<i>espécie</i>
DO	Densidade Óptica

1 INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia das Leishmanioses.

A leishmaniose é uma doença causada por protozoários da Ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e gênero *Leishmania* Ross, 1993. No mundo, as principais formas clínicas conhecidas são: Leishmaniose Visceral, Leishmaniose Dérmica Pós-Kala-azar (Continente Asiático), Leishmaniose Cutânea, Leishmaniose Mucocutânea (Continente Americano) e em grande parte da América latina, pode ser classificada como Leishmaniose Visceral (LV), e Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) (1,2).

Esta enfermidade se encontra em franca expansão geográfica e está distribuída em 98 países acometendo o sul da Europa; norte da África; Oriente Médio; América Central e América do Sul. Sua ocorrência está relacionada a diferentes aspectos como a pobreza, aos fluxos migratórios, as alterações ambientais e as mudanças climáticas, dentre outros (3).

No Brasil, o número de casos de LTA vem aumentando através de surtos epidêmicos recorrentes nas regiões: centro-oeste, sudeste, sul, nordeste e região norte, principalmente na área amazônica (4), ressaltando o estado do Amazonas que, em 2011, obteve incidência de 64,5 casos por 100.000 habitantes (5). Já os casos da LV no país vêm aumentando continuamente em 21 estados brasileiros, onde, é possível observar uma urbanização da LV, deste o Rio de Janeiro (RJ) e Belo Horizonte (MG) até Teresina (PI), e Fortaleza (CE) no Nordeste (6).

No Piauí, os primeiros relatos das leishmanioses foram registrados em meados de 1934 (7,8), porém, somente em 1980, uma epidemia de LV foi constatada dominando uma ampla extensão territorial do estado, principalmente na área urbana da capital Teresina (9). Com relação a LTA, o Piauí, foi notificado com mais de 150 casos confirmados entre os anos de 2003 e 2005, ressaltando os municípios de Altos, Pedro II e Teresina. Em 2009 O estado notificou 104 casos de LTA, destacando-se novamente os municípios de Altos e Teresina (10,11). Alguns trabalhos científicos demonstraram que as condições sazonais, típicas da região piauiense, favorecem o desenvolvimento do vetor, aumentando o número de casos de leishmaniose em todo o estado (12).

No município de Altos, Piauí, a LTA foi notificada, entre 2007 e 2011, com 150 casos confirmados entre casos novos, recidivos e ignorados, em 2010, a incidência desta doença foi classificada, para o risco de transmissão, como “muito alta”, atingindo o pico de (100,5/100.000 habitantes) segundo os parâmetros de classificação de área de transmissão de LTA. (13). No mesmo período, a LV foi notificada com 1.105 casos confirmados, sendo os municípios mais afetados: Teresina, Parnaíba, Miguel Alves e Floriano, não sendo registrados casos de LV no município de Altos. (14) Essa diferença significativa entre a quantidade de casos de LTA e LV no estado se deve a uma grande quantidade de insetos da espécie *Lutzomyia longipalpis* Lutz & Neiva, 1912, principal transmissora da Leishmaniose Visceral (15).

1.2 Agente etiológico da Leishmaniose

Os parasitos do complexo donovani, causadores da LV, estão agrupados em três espécies: *Leishmania donovani* Laveran & Mesnil, 1903, *L. infantum* Nicolle, 1908 e *L. chagasi* Cunha & Chagas, 1937 (16). A evolução das duas primeiras espécies incluindo a espécie do complexo *Leishmania (L.) tropica* aconteceram no velho mundo, do mesmo modo, outro processo evolutivo acontecia no novo mundo dando origem a *L. chagasi* Cunha & Chagas, 1937 que mais tarde se tornou sinônimo da *L. infantum* Nicolle, 1908. Além dessas duas evoluções, outra linhagem ancestral transformou-se para formar o subgênero *Viannia* Lainson & Shaw, 1987, onde seus membros possuem a característica primitiva de desenvolvimento no intestino posterior dos flebotomíneos (17).

Os agentes etiológicos da LTA, estão agrupados em seis espécies de *Leishmania*, todas inseridas aos subgêneros *Viannia*. Sendo elas:

Leishmania (Viannia) braziliensis: Espécie mais encontrada nas zonas endêmicas brasileiras, podendo causar lesões cutâneas e mucosas. Estando geralmente associada à presença de animais domésticos, esta espécie é transmitida por flebotomíneos como *Nyssomyia whitmani* Antunes & Coutinho, 1939, *Psychodopygus wellcomei* Fraiha, Shaw & Lainson, 1971 e *Ny. Intermedia* Lutz & Neiva, 1912, dentre outras (18).

Leishmania (Viannia) guyanensis: Espécie causadora de lesões cutâneas, é recorrente no Norte do Amazonas, estando relacionada com a presença de desdentados e marsupiais. Os flebotomíneos envolvidos com esta espécie de parasito são a *Ny. umbratilis* Ward & Fraiha, 1977, *Ny. anduzei* Rozeboom, 1942 e *Ny. whitmani* Antunes & Coutinho, 1939 (18).

Leishmania (Viannia) lainsoni: encontrada nas regiões amazônicas, está associado com a presença de pacas, utilizando este vertebrado como reservatório natural sendo o vetor *Trichophoromyia ubiquitalis* Mangabeira, 1942 (19).

Leishmania (Viannia) shawi: É a espécie notificada no Pará e Amazonas, tem como hospedeiro definitivo: macacos, preguiças e procionídeos, sendo o flebotomíneo *Ny. whitmani* principal responsável pela transmissão (19).

Leishmania (Viannia) naiffi: Possui ocorrência na floresta amazônica dos estados do Amazonas e Pará, o principal reservatório é o tatu e a particularidade desta espécie é que o parasito provoca LTA de progressão benigna. Os flebotomíneos vetores desta espécie são: *Psychodopygus squamiventris* Fairchild & Hertig, 1951, *Ps paraensis* Costa Lima, 1941 e *Ps ayrozai* Barretto & Coutinho, 1940 (1).

Leishmania (Viannia) amazonensis; espécie responsável pela leishmaniose cutânea difusa. Possui os marsupiais e roedores como hospedeiros definitivos e a espécie de flebotomíneo incriminado como vetor é *Bichromomyia flaviscutellata* Mangabeira, 1942 e *Bi olmeca* Young e Arias, 1982 (19).

1.3 Anatomia e Taxonomia dos Flebotomíneos.

Os flebotomíneos, pertencem à ordem Diptera Linnaeus, 1758, Família Psychodidae Newman 1834, subfamília Phlebotominae Rondani, 1840 e estão divididos, segundo Galati, 2017, em duas tribos. A tribo Hertigini: Grupo onde estão inseridos os gêneros *Chinius* Leng 1987, *Hertigia* Fairchild, 1949, *Warileya* Hertig, 1948, *Spelaeophlebotomus* Theodor, 1948, *Idiophlebotomus* Quate & Fairchild, 1961 e *Phlebotomiella* Meunier, 1905, e a tribo Phlebotomini, ramificada em seis subtribos: Phlebotomina, Australophlebotomina, Brumptomyiina, Sergentomyiina, Lutzomyiina e Psychodopygina. A subtribo Psychodopygina era composta por vários subgêneros, porém, após uma severa modificação no

sistema organizacional, foram promovidos a gênero como: *Psathyromyia* Barretto, 1962, *Viannomyia* Mangabeira, 1941, *Nyssomyia* Barretto, 1962, *Trichophoromyia* Barretto, 1962 e *Psychodopygus* Mangabeira, 1941. Entretanto, dentre todas as alterações, a maior modificação foi realizada no gênero antes conhecido como *Lutzomyia* (20,21). Estas alterações trouxeram mudanças na classificação de quase todas as espécies em relação à classificação de Young e Duncan, 1994 (21).

O corpo dos flebotomíneos diferem de outros dípteros por ser recoberto por cerdas em abundância; seu ciclo de vida possui desenvolvimento completo, ou seja, são holometábolos apresentando o estágio larval, com quatro estádios evolutivos (L1, L2, L3, L4), pupa, com desenvolvimento em matéria orgânica, e a fase adulta alada possui dimorfismo sexual. (Figura 1). Outra distinção marcante é que, diferente da família Culicidae que possui a probóscide longa e obtém o alimento direto dos vasos sanguíneos, os flebotomíneos possuem probóscide curta sugando seu alimento em microlacerações feitas por estes na superfície da epiderme dos vertebrados. (22) As fêmeas, na fase reprodutiva, mudam sua alimentação trocando fontes naturais por sangue, (23) a fim de promover o desenvolvimento ovariano dando continuidade ao processo reprodutivo, tornando-as obrigatoriamente hematófagas (24).

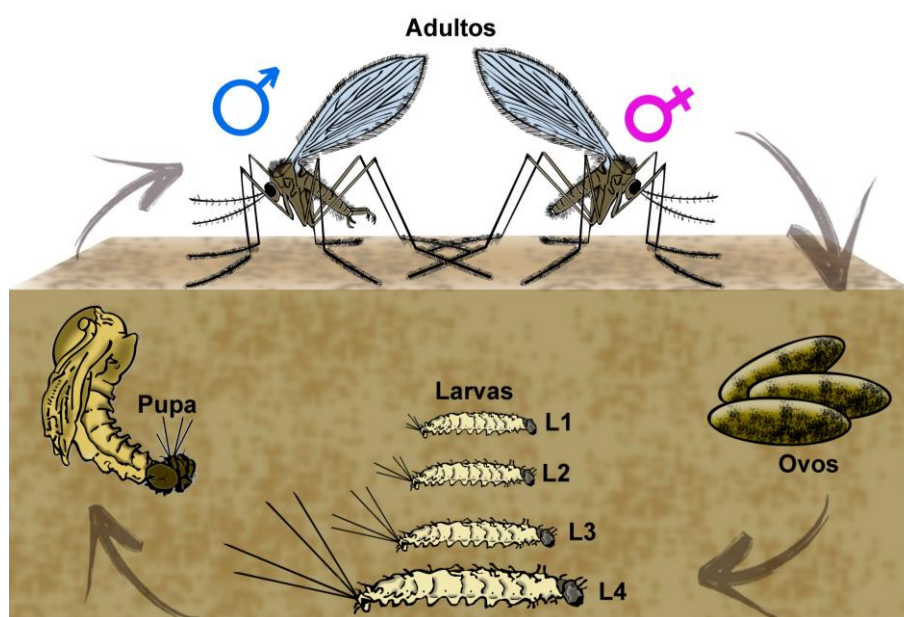


Figura 1: Ciclo de vida dos flebotomíneos com metamorfose completa: ovo, quatro estádios larvais, pupa e adulto. **Fonte:** Sousa, RLT.

Anatomicamente as fêmeas são robustas, com os três últimos segmentos abdominais sem apêndices, admitindo a execução de funções reprodutivas, como o acasalamento e a postura de ovos. Do mesmo modo, possuem um par de espermatecas (estrutura utilizada para armazenar os espermatozoides). Os machos têm os três últimos segmentos abdominais alterados em uma genitália externa acentuada e oposta, com apêndices articulados e desenvolvidos, esta estrutura é típica de cada espécie (25).

1.4 Importância Vetorial dos flebotomíneos.

Além da propagação ativa das leishmanioses, esses artrópodes podem transmitir outros agentes etiológicos, como diferentes arboviroses, dentre eles, o flebovírus pertencente à família: Bunyaviridae, Porterfield 1975 causador da febre dos flebotomíneos, conhecida desde 1909, e a bactéria da espécie *Bartonella bacilliformis* Strong 1913, causadora da febre de Oroya, bartonelose ou verruga peruana, doença de ocorrência nos vales andinos (3,25), Outras doenças como “Harara” (Reação alérgica à picada de flebotomíneos) e enfermidades causadas por tripanossomatídeos em répteis e anfíbios também podem ser associados à capacidade vetorial dos flebotomíneos (26).

Em Israel, a doença conhecida como “Harara”, também pode ser encontrada em diversas áreas do seu território, isso porque tal enfermidade possui distribuição estacional sujeitando-se a quantidade de vetor *Phlebotomus papatasi* Scopoli, 1786, no ambiente (26). No Equador Colômbia e Peru, além das leishmanioses, a febre de Oroya também pode ser amplamente difundida, principalmente por que seu vetor, *Pintomyia verrucarum* Townsend, 1913, apresenta frequência no ambiente peridomiciliar, o que facilita o contato direto do vetor com moradores de áreas endêmicas (27,28).

Os flebotomíneos, como já relatado, podem transmitir tripanossomatídeos exclusivos entre animais. Um exemplo disso são relatos da espécie *Sergentomyia minuta* Rondani, 1843 que transmite *Trypanosoma platydactylis* Catouillard, 1910 para lagartos da espécie *Tarentola mauritanica* Linnaeus 1758, em uma ilha do Mar Mediterrâneo (29). Outro exemplo é a transmissão do *Trypanosoma bocagei* França, 1911 em anfíbios da espécie *Bufo gargarizans* Cantor, 1842 por

intermédio do vetor denominado *Sergentomyia squamirostris* Newstead, 1923 na China. Estes fatos demonstram que os flebótomos possuem importância significativa na transmissão de doenças entre pessoas e animais (30).

1.5 Aspectos biológicos e comportamentais.

Dependendo da região onde são encontrados, os flebótomos são conhecidos vulgarmente como “mosquito palha”, “asa dura”, “birigui” dentre outros nomes. Estes insetos se locomovem por pequenos saltos na superfície de pouso, diferente de outros dípteros (31).

Para entender o comportamento dos flebotomíneos nos seus diferentes habitats, são usadas técnicas de monitoramento de populações através de armadilhas luminosas modelo HP (Figura 2) e armadilhas adesivas (32,33). Com exceção de várias outras espécies, dentre elas, o *Psychodopygus wellcomei* Fraiha, Shaw & Lainson, 1971, que apresenta atividade diurna (34). Os flebotomíneos em geral são insetos de hábito noturno, eles começam o período de atividade a partir do crepúsculo e perduram até o amanhecer do dia seguinte, atingindo o seu pico entre 22:00 horas e 01:00 hora, estes dados foram adquiridos a partir de estudos feitos com *Bichromomyia flaviscutellata*, Mangabeira, 1942 (35).



Figura 2: Armadilha luminosa modelo HP: Utilizada para captura de insetos alados, principalmente Flebotomíneos e Dípteros em geral. **Fonte:** Sousa, RLT

O ciclo vital dos flebotomíneos é influenciado por vários fatores sazonais, como o clima (velocidade do vento, temperatura, precipitação, umidade relativa) e iluminação lunar (36,37).

As fases da lua são conhecidas por ter influência direta no desempenho de vôo dos flebotomíneos adultos e no comportamento alimentar da ordem Diptera, particularmente Culicidae Theobald, 1907 (38,39). Essas variações do ciclo lunar também poderiam influenciar de forma semelhante a atividade dos flebotomíneos.

No Brasil, as implicações dos efeitos da fase lunar na atividade dos flebótomos são contraditórias (40) pois, os métodos usados pelos autores são diferentes daqueles usados em trabalhos da década de 80 e 90, tornando a comparação dos resultados, muitas vezes, inviável (40). Essas contradições podem ser vistas nos trabalhos realizados em Minas Gerais, em que fêmeas de *Ny. intermedia* iniciam suas atividades na Lua Cheia (41), Entretanto, no Rio de Janeiro o número de espécies capturadas é maior na Lua Nova (42) e em outro trabalho realizado na mesma cidade a quantidade de flebotomíneos capturados durante a Lua cheia é radicalmente reduzida. (43)

O ritual de acasalamento dos flebótomos acontece naturalmente a noite, em virtude da atividade desses dípteros. A atração entre machos e fêmeas está baseada principalmente em um comportamento biológico, através da produção de feromônios presentes em glândulas abdominais, e por meio do comportamento mecânico através do ato de vibração das asas dos machos para atrair as fêmeas (34). No meio ambiente, existe uma grande dificuldade em se encontrar os criadouros naturais, em virtude do tamanho das formas imaturas e por se desenvolverem em matéria orgânica. Todo o conhecimento sobre os estágios de vida dos flebotomíneos foi adquirido em colônias de insetos adultos, capturados no campo (33,44). As informações sobre estes estágios são de grande importância para localização dos criadouros, o que pode ajudar a aprimorar as medidas de controle das formas imaturas (45).

Troncos de árvores são os principais ecótopos escolhidos por 111 espécies de flebótomos no Brasil, de forma que as florestas possuem relevância frente aos demais biótopos conhecidos no país (46). Para que várias espécies habitem o mesmo ecótopo é primordial realçar que as mesmas se adequem às situações

ambientais disponíveis e às relações ecológicas como interações competitivas interespecíficas. Essa competição entre espécies pode, por exemplo, explicar, em parte, a ausência de *Lu. cruzi* em locais que possuem casos de LV notificados, onde foi verificado a presença de *Lu. longipalpis*, visto que as espécies apresentam proximidade filogenética entre elas. As fêmeas são indistinguíveis morfologicamente, assim, se conclui que ambas procuram os mesmos recursos naturais de sobrevivência, como território e fonte alimentar, e por competição, ocorre a supressão de uma das espécies (47).

1.6 Comportamento alimentar

Os flebotomíneos possuem mandíbulas atrofiadas e probóscide curta, especializada em obter carboidratos em fontes naturais tais como: néctar, excreções de afídeos, seiva vegetal, e frutas maduras. Entretanto, como já mencionado, as fêmeas mudam sua alimentação, trocando fontes naturais por sangue de animais vertebrados, para fins reprodutivos (23,24).

A atração pelo sangue dos hospedeiros envolve uma série de variáveis, como odores corporais, temperatura, umidade e iluminação (48,49). Ao localizar o vertebrado, a fêmea do flebotomíneo inicia seu primeiro contato de aproximação movendo-se por curtas distâncias sobre a superfície cutânea do hospedeiro, acontece então o pouso, abaixamento do corpo com as asas eretas, inserção de, pelo menos metade da probóscide e, por fim, inicia-se a sucção cuja duração é variável dependendo de cada espécie (50). Estudos com fêmeas de *Psychodopygus sanguinarius* Mangabeira, 1942, *Lutomyia gomezi* Nitzulescu, 1931, *Lutomyia longipalpis* Lutz & Neiva, 1912 dentre outras espécies mostram que o tempo de repasto em animais de sangue quente pode variar de 1 a 5 minutos (51–53). Entretanto, trabalhos realizados com fêmeas de *Lutzomyia stewarti* Mangabeira & Galindo, 1944 e *Lutzomyia californica* Fairchild & Hertig, 1957 mostram que repastos realizados em animais de sangue-frio podem variar de 5 a 10 minutos. Vale ressaltar que, em raros momentos, o processo de repleção total, estágios em que o abdômen está completamente cheio de sangue, em fêmeas que se alimentam de animais de sangue quente, pode chegar a 75 minutos (54).

A porção de sangue que uma fêmea de flebotomíneo pode consumir equivale ao seu próprio peso, ou seja, algo em torno de 0,5/0,6 mg (54,55) e, geralmente, um único repasto sanguíneo é suficiente para uma fêmea estar completamente ingurgitada. Entretanto, o repasto pode ser interrompido por fatores externos, forçando a fêmea a se alimentar de forma parcial. Nesse caso, a fêmea procura imediatamente outra região da superfície cutânea para completar sua alimentação. Assim, conseqüentemente, ocorre o aumento de peso e as fêmeas, recém-alimentadas, apresentam dificuldades para alçar voo, pousando, então, nas proximidades do vertebrado utilizado na sua alimentação (48). Uma vez concluído o repasto sanguíneo, a digestão começa da porção posterior do estômago para a anterior, levando de 2 a 5 dias para a conclusão do processo (Figura 3).

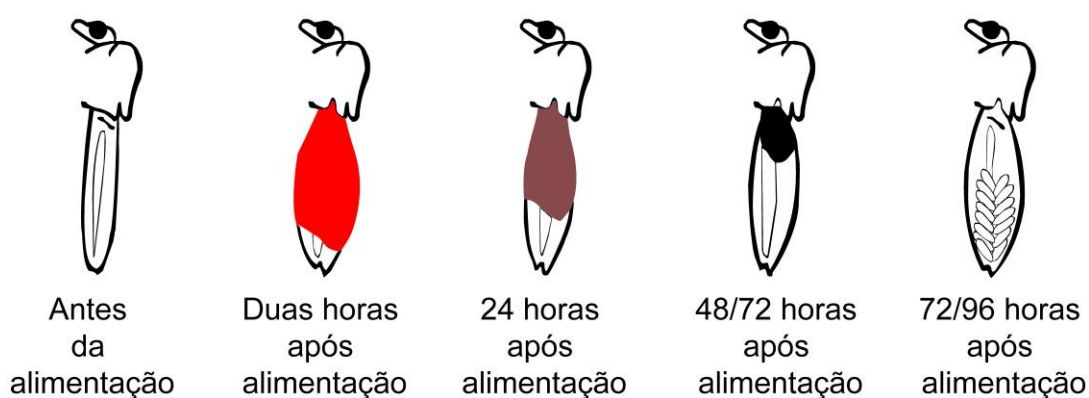


Figura 3: Período de digestão sanguínea de uma fêmea de flebotomíneo **Fonte:** (adaptado de Forattini, 1973).

No processo de repasto sanguíneo a saliva da fêmea possui importância significativa, devido à presença de substâncias vasodilatadoras e anticoagulantes (34). A alimentação das fêmeas, em geral, acontece em torno de 24–48 horas, após a eclosão da pupa, alimentando-se por laceração epidérmica que consiste no ato de abrir pequenas fissuras na pele, lacerando-a com a ponta serrilhada da probóscide, dessa forma, essas fissuras irão formar um lago sanguíneo onde a fêmea realizará o repasto (34).

Estudos para analisar os hábitos alimentares das fêmeas têm sido efetuados com diversas técnicas, dentre elas estão as laboratoriais como: Imuno-

enzimáticos (Teste de Precipitação, Difusão em Gel e ELISA) e moleculares (PCR), além das técnicas de campo como as observações visuais, armadilhas com isca animal, dentre outros (56–58).

As técnicas laboratoriais, mais especificamente as imunoenzimáticas, são mais utilizadas pelas suas especificidades, contudo, a desvantagem é que demandam de um longo período para ser realizada, e dependendo da quantidade de sangue examinado, pode haver baixa sensibilidade (59,60). Outras desvantagens comuns são: reatividade cruzada entre espécies próximas e necessidade de anticorpos específicos para uma infinidade de potenciais hospedeiros (61).

Com estas técnicas são possíveis estudar o conteúdo intestinal de flebotomíneos, uma vez que se alimentam em diferentes fontes sanguíneas de vertebrados (62). Estes procedimentos têm auxiliado no controle de vetores, indicando as fontes de alimentação desses insetos e, conseqüentemente, facilitando a compreensão do comportamento alimentar, de maneira efetiva, além de revelar diferentes aspectos da ecoepidemiologia das leishmanioses.

Sobre o comportamento alimentar, algumas espécies de flebotomos demonstram não possuir preferência, ou seja, são ecléticas quanto à fonte alimentar, outras já possuem alimentação restrita a uma única espécie de vertebrado (26). No caso do *Lu. longipalpis*, *Ny. intermedia*, *Mg. migonei* e *Pintomyia fischeri*, Pinto, 1926, não existe propensão por fonte alimentar. Dessa forma, humanos, cães, gatos, aves e outros animais podem ser alvos de repastos sanguíneos, ao passo que a espécie *Micropygomyia quinquefer* Dyar, 1929, realiza seu repasto preferencialmente em sangue de répteis (45,63).

1.7 Principais reservatórios das Leishmanioses.

Em relação aos reservatórios, os canídeos silvestres, a raposa *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766 é incriminada como reservatório natural da *Leishmania infantum* Nicolle, 1908. Outras espécies de animais silvestres também são consideradas prováveis reservatórios como é o caso da raposa-do-campo *Lycalopex vetulus* Lund, 1842, cachorro-vinagre *Speotus venaticus* Lund, 1842, e lobo-guará *Chysocyon brachyurus* Illiger, 1815, além de outros mamíferos como

o marsupial *Didelphis albiventris* Lund, 1840, e *D. marsupialis* Linnaeus, 1758 (64). Quanto aos que vivem próximos às populações humanas, o cão, *Canis familiaris* Linnaeus, 1758, é apontado como principal hospedeiro doméstico. Esses animais, quando infectados com a *leishmania* sp, exibem mudanças no seu quadro clínico, passando de animais sadios a sintomáticos, chegando a estágios graves com intenso parasitismo cutâneo (65).

1.8 Justificativa

A realização de um estudo sobre os vetores das leishmanioses, principalmente em área de transmissão recente no estado do Piauí, é de grande importância epidemiológica, não somente pela carência de estudos dessa natureza, mas por resultar em dados que contribuam ao entendimento dos aspectos ecoepidemiológicos da doença, na perspectiva de propor estratégias de controle.

O Município de Altos, localizado a 38 km da capital Teresina, tem apresentado de maneira regular e crescente, casos de LV e mais recentemente, de LTA. Um estudo do nosso grupo de pesquisa demonstrou recentemente que além de *Lu. longipalpis*, a espécie *Ny. whitmani* foi registrado nesta região, e dessa forma, possivelmente pode ser sugerido como vetor da LTA no município. Entretanto, ainda não se tem dados sobre a preferência alimentar destes insetos neste município. Por ser uma área que possui um grande número de animais circulando e convivendo com os moradores da cidade, a captura e a determinação do hábito alimentar de fêmeas de flebotomíneos ingurgitadas nos deu indícios de locais onde esses dípteros mantêm o seu comportamento alimentar. A determinação destes locais propícios ao aparecimento do vetor pode nos permitir compreender os mecanismos de transmissão contribuindo com as autoridades locais no controle da leishmaniose.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Descrever a estrutura de comunidade de flebotomíneos e avaliar a fonte alimentar destes insetos no município de Altos-PI.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar um levantamento faunístico das espécies de flebotomíneos;
- Avaliar a variação sazonal das espécies de flebotomos encontradas;
- Investigar a influência do ciclo lunar na frequência de espécimes capturado em armadilhas luminosas;
- Determinar o hábito alimentar das espécies de flebotomíneos através da análise do conteúdo alimentar;

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Autorizações legais

O projeto foi submetido ao Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBio), para autorização legal de catalogação/coleta de animais silvestres, com aprovação sob o número 61837-1. Por se tratar de um estudo de levantamento entomológico, sem intervenção em animais vertebrados e seres humanos, o trabalho em questão não precisou ser submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa.

3.2 Área de Estudo.

O município de Altos, Latitude: 5°01'22"S, Longitude: 42°27'26"W está localizado a 37,9 km da capital Teresina-PI e possui uma área de 957,654km², com 39.864 habitantes. (Figura 4)

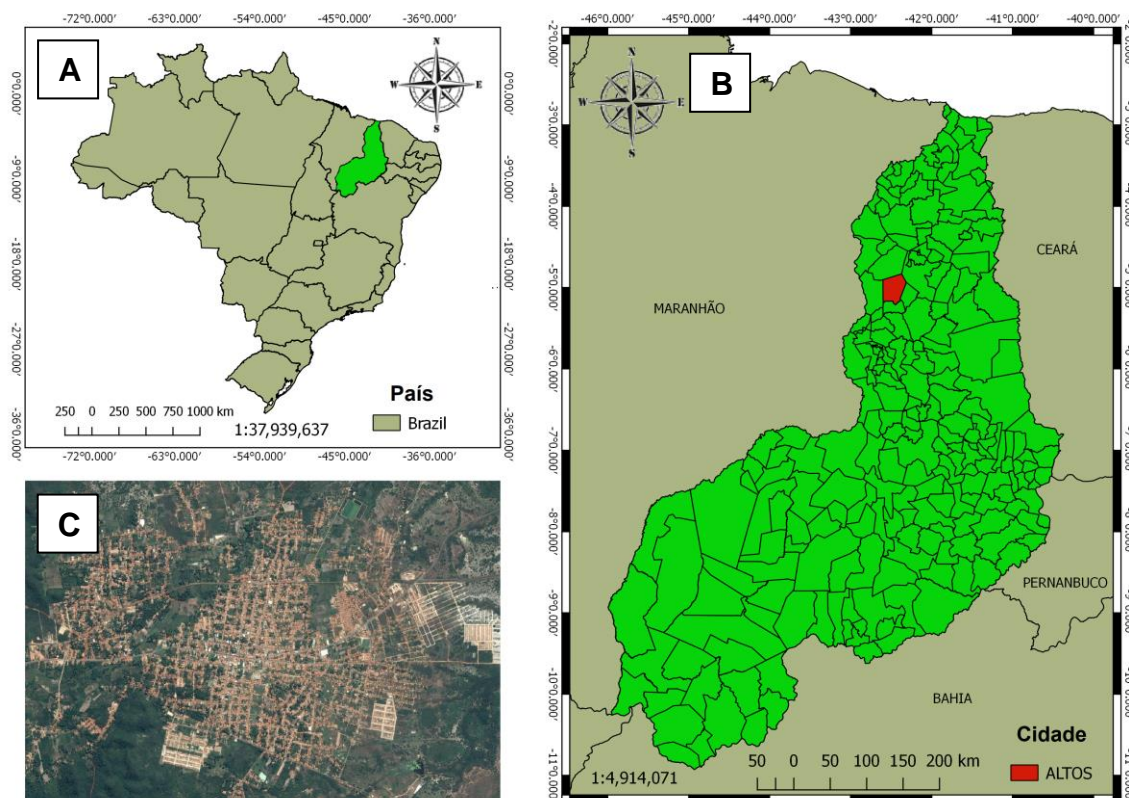


Figura 4: Localização Geográfica da cidade de Altos. **Legenda:** **A** = Piauí, Localizado na Região Nordeste do Brasil; **B** = Cidade de Altos, Região Norte do Piauí. **C** = Cidade de Altos, Visão de Satélite. **Fonte:** Google Maps©; Qgis©.

A cidade dispõe de uma densidade demográfica de 40,54 hab/km² onde 3.095 pessoas (7,8 %) possuem salário médio mensal de 1,8 salários mínimos. A taxa de escolarização da população de 6 a 14 anos de idade é de 97,6 % correspondente a 6.406 matrículas no ensino fundamental e 1.855 matrículas no ensino médio, segundo senso de 2015. Em 2014, o PIB per capita era R\$ 7.209,94 com percentual das receitas oriundas de fontes externas de 92,8 % e índice de Desenvolvimento Humano Municipal (IDHM) marcando 0,614. Em relação aos serviços de saúde, o município possui 11 Estabelecimentos de Saúde do SUS; a taxa de mortalidade infantil média na cidade é de 20.41 para 1.000 nascidos vivos.

O clima do município é tropical com estação seca e conta com rios perenes e riachos com piscinas naturais. A vegetação é composta por floresta estacional semidecidual, possuindo áreas com cerrados e mata de cocais. A situação territorial do município apresenta 7.4% de domicílios com esgotamento sanitário adequado, 65.3% de domicílios urbanos em vias públicas com arborização e 0.1% de domicílios urbanos em vias públicas com urbanização adequada (presença de bueiro, calçada, pavimentação e meio-fio).

A altitude é de 180 m acima do nível do mar, a pluviometria anual oscila entre 800 mm a 1600 mm com temperatura média de 20°C a 30°C abrangendo os meses de fevereiro, março e abril como o trimestre mais úmido da região e os meses de setembro, outubro e novembro como o trimestre mais quente e seco.

Em geral, as casas utilizadas para captura de flebotomos são residências inseridas em regiões de aspecto florestal, muitas vezes, situadas em bairros urbanos em transição com zona rural, onde há desmatamento de parte do terreno para a construção da moradia.

Os animais sinantrópicos visíveis mais comuns no entorno das residências são: galinhas, cães, gatos, porcos, cutias, roedores e cavalos, dentre outros. A recente ocupação de um espaço inserido numa área de mata pode ter contribuído para a presença de flebotomíneos e a conseqüente ocorrência de casos de LV e LTA.

Desta forma, a área de estudo foi escolhida devido ao aumento de notificações de casos de LTA e LV nos últimos 7 anos nas cidades de Teresina,

Altos e Pedro II. A escolha do município de Altos se deu pela ausência de estudos sobre a fauna de vetores das leishmanioses na cidade.

3.3 Captura e identificação de espécies.

Inicialmente foram listados os endereços com registros de notificação de casos de LV e LTA referentes aos últimos cinco anos, disponíveis no banco de dados do Sistema de Informações de Agravos de Notificação (SINAN), disponibilizados pela Secretaria Estadual de Saúde do Piauí (SESAPI). Assim, os bairros escolhidos foram: Tranqueira, Bacurizeiro, Batalhão, Ciana, Centro, São Luiz, Maravilha, Boa Fé e Boca de Barro e na zona rural foi escolhida a localidade Barcelona (Figura 5).

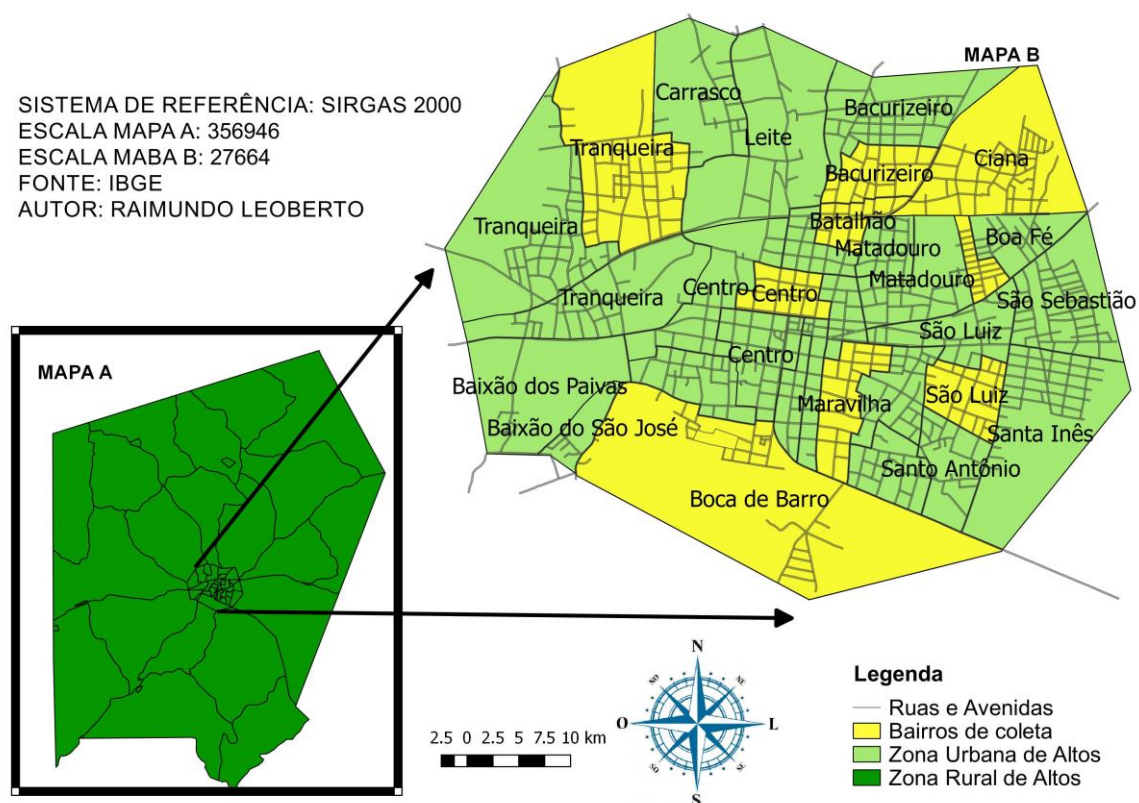


Figura 5: Mapa do município de Altos mostrando os bairros onde as capturas dos flebotomíneos foram realizadas **Fonte:** IBGE

Os endereços foram categorizados em bairros, no caso da zona urbana, e em localidades, no caso da zona rural, a fim de eleger os locais onde seriam instaladas 10 armadilhas luminosas modelo HP. Esta eleição foi realizada usando como critério de escolha, as características ambientais sugestivas ao estabelecimento e manutenção de criadouros do vetor, ou seja, aquelas residências que possuem amplo peridomicílio, com presença de vegetação abundante, principalmente arbustos; com acúmulo de matéria orgânica no solo e presença de animais domésticos que possam ser prováveis fontes de alimento para os flebotomíneos.

As armadilhas foram posicionadas em alturas diferentes compreendendo um intervalo de 1,30m até 4,00m, a fim de encontrar uma quantidade maior de espécies distintas, utilizando estratificação vertical. O estudo dessa estratificação, pode destacar a importância de se observar o grau de exposição humana às espécies silvestres vetores de LTA e LV. Alturas acima de 4m não foram incluídos na pesquisa pela impossibilidade física de chegar a tais lugares.

As armadilhas foram instaladas no crepúsculo vespertino, por volta de 17h, e recolhidas por volta de 7h do dia seguinte. Os insetos capturados nas armadilhas foram conduzidos ao laboratório de Zoologia e Biologia Parasitária – ZOOBP da Universidade Estadual do Piauí - UESPI e eutanasiados por congelamento, deixando de 20 a 30 min em freezer. Em seguida foi realizada a triagem, separando os flebotomíneos machos e fêmeas ingurgitadas e não-ingurgitadas dos demais insetos; os flebotomíneos então foram conservados em etanol 70% e as fêmeas ingurgitadas foram separadas a seco para a avaliação da fonte alimentar através do teste de ELISA. Em seguida efetuou-se o processamento do material, com o objetivo de serem montados entre lâmina e lamínula, Neste processamento os espécimes foram imersos em hidróxido de potássio (KOH) a 10% por 3h, para que haja o amolecimento da quitina em seguida colocados em ácido acético (CH₃COOH) a 10%, por 30 minutos para retirar o excesso de gordura proveniente da hidróxido de potássio, em seguida foram lavados em água destilada e por fim, imersos em lactofenol por 24h para retirar as impurezas da amostra tecidual, deixando-a transparente e translúcida. Após o processamento do material a identificação das espécies foi realizada utilizando microscópio óptico, seguindo a metodologia de identificação de Galati 2003 e atualizado em 2017 (21)

e a proposta de abreviações de nomes de gênero e subgênero de Marcondes (66). Ao fim das identificações, os insetos foram depositados no laboratório de Zoologia e biologia Parasitária da Universidade Estadual do Piauí – UESPI.

3.4 Dados Meteorológicos e astronômicos

As condições climáticas de temperatura e umidade relativa do ar foram observadas com o uso de termohigrômetro. A pluviometria foi medida junto ao Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) e as fases da lua e taxa de iluminação lunar foram observados e anotado conforme metodologia citada em Gebresilassie (2015) (67) a fim de realizar investigação da influência do ciclo lunar na frequência de espécimes capturados. A sazonalidade foi realizada para relacionar a densidade dos flebotomíneos capturados com fatores abióticos climáticos.

3.5 Estudo do Conteúdo Alimentar.

A avaliação do conteúdo estomacal foi realizada no Departamento de Ciências Biológicas da Escola Nacional de Saúde Pública – ENSP/FIOCRUZ por meio da técnica de ELISA. As fêmeas de flebotomíneos ingurgitadas foram separadas e armazenadas para posterior avaliação.

Esta técnica foi realizada conforme Burkot (1981) e Duarte (1997) (68,69). As fêmeas ingurgitadas foram dissecadas e o intestino retirados e colocados em placas de Petri com 2 ml de solução fisiológica e 100 µg/mL 5- fluorocitosina. Após ser triturado em PBS (pH 7.2) o intestino foi diluído em tampão carbonato/bicarbonato (pH 9,6) e 50 µl da amostra foi plaqueado em microplacas e incubado a 37°C. Em seguida as placas foram lavadas com PBS/Tween 20 – 0,05% (Sigma ChemicalsCo-St. Louis, USA). Após a lavagem, foi adicionado às amostras anti-soros homólogos diluídos em tampão de diluição (PBS/Tween 20 – 0,05% leite desnatado, Molico-Nestlé, Brasil). Após 30 minutos, em estufa a 37°C em câmara úmida, cada placa foi retirada da estufa e lavada com o mesmo procedimento de lavagem anterior. Com o processo de lavagem finalizado, 100µl de solução foi colocado contendo o anticorpo conjugado (peroxidase conjugate - Sigma Chemical USA) diluído 20.000 vezes em tampão de diluição. Ao fim deste

processo, uma nova incubação foi necessária. Após 30 min, cada placa foi lavada com o mesmo procedimento já descrito e em seguida a cada amostra foi acrescentada uma solução reveladora, constituída de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 30 volumes (Merck Diagnóstica-RJ, 64 Brasil) e 10 mg O-Phenylenediamine (OPD, Sigma ImmunochemicalsCo. USA) diluídos em tampão citrato/fosfato (pH 5,0; 0,05M, Sigma).

Cada amostra permaneceu por 15 minutos a temperatura ambiente em câmara escura. Após este processo, ocorreu o bloqueio da reação com o acréscimo de 50µl de solução de ácido sulfúrico 1N. Posteriormente a leitura das amostras foram realizadas em absorbância utilizando-se leitora de microplacas (Test LineELx 800), com filtro de leitura de 490nm e filtro de referência de 630nm. Em todas as placas foram utilizados controles positivos, para cada reação. Este controle consiste de soro homólogo total diluído em tampão carbonato/bicarbonato (pH 9,6; 0,05M, Sigma) 1/2000 vezes. Para sua validação foram esperados, para os controles positivos, valores de absorbância acima de 1,0. Os anti-soros utilizados foram obtidos a partir da imunização de coelhos Nova Zelândia imunizados com antígenos do soro de humano (*Homo sapiens sapiens* Linnaeus, 1758), cão (*Canis familiaris* Linnaeus, 1758), gato (*Felis catus* Linnaeus, 1758), galinha (*Gallus gallus* Linnaeus, 1758), roedor (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) e cavalo (*Equus ferus* Boddaert 1784).

Para que a positividade seja considerada nas amostras, os cálculos da média das absorbâncias foram realizados conforme reações observadas com os soros heterólogos somado a dois desvios padrão (cut off). Tal método é assumido a fim de aumentar a especificidade do teste e descartar as possíveis reações cruzadas.

3.6 Análise Estatística

Ao final do processamento das amostras foi realizado o cálculo de abundância relativa, para determinar o tamanho da população de uma espécie em um determinado habitat.

Na análise da sazonalidade, foi utilizado o coeficiente de correlação não paramétrica de Spearman. Este coeficiente avalia com que intensidade a relação

entre duas variáveis pode ser notada. O Coeficiente de Spearman, foi interpretado de acordo com a seguinte classificação descrita na tabela 1.

Tabela 1: Classificação da correlação linear de Pearson

Coeficiente de Correlação	Correlação
$r = 1$	Perfeita Positiva
$0,8 \leq r < 1$	Forte Positiva
$0,5 \leq r < 0,8$	Moderada Positiva
$0,1 \leq r < 0,5$	Fraca Positiva
$0 \leq r < 0,1$	Ínfima positiva
0	Nula
$-0,1 \leq r < 0$	Ínfima Negativa
$-0,5 \leq r \leq -0,1$	Fraca Negativa
$-0,8 \leq r \leq -0,5$	Moderada Negativa
$-1 \leq r \leq -0,8$	Forte Negativa
$r = -1$	Perfeita Negativa

Fonte: (Santos, C. 2007) (70).

Esta inferência estatística foi utilizado para analisar a influência dos dados climáticos sobre a densidade de espécies encontradas na região, a fim de complementar a relação causa-efeito entre variável dependente, flebotomíneo, e as variáveis independentes, climáticas.

Em relação a análise do teste de ELISA, foi realizado frequência simples para organização dos dados brutos e Teste *t* para por à prova uma hipótese que usa conceitos estatísticos a fim de rejeitar ou não uma hipótese nula. Os dados do estudo foram inseridos em planilha no *Microsoft Excel*® e os referidos testes estatísticos realizados no programa IBM® SPSS®, da companhia *Statistical Product and Service Solutions*, versão 25.0

4 RESULTADOS

4.1 Descrição dos locais de captura.

A figura 6A mostra locais onde foram instaladas armadilhas luminosas para captura de flebotomíneos. Na figura 6B é possível observar os principais animais encontrados nos bairros pesquisados. As figuras 6C e 6D mostram local de instalação das armadilhas em estratificação vertical.



Figura 6: Principais locais de captura com características sugestivas ao aparecimento de flebotomíneos **Legenda:** **A** = Instalação de armadilha CDC em galinheiro; **B** = presença de animais como equinos e galináceos nas residências **C** = Armadilha CDC instaladas a 4,00m do solo no alto de uma cajueiro **D** = Armadilha CDC instaladas a 4,00m do solo no alto de uma mangueira **Fotos:** João Alberto

4.2 Levantamento Faunístico

A composição da fauna de flebotomíneos do município de Altos-PI, no período entre abril de 2017 a julho de 2018 esteve constituída por 6 espécies pertencentes aos gêneros *Lutzomyia sp*, *Evandromyia sp*, *Nyssomyia sp* e *Sciopemyia sp* sendo elas: *Lu. longipalpis* com 1847 indivíduos, *Lu. dispar* e *Ev.*

evandroi com um espécime cada, *Ev. lenti* e *Ny. whitmani* com dois e três indivíduos respectivamente e *Sc. sordellii* com um espécime capturado. O complexo *Lu. longipalpis*, chamado, neste caso, de complexo devido à evidências de formação de híbridos, consequência de processo de diferenciação genética, existentes em populações de *Lu. longipalpis* (71,72), foi predominante sobre as demais espécies com taxa de abundância de 99,7% do total de flebotomíneos capturado (Tabela 2).

Tabela 2: Frequência absoluta de espécies e taxa de abundância relativa (%) de flebotomíneos encontrados no período de abril de 2017 a Julho de 2018, no município de Altos-PI.

Gênero	Espécie	Macho	%	Fêmea	%	TOTAL
<i>Lutzomyia</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	1606	(86,6)	241	(13,4)	1847
	<i>Lu. dispar</i>	01	(0,05)	00	(00,0)	01
<i>Evandromyia</i>	<i>Ev. evandroi</i>	00	(00,0)	01	(0,05)	01
	<i>Ev. lenti</i>	00	(00,0)	02	(0,10)	02
<i>Nyssomyia</i>	<i>Ny. whitmani</i>	03	(0,15)	00	(00,0)	03
<i>Sciopemyia</i>	<i>Sc. sordellii</i>	01	(0,05)	00	(00,0)	01
TOTAL		1611	(86,8)	244	(13,1)	1855

Fonte: Sousa, RLT.

Entre abril de 2017 a julho de 2018 foram encontrados machos de *Lu. longipalpis* e *Ny. whitmani*, ambos vetores da LV e LTA respectivamente (figura 7). Durante os períodos de captura a espécie que se manteve constante em todos os meses foi *Lu. longipalpis* com 87,5% dos flebotomíneos capturados. Foi possível observar um aumento na densidade de flebotomíneos nos meses de abril a julho de 2017, com total de 48,9% de *Lu. longipalpis* e janeiro, março, maio e julho de 2018 com total de 34,5% das referidas espécies. (Tabela 3)

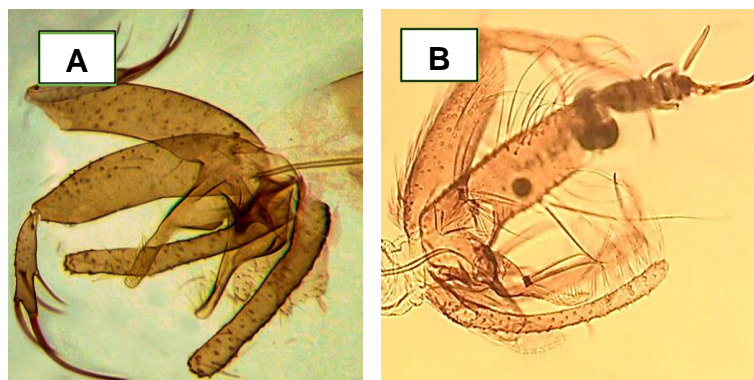


Figura 7: Terminália de machos de flebotomos de A=*Nyssomyia whitmani* e B=*Lutzomyia longipalpis*, Imagem por microscopia óptica. Aumento de 40x. Fotos: Sousa, RLT

As demais espécies apareceram em meses isolados totalizando 0,20% de capturas nos meses de abril, maio e outubro de 2017, e 0,15% nos meses de março e julho de 2018 (tabela 3).

Tabela 3: Frequência de flebotomíneos capturados no período de abril de 2017 a agosto de 2018 no município de Altos, Piauí.

Espécies	MÊS/ANO									
	2017									
	Abri	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	
<i>Ev. evandroi</i>	01 (0,05%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lu. longipalpis</i>	359 (19,3%)	396 (18,3%)	112 (6,0%)	136 (7,3)	24 (1,2%)	29 (1,5%)	47 (2,5%)	7 (0,3)	33 (1,7%)	
<i>Ev. lenti</i>	-	01 (0,05%)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ny. whitmani</i>	-	-	-	-	-	-	02 (0,10%)	-	-	-

Espécies	MÊS/ANO									
	2018									
	jan	fev	mar	abr	mai	jun	jul	ago	set	
<i>Sc. sordellii</i>	-	-	01 (0,05%)	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lu. longipalpis</i>	155 (8,3%)	27 (1,4%)	234 (14,6%)	25 (1,3%)	105 (5,4%)	5 (0,2%)	153 (10,2%)	-	-	-
<i>Lu. dispar</i>	-	-	01 (0,05%)	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ny. whitmani</i>	-	-	-	-	-	-	01 (0,05%)	-	-	-
<i>Ev. lenti</i>	-	-	01 (0,05%)	-	-	-	-	-	-	-

Fonte: Sousa, RLT

Foram capturados espécimes em diversas regiões do município somando zona urbana e rural. O número total de flebotomos coletados foi expressivo, com predominância de indivíduos da espécie *Lu. longipalpis* nos bairros: Centro, Tranqueira, Boca de Barro e Batalhão (Gráfico 1).

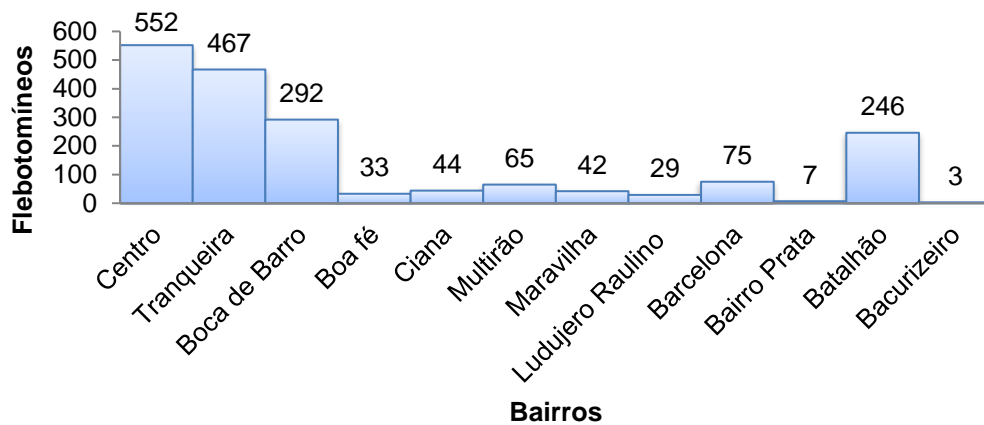


Gráfico 1: Quantidade de Flebotomíneos encontrados por bairro, no município de Altos-PI

Durante o estudo cada armadilha luminosa esteve em funcionamento por 12h simultaneamente ao longo da pesquisa, totalizando um esforço de coleta de 3.360 horas na qual 1.855 espécimes foram capturados. A proporção de machos (86,8%) foi significativamente maior do que das fêmeas (13,1%) ($\chi^2 = 11,391$; p-value = 0,05), distribuídos por 11 bairros e 1 localidade numa razão aproximada de sete machos para cada fêmea. Os bairros que obtiveram as maiores quantidades de machos da espécie *Lu. longipalpis* foram: Centro, Tranqueira, Boca de Barro e Batalhão e o bairro que ocorreu maior registro de fêmeas da mesma espécie foi o bairro Tranqueira (gráfico 2).

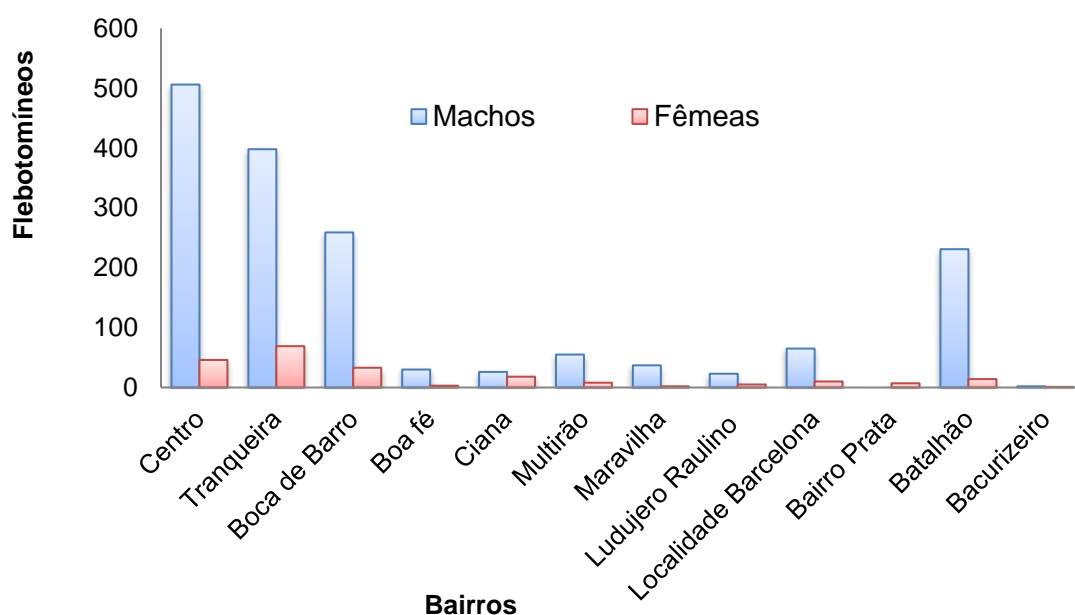


Gráfico 2: Frequência de machos e fêmeas encontrados por bairro, na cidade de Altos-PI

4.3 Variação Sazonal das Espécies de Flebotomos.

No período entre abril de 2017 a março de 2018, a densidade vetorial foi maior no final da estação chuvosa correspondendo aos meses de abril, maio, junho e julho de 2017 totalizando 64,6% dos espécimes capturados (Gráfico 3).

A associação entre a frequência de *Lu. longipalpis* capturados e a variação da temperatura, pluviometria e umidade está representada no gráfico 3, onde se verificou variação na temperatura de 21°C a 35,5°C. A média pluviométrica mensal foi de 20,58 mm totais e a variação na umidade relativa foi de 27% a 92% agrupando-se todos os meses de capturas realizada (Gráfico 3).

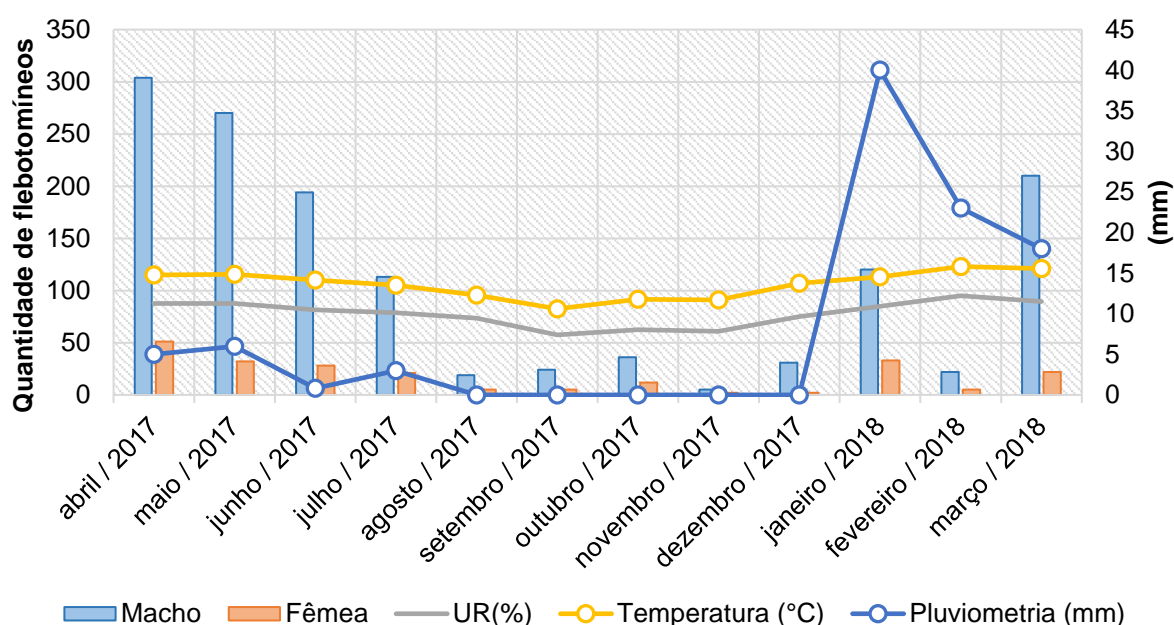


Gráfico 3: Relação entre a densidade vetorial de *Lutzomyia longipalpis* e a pluviometria (mm), temperatura (°C) e UR - umidade relativa (%), entre abril de 2017 a março de 2018, no município de Altos.

O coeficiente de correlação não paramétrico de Spearman entre a frequência de *Lu. longipalpis* e os diferentes dados climáticos estão representados na Tabela 4, onde foi possível verificar de forma significativa que existe uma fraca correlação positiva entre a abundância de machos e uma das três variáveis ambientais medidas ($r_s = 0,217$; $p = 0,014$) referente à umidade relativa, assim como também foi possível observar significativamente a existência de uma fraca correlação positiva entre a abundância de fêmeas ($r_s = 0,174$; $p = 0,02$) e a temperatura (Tabela 4).

Table 4: Coeficientes de correlação de Spearman obtidos da correlação entre a densidade de *Lutzomyia longipalpis* e as variáveis bioclimáticas (temperatura, pluviometria e umidade relativa), no município de Altos, PI. ($p < 0,05$)

	Flebotomíneos	Pluviometria (mm)	Temperatura (°C)	Umidade Relativa (%)
Machos	Coeficiente de Correlação	- 0,200	0,167	0,217
	P-Value	0,101	0,26	0,014**
Fêmeas	Coeficiente de Correlação	- 0,144	0,174	0,231
	P-Value	0,321	0,023**	0,120

Fonte: Sousa, RLT **. Correlação significativa. $p < 0,05$

4.4 Influência do ciclo lunar na frequência de flebotomíneos.

A abundância de *Lu. longipalpis*, juntando machos e fêmeas, foi significativamente maior durante a fase lunar crescente côncava, com média de $242,33 \pm 336,90$ e quarto crescente, com média $120,67 \pm 171,55$ flebotomos / armadilha / noite (p -value = 0,02). A fase lunar que apresentou menor média de capturas foi a lua cheia com $14,33 \pm 13,58$ (gráfico 4). O número médio de *Lu. longipalpis* ($40,52 \pm 51,29$ flebotomos / armadilha / noite) coletado em armadilhas nas noites de lua visível foi de 90,45% maior que das capturas durante as noites de lua não visível 9,55% ($\chi^2 = 33,43$; p -value = 0,01) (Gráfico 4). Não houve diferença significativa de densidade entre as demais fases lunares.

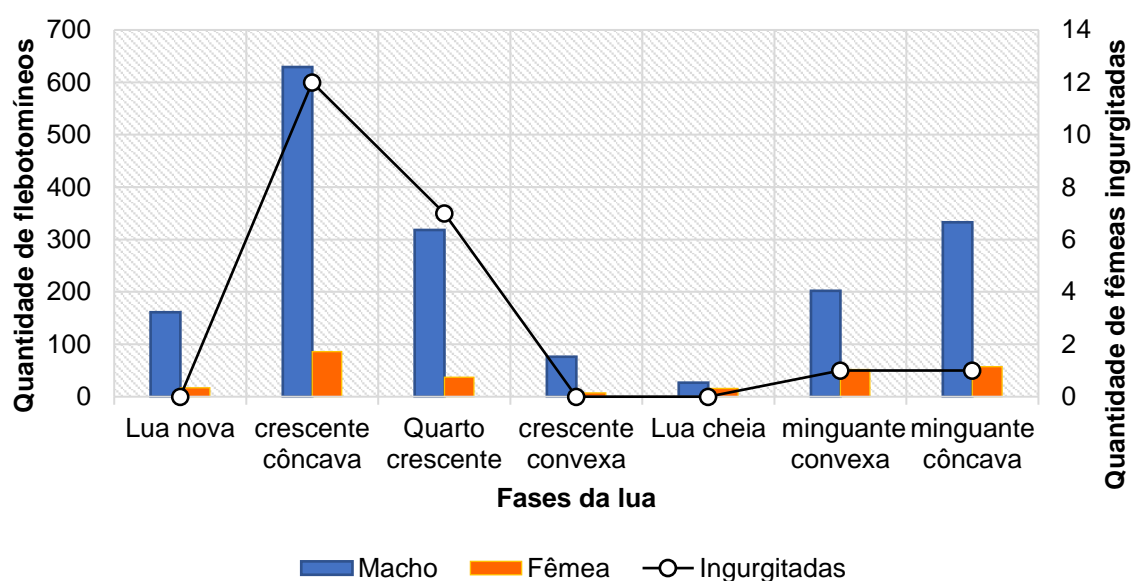


Gráfico 4: Relação entre abundância de *Lu. longipalpis* e as fases lunares Fonte Sousa, RLT.

Pelo fato de não possuir luz própria, a lua possui sua porção iluminada direcionada para o sol. Assim, as fases lunares mostram o quanto dessa área iluminada está virada para a terra. Particularmente somente as quatro fases mais específicas do ciclo recebem nomes, e estas fases variam de dia para dia. Desta forma, os astrônomos determinam a fase da Lua em termos de número de dias decorridos desde a Lua Nova até a Lua Cheia (de 0 a 29,5) e em termos de fração iluminada da face visível (de 0% a 100%) (73).

Assim, em relação à influência da luminosidade lunar sobre os flebotomíneos, foi observado que o período de maior densidade de espécimes capturados foi entre 27,20% e 63,94% (p-value=0,004) de luminosidade (Gráfico 5). Este intervalo corresponde exatamente às fases crescente côncava, quarto crescente e minguante convexa. Apenas 2% do total de flebotomíneos foi encontrado durante o período luminoso correspondente à lua nova e lua cheia. O número médio de capturas foi contabilizado com margem de erro de ± 1 coleta por fase lunar durante as quatro fases. Quarto minguante foi a única fase não avaliada neste estudo uma vez que esta fase não coincidiu com os dias de captura dos flebotomíneos.

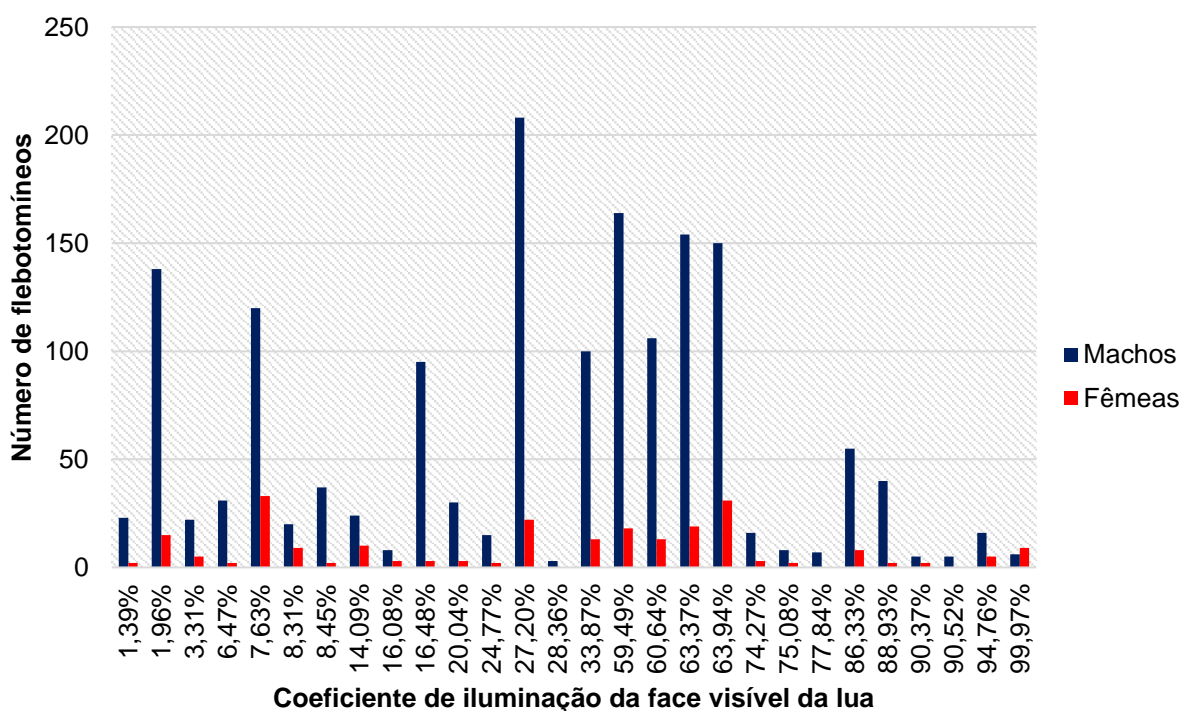


Gráfico 5: Relação entre coeficiente de fração iluminada da face visível e a quantidade de flebotomíneos capturados no município de Altos-PI **Fonte:** Sousa, RLT.

4.5 Estudo do conteúdo estomacal.

Os resultados do teste de ELISA, para determinar o conteúdo alimentar dos flebotomíneos capturados mostram uma predominância de fêmeas alimentadas com sangue de aves (galináceo) (Tabela 5). Das 17 amostras analisadas verificou-se que 06 espécimes de *Lu. longipalpis* (35,0%), 01 espécime de *Ev. evandroi* (5,8%) e 01 espécime de *Ev. lenti* (5,8%) estavam alimentadas com sangue de ave. Não houve positividade confirmada para os demais hospedeiros testados. Além destes, houveram três tipos de reações cruzadas: 1 espécime de *Lu. longipalpis* e 1 espécime de *Ev. lenti* estavam ingurgitadas com sangue de ave, cão e cavalo, 3 espécimes, sendo dois *Lu. longipalpis* e 1 *Ev. evandroi* ingurgitadas com sangue de ave e cavalo e 1 *Ev. lenti* ingurgitada com sangue de ave e cão (Tabela 5).

Tabela 5: Fontes alimentares sanguíneas individuais e cruzadas de flebotomíneos do Município de Altos-PI., Abril de 2017 a julho de 2018.

Hospedeiros	<i>Lu. longipalpis</i>		<i>Ev. evandroi</i>		<i>Ev. lenti</i>		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Homem	-	-	-	-	-	-	-	--
Cão	-	-	-	-	-	-	-	-
Gato	-	-	-	-	-	-	-	-
Ave	6	35,0	1	5,8	1	5,8	8	46,6
Roedor	-	-	-	-	-	-	-	-
Cavalo	-	-	-	-	-	-	-	-
Reações cruzadas								
Ave/cão/cavalo	1	5,8	-	-	1	5,8	2	11,7
Ave/cavalo	2	11,7	1	5,8	-	-	3	17,6
Ave/cão	-	-	-	-	1	5,8	1	5,8

Fonte: Sousa, RLT. (p-value = 0,35)

Nos testes de ELISA cada resultado de uma reação é apurado pela leitura da densidade óptica (DO) obtida no final do processo. Frequentemente, cada ensaio possui um ponto de corte que é conhecido como (cut off), acima ou abaixo desse ponto as amostras podem ser classificadas como reativas ou não reativas. Os valores obtidos foram: ave (cut off $\geq 0,246$), cavalo: (cut off $\geq 0,245$) e cão (cut off $\geq 0,238$) Entretanto, existe uma zona próximo a linha de cut off, chamada de

"borderline", dentro da qual o resultado é incerto, na maioria das vezes, devido à pouca quantidade de sangue, o que dificulta o processo das reações.

Assim, as espécies *Lu. longipalpis* ingurgitadas com sangue de ave, cão e cavalo, e a espécie *Ev. lenti* ingurgitada com sangue de ave e cão, foram classificadas, segundo o cut off, como borderline, o que significa que não é possível confirmar, com exatidão que aquela amostra era exatamente destes hospedeiros, mas, que, em algum momento da vida do inseto, houve o contato sanguíneo com estes vertebrados.

Do total de fêmeas ingurgitadas, apenas 3 (17,6%) estavam com o material sanguíneo muito digerido, quase ausente, o que foi caracterizado como amostras negativas.

5 DISCUSSÃO

As análises de levantamento faunístico mostraram que a espécie de flebótomo mais difundida nas áreas coletadas foi *Lu. longipalpis*, devido a sua grande capacidade de adaptação e dispersão ao meio urbano e rural, dando ênfase à sua competência vetorial desenvolvida. Estudos realizados por Chianotis et al (1974) (74) demonstraram que existe um limite de dispersão de flebotomíneos que podem chegar à 200 m de distância do criadouro original, tal informação é contraposta pelos estudos de Alexander e Young, (1992) (75) que mostraram que essa distância é ainda maior para os indivíduos pertencentes ao gênero *Lutzomyia*, que podem chegar a 960m em até 96 horas. Essa informação coincide com o fato do *Lu. longipalpis* estar presente em todos os locais deste estudo sugerindo que sua dispersão pode ser ainda maior.

Outro fato que pode explicar a predominância do *Lu. longipalpis* no município de Altos é a relação competitiva entre as demais espécies de flebotomíneos. Andrade e colaboradores (2012) afirma que essas competições explicam a ausência ou redução da quantidade de indivíduo de um determinado gênero em locais que possuem densidade faunística variada (47). A proximidade filogenética entre os gêneros faz com que procurem os mesmos recursos naturais, como território e alimento, e por competição, ocorre a supressão de uma das espécies.

Além do *Lu. longipalpis*, outras espécies de flebotomos foram registradas nas localidades investigadas, porém com uma diferença não significativa no valor absoluto de indivíduos por captura. Os bairros da área urbana do município de Altos, com maior densidade de flebotomíneos, ficam próximas a segmentos florestais com típico padrão rural. Aguiar e Medeiros (2003) (46) classificam os flebotomíneos quanto ao comportamento, em três grupos: semi-domésticos, chamadas assim por viverem em regiões de mata, mas buscarem alimentação sanguínea em habitações tanto humanas como animais; domésticos, que vivem nas residências ou próximo a elas; e silvestres que vivem e se alimentam na mata, tendo animais domésticos e seres humanos como hospedeiros acidentais. Neste estudo todas as espécies identificadas são encontradas em habitats de matas ou de civilização, possuindo comportamento doméstico, semi-doméstico e silvestre,

com excessão da espécie *Lu. dispar* que, conforme Aguiar e Medeiros (2003) (46), é mais comum em habitats de mata com comportamento tipicamente silvestre. O fato dos bairros pesquisados estarem próximos ou circundados por regiões de matas podem aumentar a expansão dos vetores das leishmanioses elevando assim o potencial de adaptação a ambientes urbanos e peridomiciliares conforme já foi constatado em estudos anteriores (76,77).

Ao comparar o número de espécimes capturadas entre os bairros, foi observado uma superioridade de *Lu. longipalpis* sobre as demais espécies encontradas com proporção de 231:1 nos bairros: Centro, Tranqueira e Boca de Barro. O centro é caracterizado por ser uma área de urbanização antiga e possuir galinhas e cães em algumas residências. O bairro Tranqueira é caracterizado com presença de diversos assentamentos e transição com áreas rurais, possuindo, além de galinheiros e cães, chiqueiro para os porcos. O bairro Boca de Barro é caracterizado por ser uma zona pobre, desprovida de redes de esgoto e calçamento. Almeida e Werneck (2014) (78) caracterizaram bairros como estes com base em indicadores econômicos e sensoriamento remoto, mostrando que existe uma relação positiva entre o ambiente urbano e o avanço dos flebotomíneos.

Nas residências onde foram instaladas as armadilhas, foi possível observar uma inserção do terreno em áreas de vegetação natural. Essa ocupação, que geralmente vem acompanhado de desmatamento, auxilia na urbanização heterogênea, o que facilita e, de certa forma, resulta na expansão de flebotomíneos com comportamento silvestre e semidomestico, para áreas habitadas, potencializando o risco de transmissão de LVA e LTA nos bairros Pesquisados. Estas observações estão semelhantes aos resultados de Aguiar et al. (1993) (79) demonstrando que a inserção dos flebotomíneos nas residências é consequência da ocupação heterogênea das áreas silvestres, favorecendo a transmissão de doenças.

Alem da presença do *Lu. longipalpis* foi constada, embora em menor número, a existência do *Ny. Whitmani*, vetor incriminado na transmissão da *Leishmania (Viannia) braziliensis* Vianna, 1911 no Brasil e nas Américas. Apesar do baixo número de *Ny. Whitmani* capturados neste estudo, relatórios do Sistema Nacional de Vigilância em Saúde (80) mostraram que em 2010, a taxa de detecção

de LTA no município de Altos foi maior que os demais municípios do Piauí acometido com a mesma doença, além de ser superior também ao coeficiente tanto do Nordeste como das demais regiões do País.

O fato de haver um número expressivo de casos de LTA no município de Altos, pode está relacionado com transmissão acidental em humanos que ingressam em regiões de mata no município. Este fato está embasado nos resultados de Campbell-Lendrum et al. (1999) (81) que demonstraram que o *Ny whitmani*, embora possa ser abundante no peridomicílio, não costuma penetrar nas residências, realizando seu repasto nas áreas externas.

Na relação entre a sazonalidade e os flebotomíneos encontrados, foi possível observar que há um aumento na densidade de indivíduos logo após o período chuvoso, entre abril e junho de 2017. Tal fato também pode ser observado no trabalho realizado por Macedo et al (2008) (82), que verificaram uma pequena relação entre a temperatura e os espécimes encontrados.

Nos meses de captura deste estudo, registrou-se um maior número de machos em relação as fêmeas. Tal fato é explicado tanto pelo comportamento reprodutivo quanto pelas alterações sazonais como temperatura e umidade relativa (83). Segundo Ward (1993) e Kelly (1997) (84,85), os machos nascem primeiro, já que as fêmeas necessitam de um tempo maior para emergir. Os locais de postura tendem a ser próximos de residências. Durante o período reprodutivo, os machos liberam feromônios para atrair as fêmeas para a cópula. Essas observações mostram uma possível afinidade dos machos pelos hospedeiros vertebrados que são propensos a atrair as fêmeas para repasto sanguíneo explicando o motivo pela qual o número de machos é sempre superior ao número de fêmeas nas capturas.

Foi possível observar no presente estudo que a média pluviométrica registrada no período chuvoso entre dezembro de 2017 e março de 2018 superou a média esperada para aquele período, isso pode afetar o comportamento reprodutivo dos flebotomos diminuindo a quantidade de ovos produzidos. Segundo Almeida (2010) (86), os meses posteriores à precipitação pluviométrica, ainda que não significativa, possui uma estreita relação com a abundância de flebotomíneos. Esta relação está ligada ao fato de que o período pós-chuva melhora as condições ambientais propicias ao desenvolvimento das larvas e das

pupas. Entretanto, uma hipótese que podemos levantar é que, quando a precipitação supera a média esperada, a água em excesso no ambiente pode afetar o desenvolvimento larval dos flebótomos diminuindo a densidade de espécimes.

Não foram observadas correlações significativas, entre o número de flebotomíneos e a precipitação pluviométrica, porém foi possível observar significativamente uma correlação fraca positiva entre a umidade relativa e o número de machos de *Lu. longipalpis*. Levando-se em consideração que a pluviometria não se correlacionou com os flebótomos capturados, é visível a influência que este fator abiótico exerce sobre a densidade faunística. Essa influência pode ser notada também nos trabalhos de Rebêlo (2001); Resende (2006) e Almeida (2010) (83,86,87).

Os estágios lunares foram observados conforme nomenclatura universal, dividindo-se em: cheia, minguante, nova e crescente. Porém para uma divisão mais precisa, a observação foi realizada levando em consideração a concavidade da porção luminosa da lua. Assim, as fases lunares foram divididas em lua cheia, minguante côncava, minguante convexa ou gibosa, lua nova, quarto crescente, crescente côncava e crescente convexa ou gibosa. (88,89).

Este trabalho mostrou que nas fases crescente côncava, minguante côncava e quarto crescente, o número de flebotomíneos capturados foi superior às demais fases observadas. A fase lunar que obteve o menor número de flebotomíneos capturados foi a lua cheia, contradizendo o trabalho realizado por Souza (2005) (40) que demonstrou que, nesta fase lunar, a quantidade de insetos capturados é maior. Embora os resultados demonstrem distinção, em comparação com outros estudos, é preciso levar em conta fatores externos que influenciam no comportamento reprodutivo e alimentar dos flebotomíneos como densidade de vegetação, riqueza de matéria orgânica, animais sinantrópicos habitando as mesmas regiões de criadouros de flebótomos dentre outros aspectos. Alguns estudos realizados por Aguiar et al., (1985); Sherlock et al., (1996) e Santos-De Marco e cols. (2002) (41,42,90) demonstraram que a lua exerce influência no comportamento de flebotomíneos. Entretanto, diante das diferenças de objetivos, as metodologias de cada trabalho tendem a ser diferentes umas das outras, de forma que os resultados nem sempre são comparáveis. Os dados desta

dissertação trazem, portanto, uma contribuição para o entendimento do efeito das fases lunares neste campo de estudo.

Quanto à relação entre densidade faunística e coeficiente de iluminação da lua, foi registrada uma quantidade maior de flebótomos machos e fêmeas capturados entre 27,20% e 63,64% de luminosidade lunar. Este intervalo está exatamente de acordo com as fases observadas, crescente côncava, minguante côncava e quarto crescente.

Os estudos com os efeitos da luminosidade lunar sobre os flebótomos ainda são escassos em relação a outros fatores abióticos. Porém alguns trabalhos demonstraram que as atividades de voo são menores durante a lua cheia em contraste com lua nova (67) (91). Segundo estudos realizados com Culicidae, (92,93), a luminosidade da lua pode estar relacionado com a atividade de voo. Este fenômeno parece ter um efeito no número de mosquitos capturados pois a aparente ineficiência luminosa das armadilhas contrasta com a luminosidade da lua cheia, exercendo menor atratividade e diminuindo a quantidade de capturas nesta fase. Do mesmo modo a influência entre luminosidade lunar e densidade de flebotomíneos pode estar relacionada com a concorrência de atratividade entre as armadilhas e a própria luminosidade lunar, este fato também pode ser observado nos trabalhos de Hoogstraal (1962) e Souza (2005) (40,94)

Todos os lugares visitados apresentavam presença constante de animais, como porcos e cavalos, onde os animais que mais se sobressaíram foram os galináceos em geral. Tanto na zona rural como na zona urbana, esses animais assim como os próprios humanos são atrativos constantes para os flebótomos, o que pode favorecer a transmissão de LTA e LV para os moradores dos bairros pesquisados.

Em relação a fonte alimentar, todos os lugares visitados apresentavam presença constante de animais, como galinhas, porcos e cavalos, onde os animais que mais se sobressaíram foram os galináceos em geral. Tanto na zona rural como na zona urbana, esses animais assim como os próprios humanos são atrativos constantes para os flebótomos, o que pode favorecer a transmissão de LTA e LV para os moradores dos bairros pesquisados. Nos flebotomíneos capturados, verificou-se que o vertebrado mais procurado para o repasto sanguíneo, foram as aves, mais especificamente os galináceos. A preferência por

esta fonte alimentar pôde ser vista em diversos locais de captura, desde galinheiros, em áreas abertas das residências até locais onde ficam guardado cavalos e jumentos. Diante do exposto, é possível afirmar que há uma relevância epidemiológica intrínseca na escolha das aves pelos flebotomíneos, uma vez que, segundo Oliveira-Pereira et al (2008) (95), não existem evidências de que as aves possam funcionar como reservatório de leishmânias, fazendo delas um possível fator de proteção. Tal informação se deve ao fato de que as aves, mas especificamente as galinhas, atraem flebotomíneos machos e fêmeas exercendo um efeito zooprofilático na epidemiologia das leishmanioses (96).

Os abrigos onde foram instaladas as armadilhas luminosas estavam localizados próximos às residências, ou seja, dentro do raio de dispersão dos flebotomíneos. Este fato é de suma importância pois quanto maior for a proximidade entre os vetores e as casas, mais facilmente os flebotomíneos chegam aos intradomicílios, levando em conta a antropofilia dos vetores.

Nesta pesquisa não foram encontradas fêmeas de *Ny. whitmani* ingurgitadas devido à pouca quantidade de indivíduos capturados, entretanto, foi possível verificar a presença de machos dessa espécie. Ainda que em pouca quantidade, sua presença demonstra que o agente etiológico da LTA pode estar transitando no município de Altos, favorecendo o aparecimento de surtos desta doença.

Com a presença de diversos animais sinantrópicos, observou-se que além das aves, o cavalo atraiu mais insetos para repasto sanguíneo, sendo a maioria da espécie *Lutzomyia longipalpis*. Estes resultados estão de acordo com Ximenes (1999) e Missawa (2008) (97,98) que também relataram uma possível preferência desta espécie por equinos. Isso pode estar relacionado tanto com a área de superfície epitelial dos cavalos que são maiores em relação a outros animais, uma vez que é sugerido que os criadouros de flebotomíneos estão associados aos abrigos desses animais.

O *Lutzomyia longipalpis* é classificado por Quinnell et al (1992) (99) como antropofílico, pois tem-se observados em alguns estudos a presença de repasto sanguíneo em animais como: galinhas, jumentos, cavalos dentre outros, mostrando um perfil eclético e oportunista, aspecto que se reveste de importância epidemiológica para a LV (100)

Foi observado, por fim a presença de três tipos de reações cruzadas entre: ave, cão e cavalo; ave e cavalo e ave e cão. Esses cruzamentos podem ter acontecido tanto pelas possíveis similaridades entre os antígenos utilizados, em contraste com a poquíssima quantidade de sangue disponível para a realização do teste de ELISA, já que o ponto de “cut off” favoreceu mais a sensibilidade do que a especificidade, como pelo repasto incompleto realizado pelas fêmeas, uma vez que, quando elas não conseguem concluir o repasto, tentam novamente ou procuram um novo vertebrado para concluir a quantidade necessária que falta para maturar os folículos ovarianos.

Tal interpretação pode ser confirmada em Forattini (1973) (50) que observou que o tempo médio de um repasto sanguíneo é de até 10 minutos, tempo suficiente para o vertebrado alvo perceber o ato de sucção do inseto e interrompê-lo antes de sua conclusão. De acordo com Brasil (2003) (34), a maioria das fêmeas que realizam postura de ovos, morrem logo após, ou durante a postura. Porém algumas sobrevivem para começar um novo processo reprodutivo buscando um segundo repasto, processo este que pode ajudar a explicar a presença de reações cruzadas nas amostras deste estudo.

Os dados apresentados nesta pesquisa salientam a relevância de estudos com insetos de importância médica. Principalmente em áreas endêmicas de LV e LTA, uma vez que vetores de ambas as doenças foram encontradas neste estudo. As pesquisas envolvendo flebotomíneos ajudam a fornecer dados que possam subsidiar ações de vigilância e controle destes vetores, permitindo assim, que órgãos competentes criem políticas públicas de controle do vetor da LV e LTA no município de Altos-PI

6 PERSPECTIVAS

Os dados obtidos nesta pesquisa trazem uma contribuição para o conhecimento da diversidade de flebotomíneos, uma vez que tanto o mais importante vetor da LVA no continente americano, *Lu. longipalpis*, transmissor da *L. infantum*, quanto o mais importante vetor da LTA no Brasil e nas Américas, *Ny. Whitmani*, transmissor da *L. braziliensis*, foram capturados no município de Altos-PI. Estes achados podem ajudar os órgãos de saúde a criar políticas públicas de combate à essas espécies vetoras de leishmanioses. Embora o número de coletas tenha sido suficiente para os objetivos deste projeto, não houve coletas intradomiciliares devido a dificuldade em ter autorização dos moradores para entrar nas residências. Assim, não foi possível obter dados mais abrangentes em relação aos flebotomíneos com comportamento intradomiciliar. Novas capturas tanto peri como intradomiciliares estão sendo planejados para serem feitos em trabalhos futuros.

Estudos do nosso grupo de pesquisa continuam nesta região, pela a sua importância para a saúde pública no município, assim como pela contribuição que os projetos traram para o entendimento das leishmanioses sobre todos os aspectos que possamos abordar como, estudo dos vetores, do parasita, patologia do agravo e epidemiologia.

7 CONCLUSÕES

- Foram capturados 1.855 flebotomíneos no município de Altos – PI no período de abril de 2017 a julho de 2018;
- As principais espécies de flebotomíneos capturadas foram: *Lu. longipalpis* (1.847), *Lu. dispar* (01), *Ev. Envandroi* (01), *Ev lenti* (02), *Ny whitmani* (03) e *Sc sordellii* (01);
- Os bairros que obtiveram maior quantidade de flebotomíneos foram: Centro, Tranqueira, Boca de Barro e Batalhão, todos com predominância de flebotomos da espécie *Lu. longipalpis*;
- A variação sazonal demonstrou que houve uma correlação significativa entre a quantidade de machos de *Lu longipalpis* e a umidade relativa e a quantidade de fêmeas e a temperatura.
- A abundância de flebotomíneos foi maior durante a fase lunar crescente côncava e quarto crescente com intervalo de luminosidade entre 27,20% e 63,94% e a fase lunar que apresentou menor média de capturas foi a fase de lua cheia.
- Foi verificada uma predominância de flebotomíneos alimentados com o sangue de aves (galináceo), seguido pelo sangue de cavalos (equídeos).

8 REFERÊNCIAS

1. Gontijo B, Carvalho M de LR de. Leishmaniose tegumentar americana. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2003;36(1):71–80.
2. Gontijo CMF, Melo MN. Visceral Leishmaniasis in Brazil: current status, challenges and prospects. *Revista Brasileira de Epidemiologia*. setembro de 2004;7(3):338–49.
3. Rangel EFR, Lainson R. Ecologia das Leishmanioses: Transmissores de Leishmaniose Tegumentar Americana. In: *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2003. p. 291–310.
4. Coelho-Neto GT, Rodrigues FMD, Menezes JGPB, Gama MEA, Gonçalves E da G do R, Silva AR, et al. Estudo Epidemiológico de Pacientes com Leishmaniose Tegumentar Americana em Buriticupu, Pré-Amazônia Maranhense. *Revista de Ciências da Saúde*. 2012;14(2):133–8.
5. World Health Organization - WHO. Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases [Internet]. TDR | About us. 2012 [citado 31 de agosto de 2018]. Disponível em: <http://www.who.int/tdr/about/en/>
6. Ministério da saúde. Guia de Vigilância em Saúde. 1ª. Vol. único. Brasília - DF; 2014. 547–568 p.
7. Alencar JE, Diniz JO, Pessoa Filho FP, Aragão TC, Correia TA. Alguns focos de calazar no Piauí. In Fortaleza; 1956.
8. Penna HA. Leishmaniose visceral no Brasil. *Brasil med*. 1934;(48):949–50.
9. Costa CHN, Pereira HF, Araújo MV. Visceral leishmaniasis epidemic in Piauí State, Brazil, 1980-1986. *Revista de Saúde Pública*. outubro de 1990;24(5):361–72.
10. Brasil. Sistema Nacional de Vigilância em Saúde: Piauí. Brasília - DF: Ministério da Saúde; 2009 p. 5–24. Report No.: 978-85-334-1876–9.

11. Brasil. Sistema nacional de vigilância em saúde: Piauí. Brasília-DF: Ministério da Saúde; 2011 p. 4–35. Report No.: 978-85-334-1876–9.
12. Santos GM dos, Barreto MTS, Monteiro MJ de SD, Silva RV de S, Jesus RLR de, Silva HJN da. Aspectos Epidemiológicos e clínicos da Leishmaniose Visceral no Estado do Piauí, Brasil. *Ciência & Desenvolvimento - Revista Eletrônica da FAINOR*. 2017;10(2):142–53.
13. Batista FMA. Perfil Epidemiológico de Leishmaniose Tegumentar Americana no Município de Altos-Piauí [Dissertação/Mestrado]. [São José dos Campos-SP]: Universidade Vale do Paraíba; 2013.
14. Batista FMA, Machado FFOA, Silva JMO, Mittmann J, Barja PR, Simioni AR. Leishmaniose: Perfil Epidemiológico dos Casos Notificados no Estado do Piauí entre 2007 e 2011. *Revista Univap*. julho de 2014;20(35):44–55.
15. Soares MRA, Mendonça IL de, Bonfim JM do, Rodrigues JA, Werneck GL, Costa CHN. Canine visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil: Relationship between clinical features and infectivity for sand flies. *Acta Tropica*. 1º de janeiro de 2011;117(1):6–9.
16. Michalick MSM, Genaro O. Leishmaniose Visceral Americana. In: *Parasitologia Humana*. 12ª. São Paulo: Atheneu; 2011. p. 67–83. (cap 10).
17. Lainson R. The Neotropical Leishmania species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*. junho de 2010;1(2):13–32.
18. Lainson R, Shaw JJ. Evolution, classification and geographical distribution. In: *The leishmaniasis*. London: Peters W. & Killick-Kendrick R.; 1987. p. 1–128.
19. Shaw JJ, Lainson R. Leishmaniasis in Brazil: X. Some observations of intradermal reactions to different trypanosomatid antigens of patients suffering from cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1975;69(3):323–35.

20. Beati L, Cáceres AG, Lee JA, Munstermann LE. Systematic relationships among *Lutzomyia* sand flies (Diptera: Psychodidae) of Peru and Colombia based on the analysis of 12S and 28S ribosomal DNA sequences. *Int J Parasitol.* fevereiro de 2004;34(2):225–34.
21. Galati EAB. Morfologia e Taxonomia. In: *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Rangel EF & Lainson R. (org.) FIOCRUZ; 2003. p. 23–51. (cap).
22. Cameron MM, Pessoa FA, Vasconcelos AW, Ward RD. Sugar meal sources for the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Ceará State, Brazil. *Med Vet Entomol.* julho de 1995;9(3):263–72.
23. Kamhawi S. The biological and immunomodulatory properties of sand fly saliva and its role in the establishment of *Leishmania* infections. *Microbes Infect.* novembro de 2000;2(14):1765–73.
24. Ready PD. Factors affecting egg production of laboratory-bred *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *J Med Entomol.* 23 de novembro de 1979;16(5):413–23.
25. Young DG. Guide to the Identification and Geographic Distribution of *Lutzomyia* Sand Flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Gainesville: Memoirs of the American Entomological Institute. 1994; 54:887.
26. Adler S, Theodor O. Transmission of Disease Agents by Phlebotomine Sand Flies. *Annual Review of Entomology.* 1957;2(1):203–26.
27. Cáceres AG. Distribucion geografica de *Lutzomyia verrucarum* (Townsend, 1913) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae), vector de la bartonellosis humana en el Peru. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.* dezembro de 1993;35(6):485–90.
28. Cooper P, Guderian R, Orellana P, Sandoval C, Olalla H, Valdez M, et al. An outbreak of bartonellosis in Zamora Chinchipe Province in Ecuador. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* outubro de 1997;91(5):544–6.

29. Adler S, Theodor O, Dale HH. Investigations on Mediterranean kala azar VII— Further observations on canine visceral leishmaniasis. Proc R Soc Lond B. fevereiro de 1935;116(801):494–504.
30. Feng LC, Chung HL. *Phlebotomus squamirostris* Newstead, transmissor de *Trypanosoma bocagei* França no sapo, *Bufo bufo gargarizans*. China Med. 1940;3:198 – 211.
31. Lewis DJ. The biology of Phlebotomidae in relation to leishmaniasis. Annu Rev Entomol. 1974;19:363–84.
32. Davies CR, Lane RR, Villaseca P, Pyke S, Campos P, Llanos-Cuentas A. The relationship between CDC light-trap and human-bait catches of endophagic sandflies (Diptera: Psychodidae) in the Peruvian Andes. Med Vet Entomol. julho de 1995;9(3):241–8.
33. Alexander B, Maroli M. Control of phlebotomine sandflies. Medical and Veterinary Entomology. 1º de março de 2003;17(1):1–18.
34. Brazil RP, Brazil BG. Biologia de flebotomíneos do Brasil. In: Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: Rangel, E F; Lainson, R, Fiocruz; 2003. p. 257–74.
35. Alexander B. Sampling methods for phlebotomine sandflies. Med Vet Entomol. junho de 2000;14(2):109–22.
36. Colacicco-Mayhugh MG, Grieco JP, Putnam JL, Burkett DA, Coleman RE. Impact of phlebotomine sand flies on United States military operations at Tallil Air Base, Iraq: 5. Impact of weather on sand fly activity. J Med Entomol. maio de 2011;48(3):538–45.
37. Hesam-Mohammadi M, Rassi Y, Abai MR, Akhavan AA, Karimi F, Rafizadeh S, et al. Efficacy of Different Sampling Methods of Sand Flies (Diptera: Psychodidae) in Endemic Focus of Cutaneous Leishmaniasis in Kashan District, Isfahan Province, Iran. J Arthropod Borne Dis. 9 de abril de 2014;8(2):156–62.

38. Bidlingmayer WL. The Effect of Moonlight on the Flight Activity of Mosquitoes. *Ecology*. 1964;45(1):87–94.
39. Neumann D. Physiological Clocks of Insects - Ecophysiology of Reproductive Activities Controlled by Lunar Cycles. *Naturwissenschaften*. 1º de julho de 1995;82:310–20.
40. Souza NA, Andrade-Coelho CA, Silva VC, Peixoto AA, Rangel EF. Moonlight and blood-feeding behaviour of *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia whitmani* (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae), vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. fevereiro de 2005;100(1):39–42.
41. Santos-De-Marco T, De Mello Gaia MC, Peçanha Brazil R. Influence of the lunar cycle on the activity of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). *J Am Mosq Control Assoc*. junho de 2002;18(2):114–8.
42. Aguiar GM de, Vilela ML, Schuback PD, Soucasaux T, Azevedo ACR de, Aguiar GM de, et al. Aspectos da ecologia dos flebótomos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro: IV. Frequência mensal em armadilhas luminosas (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. dezembro de 1985;80(4):465–82.
43. Aguiar GM de, Soucasaux T. Aspectos da ecologia dos flebotomos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro. I - Frequência mensal em isca humana (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. junho de 1984;79(2):197–209.
44. Brazil RP, Carneiro VL, Filho A, D J, Alves JCM, Falcão AL. Biology of *Lutzomyia lentí* (Mangabeira) (Diptera: Psychodidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*. abril de 1997;26(1):191–3.
45. Dantas-Torres F, Brandão-Filho SP. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. junho de 2006;48(3):151–6.

46. Aguiar GM de, Medeiros WM de. Distribuição regional e habitats das espécies de flebotomíneos do Brasil. In: Flebotomíneos no Brasil. Rio de Janeiro: Rangel, Elizabeth F; Lainson, Ralph FIOCRUZ; 2003. p. 207–55.
47. Andrade ARO de, Dorva MEMC, de Andrade SMO, Marques A, da Silva BAK, Andreotti R. Phlebotomine fauna in the Ponta Porã city: epidemiological importance in border line between Brazil and Paraguay. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 1º de outubro de 2012;2(5):362–6.
48. Barreto MP. Observações sobre a biologia em condições naturais, dos flebotomos do estado de São Paulo (Diptera, Psychodidae) [Tese]. [São Paulo]: Universidade de São Paulo - USP; 1943.
49. Hkrtig M, Johnson PT. The Rearing of Phlebotomus Sandflies (Diptera: Psychodidae) I. Technique. Ann Entomol Soc Am. 1º de novembro de 1961;54(6):753–64.
50. Forattini OP. Entomologia médica. São Paulo: Edgard Blücher/Editora da USP; 1973. 658 p. (Subfamília Phlebotominae - Biologia; vol. 4).
51. Sherlock IA, Sherlock VA. Criação e biologia, em laboratório do *Phlebotomus longipalpis* Lutz & Neiva, 1912. Revista Brasileira de Biologia. 1959; 19:97–107.
52. Johnson PT, Hertig M. The Rearing of Phlebotomus Sandflies (Diptera: Psychodidae) II. Development and Behavior of Panamanian Sandflies in Laboratory Culture. Ann Entomol Soc Am. 1º de novembro de 1961;54(6):764–76.
53. Williams P. Phlebotomine sandflies and leishmaniasis in British Honduras (Belize). Trans R Soc Trop Med Hyg. 1º de janeiro de 1970;64(3):317–63.
54. Chaniotis BN. The Biology of California Phlebotomus (Diptera: Psychodidae) Under Laboratory Conditions. J Med Entomol. 1º de maio de 1967;4(2):221–33.

55. Freitas JR de, Mayrink W, Mansur Neto E. Quantidade de sangue ingerida in natura por *Phlebotomus longipalpis* (Psychodidae) determinada pelo ferro radioativo (Fe-59). Apresentação apresentado em: XII Reunião Anual da Sociedade Brasileira para Progresso da Ciência; 1960; Piracicaba.
56. A. Christensen H, Herrer A. Attractiveness of sentinel animals to vectors of leishmaniasis in Panama. The American journal of tropical medicine and hygiene. 1º de outubro de 1973;22:578–84.
57. Gomes A de C, Galati EAB. Aspectos ecológicos da Leishmaniose tegumentar americana: 7-Capacidade vetorial flebotomínea em ambiente florestal primário do Sistema da Serra do Mar, região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. Revista de Saúde Pública. abril de 1989;23(2):136–42.
58. Falqueto A. Especificidade alimentar de flebotomíneos em duas áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar no Estado do Espírito Santo, Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. dezembro de 1997;30(6):531–2.
59. Sant’Anna MRV, Jones NG, Hindley JA, Mendes-Sousa AF, Dillon RJ, Cavalcante RR, et al. Blood meal identification and parasite detection in laboratory-fed and field-captured *Lutzomyia longipalpis* by PCR using FTA databasing paper. Acta Trop. setembro de 2008;107(3):230–7.
60. Maleki-Ravasan N, Oshaghi M, Javadian E, Rassi Y, Sadraei J, Mohtarami F. Blood Meal Identification in Field-Captured Sand flies: Comparison of PCR-RFLP and ELISA Assays. Iran J Arthropod Borne Dis. 30 de junho de 2009;3(1):8–18.
61. Haouas N, Pesson B, Boudabous R, Dedet J-P, Babba H, Ravel C. Development of a molecular tool for the identification of Leishmania reservoir hosts by blood meal analysis in the insect vectors. Am J Trop Med Hyg. dezembro de 2007;77(6):1054–9.

62. Dias F de OP, Lorosa ES, Rebêlo JMM. Fonte alimentar sangüínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). Cadernos de Saúde Pública. outubro de 2003;19(5):1373–80.
63. Carreira-Alves JR. Espécies de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae,) da fazenda São José, município de Carmo, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Revista de Patologia Tropical / Journal of Tropical Pathology. 5 de março de 2009;37(4):371–2.
64. Souza NP, Almeida A do BPF de, Freitas TPT de, Paz RCR da, Dutra V, Nakazato L, et al. *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* in wild canids kept in captivity in the State of Mato Grosso. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. junho de 2010;43(3):333–5.
65. Monteiro ÉM, Silva JCF da, Costa RT da, Costa DC, Barata RA, Paula EV de, et al. Visceral leishmaniasis: a study on phlebotomine sand flies and canine infection in Montes Claros, State of Minas Gerais. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. abril de 2005;38(2):147–52.
66. Marcondes CB. A proposal of generic and subgeneric abbreviations for phlebotomine sandflies (diptera: psychodidae: phlebotominae) of the world. Entomological News. 1º de setembro de 2007;118(4):351–6.
67. Gebresilassie A, Yared S, Aklilu E, Kirstein OD, Moncaz A, Tekie H, et al. The influence of moonlight and lunar periodicity on the efficacy of CDC light trap in sampling *Phlebotomus (Larrousius) orientalis* Parrot, 1936 and other *Phlebotomus* sandflies (Diptera: Psychodidae) in Ethiopia. Parasit Vectors. 15 de fevereiro de 2015; 8:106.
68. Burkot TR, Goodman WG, DeFoliart GR. Identification of mosquito blood meals by enzyme-linked immunosorbent assay. Am J Trop Med Hyg. novembro de 1981;30(6):1336–41.
69. Duarte R, Marzochi MCA. Enzyme immunoassay for the identification of food-source of hematophagous insects. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1997; 92:273–4.

70. Santos C. Estatística Descritiva: Manual de auto-aprendizagem. 1º ed. Sílabo; 2007. 216 p.
71. Lanzaro GC, Ostrovska K, Herrero MV, Lawyer PG, Warburg A. *Lutzomyia longipalpis* is a species complex: genetic divergence and interspecific hybrid sterility among three populations. Am J Trop Med Hyg. junho de 1993;48(6):839–47.
72. Maingon RDC, Ward RD, Hamilton JGC, Bauzer LGSR, Peixoto AA. The *Lutzomyia longipalpis* species complex: does population sub-structure matter to Leishmania transmission? Trends Parasitol. janeiro de 2008;24(1):12–7.
73. Filho K de SO, Saraiva M de FO. Fases da Lua [Internet]. 2018 [citado 16 de setembro de 2018]. Disponível em: <http://astro.if.ufrgs.br/lua/lua.htm>
74. Chaniotis BN, Correa MA, Tesh RB, Johnson KM. Horizontal and vertical movements of phlebotomine sandflies in a Panamanian rain forest. J Med Entomol. 15 de julho de 1974;11(3):369–75.
75. Alexander B, Young DG. Dispersal of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a colombian focus of *leishmania (Viannia) brasiliensis*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. setembro de 1992;87(3):397–403.
76. Pereira Filho AA, Bandeira M da CA, Fonteles RS, Moraes JLP, Lopes CRG, Melo MN, et al. An ecological study of sand flies (Diptera: Psychodidae) in the vicinity of Lençóis Maranhenses National Park, Maranhão, Brazil. Parasit Vectors. 28 de agosto de 2015; 8:442.
77. Peres-Dias QN, Oliveira CD, Souza MB de, Meira A de M, Villanova CB, Peres-Dias QN, et al. Sand fly species composition (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the municipality of Cantagalo, an area with sporadic cases of human cutaneous Leishmaniasis in Rio de Janeiro State, Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 2016;58(50):1–4.
78. Almeida AS, Werneck GL. Prediction of high-risk areas for visceral leishmaniasis using socioeconomic indicators and remote sensing data. International Journal of Health Geographics. 20 de maio de 2014;13(1):13.

79. Aguiar GM de, Medeiros WM de, Santos TG dos, Klein A de FL, Ferreira VA, Aguiar GM de, et al. Ecology of sandflies in a recent focus of cutaneous leishmaniasis in Paraty, littoral of Rio de Janeiro State (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. junho de 1993;88(2):339–40.
80. Brasil M da S. Sistema nacional de vigilância em saúde: relatório de situação: Piauí. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. 2011;(5):39.
81. Campbell-Lendrum D, Pinto MC, Davies C. Is *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) more Endophagic than *Lutzomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) Because it is more Attracted to Light? Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. janeiro de 1999;94(1):21–2.
82. Macedo ITF, Bevilaqua CML, de Moraes B, de Sousa LC, Eugenio F, Amóra SSA, et al. Sazonalidade de flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose visceral no município de Sobral, Ceará, Brasil. Ciência Animal. 2008;18(2):67–74.
83. Resende MC de, Camargo MCV, Vieira JRM, Nobi RCA, Porto MN, Oliveira CDL, et al. Seasonal variation of *Lutzomyia longipalpis* in Belo Horizonte, State of Minas Gerais. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. fevereiro de 2006;39(1):51–5.
84. Ward RD, Hamilton JGC, Dougherty M, Falcao AL, Feliciangeli MD, Perez JE, et al. Pheromone disseminating structures in tergites of male phlebotomines (Diptera: Psychodidae). Bulletin of Entomological Research. setembro de 1993;83(3):437–45.
85. Kelly DW, Dye C. Pheromones, kairomones and the aggregation dynamics of the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. Animal Behaviour. 1º de abril de 1997;53(4):721–31.

86. Almeida PS de, Minzão ER, Minzão LD, Silva SR da, Ferreira AD, Faccenda O, et al. Aspectos ecológicos de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em área urbana do município de Ponta Porã, Estado de Mato Grosso do Sul., Brazil. dezembro de 2010;43(6):723–7.
87. Rebêlo JMM. Frequência horária e sazonalidade de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) na Ilha de São Luís, Maranhão, Brasil. Cad Saúde Pública. fevereiro de 2001;17(1):221–7.
88. Kutner ML. Astronomy: A Physical Perspective. United Kingdom: Cambridge University Press; 2003. 612 p.
89. Lynch M. Texas StarWatch: The Essential Guide to Our Night Sky. 1st edition. St. Paul: Voyageur Press; 2007.
90. Sherlock IA, Maia H, Dias-Lima AG. Resultados preliminares de um projeto sobre a ecologia dos flebotomíneos vetores de leishmaniose tegumentar no estado da Bahia. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. abril de 1996;29(2):207–14.
91. Kasili S, Ngumbi PM, Koka H, Ngere FG, Kioko E, Odemba N, et al. Comparative performance of light trap types, lunar influence and sandfly abundance in Baringo district, Kenya. J Vector Borne Dis. 2010; 47:108–112.
92. Horsfall WR. Some Responses of the Malaria Mosquito to Light. Ann Entomol Soc Am. 1º de março de 1943;36(1):41–5.
93. Provost MW. The Influence of Moonlight on Light-Trap Catches of Mosquitoes. Ann Entomol Soc Am. 1º de maio de 1959;52(3):261–71.
94. Hoogstraal H, Donald RD, Donald H. Leishmaniasis in the Sudan Republic: 4. Preliminary observations on man-biting sandflies (Psychodidae: Phlebotomus) in certain Upper Nile endemic areas. Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. setembro de 1962;56(5):411–22.

95. Oliveira-Pereira YN, Moraes JLP, Lorosa ES, Rebêlo JMM. Preferência alimentar sanguínea de flebotomíneos da Amazônia do Maranhão, Brasil. *Cad Saúde Pública, Cad saúde pública*. setembro de 2008; 24:2183–6.
96. Alexander B, Lopes de Carvalho R, McCallum H, Pereira MH. Role of the Domestic Chicken (*Gallus gallus*) in the Epidemiology of Urban Visceral Leishmaniasis in Brazil. *Emerg Infect Dis*. dezembro de 2002;8(12):1480–5.
97. Ximenes M de FF de M, Souza M de F de, Guillermo Castellón E. Density of Sand Flies (Diptera: Psychodidae) in Domestic and Wild Animal Shelters in an Area of Visceral Leishmaniasis in the State of Rio Grande do Norte, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. julho de 1999;94(4):427–32.
98. Missawa NA, Lorosa ES, Dias ES. Feeding preference of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) in transmission area of visceral leishmaniasis in Mato Grosso. agosto de 2008;41(4):365–8.
99. Quinnell RJ, Dye C, Shaw JJ. Host preferences of the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Amazonian Brazil. *Medical and Veterinary Entomology*. 1º de julho de 1992;6(3):195–200.
100. Lainson R, Ward RD, Shaw JJ. Experimental transmission of *Leishmania chagasi*, causative agent of neotropical visceral leishmaniasis, by the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. *Nature*. abril de 1977;266(5603):628–30.

9 ANEXOS

9.1 Autorização Legal.



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 61837-1	Data da Emissão: 27/02/2018 09:14	Data para Revalidação*: 29/03/2019
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: RAIMUNDO LEOBERTO TORRES DE SOUSA	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: Leishmaniose Visceral e Leishmaniose Tegumentar Americana no município de Altos, Piauí: estudo dos vetores e sua preferência alimentar.	
Nome da Instituição : FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	CNPJ: 33.781.055/0001-35

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Levantamento de endereços de captura de felbôtomos	04/2018	07/2018
2	Apresentação do artigo	04/2018	03/2021
3	Captura de felbôtomos	04/2018	03/2021
4	Identificação das espécies de felbôtomos	04/2018	03/2021
5	Análise dos dados e Elaboração da Dissertação	04/2018	07/2021

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério da Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, possuidor ou morador de área dentro dos limites da unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que se aplica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros de sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações e levantamentos que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico. Veja mais informações em www.mma.gov.br/ogen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e do uso da infra-estrutura da unidade.

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	SILVA ALCANTARA VASCONCELOS	Colaboradora	[REDACTED]	[REDACTED]	Brasileira
2	JESSICA PEREIRA DOS SANTOS	colaboradora	[REDACTED]	[REDACTED]	Brasileira
3	simone mousinho leite	Colaboradora	[REDACTED]	[REDACTED]	Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	ALTOS	PI	CENTRO	Fora de UC Federal
2	ALTOS	PI	TRANQUEIRA	Fora de UC Federal

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 41257738



Página 1/4



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 61837-1	Data da Emissão: 27/02/2018 09:14	Data para Revalidação*: 29/03/2019
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: RAIMUNDO LEOBERTO TORRES DE SOUSA	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: Leishmaniose Visceral e Leishmaniose Tegumentar Americana no município de Altos, Piauí: estudo dos vetores e sua preferência alimentar.	
Nome da Instituição : FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	CNPJ: 33.781.055/0001-35

3	ALTOS	PI	BOCA DE BAIRRO	Fora de UC Federal
4	ALTOS	PI	BOA FE	Fora de UC Federal
5	ALTOS	PI	CIANA	Fora de UC Federal
6	ALTOS	PI	MUTIRÃO I	Fora de UC Federal
7	ALTOS	PI	MAHAVILHA	Fora de UC Federal
8	ALTOS	PI	CONJUNTO LIDGERO RALLINO	Fora de UC Federal
9	ALTOS	PI	BARCELONA	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Psychodidae (*Qtda: 10000)

* Quantidade de indivíduos por espécie, por localidade ou unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

Material e métodos

1	Método de captura/coleta (Invertebrados Terrestres)	Armadilha luminosa
---	---	--------------------

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 41257738



Página 2/4



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 61837-1	Data da Emissão: 27/02/2018 09:14	Data para Revalidação*: 29/03/2019
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: RAIMUNDO LEOBERTO TORRES DE SOUSA	CPF: <input type="text"/>
Título do Projeto: Leishmaniose Visceral e Leishmaniose Tegumentar Americana no município de Altos, Piauí: estudo dos vetores e sua preferência alimentar.	
Nome da Instituição : FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	CNPJ: 33.781.055/0001-35

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 41257738



Página 3/4



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 61837-1	Data da Emissão: 27/02/2018 09:14	Data para Revalidação*: 29/03/2019
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: RAIMUNDO LEOBERTO TORRES DE SOUSA	CPF: <input type="text"/>
Título do Projeto: Leishmaniose Visceral e Leishmaniose Tegumentar Americana no município de Altos, Piauí: estudo dos vetores e sua preferência alimentar.	
Nome da Instituição : FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	CNPJ: 33.781.055/0001-35

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 41257738



Página 4/4

9.2 Revisão Integrativa enviada para submissão.

PREFERÊNCIA ALIMENTAR DE FLEBOTOMÍNEOS: UMA REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA INTEGRATIVA.

FEEDING PREFERENCE OF SAND FLIES: AN INTEGRATIVE
BIBLIOGRAPHIC REVIEW.

PREFERENCIA ALIMENTARIA DE FLEBOTOMÉNEOS: UNA REVISIÓN
BIBLIOGRÁFICA INTEGRATIVA.

1* Raimundo Leoberto Torres de Sousa. Biólogo, Mestrando em Medicina Tropical, Fiocruz - PI. Teresina, Piauí – Brasil. E-mail: leoberto_torres@outlook.com

2 Silvia Alcântara Vasconcelos. Enfermeira, Doutoranda em Saúde, Ambiente e Sociedade, Fiocruz – PI. Teresina, Piauí – Brasil. E-mail: silviaav@live.com

3 Jacenir Reis dos Santos-Mallet. Bióloga, Pesquisadora Titular, Doutora em Biologia Parasitária, Fundação Oswaldo Cruz – RJ. Rio de Janeiro, RJ – Brasil. E-mail: jacenir@ioc.fiocruz.br

4 Elaine Ferreira do Nascimento. Serviço Social, Doutora em Ciências, Fundação Oswaldo Cruz – RJ. Teresina, Piauí – Brasil. E-Mail: negraelaine@gmail.com

5 Clarissa Romero Teixeira. Farmacêutica, Doutora em Patologia Humana, Universidade Federal da Bahia - UFBA Pesquisadora em Saúde Pública Fiocruz-PI Teresina, Piauí – Brasil. E-Mail: clarissa.teixeira@fiocruz.br

6 Régis Bernardo Brandim Gomes. Biólogo, Doutor em Patologia Humana, Universidade Federal da Bahia - UFBA Pesquisadora em Saúde Pública Fiocruz-PI Teresina, Piauí – Brasil. E-Mail: regis.gomes@fiocruz.br

* Raimundo Leoberto Torres de Sousa, Fiocruz PI Rua Magalhães Filho, 519 – Centro (Norte), CEP: 64001-350 Teresina – PI, Telefone: (86) 3301-8651

RESUMO

Objetivo: Fornecer informações sobre o hábito e comportamento alimentar de flebotomíneos no Brasil. **Metodologia:** Foram selecionados estudos a partir da PubMed e SciELO, por meio da definição dos Descritores “feeding preference”; “sanflies”, “blood food sources” e “feeding behavior” sobre comportamento alimentar de flebotomíneos, realizados no Brasil. Dos 290 trabalhos encontrados, 18 foram selecionados após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão. **Resultados e Discussão:** O ano que reuniu o maior número de publicações foi 2005, em que foi observado o uso de diferentes tipos de teste, entre genético e imunoenzimáticos. Também foi relatado que os animais preferidos pelos flebotomos fêmeas são: aves, gambás, roedores, humanos, cavalos, cães, bovinos e gatos. **Conclusão:** Foi possível observar a contribuição dos artigos, tanto para os pesquisadores como para órgãos competentes que desenvolvem ações de controle do vetor, uma vez que se tem apontando os caminhos da infecção dos protozoários em animais estudando a preferéncia alimentar de flebotomíneos.

Descritores: Psychodidae; Vetores; flebotomos; preferéncia alimentar.

ABSTRACT

Objective: To provide information on the habit and feeding behavior of sand flies in Brazil. **Methodology:** We selected studies from PubMed and SciELO, through the definition of the following descriptors: "feeding preference"; "Sanflies", "blood food sources" and "feeding behavior" on feeding behavior of sandflies. All studies were carried out in Brazil. Of the 290 papers found, 18 were selected after applying the inclusion and exclusion criteria. **Results and Discussion:** The year with the highest number of publications was 2005, where the use of different types of molecular tests showed that the preferred animals by female sandflies are birds, possums, rodents, humans, horses, dogs, cattle and cats. **Conclusion:** It was possible to observe the contribution of the articles, both to the researchers and to the authorities that develop vector control actions, since the pathways of infection in animals have been studied by investigating the feeding preference of sand flies.

Descriptors: Psychodidae; Vectors; sandflies; food preference.

RESUMEN

Objetivo: Proporcionar informaciones sobre el hábito y comportamiento alimentario de flebotomíneos en Brasil. **Metodología:** Se seleccionaron estudios a partir de la PubMed y SciELO, por medio de la definición de los Descriptores "feed choice"; "Sanflies", "blood food sources" y "feed behavior" sobre comportamiento alimentario de flebotomíneos, realizados en Brasil. De los 290 trabajos encontrados 18 fueron seleccionados después de la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión. **Resultados y Discusión:** El año que reunió el mayor número de publicaciones fue 2005, donde se observó el uso de diferentes tipos de pruebas moleculares que mostraron que los principales animales preferidos por los flebótomos hembras son aves, gambas, roedores, humanos, caballos, perros, bovinos y gatos. **Conclusión:** Fue posible observar la contribución de los artículos, tanto para los investigadores y para órganos competentes que desarrollan acciones de control del vector, una vez que se apunta los caminos de la infección de los protozoos en animales estudiando la preferencia alimentaria de flebotomíneos.

Descriptores: Psychodidae; vectores; moscas de arena; preferencia alimentaria.

INTRODUÇÃO

Os flebotomíneos são insetos responsáveis pela transmissão de algumas patologias, entre elas as arboviroses, com ocorrência inclusive no Brasil, e a bartonelose que é restrita aos altiplanos andinos ⁽¹⁾. Porém, são as leishmanioses que apresentam maior gravidade, tanto pelo número de casos como pela ampla distribuição geográfica no Brasil e no Mundo ⁽²⁾.

Estes insetos pertencem à ordem Díptera, Família Psychodidae, subfamília Phlebotominae e estão divididos em sete gêneros principais: *Phlebotomus*, Rondani, 1840; *Sergentomyia*, França, 1924 e *Chinius*, Leng, 1987, no velho mundo; *Brumptomyia*, França e Parrot, 1921; *Lutzomyia*, França, 1924; *Warileya*, Hertig, 1948 e *Edentomyia*, Galati, 2003 no Novo Mundo ⁽³⁾. Atualmente, são conhecidas mais de 900 espécies de flebotomíneos no mundo, sendo descritas cerca de 500 na região Neotropical ⁽⁴⁾. No Brasil, já foram apontadas mais de 230 espécies, distribuídas em todos os estados federativos. As principais espécies de importância epidemiológica são: *Nyssomyia whitmani*, *Nyssomyia intermedia*, *Migonemyia migonei*, e outras que são incriminadas como vetores da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA). A *Lutzomyia longipalpis* e a *Lutzomyia cruzi* são importantes vetores da Leishmaniose Visceral (LV) ⁽⁵⁾ ⁽⁶⁾.

Anatomicamente, os flebotomíneos são insetos pequenos, com o corpo dotado de pelos. Seu ciclo de vida é do tipo holometábolo, desenvolvendo seu estágio larval em matéria orgânica, com dimorfismo sexual na fase adulta. A presença de aparelho bucal picador sugador é utilizado na obtenção de carboidratos em fontes naturais tais como: seiva vegetal, néctar, excreções de afídeos e frutas maduras ⁽⁷⁾. Entretanto, as fêmeas, ao atingir a fase reprodutiva, procuram realizar o repasto sanguíneo com o objetivo de estimular o desenvolvimento ovariano dando continuidade ao processo reprodutivo, o que as tornam hematófagas obrigatórias ⁽⁸⁾ ⁽⁹⁾.

A identificação do conteúdo ingerido por esses insetos se tornou uma importante ferramenta para o estudo de preferência alimentar e, conseqüentemente, para a identificação de possíveis reservatórios do parasita *Leishmania*, causadora das formas clínicas das leishmanioses. Existem algumas técnicas utilizadas para o estudo da preferência alimentar dos flebotomos onde, duas das mais conhecidas são: a técnica da precipitina e o teste de ELISA

(Enzyme-linked Immunosorbent Assay) que se baseiam em reações antígeno-anticorpo, detectáveis por meio de reações imuno-enzimáticas^{(10) (11)}.

Estas ferramentas fornecem informações sobre a preferência e o hábito alimentar dos vetores em relação às fontes alimentares disponíveis em condições naturais⁽¹²⁾. Identificar fontes alimentares dentro de um ciclo reprodutivo onde a possibilidade da presença do parasita poderá evidenciar a transmissão do patógeno é uma importante arma que poderá favorecer a criação de estratégias eficientes no controle da doença.

Diante do exposto, esta revisão foi realizada com objetivo de fornecer e discutir informações mais detalhadas, descritas na literatura científica, sobre o hábito e comportamento alimentar de flebotomíneos no Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Esta revisão integrativa se propõe a apresentar informações adquiridas a partir de fontes secundárias, por meio de levantamento bibliográfico sobre o tema, de maneira abrangente, contribuindo para um maior aprofundamento do assunto abordado (13).

Para o desenvolvimento deste trabalho foram selecionados estudos científicos sobre preferência alimentar de flebotomíneos, realizados no Brasil, tendo como base de dados a Public Medline – (PUBMED) e a biblioteca Scientific Electronic Library Online – (SciELO). A investigação ocorreu através da definição dos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS): “feeding preference”; “sandflies”, “blood food sources” e “feeding behavior”. Além destes, foi usado também o operador booleano com o uso do conector “and”, que permitiu acessar os artigos que possuem intersecção entre os diferentes descritores.

Foram considerados como critérios de inclusão: I) idioma (Inglês e Português); II) Período em que foram publicados (Entre 2003 a 2017); III) base de dados online PUBMED e biblioteca científica online SciELO IV) tipo de estudo (artigos); e IV) local de pesquisa Brasil. Os critérios de exclusão foram: artigos que se repetiram nas bases de dados e que não tinham o Brasil como região específica de análise, revisões, dissertações, teses, monografias e resumos expandidos. Foram localizados 290 trabalhos ao todo, sendo excluídos 272 pelos critérios de exclusão

já mencionados. Resultando, ao final da busca, em 18 estudos científicos que foram categorizados e avaliados para a interpretação dos resultados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os critérios colocados, foram selecionados 18 artigos para compor os dados da amostra do estudo, como mostra o quadro 1.

Quadro 1: Artigos selecionados segundo os critérios de inclusão

Ecótopo	Es	Espécies	Fontes sanguíneas	Testes Utilizados	Autores
Peri	MS MT PR MA BA CE PI MG SP	<i>Lu. longipalpis</i> ; <i>Lu. almerioi</i>	Ave Boi	ELISA (3/9)	⁽¹⁴⁾ Marassá AM, et al (2006) ⁽¹⁵⁾ Sversutti ACD, et al. (2007) ⁽¹⁶⁾ Oliveira YNP, et al. (2008) ⁽¹⁷⁾ Afonso MMS, et al. (2012) ⁽¹⁸⁾ Quaresma PF, et al. (2012) ⁽¹⁹⁾ Marassá AM, et al. (2013) ⁽²⁰⁾ Soares VY, et al. (2014) ⁽²¹⁾ Brito VN, et al. (2014) ⁽²²⁾ Silva ASG, et al. (2017)
		<i>Ny. neivai</i> ; <i>Ny. Whitmani</i>	Cão	PCR (3/9)	
		<i>Pr. choti</i>	Cavalo	Precipitina (1/9)	
		<i>Pr. triacantha</i>	Humano		
		<i>Ps. lloydi</i>	Mucura	Precipitina e ELISA (1/9)	
		<i>Ny. intermedia</i>	Roedor		
		<i>Lu. cruzi</i>	Gato	ELISA e PCR (1/9)	
		<i>Ev. evandroi</i>	Ovelha		
		<i>Ev. lenti</i>	Cabra		
		<i>Ev. termitophila</i>	Porco		
<i>Mi. trinidadensis</i>	Raposa				
<i>Sc. sordellii</i>					
Peri/ Intra	MA RJ MT MG	<i>Lu. longipalpis</i> <i>Ny. Intermedia</i> <i>Ev. cortelezzii</i>	Ave Boi Cão	Precipitina (3/4)	⁽²³⁾ Dias FOP, et al. (2003) ⁽²⁴⁾ Afonso MMS, et al. (2005) ⁽²⁵⁾ Missawa NA, et al. (2008) ⁽²⁶⁾ Tanure A, et al. (2015)
			Cavalo	ELISA (1/4)	
			Gambá		
			Humano Roedor		
Peri/ Intra/ Flo	PR	<i>Ny. Intermedia</i>	Ave Gambá Roedor Humano	Precipitina (1/2)	⁽²⁷⁾ Baum M, et al. (2013) ⁽²⁸⁾ Baum M, et al. (2015)
			Cavalo Cão Boi Gato javali	PCR (1/2)	
Peri/ Flo	RJ	<i>Ny. Intermedia</i> <i>Ny. Whitmani</i>	SI*	Isca Humana e armadilha CDC (1/2)	⁽²⁹⁾ Souza NA, et al. (2005a) ⁽³⁰⁾ Souza NA, et al. (2005b)
Flo	AM	<i>Ny. Umbratilis</i> <i>Lu. spathotrichia</i> <i>Ny. Anduzei</i> <i>Lu. shannoni</i>	Homem Roedor Edentado Canídeo Galináceo	Precipitina (1/1)	⁽³¹⁾ Nery LCR, et al. (2004)

Fonte: Dados da pesquisa (2018). **Legenda I:** Ny= *Nyssomyia*; Lu= *Lutzomyia*; Ev= *Evandromyia*; Pr= *Pressatia*; Ps= *Psychodopygus*; Ev= *Evandromyia* Mi= *Micropygomyia* Sc= *Sciopemyia* (Segundo classificação proposta por Galati 2003 atualizada em 2017) **Legenda II:** Peri= Peridomicílio; Intra= Intradomicílio; Flo= Floresta; Es= Estados; SI= Sem informação (Os trabalhos realizados por “Souza NA, et al 2005a,b” tratam de comportamento animal relacionado à alimentação e por isso não possuem registros de fontes sanguíneas)

O período de publicação variou entre os anos de 2003 e 2017, com predominância de 16,6% dos estudos divulgados no ano de 2005, seguido do ano de 2012 e 2015 com 11,1% respectivamente. Dentre as regiões estudadas duas se destacaram: o sudeste com 31,2%, abrangendo os estados do Rio de Janeiro (3 trabalhos); Minas Gerais (2 trabalhos) e São Paulo (1 trabalho), e o Nordeste com 31,2% abrangendo os estados da Bahia e Ceará (1 trabalho), Piauí (2 trabalhos), Rio Grande do Norte (1 trabalho) e Maranhão (2 trabalhos). O Centro-Oeste foi o segundo mais estudado com 18,7%, compreendendo Mato Grosso (2 trabalhos) e Mato Grosso do Sul (1 trabalho). Os dados epidemiológicos relacionados a estas regiões demonstram um aumento de casos de LV e LTA e, talvez, este fenômeno explique um maior número de estudos nestas regiões. Nos artigos pesquisados, 50,0% foram realizados somente em ambientes peridomiciliares, 22,2% foram realizados em ambiente intradomicílio e peridomicílio simultaneamente e 22,0% foram realizados em florestas semidecíduais de características de mata atlântica de forma simultânea com os demais ecótopos. Uma das justificativas para as capturas predominantemente em peridomicílios e matas de características florestais se deve ao fato dos flebotomos possuírem características antropofílicas e ter tropismo por ambientes peridomiciliares ⁽²⁷⁾.

Foram observados, nos trabalhos, diferentes tipos de teste utilizados nos estudos do hábito alimentar, sendo que os mais utilizados foram os testes de precipitina com 33,3% e ELISA com 38,8%, ambos em relação ao total de artigos, e o teste de PCR com 27,7% do total. Diante do exposto, percebe-se uma preferência pela utilização do teste de ELISA, por apresentar uma sensibilidade e especificidade mais acentuada diante da pouca quantidade de material sanguíneo disponível, além de haver uma acessibilidade mais fácil à esse teste, o que pode garantir melhores resultados que os demais testes citados ⁽¹¹⁾.

Os resultados das pesquisas nas regiões mais estudadas mostraram que a espécie de flebotomíneo mais encontrada foi a *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia whitmani*. Nas demais regiões a espécie mais encontrada foi a *Lutzomyia longipalpis*, onde as demais espécies estudadas apareceram com densidade reduzida. Este resultado mostra o *Lu. longipalpis*, *Ny intermedia* e *Ny whitmani* como os mais abundantes desde o norte do Mato Grosso até o sul do

Paraná ⁽²⁵⁾ ⁽²⁸⁾, Os estudos demonstram que tanto a *Ny. Intermedia* quanto o *Lu. longipalpis* possuem preferência alimentar eclética, porém, com predominância para realizar repasto sanguíneo em vertebrados como: aves; humanos e roedores ⁽²⁴⁾ ⁽¹⁹⁾. Os dados encontrados nestes artigos mostram que no horário noturno o comportamento alimentar destes insetos atinge seu ápice. Como mostra Souza, et al. (2005a), as espécies *Ny. intermedia* e *Ny. whitmani* exibem diferenças marcantes em suas tendências para realizar repasto sanguíneo em humanos, apresentando pico de atividade no início da manhã (entre 04:00h-06:00h horas). Um dado importante revelado pelos artigos avaliados mostra que *Ny. whitmani* possui taxas de alimentação mais altas do que *Ny. intermedia*.

Vários fatores podem influenciar a atividade alimentar dos flebotomos, entre eles os ambientais. Baseado nesta observação, um resultado importante que se pode observar é a relação entre o número de flebotomíneos capturados e as diferentes fases lunares mostrando que existe uma correlação positiva significativa entre a intensidade da luz da lua, principalmente nas fases de lua nova e minguante, e o número de fêmeas *Ny. intermedia* e *Ny. whitmani* coletadas durante o repasto sanguíneo ⁽³⁰⁾.

CONCLUSÃO

Esta revisão buscou evidenciar alguns aspectos referentes ao hábito, preferência e comportamento alimentar de flebotomíneos em áreas endêmicas de leishmaniose visceral e leishmaniose tegumentar americana no Brasil. Desta maneira, foi possível observar a contribuição de tais artigos, tanto para os pesquisadores como para órgãos que trabalham com saúde pública que buscam ações de controle do vetor. Esta abordagem pode não somente demonstrar as preferências alimentares destes insetos, mas contribuir para estudos de infecção natural, evidenciando possíveis reservatórios, importantes na descrição do ciclo de vida envolvendo o vetor, o hospedeiro e o parasita.

REFERÊNCIAS

1. Rangel EFR, Lainson R. Ecologia das Leishmanioses: Transmissores de Leishmaniose Tegumentar Americana. In Rangel EFR, Lainson R. Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2003. p. 291-310.
2. WHO. World Health Organization Leishmaniasis Epidemiological situation. [Online].; 2018 [cited 2018 junho 19. Available from: <http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/>.
3. Galati EAB. Morfologia e Taxonomia: Classificação de Phlebotominae. In Rangel EF, Laison R. Flebotomíneos do Brasil. Riode Janeiro: FIOCRUZ; 2003. p. 133-142.
4. Shimabukuro PHF, Tolezano JE, Galati EAB. Chave de Identificação ilustrada dos Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do estado de São Paulo. Papéis Avulsos de Zoologia. 2011: p. 399-441.
5. Aguiar GMd, Medeiros Md. Distribuição regional e habitats das espécies de flebotomíneos do Brasil. In Rangel EF, Lainson R. Flebotomíneos no Brasil. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2003. p. 207-255.
6. Missawa, Veloso MA, Maciel GBML, Michalsky É, Dias ES. Evidência de transmissão de leishmaniose visceral por *Lutzomyia cruzi* no município de Jaciara, Estado de Mato Grosso, Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2011 Fev: p. 76-78.
7. Cameron MM, Pessoa FAC, Vasconcelos AW, Ward RD. Sugar meal sources for the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Ceará State, Brazil. Medical and Veterinary Entomology. 1995 July: p. 263-272.
8. Kamhawi S. The biological and immunomodulatory properties of sand fly saliva and its role in the establishment of Leishmania infections. Microbes and Infection. 2000 November: p. 1765-1773.

9. Ready PD. Factors affecting egg production of laboratory-bred *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). J. Med. Entomol. 1979 Novembro: p. 413-423.
10. Souza RdC, Soares AC, Alves CL, Lorosa ES, Pereira MH, Diotaiuti L. Feeding behavior of *Triatoma vitticeps* (Reduviidae: Triatominae) in the state of Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2011 Fev: p. 16-22.
11. 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). Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2004 nov-dez: p. 441-446.
12. Haouas N, Pesson B, Boudabous R, Dedet JP, Babba H, Ravel C. Development of a molecular tool for the identification of *Leishmania* reservoir hosts by blood meal analysis in the insect vectors. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2007: p. 1054 - 1059.
13. Souza MT, Silva MD, Carvalho R. Revisão integrativa: o que é e como fazer. Revista Einstein. 2010: p. 102-106.
14. Marassá AM, Consales CA, Galati EAB, Nunes VLB. Identificação do sangue ingerido por *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) e *Lutzomyia (Lutzomyia) almerioi* (Galati & Nunes, 1999) pela técnica imunoenzimática do ELISA de captura, no sistema avidina-biotina. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2006: p. 183-186.
15. Sversutti D, Alessandra C, et al. Estudo Preliminar da preferência alimentar de *Nyssomyia neivae* (Pinto) e *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho) (Diptera: Psychodidae) em área rural do Paraná. Neotrop. Entomol. 2007 Dez: p. 953-956.
16. Oliveira-Pereira YN, Moraes JLP, Lorosa ES, Rebêlo JMM. Preferência alimentar sanguínea de flebotomíneos da Amazônia do Maranhão, Brasil. Cad. Saúde Pública. 2008 set: p. 2183-2186.

17. Afonso MM, Duarte R, Miranda JC, Caranha L, Rangel EF. Studies on the Feeding Habits of *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) Populations from Endemic Areas of American Visceral Leishmaniasis in Northeastern Brazil. J Trop Med. 2012: p. 1-5.
18. Quaresma, Carvalho MdL, Ramos MCdNF, Filho. Natural *Leishmania* sp. reservoirs and phlebotomine sandfly food source identification in Ibitipoca State Park, Minas Gerais, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2012 Jun: p. 480-485.
19. Marassá, Galati EA, Bergamaschi, Consales. Blood feeding patterns of *Nyssomyia intermedia* and *Nyssomyia neivai* (Diptera, Psychodidae) in a cutaneous leishmaniasis endemic area of the Ribeira Valley, State of São Paulo, Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2013 Set/Out: p. 547-554.
20. Soares VY, Silva JC, Silva KR, Pires e Cruz MdS, Santos MP, Ribolla PE, et al. Identification of blood meal sources of *Lutzomyia longipalpis* using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis of the cytochrome B gene. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2014 Jun: p. 379-383.
21. Brito VNd, Almeida AdBPFd, Nakazato L, Duarte R, Souza CdO, Sousa VRF. Phlebotomine fauna, natural infection rate and feeding habits of *Lutzomyia cruzi* in Jaciara, state of Mato Grosso, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2014 Nov: p. 899-904.
22. Silva ASG, Silva SO, Silva RCR, Pinheiro VCS, Rebêlo JMM, Melo MN. *Leishmania* infection and blood food sources of phlebotomines in an area of Brazil endemic for visceral and tegumentary leishmaniasis. PLoS ONE. 2017 Ago: p. 1-19.
23. Dias FOP, Lorosa ES, Rebêlo JMM. Fonte alimentar sangüínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). Cadernos de Saúde Pública. 2003 set/out: p. 1373-1380.

24. Afonso MMS, Gomes AC, Meneses CR, Rangel. Studies on the feeding habits of *Lutzomyia (N.) intermedia* (Diptera, Psychodidae), vector of cutaneous leishmaniasis in Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*. 2005 Nov./Dez: p. 1816-1820.
25. Missawa, Lorosa E, Dias. Preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) em área de transmissão de leishmaniose visceral em Mato Grosso. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2008 Jul/Ago: p. 365-368.
26. Tanure A, Peixoto, Afonso MMS, Duarte, Pinheiro A, Coelho VB, et al. Identification of Sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) Blood Meals in Endemic Leishmaniasis Area in Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 2015 Jul/Ago: p. 321-324.
27. Baum, Ribeiro MCV, Damasio GAC, Castro EA. Eclectic feeding behavior of *Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in the transmission area of American cutaneous leishmaniasis, state of Paraná, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2013 Out: p. 560-565.
28. Baum M, Castro EA, Pinto MC, Goulart TM, Baura W, Klisiowicz DR, et al. Molecular detection of the blood meal source of sand flies (Diptera: Psychodidae) in a transmission area of American cutaneous leishmaniasis, Paraná State, Brazil. *Acta Tropica*. 2015 Mar: p. 8-12.
29. Souza NA, Andrade-Coelho CA, Peixoto AA, Rangel EF. Nocturnal activity rhythms of *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) in a transmission area of American cutaneous leishmaniasis in Rio de Janeiro State, Brazil. *J Med Entomol*. 2005a Nov: p. 986-992.
30. Souza NA, Andrade-Coelho CA, Silva VC, Peixoto AA, Rangel EF. Moonlight and blood-feeding behaviour of *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2005b: p. 39-42.

31. Nery LCR, Lorosa S, Franco AMR. Feeding preference of the sand flies *Lutzomyia umbratilis* and *L. spathotrichia* (diptera: Psychodidae, Phlebotominae) in an urban forest patch in the city of Manaus, Amazonas, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2004 Out: p. 571-574.