



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO
MARANHÃO**
CENTRO DE ESTUDOS
SUPERIORES DE CAXIAS



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM BIODIVERSIDADE,
AMBIENTE E SAÚDE

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO-UEMA
CENTRO DE ESTUDOS SUPERIORES DE CAXIAS – CESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE,
AMBIENTE E SAÚDE – PPGBAS**

ROSA CRISTINA RIBEIRO DA SILVA

**OCORRÊNCIA E INFECÇÃO NATURAL DE FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA:
PSYCHODIDAE) EM ÁREAS PERIURBANAS ENDÊMICAS PARA
LEISHMANIOSES NO MUNICÍPIO DE CAXIAS, MARANHÃO, BRASIL**

Caxias, MA
2016

ROSA CRISTINA RIBEIRO DA SILVA

**OCORRÊNCIA E INFECÇÃO NATURAL DE FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA:
PSYCHODIDAE) EM ÁREAS PERIURBANAS ENDÊMICAS PARA
LEISHMANIOSES NO MUNICÍPIO DE CAXIAS, MARANHÃO, BRASIL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Ambiente e Saúde – PPGBAS/CESC/UEMA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade, Ambiente e Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Valéria Cristina Soares Pinheiro

Caxias, MA
2016

S586o Silva, Rosa Cristina Ribeiro da

Ocorrência e infecção natural de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em áreas periurbanas endêmicas para leishmaniose no município de Caxias, Maranhão, Brasil / Rosa Cristina Ribeiro da Silva. __Caxias-MA: CESC/UEMA, 2016.

94f.

Orientador: Prof^a. Dra. Valéria Cristina Soares Pinheiro.

Dissertação (Mestrado) – Centro de Estudos Superiores de Caxias, Curso Mestrado em Biodiversidade, Ambiente e Saúde.

1. Flebotomíneos. 2. Leishmaniose. 3. Vetores. 4. Infecção Natural. I. Silva, Rosa Cristina Ribeiro da. II. Título.

CDU 595.771(812.1)

ROSA CRISTINA RIBEIRO DA SILVA

**OCORRÊNCIA E INFECÇÃO NATURAL DE FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA:
PSYCHODIDAE) EM ÁREAS PERIURBANAS ENDÊMICAS PARA
LEISHMANIOSES NO MUNICÍPIO DE CAXIAS, MARANHÃO, BRASIL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Ambiente e Saúde – PPGBAS/CESC/UEMA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade, Ambiente e Saúde.

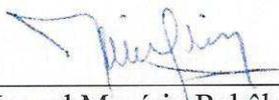
Orientadora: Profa. Dra. Valéria Cristina Soares Pinheiro

Aprovada em 28/07/2016

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Valéria Cristina Soares Pinheiro (Orientadora)
Universidade Estadual do Maranhão - UEMA



Prof. Dr. José Manuel Macário Rebêlo (Membro)
Universidade Federal do Maranhão - UFMA



Profa. Dra. Arlene de Jesus Mendes Caldas (Membro)
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

*A minha querida mãe, minha auxiliadora, espelho para construção de minha vida.
Aos meus avós, Rosa Cardoso e Raimundo Dias, que são a minha força.*

“Os homens não devem se orgulhar do que sabem, pois este saber tem limites bem estreitos no mundo em que habitam.”

Allan Kardec

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me guiar e sempre proporcionar coisas boas na minha vida;

À toda minha família, em especial a minha mãe, Iraní Ribeiro da Silva, pelo amor, educação, compreensão pela ausência, paciência, apoio e constante incentivo para concretização dos meus sonhos;

À Profa. Dra. Valéria Cristina Soares Pinheiro pela excelente orientação, oportunidade, por ter acreditado em meu trabalho e investido em mim, também pela confiança e compreensão na realização do trabalho e por todo conhecimento discutido e aprendido ao longo dessa pesquisa e principalmente por me proporcionar trabalhar com flebotomíneos. Meu muito obrigada!

Ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade, Ambiente e Saúde – PPGBAS pela oportunidade de cursar o Mestrado em casa;

À toda equipe do Laboratório de Entomologia Médica – LABEM do CESC-UEMA pelo apoio e companheirismo, em especial a Sêmilly Suélen da Silva Sousa por ser minha companheira de trabalho;

À toda equipe do Centro de Controle de Zoonoses de Caxias, que colaboraram no processo de coleta dos flebotomíneos, montagem e identificação do material vindo de campo. Em especial a Erlen Rejane e Silva Costa e ao Sérgio Henrique de Alcântara, pela amizade e incentivo;

Aos residentes dos bairros, Pirajá e Itapecuruzinho, que contribuíram com esse estudo, uma vez que autorizaram realizar as coletas de flebotomíneos em suas residências;

Meu muito obrigada à Dra. Antonia Suely Guimarães e Silva por sempre me receber no CCZ, por todo o incentivo e conhecimento aprendido e também pelo apoio prestado durante todas as fases desse trabalho;

Meu muito obrigada, também, à Dra. Juliana Maria Trindade Bezerra, pelo exemplo profissional, pelos esclarecimentos a respeito dos programas estatísticos usados nesse trabalho, por todo o incentivo e pela contribuição na correção do trabalho;

À Profa. Dra. Maria Norma Melo pela parceria na realização dos dados moleculares deste trabalho;

Aos todos os colegas de turma, por todas as experiências vividas e adquiridas durante o ano, em especial a Caroline Kelly Costa Aragão, pela amizade, companheirismo e incentivo durante a pesquisa;

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão – FAPEMA, pelo apoio financeiro para realização desta pesquisa e pela concessão da bolsa CAPES/FAPEMA;

Aos todos amigos e colegas que não lembrei de citar, mas que de uma forma ou de outra colaboraram para a realização desse trabalho.

RESUMO

O conhecimento da fauna de flebotomíneos é importante devido à capacidade desses insetos de transmitir os agentes etiológicos das leishmanioses. O município de Caxias, no Nordeste brasileiro, possui alta prevalência das doenças com registro de casos autóctones e ocorrência de óbitos de LVA e casos de LTA. O objetivo dessa pesquisa foi verificar a fauna de flebotomíneos e detectar infecção natural nestes insetos por *Leishmania*, em duas áreas periurbanas do município. Foram selecionados os bairros Pirajá e Itapecuruzinho e realizadas coletas mensais de flebotomíneos de janeiro a dezembro de 2015, com armadilhas luminosas tipo CDC, instaladas no peridomicílio e extradomicílio. A infecção natural por *Leishmania* foi feita pela técnica de PCR usando o gene ITS1 e a identificação de *Leishmania* ao nível específico pela PCR-RFLP, usando a enzima de restrição *Hae*III. As áreas investigadas, apresentaram elevada abundância de flebotomíneos com 16.332 exemplares capturados, 83,99% no bairro Pirajá e 16,01% no Itapecuruzinho, pertencentes a 20 espécies. Nos dois bairros predominaram as espécies *Lutzomyia longipalpis* (43,08%), *L. whitmani* (43,02%), *L. evandroi* (2,92%), e *L. lenti* (1,11%). A frequência de flebotomíneos foi maior no peridomicílio, porém o número de espécies identificadas foi maior no extradomicílio. O mês de janeiro apresentou maior abundância de insetos e foram encontradas correlações negativas entre as densidades populacionais de flebotomíneos com a umidade máxima. Foram detectadas infecções por *Leishmania amazonensis*, *Le. braziliensis*, *Le. infantum chagasi*, *Le. mexicana*, como também, infecção mista com *Le. infantum/Le. braziliensis*, *Le. infantum/Le. amazonensis* e *Le. lainsoni/Le. naiffi*. As espécies *L. longipalpis*, *L. whitmani*, *L. flaviscutellata* e *L. intermedia*, vetores comprovados de LVA ou LTA, foram encontrados infectados com *Leishmania*. Verifica-se que o município de Caxias, MA apresenta elevada abundância de flebotomíneos com predominância das espécies *L. longipalpis* e *L. whitmani*, vetores comprovados das leishmanioses. Além disso, a identificação de várias espécies de leishmânias causadoras de LVA e LTA e o registro de espécies com infecções mistas evidencia a circulação de diferentes espécies de *Leishmania* no estado do Maranhão. Portanto, há necessidade de estudos de competência vetorial para elucidar o papel dos flebotomíneos na transmissão das *Leishmania*.

Palavras-chave: Flebotomíneos. Leishmanioses. Vetores. Infecção Natural.

ABSTRACT

Knowledge of the sandflies fauna is important because of the ability of these insects to transmit the etiological agents of leishmaniasis. The municipality of Caxias, in northeastern Brazil, has a high prevalence of diseases with registration of autochthonous cases and occurrence of AVL deaths and cases of LCA. The objective of this research was to verify the sandflies fauna and to detect natural infection in these insects by *Leishmania* in two periurban areas of the municipality. The Pirajá and Itapecuruzinho neighborhoods were selected and conducted monthly collections of sandflies from January to December 2015, with CDC light traps, installed in peridomicile and extradomicile. The natural infection by *Leishmania* was made by PCR using the ITS1 gene and identification of *Leishmania* at the specific level by PCR-RFLP using the restriction enzyme HaeIII. The areas investigated showed high abundance of sandflies with 16,332 specimens captured, 83,99% in Pirajá neighborhood and 16.01% in Itapecuruzinho, belonging to 20 species. In the two neighborhoods prevailed the species *Lutzomyia longipalpis* (43.08%), *L. whitmani* (43.02%), *L. evandroi* (2.92%), and *L. lenti* (1.11%). The frequency of sandflies was higher in the peridomicile, but the number of species identified was higher in the extradomicile. The month of January showed a higher abundance of insects and were found negative correlations between population densities of sandflies with maximum humidity. Infections were detected by *Leishmania amazonensis*, *Le. braziliensis*, *Le. infantum chagasi*, *Le. mexicana*, as well as, mixed infection with *Le. infantum/Le. braziliensis*, *Le. infantum/Le. amazonensis* and *Le. lainsoni/Le. naiffi*. The species *L. longipalpis*, *L. whitmani*, *L. flaviscutellata* and *L. intermedia*, proven vectors of AVL or ACL were found infected with *Leishmania*. It is checked that the municipality of Caxias, MA has a high abundance of sandflies prevailing the species *L. longipalpis* and *L. whitmani*, proven vectors of leishmaniasis. In addition, the identification of various species of *Leishmania* causing LVA and LCA and registration of species with mixed infections shows the movement of different species of *Leishmania* in the state of Maranhão. So there it is necessary studies vector competence to elucidate the role of sandflies in the transmission of *Leishmania*.

Keywords: Sandflies. Leishmaniasis. Vectors. Natural Infection.

LISTA DE SIGLAS

CCZ – Centro de Controle de Zoonoses

DNA – ácido desoxirribonucleico

L. – *Lutzomyia*

LCAD – Leishmaniose Cutânea Anérgia Difusa

LCDB – Leishmaniose Cutânea Disseminada Borderline

LCL – Leishmaniose Cutânea Localizada

LCM – Leishmaniose Cutâneo-Mucosa

Le. – *Leishmania*

LTA – Leishmaniose Tegumentar Americana

LVA – Leishmaniose Visceral Americana

pb – pares de bases

PCR – Reação em cadeia de polimerase

RFLP – Polimorfismo por Tamanho de Fragmento de Restrição

TN – Taxa de infecção Natural

T_{máx.} – Temperatura máxima

T_{mín.} – Temperatura mínima

Umáx. – Umidade máxima

Umín. – Umidade mínima

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Flebotomíneos adulto. (A) macho com apêndices bem ornamentados nos últimos seguimentos abdominais; (B) fêmea com últimos seguimentos mais discretos conferindo um aspecto arredondado. 19
- Figura 2.** Distribuição das principais espécies de flebotomíneos vetoras da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) no Brasil. 22
- Figura 3.** Distribuição das principais espécies de *Leishmania* responsáveis pela transmissão da LTA no Brasil. 25
- Figura 4.** Localização do município de Caxias e os bairros pesquisados, Pirajá e Itapecuruzinho, com seus respectivos pontos de coleta, Caxias, Maranhão, Brasil..... 31
- Figura 5.** Pontos de coleta, (A e C), peridomicílio mostrando as armadilhas instaladas no galinheiro e chiqueiro; (B e D) extradomicílio mostrando as armadilhas instaladas na mata, bairro Pirajá. 32
- Figura 6.** Pontos de coleta: (A e B) peridomicílio representando as armadilhas instaladas no chiqueiro e galinheiro; (C) extradomicílio representando armadilha instalada na mata, bairro Itapecuruzinho. 33
- Figura 7.** Comparação da frequência de flebotomíneos coletados por espécie, município de Caxias, Maranhão, de janeiro a dezembro de 2015. (A) Bairro Pirajá. (B) Bairro Itapecuruzinho. Os asteriscos indicam diferenças estatísticas a diferentes níveis de significância nas espécies que apresentaram maiores medianas comparadas as de outras espécies, onde * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,0001$ 41
- Figura 8.** Comparação das medianas de flebotomíneos coletados entre os meses de coleta, janeiro a dezembro, nos bairros Pirajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015. 48
- Figura 9.** Comparação das medianas dos flebotomíneos coletados entre os períodos, chuvoso e seco, município de Caxias, Maranhão, 2015. (A) Bairro Pirajá. (B) Bairro Itapecuruzinho. Os asteriscos indicam diferenças estatísticas a nível de significância nos períodos, chuvoso ou seco, que apresentaram maiores medianas, onde ** $p < 0,01$ 50
- Figura 10.** Correlação mensal entre o número de flebotomíneos coletados com os fatores climáticos, (A) Temperatura Máxima e Temperatura Mínima. (B) Umidade Máxima e Umidade Mínima. (C) Pluviosidade, considerando os dois períodos, chuvoso e seco, do bairro, Pirajá, Caxias, Maranhão, 2015. 52
- Figura 11.** Correlação mensal entre o número de flebotomíneos coletados com os fatores climáticos, (A) Temperatura Máxima e Temperatura Mínima. (B) Umidade Máxima e Umidade Mínima. (C) Pluviosidade, considerando os dois períodos, chuvoso e seco, do bairro, Itapecuruzinho, Caxias, Maranhão, 2015..... 53
- Figura 12.** Gel de poliacrilamida 5% corado por nitrato de prata, mostrando produtos amplificados de 300-350pb com os iniciadores para ITS1. M: marcador molecular 100pb

(PROMEGA); C+: controle positivo; C-: controle negativo; 2-212 são algumas amostras de fêmeas de flebotomíneos ingurgitadas positivas.56

Figura 13. Gel de poliacrilamida 5% corado por nitrato de prata, mostrando os produtos amplificados com ITS1 e digeridos com *HaeIII*. M: Marcador Molecular 25bp (PROMEGA); Linhas I-X controles positivos: I – *Le. amazonenses*; II – *Le. mexicana*; III – *Le. guyanensis*; IV- *Le. braziliensis*; V – *Le. lansonii*; VI – *Le. naiffi*; VII – *Le. shawi*; VIII- *Le. infantum*; XI – *Le. infantum/Le. braziliensis*; X – *Le. infantum/Le. amazonensis*. Amostras 02-212: fêmeas de flebotomíneos positivas para *Leishmania* spp., exceto amostra 144 positiva para *Leishmania* sp.....57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Relação dos pontos de coletas dos bairros, Piarajá e Itapecuruzinho, e suas respectivas localizações geográficas.	34
Tabela 2. Distribuição das espécies de flebotomíneos e comparação da frequência das espécies entre os bairros, Piarajá e Itapecuruzinho, Caxias, Maranhão, janeiro a dezembro 2015.	40
Tabela 3. Comparação das medianas dos espécimes de flebotomíneos por sexo, entre os períodos chuvoso e seco, nos bairros Piarajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.	42
Tabela 4. Comparação das espécies de flebotomíneos entre os sexos, no período chuvoso, nos bairros Piarajá e Itapecuruzinho, localizados no município de Caxias, Maranhão, 2015.	43
Tabela 5. Comparação das espécies de flebotomíneos entre os sexos, no período seco, nos bairros Piarajá e Itapecuruzinho, localizados no município de Caxias, Maranhão, 2015.	44
Tabela 6. Comparação da frequência de flebotomíneos no peridomicílio e extradomicílio, nos períodos, chuvoso e seco, nos bairros Piarajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.	45
Tabela 7. Comparação das espécies de flebotomíneos no peridomicílio e extradomicílio, coletadas no período chuvoso nos bairros Piarajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.	46
Tabela 8. Comparação das espécies de flebotomíneos entre o peridomicílio e extradomicílio, no período seco nos bairros, Piarajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.	47
Tabela 9. Comparação da frequência de flebotomíneos coletados de de janeiro a dezembro nos bairros Piarajá e Itapecuruzinho no município de Caxias, Maranhão, 2015.	48
Tabela 10. Frequência mensal de flebotomíneos capturadas no peridomicílio e extradomicílio de acordo com os períodos, chuvoso e seco, nos bairros Piarajá e Itapecuruzinho no município de Caxias, Maranhão, 2015	49
Tabela 11. Correlação entre o número de flebotomíneos coletados com os fatores climáticos, nos períodos, chuvoso e seco, nos bairros, Piarajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.	54
Tabela 12. Correlação entre o número de flebotomíneos com os fatores climáticos, nos períodos chuvoso e seco, nos bairros Piarajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.	55
Tabela 13. Fêmeas de flebotomíneos analisadas, amostras positivas com infecção de <i>Leishmania</i> e Taxa de infecção Natural (TN), nos bairros Piarajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.	56

Tabela 14. Fêmeas de flebotomíneos ingurgitadas naturalmente infectadas por *Leishmania* sp., separadas por local de coleta, peridomicílio e extradomicílio, nos bairros Pirajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.59

Tabela 15. Fêmeas de flebotomíneos ingurgitadas com infecção mista por duas espécies de *Leishmania* em um único inseto, separadas por local de coleta, peridomicílio e extradomicílio, nos bairros Pirajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.60

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 Aspectos gerais dos flebotomíneos.....	18
1.2 Importância vetorial dos flebotomíneos	20
1.3 Leishmanioses e epidemiologia	22
1.3 Infecção natural em flebotomíneos por Leishmania spp.	26
2 OBJETIVOS	29
2.1 Geral.....	29
2.2 Específicos.....	29
3 MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 Descrição da área de estudo	30
3.2 Caracterização dos bairros de coleta	31
3.3 Método de captura dos flebotomíneos	33
3.4 Processamento do material coletado	34
3.5 Análise Molecular da Infecção por Leishmania sp.....	35
3.5.1 Extração de DNA das fêmeas de flebotomíneos	35
3.5.2 PCR para detectar DNA de Leishmania sp. e PCR-RFLP para a identificação das espécies de Leishmania spp.	35
3.5.3 Eletroforese em gel de poliacrilamida.....	36
3.6 Inferência da taxa de infecção natural.....	36
3.7 Estudo das variáveis ambientais.....	36
3.8 Análises estatísticas	37
4 RESULTADOS	39
4.1 Frequência e diversidade de espécies capturadas.....	39
4.2 Distribuição dos flebotomíneos por sexo nos bairros de coleta	42
4.3 Distribuição de flebotomíneos nos bairros por local de coleta	44
4.4 Distribuição mensal e sazonal dos flebotomíneos	47
4.5 Correlação entre a frequência mensal dos flebotomíneos com os fatores climáticos	51
4.6 Infecção natural de flebotomíneos por Leishmania spp.....	55

5 DISCUSSÃO	61
6 CONCLUSÕES.....	75
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76

1 INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos gerais dos flebotomíneos

Os flebotomíneos são insetos pertencentes à ordem Diptera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae distribuída em seis gêneros: *Phlebotomus* Rondani & Berté, 1840; *Sergentomyia* França & Parrot, 1920 e *Chinius* Leng, 1987, encontrados no Velho Mundo e *Lutzomyia* França, 1964; *Brumptomyia* França & Parrot, 1921 e *Warileyia* Hertig, 1940 encontrados no Novo Mundo. Esses insetos são amplamente distribuídos pelos diversos continentes do mundo, exceto nas regiões frias (LEWIS, 1982; YOUNG; DUNCAN, 1994).

Os insetos adultos são pequenos de dois a cinco milímetros de comprimento, de cor palha ou castanho claro. Uma característica marcante para reconhecê-los é a posição de suas asas, que quando em repouso ficam semieretas e entreabertas. São conhecidos, especialmente no Brasil, por diversos nomes populares como, anjinho, cangalhinha, mosquito palha, birigui, flebóti, asa dura, asa branca, tatuquira, cangalha, ligeirinho, péla-égua, arrupiado, arrepiado, entre outros (WILLIAMS, 1993; CAMARGO; ALEXANDER, 1999; BARCINSKI, 2003; DIAS, 2011).

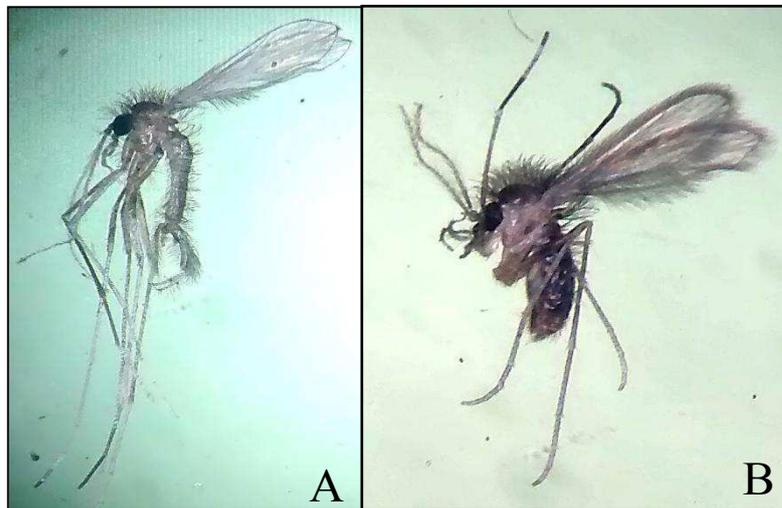
Os flebotomíneos são insetos holometábolos e o ciclo de vida compreende as fases de ovo, larva (que apresentam quatro estádios), pupa e adulto. Os ovos possuem forma ovoide ou elipsoide (FORATTINI, 1973; DIAS, 2011). As larvas desenvolvem-se e alimentam-se de matéria orgânica depositada no solo, são pequenas (<12mm), claras, vermiformes, com cápsula cefálica escura e esclerotinizada. Após a eclosão, as larvas de primeiro estágio alimentam-se de matéria orgânica em decomposição. Estas podem ser encontradas no solo, em tocas de animais, em folhas mortas, e em outros micro-habitats úmidos (HANSON, 1961; YOUNG; DUNCAN, 1994; TESH; GUZMAN, 1996).

Antes de se transformarem em pupas, cerca de um ou dois dias, as larvas de 4º instar deixam de se alimentar e procuram algum suporte sólido que serve de substrato para a fixação da pupa. A pupa permanece ligada a um substrato, como uma folha morta, pedra ou outro objeto. A fase de repouso dura de sete a 12 dias e os machos, habitualmente, emergem antes das fêmeas (YOUNG; DUNCAN, 1994).

Fêmeas e machos possuem dimorfismo sexual evidente, como o tamanho da probóscide que geralmente é maior na fêmea e adaptada para picar e sugar. Os últimos segmentos abdominais no macho, constituem-se de apêndices bem desenvolvidos e com genitália externa, enquanto na fêmea são mais discretos e com formato arredondado e genitália interiorizada. Também apresentam diferenças no comportamento alimentar, pois a

hematofagia é exclusiva da fêmea, sendo o sangue o alimento importante para maturação dos ovos. Porém, tanto o macho como a fêmea precisam de carboidratos (açúcares de plantas) como fonte de energia para exercerem suas atividades de voo, acasalamento, postura e garantirem sua sobrevivência (BRAZIL; BRAZIL, 2003). A atividade hematofágica é mais intensa no período noturno, porém, podem exercê-la durante o dia principalmente em ambientes com pouca luminosidade como cavernas e áreas florestais (GOMES et al. 1989; GALATI et al. 2006) (Figura 1).

Figura 1. Flebotomíneos adulto. (A) macho com apêndices bem ornamentados nos últimos seguimentos abdominais; (B) fêmea com últimos seguimentos mais discretos conferindo um aspecto arredondado.



Fonte: Fotos de SILVA, R. C. R, 2015.

A distribuição geográfica da fauna flebotomínica é influenciada por diversos fatores, como barreiras físicas, precipitação pluviométrica, vegetação, luminosidade e abundância de hospedeiros vertebrados (ARIAS et al. 1985).

Existem cerca de 900 espécies de flebotomíneos descritas no mundo, aproximadamente 510 são encontradas no Novo Mundo e 375 no Velho Mundo, com mais de 100 espécies suspeitas de agirem como vetores de *Leishmania* sp., mas pouco menos de 50 são realmente vetores comprovados (LAINSON; RANGEL, 2005). No Brasil, são conhecidas mais de 260 espécies, distribuídas em todas as regiões geográficas, principalmente nas regiões da bacia amazônica e no nordeste brasileiro, onde predominam a maior ocorrência de flebotomíneos (SHIMABUKURO; GALATI, 2011; SILVA et al. 2015b).

No estado do Maranhão, Rebêlo et al. (2010b), identificaram 91 espécies de flebotomíneos desde a porção nordeste até o extremo sudoeste do estado do Maranhão. Silva et al. (2015a) e Guimarães-e-Silva et al. (2012), identificaram 11 espécies de flebotomíneos nos municípios de Codó e Caxias, localizado no interior do Maranhão, respectivamente, ambos tendo o *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) como a espécie mais abundante.

1.2 Importância vetorial dos flebotomíneos

Os flebotomíneos são insetos bastante estudados, pois são importantes na transmissão de agentes causadores de doenças como bartoneloses, arboviroses e tem um papel importante na transmissão das leishmanioses à espécie humana e a vários outros vertebrados. No continente Americano essas doenças são nomeadas de Leishmaniose Visceral Americana (LVA) e Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), (SHERLOCK, 2005; PESSOA et al. 2007).

As leishmanioses são transmitidas entre animais silvestres e domésticos ou de animais domésticos para o homem por meio da picada de insetos fêmeas de flebotomíneos (BARRETO, 1955; VIANNA-MARTINS; WILLIAMS, 1978). A capacidade de um flebotomíneo atuar como um vetor é determinada pelo sucesso do parasito no interior do tubo digestivo do inseto, que depende de sua habilidade em superar as barreiras existentes no intestino médio do flebotomíneo, tais como, resistir à ação de enzimas digestivas, sua capacidade em atravessar a matriz peritrófica, assim como de adesão às células epiteliais do intestino médio. Por outro lado, o desempenho de determinadas espécies de flebotomíneos em relação à sua incriminação como vetor, implica não apenas na sua habilidade de completar a metaciclogênese do parasito, mas também de ser capaz de realizar a sua transmissão (KILLICK-KENDRICK, 1990).

No Brasil, o estudo de flebotomíneos como vetores começou em 1934, quando Henrique Penna observou que havia um foco de LVA no Nordeste, particularmente no estado do Ceará. Naquela época, Evandro Chagas, que estudava a LVA nos estados de Sergipe, Pará e Ceará, também fez uma observação importante, que o inseto hematófago mais frequentemente encontrado, em áreas intradomiciliares e peridomiciliares, era *L. longipalpis*. Desde então, a presença desta espécie tem sido associada a casos de LVA em uma extensa área das Américas, que vai do México à Argentina (LAINSON; RANGEL, 2005; NASCIMENTO et al. 2007).

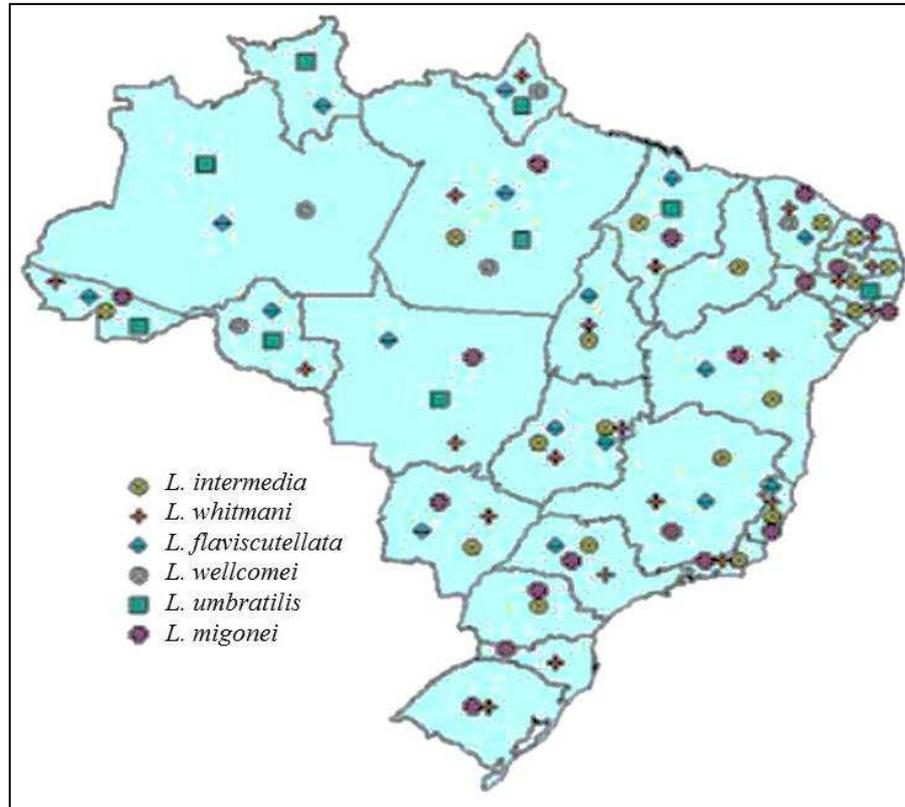
Com relação à LVA no Brasil, até o momento, duas espécies de *Lutzomyia* estão relacionadas com a transmissão da doença, *L. longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) e *L. cruzi*

(Mangabeira, 1938), que apresenta estreito grau de parentesco, ambos antropofílica, presentes em ambientes domiciliares e transmissoras da forma visceral de leishmaniose, causada pela *Le. infantum*. A distribuição geográfica de *L. longipalpis* é ampla e parece estar em expansão, sendo encontrada em quatro regiões geográficas: Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste. Quanto a *L. cruzi*, esta foi incriminada como vetora no estado do Mato Grosso do Sul, onde a *L. longipalpis* é ausente (GALATI et al. 1997; SANTOS et al. 1998; PITA-PEREIRA et al. 2008; ALMEIDA et al. 2010a; BRASIL, 2014).

Já as principais espécies envolvidas na transmissão da LTA no Brasil são: *L. flaviscutellata* (Mangabeira, 1942), de hábitos noturnos e transmissora da *Le. amazonenses* (Root, 1934); *L. whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939), *L. intermedia* (Lutz & Neiva, 1912), *L. wellcomei* (Fraiha, Shaw & Lainson, 1971), *L. pessoai* (Coutinho & Barretto, 1940) e *L. migonei* (França, 1920), bastante antropofílicas, de hábitos diurnos e transmissoras da *Le. braziliensis*; *L. umbratilis* (Ward & Fraiha, 1977), transmissora da *Le. guyanensis* (CAMARGO; BARCINSKI, 2003; BRASIL, 2010).

Estas espécies de flebotomíneos foram definidas como vetoras por atenderem aos critérios que atribuem a uma espécie a competência vetorial, que está disponível no (Anexo F) do Manual de vigilância da LTA, Brasil (2010). A figura 2 apresenta a distribuição geográfica das espécies de flebotomíneos consideradas vetoras de LTA no Brasil.

Figura 2. Distribuição das principais espécies de flebotomíneos vetoras da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) no Brasil.



Fonte: BRASIL, 2010.

Essas espécies são conhecidas por preferir viver em florestas, bosques e áreas de rochas calcárias secundárias, seu potencial de adaptação a qualquer ambiente pode trazer esses vetores para perto de habitações e pode facilitar a transmissão de leishmanioses (DIAS et al. 2007). Assim, o padrão endêmico silvestre foi substituído pela propagação da doença associada com ambientais modificados, ocupação humana desordenada e condições de vida precárias. Isso reduz o espaço ecológico dos vetores e facilita as epidemias (MONTEIRO et al. 2005; DANTAS-TORRES; BRANDÃO-FILHO, 2006).

1.3 Leishmanioses e epidemiologia

Segundo Souza (2010), as leishmanioses foram incluídas no conceito de “doença negligenciada”, porque os investimentos na área farmacêutica para o tratamento da doença ainda são escassos. Essas doenças são endêmicas, e na maioria das vezes acometem populações de baixa renda que vivem, sobretudo, em países em desenvolvimento na África, Ásia e nas Américas, sem condições de arcar com os custos do tratamento, tornando a situação ainda pior, devido ao descaso com essa situação (YAMEY; TORREELE, 2002).

O agente etiológico das leishmanioses são protozoários flagelados pertencentes à ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e gênero *Leishmania* (CARDOSO;

CABRAL, 1998; MARSELLA; GOPEGUI, 1998). As diversas espécies do gênero *Leishmania* são parasitas heteróxenos, pois necessitam de dois hospedeiros para completar o ciclo de vida, um vertebrado (canídeos, roedores, outros mamíferos e seres humanos) e outro invertebrado pertencentes ao gênero *Phlebotomus* no Velho Mundo e do gênero *Lutzomyia* no Novo Mundo (VASSILIOS, 1993; GRIMALDI JR; TESH, 1993).

As leishmanioses são zoonoses, isto é, doenças infecciosas propagadas entre animais das quais o homem não é um hospedeiro obrigatório, mas acidental. Dessa forma, as leishmanioses têm um ciclo natural que não depende do homem. Porém, ao se interferir nesse ciclo, o homem pode adquirir a doença. Por isto, as leishmanioses são particularmente frequentes entre trabalhadores e habitantes das florestas, também, entre invasores esporádicos das florestas como pescadores, turistas e soldados (SILVEIRA et al. 2002).

Estudos mostram que a ocorrência de leishmanioses era quase exclusivamente da zona rural, e está se espalhando em áreas urbanas, superando limites geográficos e tornando-se um grave problema de saúde pública (DANTAS-TORRES; BRANDÃO-FILHO, 2006; NEVES, 2009).

São conhecidas em torno de vinte espécies de *Leishmania* no mundo, capazes de infectar o homem e causar quadros distintos da doença, dependendo das características de virulência da espécie, da resposta imune do hospedeiro, de fatores genéticos e da associação com outras doenças (GRIMALDI et al. 1989; SCHRIEFER et al. 2005; CARVALHO; PASSOS; JESUS, 2005).

Esses parasitos são transmitidos ao homem pela picada da fêmea de um vetor flebotomíneo apresentando diferentes formas clínicas: desde uma úlcera cutânea, em que o paciente pode curar-se espontaneamente, até a forma mais grave das leishmanioses, a forma visceral, que pode levar o paciente à morte quando não tratado (BRASIL, 2010).

Atualmente as leishmanioses ocorrem em 98 países distribuídos em cinco dos seis continentes e sua notificação é compulsória em apenas 30 deles (ALVAR et al. 2012; BRASIL, 2014). Dados da World Health Organization - WHO (2016), indicam que 350 milhões de pessoas estão expostas ao risco de contrair a doença, com registro aproximado de dois milhões de novos casos, das diferentes formas clínicas ao ano.

A LVA é o tipo mais grave das leishmanioses, resultando em mortalidade elevada, se não for tratada precocemente, tem como agente etiológico a *Le. infantum* (sinonímia de *Le. chagasi*), que causa comprometimento de órgãos internos, especialmente o fígado, baço e medula óssea. Na área urbana, o cão (*Canis familiaris*) é a principal fonte de infecção. A enzootia canina tem precedido a ocorrência de casos humanos e a infecção em cães tem sido

mais prevalente do que no homem. No ambiente silvestre, os reservatórios são as raposas (*Dusicyon vetulus* e *Cerdocyon thous*) e os marsupiais (*Didelphis albiventris*). No Brasil, raposas foram encontradas infectadas nas regiões Norte, Nordeste e Sudeste. Os marsupiais didelfídeos foram encontrados infectados no Brasil e na Colômbia (BRASIL, 2014).

Nas últimas décadas, tem se observado uma considerável expansão geográfica da LVA em todas as regiões do Brasil, de maneira que ocorrem em praticamente todos os estados, Alagoas, Bahia, Ceará, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Roraima, Sergipe, São Paulo e Tocantins, sendo a média anual de quatro mil novos casos de LVA, revelando modificações nos seus perfis epidemiológicos. Este processo vem sendo relacionado a questões ambientais e sociais, incluindo o desflorestamento e a urbanização (ASHFORD, 2000; DESJEUX, 2004; LAINSON; RANGEL, 2005).

No Brasil, no período de 2012 a 2014 foram registrados 8.849 casos de LVA com 543 casos de óbitos, sendo 1.536 casos e zero óbitos na Região Norte, 5.076 casos com 325 óbitos no Nordeste, 815 casos com 78 óbitos no Centro-Oeste, 1.415 casos com 140 óbitos no Sudeste e sete (7) casos com zero óbito na região Sul. A região Nordeste representa mais de 50% dos casos da doença e óbitos do país, tendo como principais responsáveis os estados do Maranhão, Ceará, Bahia e Piauí (BRASIL, 2014a,b).

No Maranhão, no período de 2012 a 2014 foram notificados 1.526 casos de LVA, com 74 óbitos, representando o Estado de maior incidência de casos da doença e o segundo estado com maior número de óbitos da região Nordeste, perdendo apenas para o estado do Ceará que notificou 95 casos de óbitos. No município de Caxias foram registrados nos anos de 2012 (21 casos e dois óbitos), 2013 (44 casos e um óbito), 2014 (36 casos e um óbito) e 2015 (19 casos e zero óbito) (BRASIL, 2014a,b; SINAN, 2015).

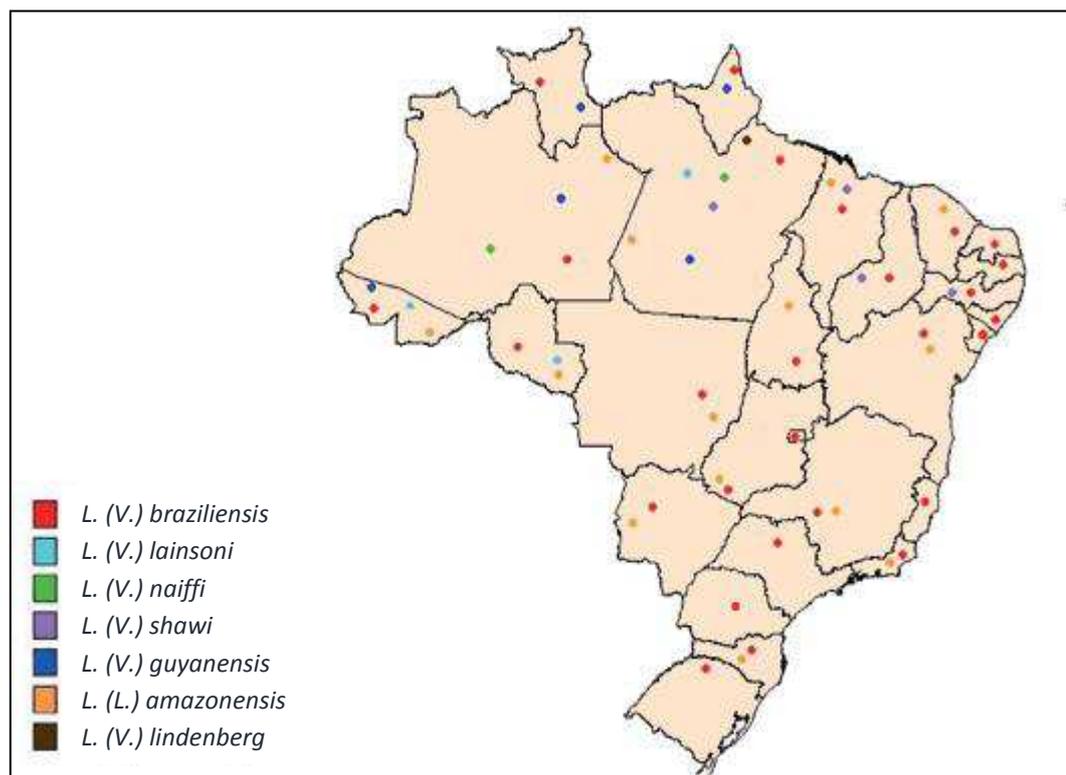
Quanto à LTA, é o tipo mais comum da doença, com maior registro de casos, que causa uma infecção crônica, não contagiosa, e acomete as estruturas da pele e as mucosas do nariz, boca, faringe e laringe, deixando cicatrizes ao longo da vida e deficiência grave. Classicamente se manifesta sob várias formas: a Leishmaniose Cutânea Localizada (LCL), Leishmaniose Cutâneo-Mucosa (LCM), Leishmaniose Cutânea Anérgica Difusa (LCAD) e a Leishmaniose Cutânea Disseminada Borderline (LCDB) (FALQUETO; SESSA, 2005; SILVEIRA et al. 2008; WHO, 2016).

A LCAD é uma doença de difícil tratamento, que pode acarretar deformidades e sequelas, além da parte psicológica do paciente que é muitas vezes afetada em virtude das

mutilações e do preconceito, considerada assim um problema de saúde pública (COSTA, 2005; DIAS et al. 2007; NEVES, 2005).

Nas Américas, são atualmente reconhecidas 11 espécies dermatrópicas de *Leishmania* causadoras de doença humana e oito espécies descritas, somente em animais. No entanto, no Brasil já foram identificadas sete espécies, sendo seis do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania*. Os três principais agentes etiológicos da LTA em humanos são: *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis* e *L. (L.) amazonensis* e, mais recentemente, as espécies *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) lindenberg* e *L. (V.) shawi* que foram identificadas nos estados das regiões Norte e Nordeste (LESSA et al. 2007; BRASIL, 2010). A figura 3 representa a distribuição das principais espécies de *Leishmania* responsáveis pela transmissão da LTA no Brasil.

Figura 3. Distribuição das principais espécies de *Leishmania* responsáveis pela transmissão da LTA no Brasil.



Fonte: BRASIL, 2010.

Estima-se que 0,7 milhões a 1,3 milhões de novos casos ocorrem em todo o mundo anualmente (WHO, 2016). No Continente Americano são apresentados mais de 66.000 casos, (ALVAR et al. 2012) distribuídos desde o meridional dos Estados Unidos até o setentrional da Argentina, exceto o Uruguai e Chile (SKRABA et al. 2014). Os principais

países responsáveis pelos casos registrados na América Latina são: Brasil (26.008 casos/ano), Colômbia (17.420 casos/ano), Peru (6.405 casos/ano), Bolívia (2.647 casos/ano) e Argentina (261 casos/ano) (ALVAR et al. 2012).

No Brasil, na década de 80, a LTA foi registrada em 19 Unidades Federativas, quando em 2003, foi confirmada a autoctonia em todos os estados brasileiros (BRASIL, 2010). No período de 2012 a 2014 foram registrados 61.777 casos, sendo 28.990 na Região Norte, 18.603 no Nordeste, 9.078 no Centro-Oeste, 3.998 no Sudeste e 1.108 na Sul. A região Nordeste comporta pouco mais de 30% dos casos do país, tendo como principais responsáveis os estados do Maranhão, Ceará, Bahia e Pernambuco (BRASIL, 2014c).

No Maranhão, no período de 2012 a 2014 foram notificados 6.354 casos de LTA, representando o segundo estado da região Nordeste com maior número de casos da doença, perdendo apenas para o estado da Bahia. No município de Caxias foram registrados nos anos de 2012 (22 casos), 2013 (nove casos), 2014 (23 casos) e 2015 (29 casos) (BRASIL, 2014c; SINAN, 2015).

1.3 Infecção natural em flebotomíneos por *Leishmania* spp.

A infecção de flebotomíneos por *Leishmania* era anteriormente investigada através da dissecação do trato digestivo do inseto, seguido do exame microscópio direto (SILVA; GOMES, 2001; OLIVEIRA-PEREIRA et al. 2006). A confirmação da espécie de *Leishmania* no inseto vetor é essencial, e as diferentes espécies desse parasito apresentam distribuição diferencial ao longo do tubo digestivo nos vetores. Porém, os flebotomíneos podem também albergar algumas espécies de *Trypanosoma* e *Endotrypanum* que passam por um estágio de promastigota indistinguível de *Leishmania*, dificultando o diagnóstico microscópio pela semelhança (TESH; MODI, 1984; SHAW; LAINSON, 1987; RODRIGUEZ et al. 1994; LAINSON, 2010).

Esse método clássico de dissecação para observação microscópica é laborioso e exige experiência e perícia técnica do profissional. Além disso, não têm a sensibilidade para a identificação da espécie parasita (ARANSAY et al. 2000; PEREZ et al. 2007).

Outra metodologia consiste no uso de anticorpos monoclonais espécie-específicos, em ensaios imunoenzimáticos, para a identificação da espécie de *Leishmania* presente no vetor que permite a avaliação de um grande número de exemplares (ADINI et al. 1998).

Estudos recentes, baseados em métodos moleculares como a reação em cadeia da polimerase (PCR), para pesquisa de DNA de *Leishmania*, tem aumentado a sensibilidade,

versatilidade, velocidade e especificidade da identificação do parasita no vetor (DOUGALL et al. 2011; MARCELINO et al. 2011; MICHALSKY et al. 2011; PITA-PEREIRA et al. 2011; VASCONCELOS et al. 2011; COELHO et al. 2011; BACHA et al. 2011). Além de possibilitar maior rapidez na análise de uma grande amostragem (BARKER, 1989; MICHALSKY et al. 2002), a técnica permite trabalhar com insetos mantidos a seco, congelados ou conservados em etanol, sem interferir no desempenho da reação (PAIVA et al. 2007).

Como métodos adicionais para identificar a espécie de *Leishmania* encontradas no vetor, são utilizadas as análises de polimorfismos de tamanho dos fragmentos de restrição (RFLP), hibridização com sondas específicas para subgênero, complexo ou espécie, realização de um segundo ensaio de PCR com iniciadores espécie-específicos e sequenciamento (GARCIA et al. 2007; JORQUERA et al. 2005; MARTIN-SÁNCHEZ et al. 2006; PITA-PEREIRA et al. 2005).

Esses métodos de amplificação gênica por PCR vêm se mostrando cada vez mais úteis tanto na identificação das espécies de *Leishmania* como no diagnóstico da doença. Todavia, o sistema público de saúde não está capacitado para a utilização desses métodos, seja pela falta de treinamento dos profissionais da saúde, seja pela falta de reagentes e equipamentos (CAMARGO; BARCINSKI, 2003).

Nesse contexto, a realização de estudos sobre a prevalência de infecção por *Leishmania* em flebotomíneos tornam-se importantes indicadores sobre a intensidade da transmissão do parasito (ROSSI et al. 2008; SOARES et al. 2010).

A utilização de métodos moleculares, para detectar a infecção natural de flebotomíneos por *Leishmania*, é incipiente no estado do Maranhão, tendo registro apenas em trabalhos desenvolvidos por Oliveira-Pereira et al. (2006) no município de Buriticupu e Soares et al. (2010) nos municípios de Raposa, São José de Ribamar, Paço do Lumiar e São Luís. No município de Caxias esses estudos foram realizados somente por Nascimento et al. (2013) e Guimarães-e-Silva (2016).

As dificuldades enfrentadas pelos programas de controle de doenças transmitidas por vetores como as leishmanioses no Brasil estão relacionadas principalmente com o controle dos vetores e ao tratamento (BARRETO et al. 2011). De forma geral, as leishmanioses se apresentam como doenças focais, ou seja, a maior parte dos casos está concentrada em uma área específica, onde flebotomíneos vetores, hospedeiros reservatórios e população susceptível se encontram e interagem (DANTAS-TORRES et al. 2010).

O município de Caxias sofre um grave problema epidemiológico com ocorrência de leishmanioses, pois a doença está presente em vários bairros da cidade. Diante da persistência e do aumento do número de casos, estas zoonoses vêm causando um grande impacto na saúde pública. Um dos fatores que favorece a proliferação dos vetores e aumento de casos da doença, é o processo de urbanização que o município vem sofrendo nas últimas décadas, ocasionado por intenso desmatamento da cobertura vegetal para expansão do setor de construção de áreas residenciais nas áreas periféricas.

Estudos preliminares realizados no Município constataram a presença e maior frequência da espécie *L. longipalpis*, principal vetor da LVA, seguido por *L. whitmani*, principal vetor da LTA (GUIMARÃES-E-SILVA et al. 2012), no entanto, muitos aspectos ainda precisam ser estudados, para ter informações que auxiliem nas medidas de controle dos vetores, como conhecer a frequência, a distribuição e aspectos ecológicos das espécies.

Além disso, o diagnóstico da infecção natural de flebotomíneos através de técnicas moleculares, representa um importante método para subsidiar os programas de controle de Leishmanioses, pois possibilita detectar as espécies do parasita presentes na área de estudo e de flebotomíneos efetivamente vetores na área, com suas respectivas taxas de infecção. Essas informações são de grande relevância para o entendimento dos aspectos adaptativos e de urbanização desses vetores na região.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- Investigar a ocorrência das espécies de flebotomíneos e avaliar a infecção natural destes insetos por *Leishmania*, em duas áreas periurbanas de transmissão para leishmanioses do município de Caxias, Maranhão.

2.2 Específicos

- Determinar a diversidade, frequência e abundância relativa das espécies de flebotomíneos;
- Verificar a distribuição mensal, ocorrência sazonal das espécies de flebotomíneos e correlacionar com as médias de temperatura, umidade relativa do ar e pluviosidade;
- Identificar as espécies vetoras de LVA e LTA nas áreas pesquisadas;
- Detectar a infecção natural em fêmeas de flebotomíneos por protozoários do gênero *Leishmania*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

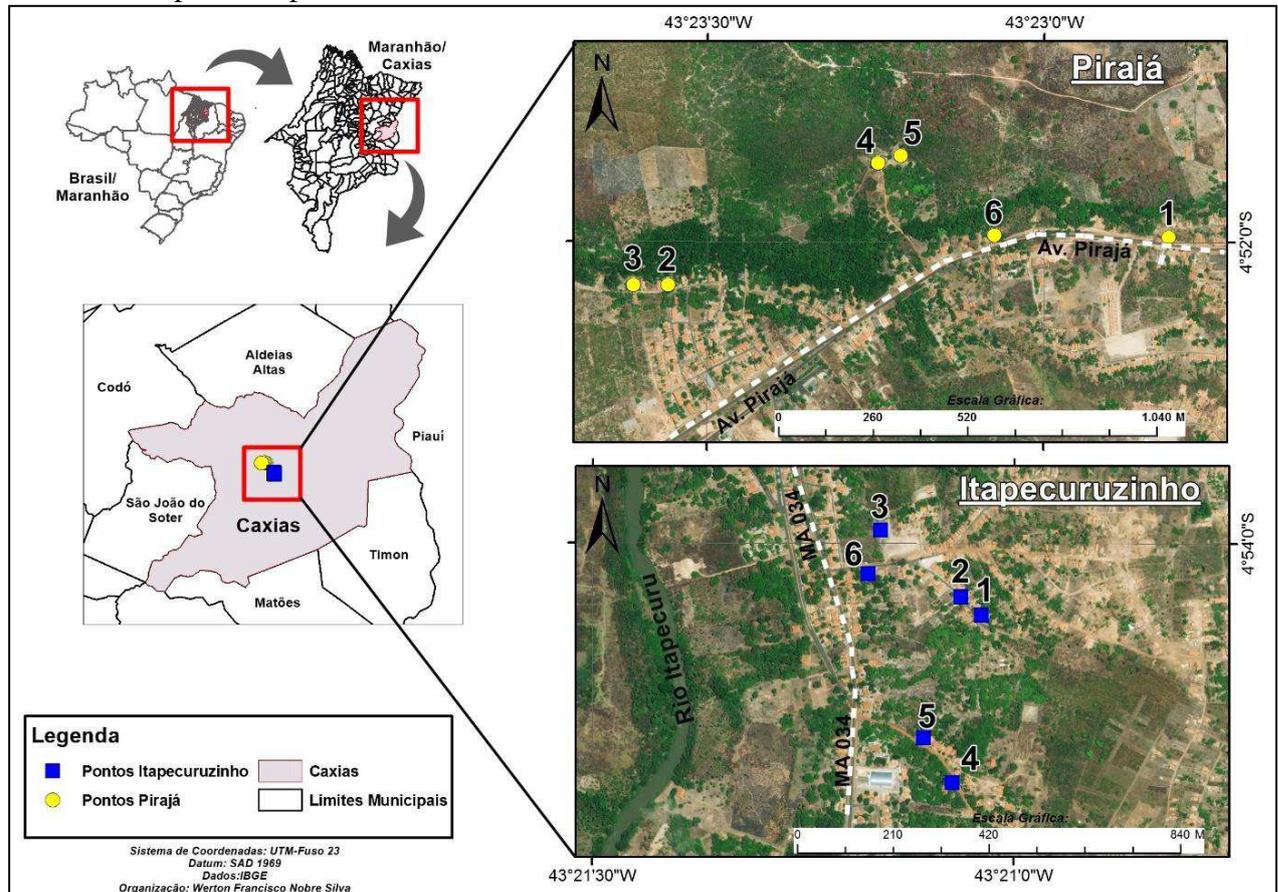
3.1 Descrição da área de estudo

O município de Caxias, localizado na região leste do Maranhão, está situado entre as coordenadas a 04°51'32"S e 43°21'22"W. Possui área de 5.150,667 km² com população estimada de 159.396 habitantes. Limita-se ao norte com os municípios de Codó, Aldeias Altas e Coelho Neto; ao sul com os municípios de São João do Sóter, Matões e Parnarama; a leste com o município de Timon e o Estado do Piauí; e a oeste com o município de Gonçalves Dias (IBGE, 2013).

O clima da cidade é predominantemente tropical, muito quente e sub-úmido, com dois períodos definidos, de chuvas (janeiro a junho) e seco (julho a dezembro). Este município caracteriza-se por apresentar cobertura vegetal típica da zona dos cocais, sendo transição entre a Floresta Amazônica e o Cerrado. A temperatura média varia entre 26,1°C, no período chuvoso, a 35,6°C, no período seco. A média anual de umidade relativa do ar é de 70%, a máxima ocorre nos meses de março e abril, com valor de 83%, enquanto no período seco o valor pode chegar a 57%. A precipitação média anual é de 1.454,6 mm (GEPLAN, 2002).

Para a realização desta pesquisa, foram selecionados os bairros Pirajá e Itapecuruzinho, por serem considerados como periurbanos, e por apresentarem nos últimos cinco anos notificação de casos humanos e caninos de LVA e LTA, conforme dados cedidos pelo Centro de Controle de Zoonoses – CCZ, Prefeitura Municipal de Caxias (Figura 4).

Figura 4. Localização do município de Caxias e os bairros pesquisados, Pirajá e Itapecuruzinho, com seus respectivos pontos de coleta, Caxias, Maranhão, Brasil.



Fonte: IBGE,2006; Organização: SILVA, W.F.N 2016.

3.2 Caracterização dos bairros de coleta

O bairro Pirajá, localizado na zona oeste do município de Caxias, é considerado periurbano, pois possui algumas ruas pavimentadas, com a maioria das residências situada em terrenos amplos o que dificulta a limpeza, favorecendo o armazenamento de entulhos. Durante o período de janeiro a dezembro de 2015, apresentou Temperatura máxima (T_{máx.}) variando entre 24°C e 38°C, Temperatura mínima (T_{mín.}) entre 23°C e 28°C e Umidade máxima (Umáx.) entre 42% a 88%, Umidade mínima (Umín.) mínima entre 34% a 67%. O período chuvoso é de janeiro a junho e o período seco de julho a dezembro (GEPLAN, 2002).

As residências onde foram instaladas as armadilhas possuem características de ambiente rural, possuem extensas áreas peridomiciliares com abrigos de animais domésticos muito próximos das habitações, e extradomiciliar, mais afastado das residências, com a maioria das áreas pouco perturbadas apresentando extensa vegetação. Na maioria dos quintais das residências, passa o riacho Sanharol que corta o bairro, no qual as armadilhas do extradomicílio foram instaladas bem próximas desse riacho com distância de

aproximadamente 4m, que contribui para uma temperatura mais amena, com umidade no ar elevada (Figura 5).

Figura 5. Pontos de coleta, (A e C), peridomicílio mostrando as armadilhas instaladas no galinheiro e chiqueiro; (B e D) extradomicilio mostrando as armadilhas instaladas na mata, bairro Pirajá.

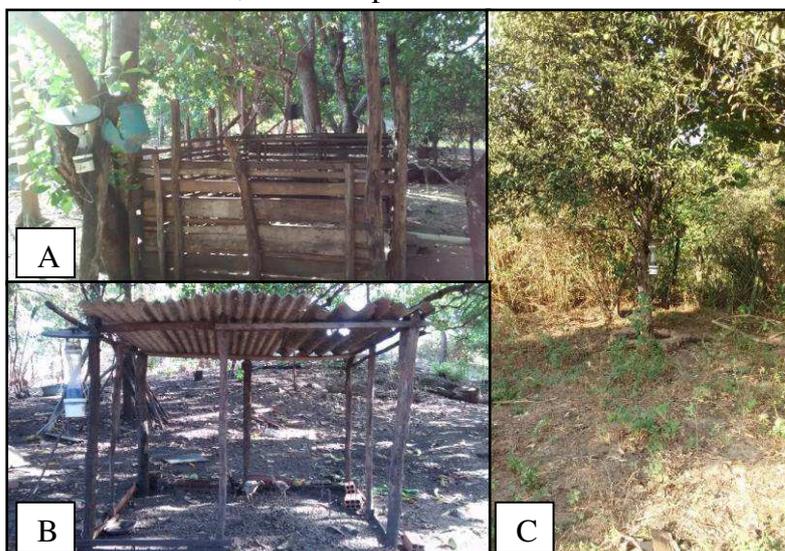


Fonte: Silva, R.C.R. (2015).

O bairro Itapecuruzinho, localizado na zona sul do município de Caxias, também é considerado periurbano, porém cobertura vegetal menos densa, evidenciando maior ação antrópica. Durante o período de janeiro a dezembro de 2015 apresentou $T_{máx.}$ variando entre 24°C e 32°C, $T_{mín.}$ entre 23°C e 28°C e $U_{máx.}$ entre 44% a 88%, $U_{mín.}$ entre 34% a 55%.

O bairro é cortado pelo rio Itapecuru, porém os pontos de coleta estão afastados do rio com distância de aproximadamente de 300m. As residências onde foram instaladas as armadilhas possuem no peridomicilio abrigos de animais domésticos próximos das habitações, e extradomiciliar que se configura em áreas agrofloretais com vegetação fragmentada entre as residências. Dessa forma, as áreas são mais abertas, assim, sujeitas a receber mais calor (Figura 6).

Figura 6. Pontos de coleta: (A e B) peridomicílio representando as armadilhas instaladas no chiqueiro e galinheiro; (C) extradomicílio representando armadilha instalada na mata, bairro Itapecuruzinho.



Fonte: Silva, R.C.R. (2015).

3.3 Método de captura dos flebotomíneos

As coletas foram realizadas mensalmente de janeiro a dezembro de 2015, em parceria com os agentes de endemias do município de Caxias.

Para a captura dos flebotomíneos foram selecionadas seis residências em cada bairro, totalizando 12 casas, distando em média dez metros uma da outra para não sobrepor os pontos de coleta (residências), que foram georreferenciados com auxílio de GPS (Sistema de Posicionamento Global) (Tabela 1).

Em cada residência foram instaladas duas armadilhas luminosas tipo CDC (*Center of Disease Control*), alimentadas com baterias de 6 Volts (SUDIA; CHAMBERLAIS, 1962), totalizando 24 armadilhas.

As armadilhas de cada bairro, foram numeradas de 1 a 6, sendo que em cada casa selecionada foram colocadas a 1,5m de altura do solo durante duas noites consecutivas a cada mês, instaladas às 18h00 e retiradas às 6h00 do dia seguinte, uma no peridomicílio nos abrigos de animais domésticos (chiqueiros, galinheiros e estábulos), quando tinha, com distância de 1 a 30 metros das habitações e outra no extradomicílio (mais próxima da mata) com distância de 30 a 100 metros das casas.

Tabela 1. Relação dos pontos de coletas dos bairros, Piarajá e Itapecuruzinho, e suas respectivas localizações geográficas.

Pontos de coleta	Pirajá	Itapecuruzinho
	Coordenadas Geográficas	Coordenadas Geográficas
1	S = 4°51'58.46" W = 43°22'48.70"	S = 4°54'05.56" W = 43°21'02.33"
2	S = 4°52'04.14" W = 43°23'34.21"	S = 4°54'03.86" W = 43°21'03.67"
3	S = 4°52'04.14" W = 43°23'37.82"	S = 4°53'58.91" W = 43°21'09.73"
4	S = 4°51'53.20" W = 43°23'14.88"	S = 4°54'17.30" W = 43°21'04.37"
5	S = 4°51'52.79" W = 43°23'13.61"	S = 4°54'14.11" W = 43°21'06.21"
6	S = 4°51'59.56" W = 43°23'04.95"	S = 4°54'02.12" W = 43°21'10.52"

1 a 6 = representam as residências

3.4 Processamento do material coletado

As armadilhas com os insetos retidos foram transportadas para o Laboratório de Entomologia do CCZ de Caxias, no qual os insetos foram sacrificados por resfriamento em freezer a -20°C, que posteriormente foram colocados em placas de Petri para triagem sob Estereomicroscópio, para separar os flebotomíneos de outros insetos, bem como, os machos das fêmeas.

Para identificação dos espécimes machos, foram colocados em placas de Petri numa solução de hidróxido de potássio (KOH) a dez por cento por duas horas, para amolecimento da quitina. Após esse período retirou-se a KOH e adicionou-se ácido acético por 30 minutos, para retirar o excesso do KOH e posteriormente lavou-se em água destilada por três seções de 15 minutos e permaneceram por 24 horas no lactofenol, para a diafanização (Vilela et al. 2003). Finalmente foram montados entre lâmina e lamínula em líquido de Berlese e identificados pelo exame dos caracteres morfológicos bem evidenciados por diafanização, com auxílio de chave taxonômica proposta por Young e Duncan (1994).

Após a identificação os espécimes foram devidamente registrados de acordo com a área de coleta destacando-se, nome do bairro, local de coleta (peridomicílio e extradomicílio), código da armadilha, data de coleta, dentre outros.

Para a identificação das fêmeas, ingurgitadas e não ingurgitadas, foram utilizados estiletos estéreis para a retirada dos três últimos segmentos abdominais, onde está localizada a genitália, e colocados em imunoplasca (Elisa) de 96 poços profundos e transparente, para não haver mistura de material. Posteriormente para diafanização e identificação do material seguiu-se os mesmos procedimentos dos espécimes machos.

A cabeça, o tórax e o abdômen dos espécimes fêmeas foram acondicionados em tubos do tipo *Eppendorf* de 1,5ml a seco a -20°C , devidamente registrados de acordo com a área de coleta destacando-se, nome do bairro, código da armadilha, local e data de coleta e o nome da espécie identificada, para posterior extração de DNA.

O processo de identificação das fêmeas foi diferente dos machos, pois somente as fêmeas foram utilizadas para a realização das análises moleculares: extração de DNA, realização da PCR e reações de RFLP (cortes com enzimas de restrição).

3.5 Análise Molecular da Infecção por *Leishmania* sp.

3.5.1 Extração de DNA das fêmeas de flebotomíneos

Foram selecionadas 212 Fêmeas de flebotomíneos ingurgitadas, alternadas por mês (janeiro, março, maio, julho, setembro e dezembro). Os insetos foram colocados individualmente em tubos *Eppendorfs* de 1,5ml e codificadas de 1 a 212, onde foi processada a extração de DNA, utilizando Kit de Extração de tecidos e células Genra Puregene® da QIAGEN seguindo o protocolo de Mukhopadhyay et al. (2000), modificado por Pereira (2006).

Posteriormente foi realizada reações de PCR utilizando os *primers*: (5'-GTGGCCGAACATAATGTTAG-3' e 5'-CCACGAACAAGTTCAACATC-3') que amplificam a região genômica IVS6 do gene da cacofonia, constitutivo do gênero *Lutzomyia* a 200pb, de acordo com protocolo estabelecido por Lins et al. (2002). Esse processo foi realizado para avaliar a extração do DNA, para excluir a possibilidade de inibição da PCR e para servir como um controle para o processo de extração. O protocolo foi baseado em Saraiva et al. (2010). Foram utilizados controles positivo (DNA obtido a partir de *L. longipalpis* criado em laboratório) e negativo (ausência de DNA), em todas as reações de PCR.

3.5.2 PCR para detectar DNA de *Leishmania* sp. e PCR-RFLP para a identificação das espécies de *Leishmania* spp.

Para a detecção de *Leishmania* sp. nas amostras de DNA dos flebotomíneos, foram realizadas reações de PCR da região intergênica de *Leishmania* ITS1 (*Internal Transcribed Spacer* ITS1), que amplifica um fragmento de aproximadamente 300 a 350 pares de bases. Foram utilizados os *primers*: (LITSR-5'-CTGGATCATTTTCCGATG-3' e L5.8S5'-TGATACCACTTATCGCACTT-3') segundo Schonian et al. (2003). Três microlitros do produto da PCR foram analisados em gel de poliacrilamida 5% não desnaturante (SAMBROOK et al. 1989), corado por nitrato de prata (SANTOS et al. 1993).

Em todas as reações, foram utilizados controles positivos de cepas de referência da Organização Mundial de Saúde (OMS): *Le. amazonensis* (IFLA/BR/1967/PH8), *Le. guyanensis* (MHOM/BR/1975/M1176), *Le. braziliensis* (MHOM/BR/1975/M2903), *Le. lainsoni* (MHOM/ BR/81/M6426), *Le. naiiffi* (MDAS/BR/1979/M5533), *Le. shawi* (MCEB/BR/1984/M84408) e *Le. infantum* (MHOM/1973/BH46).

A identificação ao nível específico de *Leishmania* spp. foi realizada utilizando a técnica de Polimorfismo por Tamanho de Fragmento de Restrição (PCR-RFLP). Os produtos de PCR amplificados foram submetidos à digestão com a enzima de restrição *HaeIII*. A reação de digestão foi preparada para um volume final de 10 μ L, contendo 0,2 μ L de *HaeIII* (10U/ μ L), 1,8 μ L de tampão da enzima, 3,0 μ L de H₂O destilada e 5,0 μ L de produto de PCR. A mistura foi incubada por 1h a 37°C, e os perfis de restrição foram analisados em gel de poliacrilamida 5% não desnaturante, corado por nitrato de prata e comparados com os padrões obtidos pela digestão dos produtos da ITS1-PCR das cepas de referência para confirmação das espécies.

3.5.3 Eletroforese em gel de poliacrilamida

Para detecção e análise dos produtos da PCR os mesmos foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE) a 5%, conforme descrito por Sambrook et al. (1989). Três microlitros do produto da PCR foram adicionados a cinco microlitros do tampão de amostra 5X (azul de bromofenol 0,5%, Xilenocianol 0,5%, Ficoll a 15 %) e aplicados no gel. A corrida eletroforética foi realizada a 80 – 100 volts por cerca de 1h realizada em tampão TBE 1X (89mM de Tris base pH 8,0; 89mM de ácido bórico e 2,0 mM de EDTA).

Após a corrida, os géis foram colocados em soluções fixadoras seguindo o protocolo de Santos et al. (1993), que posteriormente foram visualizados no transluminador e fotografados para documentação e análise dos resultados.

3.6 Inferência da taxa de infecção natural

A Taxa de infecção Natural (TN) foi estimada como descrito por Paiva et al. (2006), o que corresponde ao número de amostras positivas x 100/número total de insetos amostrados.

3.7 Estudo das variáveis ambientais

Os dados climatológicos de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) foram registrados no local da coleta com utilização de termo-higrômetro digital ITHT-2200 (Instrutemp) e medidos no momento de instalação e retirada das armadilhas. Os dados da

pluviosidade (mm³), referente ao período de estudo foram obtidos junto à Estação Meteorológica e Climatológica Principal de Caxias (ESMET/CP/Caxias-MA).

3.8 Análises estatísticas

Para verificar a distribuição de normalidade das variáveis, foi realizado os testes de Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk e Lilliefors. Como estes não se ajustaram à distribuição normal, análises não-paramétricas correspondentes foram utilizadas.

Para se verificar a frequência das espécies nos bairros, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis (H). O valor de H calculado para cada análise foi comparado ao valor de H definido na tabela de *quantis* para a estatística de teste de Kruskal-Wallis.

Quando o valor de p foi menor ou igual a 0,05, rejeitou-se a hipótese de medianas iguais, e prosseguiu-se com o teste de Dunn, de comparação de medianas *a posteriori* (SIQUEIRA; TIBÚRCIO, 2011).

Para se verificar diferenças entre o número de espécimes coletados por bairro (Pirajá e Itapecuruzinho) ao se considerar espécimes e meses de coleta, por sexo (machos e fêmeas), por local de coleta (peridomicílio e extradomicílio), por meses e por período (chuvoso e seco) utilizou-se o teste de Mann-Whitney (U). O valor de U calculado para cada análise foi comparado ao valor de U definido na tabela de valores críticos para a estatística de teste de Mann-Whitney (SIQUEIRA; TIBÚRCIO, 2011).

Para o cálculo do índice de constância dos flebotomíneos, foi determinado com base no percentual de coletas de cada espécie, calculado de acordo com o modelo a seguir: $IC = (P \times 100) / N$, onde P é o número de meses em que uma determinada espécie foi capturada e N é o número total dos meses pesquisados. Os valores calculados de IC permitiram agrupar as espécies em três categorias: constantes (IC>50%), acessórias (IC>25%<50%) e acidentais (IC<25%) (SILVEIRA NETTO et al. 1976).

O coeficiente de correlação de Spearman (r_s) entre o número de espécimes encontrados e as variáveis climatológicas pluviosidade, temperatura (máxima e mínima), umidade relativa do ar (máxima e mínima), medidas ao longo dos meses, também foi utilizado seguindo o modelo adotado por Vilela et al. (2011). Além disso, foi considerada a classificação de magnitude proposta por Dancey e Reidy (2005) para a correlação de Spearman: para o valor de r_s variando de 0,10 até 0,39, a correlação é fraca; quando r_s variou de 0,40 até 0,69, a correlação foi dita moderada; e para valor de r_s de 0,70 até 1, considerou-se a correlação forte. Essa classificação é válida tanto para valor de r_s positivo ou negativo (DANCEY; REIDY, 2005).

Adotou-se o nível de significância de 5%. O banco de dados foi elaborado utilizando-se o software Microsoft Excel 2007 e as análises de dados foram realizadas por meio dos pacotes estatísticos *GraphPad Prism* version 5.03 (La Jolla, CA, USA) e Bioestat versão 5.0 (Belém, Pará, Brasil).

Os valores de p , significativos ao nível citado (5%), foram destacados no texto, tabelas e gráficos com asterisco (*). Para $p \leq 0,05$ adotou-se um asterisco (*), para $p \leq 0,01$ utilizou-se dois asteriscos (**) e para $p \leq 0,0001$ foram adotados três asteriscos (***) (SIQUEIRA; TIBÚRCIO, 2011).

O guia adotado para formatação do trabalho foi o Manual de Normas Para Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Ambiente e Saúde.

4 RESULTADOS

4.1 Frequência e diversidade de espécies capturadas

No período, de janeiro a dezembro de 2015, foi capturado um total de 16.332 flebotomíneos, sendo 83,99% (N= 13.717) coletados no bairro Pirajá e 16,01% (N= 2.615) no Itapecuruzinho, pertencentes a 20 espécies distribuídas em dois gêneros: 19 espécies do gênero *Lutzomyia* França, 1924 e uma espécie do gênero *Brumptomyia* França & Parrot, 1921 (Tabela 2).

Em relação à diversidade de espécies encontradas em cada bairro pesquisado, no Pirajá foram identificadas 17 espécies e no Itapecuruzinho 16. As espécies *L. saulensis*, *L. begoniae*, *L. intermedia* e *L. aragaoi* foram capturadas somente no Pirajá, enquanto que as espécies *L. cortelezzi*, *L. sallesi* e *L. abonnenci* foram encontradas apenas no bairro Itapecuruzinho (Tabela 2).

Quando comparada a frequência dessas espécies de flebotomíneos entre os bairros, Pirajá e Itapecuruzinho, durante todo o período de coleta, verificou-se que 13 espécies identificadas ocorreram nos dois bairros, dentre estas, oito, *L. longipalpis* (U = 137,5; **p = 0,0020), *L. whitmani* (U = 82,50; ***p < 0,0001), *L. evandroi* (U = 192,5; *p = 0,0493), *L. lenti* (U = 163,0; **p = 0,0089), *L. gomezi* (U = 64,00; ***p < 0,0001), *L. flaviscutellata* (U = 93,00; ***p < 0,0001), *L. rabelloi* (U = 127,0; ***p < 0,0001) e *L. antunesi* (U = 148,0; ***p = 0,0005), foram mais frequentes no bairro Pirajá que no Itapecuruzinho, apresentando diferenças significativas em suas medianas (Tabela 2).

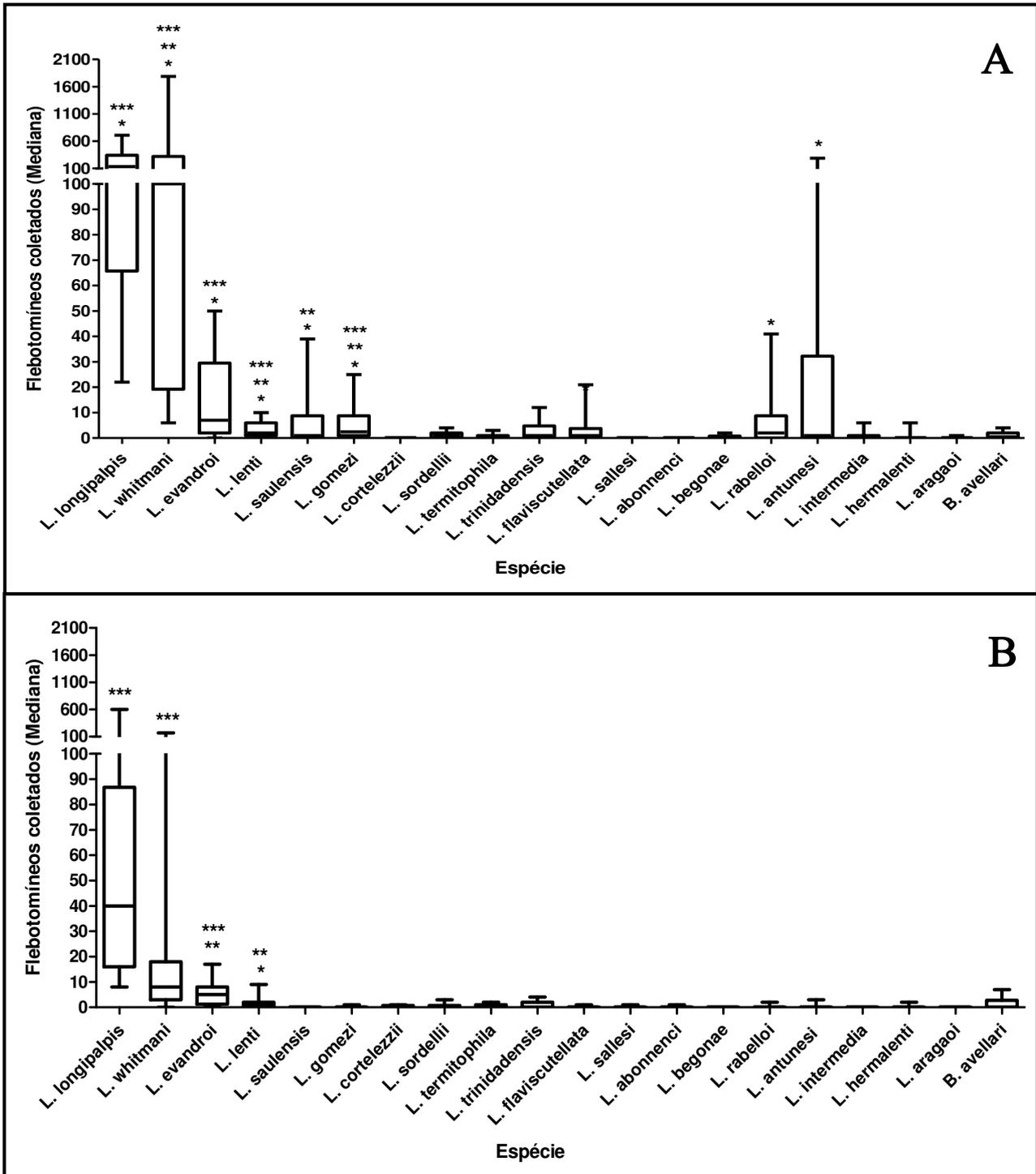
Tabela 2. Distribuição das espécies de flebotomíneos e comparação da frequência das espécies entre os bairros, Pirajá e Itapecuruzinho, Caxias, Maranhão, janeiro a dezembro 2015.

Espécie	Pirajá		Itapecuruzinho		U	P
	N	%	N	%		
<i>L. longipalpis</i>	5.155	37,58	1.881	71,93	137,5	0,0020**
<i>L. whitmani</i>	6.548	47,74	478	18,28	82,50	< 0,0001***
<i>L. evandroi</i>	352	2,57	125	4,78	192,5	0,0493*
<i>L. lenti</i>	87	0,63	36	1,38	163,0	0,0089**
<i>L. saulensis</i>	181	1,32	-	-	-	-
<i>L. gomezi</i>	129	0,94	1	0,04	64,00	< 0,0001***
<i>L. cortelezzii</i>	-	-	6	0,23	-	-
<i>L. sordellii</i>	26	0,19	11	0,42	286,5	0,9794
<i>L. termitophila</i>	14	0,10	12	0,46	270,0	0,6753
<i>L. trinidadensis</i>	58	0,42	22	0,84	209,5	0,0869
<i>L. flaviscutellata</i>	67	0,49	3	0,11	93,00	< 0,0001***
<i>L. sallesi</i>	-	-	1	0,04	-	-
<i>L. abonnenci</i>	-	-	1	0,04	-	-
<i>L. begonae</i>	8	0,06	-	-	-	-
<i>L. rabelloi</i>	157	1,14	2	0,08	127,0	< 0,0001***
<i>L. antunesi</i>	880	6,42	4	0,15	148,0	0,0005***
<i>L. intermedia</i>	15	0,11	-	-	-	-
<i>L. hermanlenti</i>	10	0,07	3	0,11	263,5	0,3889
<i>L. aragaoi</i>	2	0,01	-	-	-	-
<i>B. avellari</i>	28	0,20	29	1,11	272,5	0,7351
Nº de indivíduos	13.717	100,00	2.615	100,00		
Total de indivíduos		16.332				
% de indivíduos	83,99		16,01			
Nº de espécies	17		16			

L. = *Lutzomyia*; *B.* = *Brumptomyia*; N = número de espécimes; % = porcentagem; U = valor de Mann – Whitney; p = valor de p (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,0001)

Ao comparar a frequência de flebotomíneos coletados por espécie, verificou-se que, no bairro Pirajá, das 17 espécies encontradas, oito, *L. longipalpis*, *L. whitmani*, *L. evandroi*, *L. lenti*, *L. saulensis*, *L. gomezi*, *L. rabelloi* e *L. antunesi* foram as mais frequentes em relação as demais, apresentando diferenças significativas em suas medianas (H = 275,2; ***p < 0,0001) (Figura 7A). No Itapecuruzinho, quando realizada a mesma comparação, das 16 espécies identificadas nesse bairro, quatro, *L. longipalpis*, *L. whitmani*, *L. evandroi* e *L. lenti* foram as espécies mais frequentes (H = 299,0; ***p < 0,0001) (Figura 7B).

Figura 7. Comparação da frequência de flebotomíneos coletados por espécie, município de Caxias, Maranhão, de janeiro a dezembro de 2015. (A) Bairro Pirajá. (B) Bairro Itapecuruzinho. Os asteriscos indicam diferenças estatísticas a diferentes níveis de significância nas espécies que apresentaram maiores medianas comparadas as de outras espécies, onde * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,0001$.



4.2 Distribuição dos flebotomíneos por sexo nos bairros de coleta

Verificou-se, que os flebotomíneos machos (N= 10.511) predominaram sobre as fêmeas (N= 5.821), correspondendo a 64% dos espécimes coletados (Tabela3).

Ao comparar as medianas dos espécimes de flebotomíneos por sexo, entre os períodos, chuvoso (janeiro a julho) e seco (agosto a dezembro), nos dois bairros, verificou-se que, no Pirajá o encontro de espécimes machos foi maior no período seco (90,65%) que no chuvoso (77,08%), porém essas diferenças não foram significativas. Em relação ao Itapecuruzinho verificou-se que, houve maior encontro de espécimes machos no período chuvoso (22,92%) que no seco (9,35%), apresentando valores significativos (U = 0; *p = 0,0286) (Tabela 3).

Em relação aos espécimes fêmeas, verificou-se que, no bairro Pirajá estas foram mais encontradas no período seco (90,56%) que no chuvoso (74,62%). Quanto ao Itapecuruzinho o encontro de espécimes fêmeas foi maior no período chuvoso (25,38%) que no seco (9,44%). Entretanto não apresentaram diferenças significativas (Tabela 3).

Tabela 3. Comparação das medianas dos espécimes de flebotomíneos por sexo, entre os períodos chuvoso e seco, nos bairros Pirajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.

Bairro	Machos				U	P	Fêmeas				U	p
	Chuvoso		Seco				Chuvoso		Seco			
	N	%	N	%			N	%	N	%		
Pirajá	3.939	77,08	4.896	90,65	7,00	0,8857	1.823	74,62	3.059	90,56	3,00	0,2000
Itapecuruzinho	1.171	22,92	505	9,35	0	0,0286*	620	25,38	319	9,44	1,00	0,571
N° de indivíduos	5.110	100,00	5.401	100,00			2.443	100,00	3.378	100,00		
Total de indivíduos	10.511						5.821					
% de indivíduos	64,36						35,64					

N = número de espécimes; % = porcentagem; U = valor de Mann-Whitney; p = valor de p (*p < 0,05)

Ao comparar as espécies dos flebotomíneos entre os sexos, no período chuvoso, de cada bairro, verificou-se que no Pirajá, as espécies que obtiveram mais fêmeas que machos foram *L. saulensis* (U = 43,0; *p = 0,0405), *L. sordellii* (U = 27,50; **p = 0,0034) e *L. flaviscutellata* (U = 38,50; *p = 0,0232). Já as espécies identificadas do bairro Itapecuruzinho não apresentaram diferenças significativas quando comparadas por sexo (Tabela 4).

Tabela 4. Comparação das espécies de flebotomíneos entre os sexos, no período chuvoso, nos bairros Pirajá e Itapecuruzinho, localizados no município de Caxias, Maranhão, 2015.

Espécie	Pirajá				U	p	Itapecuruzinho				U	p
	Machos		Fêmeas				Machos		Fêmeas			
	N	%	N	%			N	%	N	%		
<i>L. longipalpis</i>	1.430	36,33	729	39,92	53,50	0,2985	908	77,41	449	72,65	60,00	0,5064
<i>L. whitmani</i>	2.432	61,79	937	51,31	48,00	0,1749	219	18,67	103	16,67	60,00	0,5064
<i>L. evandroi</i>	27	0,69	37	2,03	58,50	0,4435	27	2,30	32	5,18	54,50	0,3179
<i>L. lenti</i>	23	0,58	11	0,60	58,00	0,4100	15	1,28	5	0,81	61,50	0,5042
<i>L. saulensis</i>	2	0,05	16	0,88	43,00	0,0405*	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. gomezi</i>	12	0,30	16	0,88	65,50	0,6886	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. cortelezzi</i>	0	0,00	0	0,00	-	-	1	0,09	2	0,32	66,00	0,5797
<i>L. sordellii</i>	1	0,03	17	0,93	27,50	0,0034**	0	0,00	10	1,62	-	-
<i>L. termitophila</i>	1	0,03	8	0,44	52,50	0,1223	1	0,09	5	0,81	59,00	0,2662
<i>L. trinidadensis</i>	0	0,00	11	0,60	-	-	2	0,17	7	1,13	59,50	0,2860
<i>L. flaviscutellata</i>	8	0,20	24	1,31	38,50	0,0232*	0	0,00	1	0,16	-	-
<i>L. sallesi</i>	0	0,00	0	0,00	-	-	0	0,00	1	0,16	-	-
<i>L. abonnenci</i>	0	0,00	0	0,00	-	-	0	0,00	1	0,16	-	-
<i>L. begoniae</i>	0	0,00	2	0,11	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. rabelloi</i>	0	0,00	14	0,77	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. antunesi</i>	0	0,00	1	0,05	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. intermedia</i>	0	0,00	1	0,05	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. hermanlenti</i>	0	0,00	0	0,00	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. aragaoi</i>	0	0,00	0	0,00	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>B. avellari</i>	0	0,00	2	0,11	-	-	0	0,00	2	0,32	-	-
Total	3.936	100,00	1.826	100,00	-	-	1.173	100,00	618	100,00	-	-

L. = *Lutzomyia*; *B.* = *Brumptomyia*; N = número de espécimes; % = porcentagem; U = valor de Mann-Whitney; p = valor de p (*p < 0,05; **p < 0,01)

Em relação ao período seco, quando realizada a mesma comparação anterior, verificou-se que no Pirajá, as espécies *L. saulensis* (U = 26,0; **p = 0,0067), *L. sordellii* (U = 41,50; *p = 0,0291) e *L. trinidadensis* (U = 10,50; ***p = 0,0002) obtiveram mais fêmeas que machos. No bairro Itapecuruzinho apenas a espécie *L. trinidadensis* (U = 40,00; *p = 0,0234) obteve mais fêmeas que machos (Tabela 5).

Tabela 5. Comparação das espécies de flebotomíneos entre os sexos, no período seco, nos bairros Pirajá e Itapecuruzinho, localizados no município de Caxias, Maranhão, 2015.

Espécie	Pirajá				U	p	Itapecuruzinho				U	p
	Machos		Fêmeas				Machos		Fêmeas			
	N	%	N	%			N	%	N	%		
<i>L. longipalpis</i>	2.125	43,40	871	28,47	40,00	0,0690	338	66,93	186	58,31	59,00	0,4699
<i>L. whitmani</i>	2.144	43,79	1.035	33,83	66,00	0,7507	107	21,19	49	15,36	62,50	0,6005
<i>L. evandroi</i>	171	3,49	117	3,82	61,50	0,5632	28	5,54	38	11,91	62,50	0,5988
<i>L. lenti</i>	29	0,59	24	0,78	69,00	0,8833	10	1,98	6	1,88	56,00	0,3274
<i>L. saulensis</i>	14	0,29	149	4,87	26,00	0,0067**	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. gomezi</i>	34	0,69	67	2,19	44,50	0,1135	1	0,20	0	0,00	-	-
<i>L. cortelezii</i>	0	0,00	0	0,00	-	-	2	0,40	1	0,31	66,00	0,5797
<i>L. sordellii</i>	1	0,02	7	0,23	41,50	0,0291*	0	0,00	1	0,31	-	-
<i>L. termitophila</i>	2	0,04	3	0,10	66,00	0,6520	0	0,00	6	1,88	-	-
<i>L. trinidadensis</i>	2	0,04	45	1,47	10,50	0,0002***	1	0,20	12	3,76	40,00	0,0234*
<i>L. flaviscutellata</i>	11	0,22	24	0,78	47,50	0,1462	1	0,20	1	0,31	72,00	0,9520
<i>L. sallesi</i>	0	0,00	0	0,00	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. abonnenci</i>	0	0,00	0	0,00	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. begoniae</i>	0	0,00	6	0,20	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. rabelloi</i>	18	0,37	125	4,09	50,00	0,1913	2	0,40	0	0,00	-	-
<i>L. antunesi</i>	324	6,62	555	18,14	59,50	0,4869	4	0,79	0	0,00	-	-
<i>L. intermedia</i>	4	0,08	10	0,33	69,50	0,8792	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. hermanlenti</i>	1	0,02	9	0,29	53,00	0,1319	0	0,00	3	0,94	-	-
<i>L. aragaoi</i>	0	0,00	2	0,07	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>B. avellari</i>	16	0,33	10	0,33	62,00	0,5646	11	2,18	16	5,02	65,50	0,7047
Total	4.896	100,00	3.059	100,00	-	-	505	100,00	319	100,00	-	-

L. = *Lutzomyia*; *B.* = *Brumptomyia*; N = número de espécimes; % = porcentagem; U = valor de Mann –Whitney; p = valor de p (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,0001)

4.3 Distribuição de flebotomíneos nos bairros por local de coleta

Em relação ao local de coleta, peridomicílio e extradomicílio, considerando os dois períodos, de janeiro a dezembro, constatou-se uma maior frequência de espécimes de flebotomíneos no peridomicílio, representando 59,14%. Verificou-se ainda que, todas as 20 espécies identificadas foram encontradas no extradomicílio e no peridomicílio somente 17 espécies foram identificadas (Tabela 6).

Quando comparada a frequência dos flebotomíneos de cada local de coleta, por período, chuvoso e seco, verificou-se no bairro Pirajá, maior ocorrência espécimes no período seco, tanto no peridomicílio com 94,22 % dos insetos coletados, como no extradomicílio com 85,69%, porém esses dados não foram significativos. Já no bairro Itapecuruzinho os espécimes predominaram no período chuvoso em ambos os locais de coleta, no entanto somente o peridomicílio (U = 0 e *p = 0,0286) apresentou diferença significativa (Tabela 6).

Tabela 6. Comparação da frequência de flebotomíneos no peridomicílio e extradomicílio, nos períodos, chuvoso e seco, nos bairros Pirajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.

Bairro	Peridomicílio				U	p	Extradomicílio				U	p
	Chuvoso		Seco				Chuvoso		Seco			
	N	%	N	%			N	%	N	%		
Pirajá	3.653	79.57	4.775	94.22	7,00	0,8875	2.109	71.20	3.180	85.69	5,00	0,4857
Itapecuruzinho	938	20.43	293	5.78	0	0,0286*	853	28.80	531	14.31	2,00	0,1143
Nº de indivíduos	4.591	100.00	5.068	100.00			2.962	100.00	3.711	100.00		
Total de indivíduos			9.659						6.673			
% de indivíduos			59,14						40,86			
Nº de espécies			17						20			

N = número de espécimes; % = porcentagem; U = valor de Mann –Whitney; p = valor de p (*p < 0,05)

Quando comparada a frequência das espécies de flebotomíneos capturados entre os locais de coleta, peridomicílio e extradomicílio, do período chuvoso, janeiro a julho, verificou-se que no bairro Pirajá, a espécie *L. gomezi* (U = 0,50; *p = 0,0372), que foi registrada somente nesse bairro no período chuvoso, foi mais frequente no extradomicílio em relação ao peridomicílio. Já as espécies identificadas do bairro Itapecuruzinho não apresentaram diferenças significativas quando comparadas entre os locais de coleta (Tabela 7).

Tabela 7. Comparação das espécies de flebotômíneos no peridomicílio e extradomicílio, coletadas no período chuvoso nos bairros Pirajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.

Espécie	Pirajá				U	P	Itapecuruzinho				U	p
	Peridomicílio		Extradomicílio				Peridomicílio		Extradomicílio			
	N	%	N	%			N	%	N	%		
<i>L. longipalpis</i>	1.672	45,77	487	23,09	1,00	0,0571	662	70,58	695	81,48	8,00	1,000
<i>L. whitmani</i>	1.910	52,29	1.459	69,18	6,00	0,6857	226	24,09	96	11,25	6,00	0,6857
<i>L. evandroi</i>	32	0,88	32	1,52	7,50	1,0000	32	3,41	27	3,17	6,00	0,6612
<i>L. lenti</i>	12	0,33	22	1,04	5,00	0,4568	11	1,17	9	1,06	6,50	0,7715
<i>L. saulensis</i>	4	0,11	14	0,66	5,50	0,5516	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. gomezi</i>	2	0,05	26	1,23	0,50	0,0372*	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. cortezzii</i>	0	0,00	0	0,00	-	-	1	0,11	2	0,23	6,00	0,6084
<i>L. sordellii</i>	10	0,27	8	0,38	6,50	0,7660	1	0,11	9	1,06	5,00	0,4084
<i>L. termitophila</i>	3	0,08	6	0,28	5,00	0,4539	2	0,21	4	0,47	7,00	0,8744
<i>L. trinidadensis</i>	5	0,14	6	0,28	7,50	1,00	1	0,11	8	0,94	2,50	0,1241
<i>L. flaviscutellata</i>	0	0,00	32	1,52	-	-	0	0,00	1	0,12	-	-
<i>L. sallesi</i>	0	0,00	0	0,00	-	-	0	0,00	1	0,12	-	-
<i>L. abonnenci</i>	0	0,00	0	0,00	-	-	0	0,00	1	0,12	-	-
<i>L. begonae</i>	0	0,00	2	0,09	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. rabelloi</i>	2	0,05	12	0,57	5,00	0,4084	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. antunesi</i>	0	0,00	1	0,05	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. intermedia</i>	0	0,00	1	0,05	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. hermanlenti</i>	0	0,00	0	0,00	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. aragaoi</i>	0	0,00	0	0,00	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>B. avellari</i>	1	0,03	1	0,05	8,00	0,8486	2	0,21	0	0,00	-	-
Total	3.653	100,00	2.109	100,00	-	-	938	100,00	853	100,00	-	-

L. = *Lutzomyia*; *B.* = *Brumptomyia*; N = número de espécimes; % = porcentagem; U = valor de Mann –Whitney; p = valor de p (*p < 0,05)

No que concerne ao período seco, quando realizada a mesma análise anterior, verificou-se no bairro Pirajá, maior ocorrência das espécies *L. evandroi* (U = 0; *p = 0,0294), *L. lenti* (U = 0,50; *p = 0,0408), *L. rabelloi* (U = 0; *p = 0,0294) e *L. antunesi* (U = 0; *p = 0,0286) no extradomicílio em comparação com o peridomicílio. No bairro Itapecuruzinho somente a espécie *L. evandroi* (U = 0; *p = 0,0286) apresentou diferença significativa no extradomicílio (Tabela 8).

Tabela 8. Comparação das espécies de flebotomíneos entre o peridomicílio e extradomicílio, no período seco nos bairros, Pirajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.

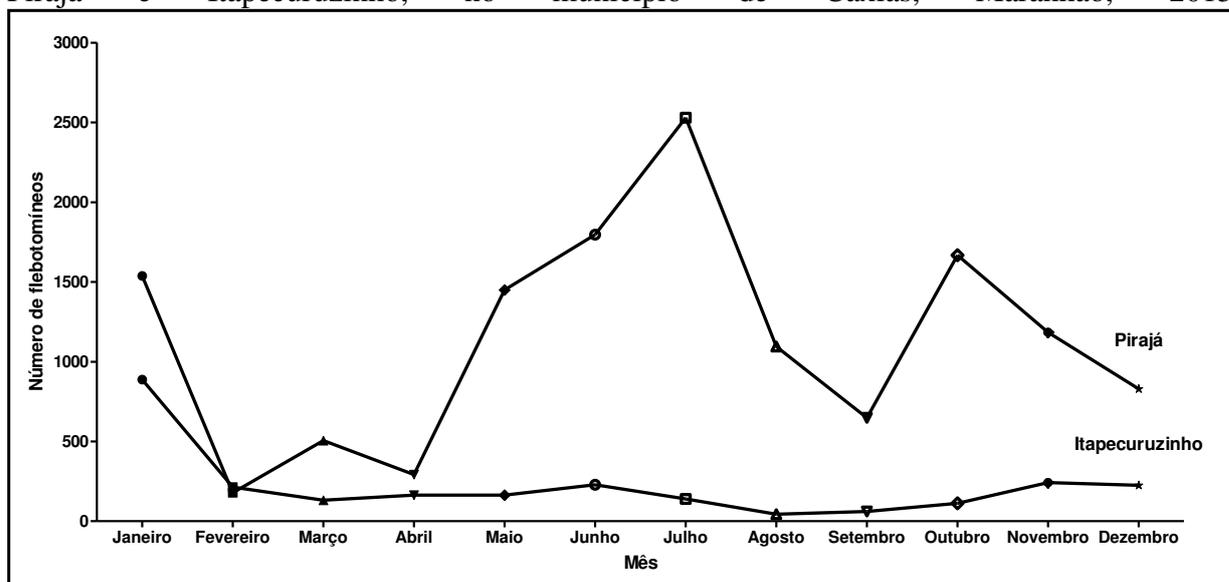
Espécie	Pirajá				U	P	Itapecuruzinho				U	p
	Peridomicílio		Extradomicílio				Peridomicílio		Extradomicílio			
	N	%	N	%			N	%	N	%		
<i>L. longipalpis</i>	2.228	46,66	768	24,15	1,00	0,0571	205	69,97	319	60,08	3,50	0,2454
<i>L. whitmani</i>	2.181	45,68	998	31,38	5,00	0,4857	41	13,99	115	21,66	3,00	0,1832
<i>L. evandroi</i>	73	1,53	215	6,76	0	0,0294*	16	5,46	50	9,42	0	0,0286*
<i>L. lenti</i>	18	0,38	35	1,10	0,50	0,0408*	4	1,37	12	2,26	1,00	0,0530
<i>L. saulensis</i>	24	0,50	139	4,37	2,00	0,1143	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. gomezi</i>	26	0,54	75	2,36	2,00	0,1143	1	0,34	0	0,00	-	-
<i>L. cortelezzii</i>	0	0,00	0	0,00	-	-	2	0,68	1	0,19	6,00	0,6084
<i>L. sordellii</i>	0	0,00	8	0,25	-	-	0	0,00	1	0,19	-	-
<i>L. termitophila</i>	3	0,06	2	0,06	7,00	0,8744	2	0,68	4	0,75	6,00	0,6198
<i>L. trinidadensis</i>	8	0,17	39	1,23	6,00	0,6612	5	1,71	8	1,51	5,50	0,5385
<i>L. flaviscutellata</i>	5	0,10	30	0,94	2,50	0,1441	0	0,00	2	0,38	-	-
<i>L. sallesi</i>	0	0,00	0	0,00	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. abonnenci</i>	0	0,00	0	0,00	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. begoniae</i>	1	0,02	5	0,16	5,50	0,5050	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. rabelloi</i>	12	0,25	131	4,12	0	0,0294*	0	0,00	2	0,38	-	-
<i>L. antunesi</i>	181	3,79	698	21,95	0	0,0286*	2	0,68	2	0,38	8,00	0,8486
<i>L. intermedia</i>	2	0,04	12	0,38	1,00	0,0530	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>L. hermanlenti</i>	3	0,06	7	0,22	5,00	0,4539	2	0,68	1	0,19	6,00	0,6084
<i>L. aragaoi</i>	0	0,00	2	0,06	-	-	0	0,00	0	0,00	-	-
<i>B. avellari</i>	10	0,21	16	0,50	4,00	0,3005	13	4,44	14	2,64	8,00	0,8839
Total	4.775	100,00	3.180	100,00	-	-	293	100,00	531	100,00	-	-

L. = *Lutzomyia*; *B.* = *Brumptomyia*; N = número de espécimes; % = porcentagem; U = valor de Mann –Whitney; p = valor de p (*p < 0,05)

4.4 Distribuição mensal e sazonal dos flebotomíneos

Os flebotomíneos foram capturados em todos os meses, de janeiro a dezembro, em ambos os bairros. No Pirajá, quando comparadas as frequências mensais dos espécimes de flebotomíneos, verificou-se que os meses com maior ocorrência de espécimes foram janeiro, maio, junho, julho, agosto, setembro e novembro. Porém somente os meses de janeiro e julho, apresentaram diferenças significativas ($H = 26,01$ e $**p = 0,0065$) (Figura 8A). Quando realizada a mesma comparação com o bairro Itapecuruzinho, verificou-se maior ocorrência de espécimes de flebotomíneos somente no mês de janeiro. No entanto, estatisticamente, em todos os meses não houve diferença significativa na quantidade de flebotomíneos coletados ($H = 7,563$ e $p = 0,7518$) (Figura 8B).

Figura 8. Flebotomíneos coletados entre os meses de coleta, janeiro a dezembro, nos bairros Pirajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.



Quando comparadas as medianas das quantidades de espécimes de flebotomíneos por mês, entre os bairros Pirajá e Itapecuruzinho, verificou-se que o bairro Pirajá nos meses de março (U = 132,0; *p = 0,0282), junho (U = 106,5; **p = 0,0075), julho (U = 131,5; *p = 0,0463), agosto (U = 72,0; ***p = 0,0003), outubro (U = 106,5; **p = 0,0097) e dezembro (U = 130,0; *p = 0,0465) se sobressaíram na quantidade de espécimes capturados em relação ao Itapecuruzinho (Tabela 9).

Tabela 9. Comparação da frequência de flebotomíneos coletados de de janeiro a dezembro nos bairros Pirajá e Itapecuruzinho no município de Caxias, Maranhão, 2015.

Mês	Pirajá		Itapecuruzinho		U	p
	N	%	N	%		
Janeiro	1.538	11,21	888	33,96	172,0	0,4211
Fevereiro	178	1,30	214	8,18	195,5	0,9066
Março	506	3,69	132	5,05	132,0	0,0282*
Abril	293	2,14	164	6,27	196,0	0,9114
Maio	1.450	10,57	164	6,27	188,5	0,7205
Junho	1.797	13,10	229	8,76	106,5	0,0075**
Julho	2.530	18,44	140	5,35	131,5	0,0463*
Agosto	1.095	7,98	44	1,68	72,0	0,0003***
Setembro	648	4,72	61	2,33	132,0	0,0588
Outubro	1.668	12,16	112	4,28	106,5	0,0097**
Novembro	1.184	8,63	242	9,25	140,5	0,0987
Dezembro	830	6,05	225	8,60	130,0	0,0465*
Total	13.717	100,00	2.615	100,00	-	-

N = número de espécimes; % = porcentagem; U = valor de Mann –Whitney; p = valor de p (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,0001)

Considerando as 20 espécies identificadas, verificou-se pelo índice de constância (IC) que 13 foram classificadas como constantes, uma vez que, ocorreram em mais de 50% das coletas, sendo *L. longipalpis*, *L. whitmani*, *L. evandroi*, *L. lenti*, *L. sordellii* e *L. termitophila* as espécies presentes em todos os meses de coletas com IC = 100%, as outras sete espécies apresentaram IC entre 58,33% a 91,67%. As espécies *L. cortelezzi*, *L. begoniae*, *L. intermedia* e *L. hermanlenti* foram consideradas acessórias, obtendo IC entre 25% a 50%, e somente três espécies *L. sallesi* (IC = 8,33%), *L. abonnenci* (IC = 8,33%) e *L. aragoi* (IC = 16,67%) foram consideradas acidentais, visto que, ocorreram em menos de 25% das coletas, presentes em um ou dois meses (Tabela 10).

Em relação à distribuição sazonal dos flebotomíneos, observou-se que, de todas as espécies identificadas, duas, *L. sallesi* e *L. abonnenci* foram capturadas somente no período chuvoso e duas espécies, *L. hermanlenti* e *L. aragoi*, apenas no período seco. Verificou-se ainda, uma maior ocorrência de flebotomíneos no período seco (53,75%) que no período chuvoso (46,25%) (Tabela 10).

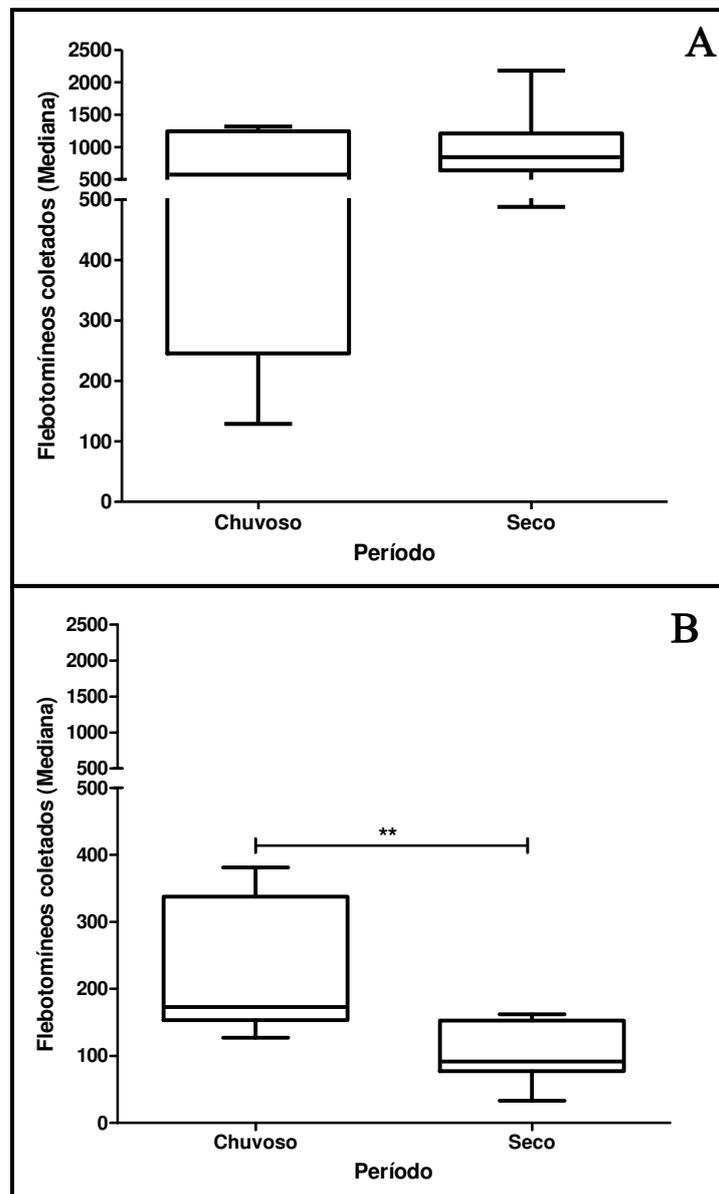
Tabela 10. Frequência mensal de flebotomíneos capturadas no peridomicílio e extradomicílio de acordo com os períodos, chuvoso e seco, nos bairros Pirajá e Itapecuruzinho no município de Caxias, Maranhão, 2015

Espécies	Período chuvoso						Período seco						Total	IC%
	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.		
<i>L. longipalpis</i>	2.123	337	442	273	218	123	407	298	352	840	970	653	7.036	100,00
<i>L. whitmani</i>	186	21	157	155	1.355	1.817	2.183	591	267	237	41	16	7.026	100,00
<i>L. evandroi</i>	52	11	14	15	17	14	37	56	22	87	44	108	477	100,00
<i>L. lenti</i>	19	5	6	2	13	9	11	16	5	19	7	11	123	100,00
<i>L. saulensis</i>	7	1	2	0	0	8	2	11	10	39	39	62	181	83,33
<i>L. gomezi</i>	7	3	3	0	4	11	4	36	6	29	16	11	130	91,67
<i>L. cortelezzi</i>	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	6	50,00
<i>L. sordellii</i>	8	5	5	6	2	2	1	1	1	2	2	2	37	100,00
<i>L. termitophila</i>	4	4	2	2	2	1	2	1	3	3	1	1	26	100,00
<i>L. trinidadensis</i>	11	0	0	0	2	7	3	19	7	16	9	6	80	75,00
<i>L. flaviscutellata</i>	3	1	3	0	1	25	9	11	2	5	8	2	70	91,67
<i>L. sallesi</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	8,33
<i>L. abonnenci</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	8,33
<i>L. begoniae</i>	0	0	0	0	0	2	0	1	1	1	2	1	8	50,00
<i>L. rabelloi</i>	6	1	4	0	0	3	0	9	10	38	23	65	159	75,00
<i>L. antunesi</i>	0	0	0	0	0	1	4	66	5	444	255	109	884	58,33
<i>L. intermedia</i>	0	0	0	0	0	1	2	9	0	3	0	0	15	33,33
<i>L. hermanlenti</i>	0	0	0	0	0	0	1	7	5	0	0	0	13	25,00
<i>L. aragoi</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	2	16,67
<i>B. avellari</i>	0	0	0	3	0	1	4	6	12	15	8	8	57	66,67
Total	2.426	392	638	457	1.614	2.026	2.670	1.139	709	1.780	1.426	1.055	16.332	-
Total de indivíduos por períodos	7.553						8.779							
% de indivíduos	46,25						53,75							

L. = *Lutzomyia*; *B.* = *Brumptomyia*; jan. = janeiro; fev. = fevereiro; mar. = março; abr. = abril; mai. = maio; jun. = junho; jul. = julho; ago. = agosto; set. = setembro; out. = outubro; nov. = novembro; dez. = dezembro; IC = Índice de Constância.

Porém, ao analisar a ocorrência de flebotomíneos por período, separadamente por bairro, verificou que no Pirajá houve maior frequência de espécimes no período seco que no chuvoso, no entanto, essas diferenças não mostraram valores significativos ($U = 23,00$; $p = 0,3823$) (Figura 9A). Quanto ao bairro Itapecuruzinho, o período que obteve a maior quantidade de espécimes coletados foi o chuvoso, pois a mediana dos flebotomíneos coletados nesse período ($U = 5,00$; $**p = 0,0030$) foi maior que a mediana do período seco (Figura 9B).

Figura 9. Comparação das medianas dos flebotomíneos coletados nos períodos, chuvoso e seco, município de Caxias, Maranhão, 2015. (A) Bairro Pirajá. (B) Bairro Itapecuruzinho. Os asteriscos indicam diferenças estatísticas a nível de significância nos dois períodos que apresentaram maiores medianas, onde $**p < 0,01$.



4.5 Correlação entre a frequência mensal dos flebotomíneos com os fatores climáticos

Considerando os fatores climáticos, os valores de pluviosidade foram os mesmos para ambos os bairros, Pirajá e Itapecuruzinho, que variaram de 2,8mm a 328,7mm. O mês com maior índice pluviométrico foi fevereiro (328,7mm) e com menor foi outubro (2,8mm).

No Pirajá, verificou-se que, as médias da Temperatura máxima (Tmáx.) variaram de 27,5°C a 43,5°C e Temperatura mínima (Tmín.) de 23,25°C a 40,25°C. O mês com as médias de temperatura mais elevada foi dezembro (Tmáx. = 43,5°C; Tmín. = 40,25°C) e com menor temperatura foi março (Tmáx. = 27,5°C; Tmín. = 23,25°C). As médias da Umidade máxima (Umáx.) variaram de 31,5% a 87% e Umidade mínima (Umín.) de 25,5% a 55,25%. O mês com média de umidade mais elevada foi fevereiro (Umax. = 87% e Umín. = 48%) e com umidade menos elevada foi dezembro (Umax. = 31,5% e Umín. = 25,5%).

Quanto ao bairro Itapecuruzinho, as médias da Tmáx. variaram de 28°C a 43°C e Tmín. de 23,5°C a 41°C. O mês que obteve média de temperatura mais elevada foi dezembro (Tmáx. = 43°C; Tmín. = 41°C) e média de menor temperatura foi maio (Tmáx. = 28°C; Tmín. = 25,5°C). As médias da Umáx. variaram de 20,25% a 86% e Umín. de 20,25% a 47,75%. O mês que apresentou média de umidade mais elevada foi fevereiro (Umáx. = 86% e Umín. = 46,75%), e com menor média foi dezembro (Umáx. = 30,75% e Umín. = 25,5%).

Considerando o total dos espécimes de flebotomíneos coletados de janeiro a dezembro, observou-se que nos dois bairros, Pirajá e Itapecuruzinho, não houve correlação entre a frequência mensal dos flebotomíneos coletados com os fatores climáticos, pluviosidade, Tmáx., Tmín., Umáx e Umín. (Figuras 10 e 11, Tabela 11).

Figura 10. Correlação mensal entre o número de flebotomíneos coletados com os fatores climáticos, (A) Temperatura Máxima e Temperatura Mínima. (B) Umidade Máxima e Umidade Mínima. (C) Pluviosidade, considerando os dois períodos, chuvoso e seco, do bairro, Pirajá, Caxias, Maranhão, 2015.

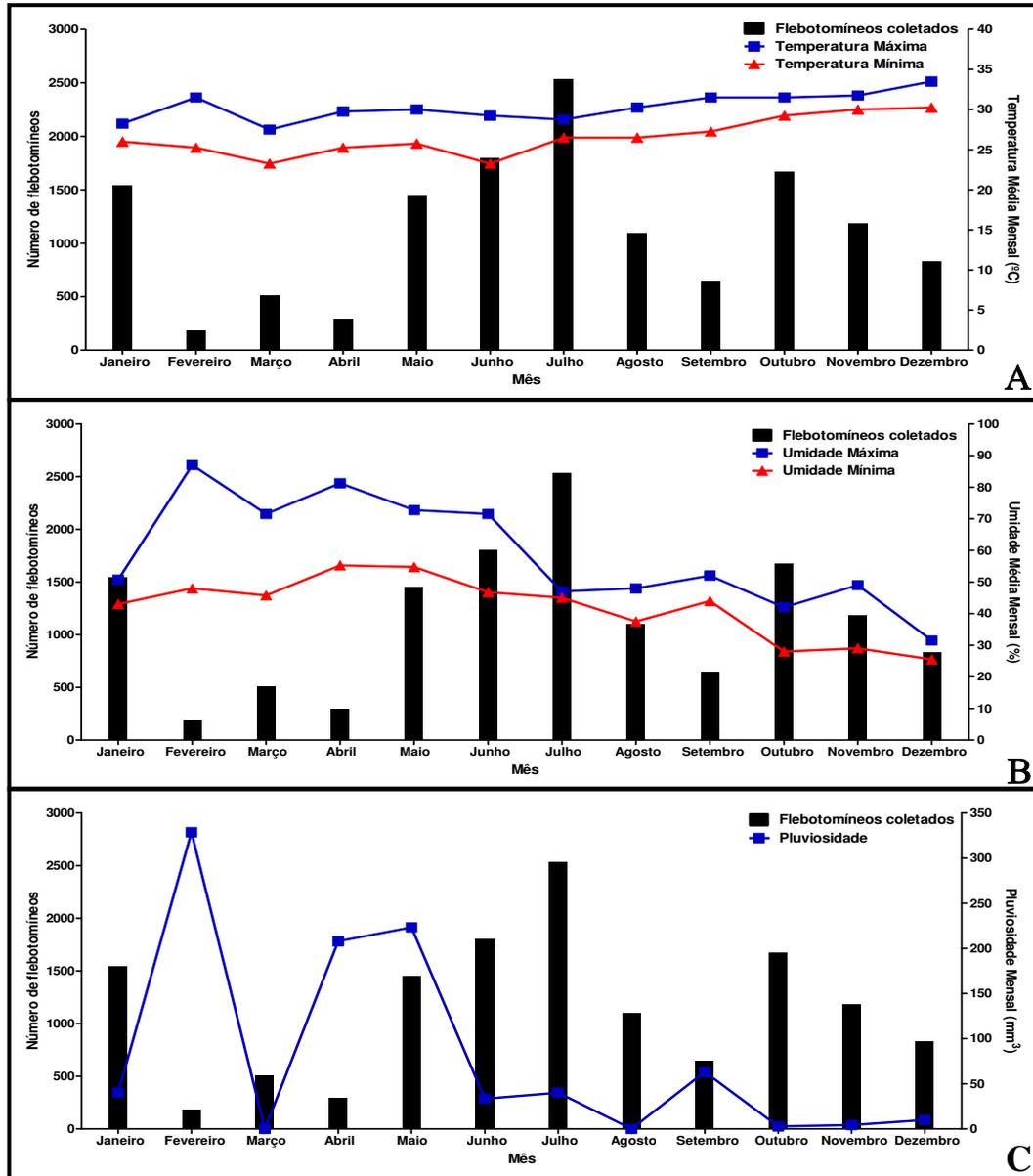


Figura 11. Correlação mensal entre o número de flebotomíneos coletados com os fatores climáticos, (A) Temperatura Máxima e Temperatura Mínima. (B) Umidade Máxima e Umidade Mínima. (C) Pluviosidade, considerando os dois períodos, chuvoso e seco, do bairro, Itapecuruzinho, Caxias, Maranhão, 2015.

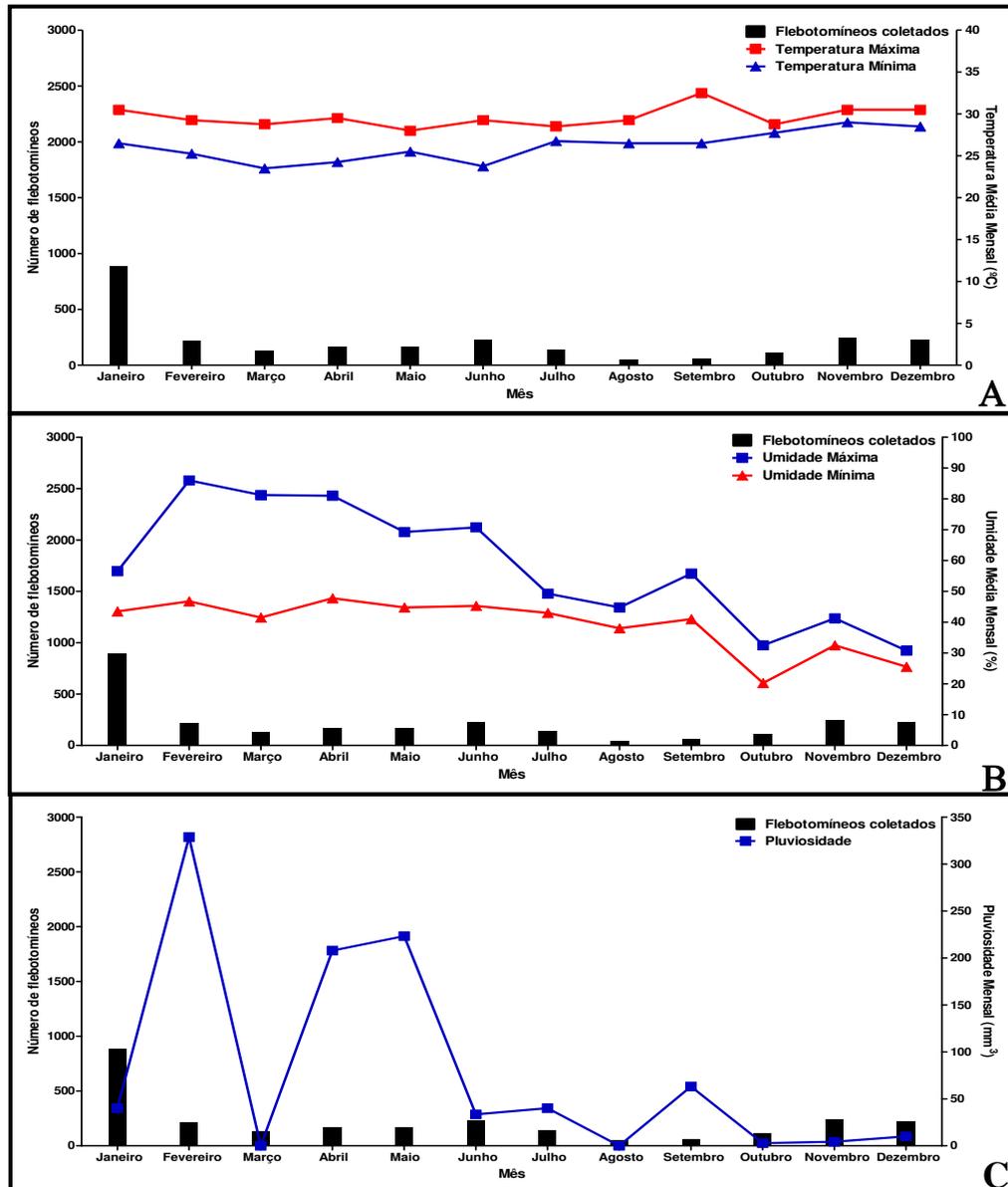


Tabela 11. Correlação entre o número de flebotomíneos coletados com os fatores climáticos, nos períodos, chuvoso e seco, nos bairros, Pirajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.

Correlação	Pirajá		Itapecuruzinho	
	r_s	p	r_s	p
Flebotomíneos coletados X Temperatura Máxima	- 0,1268	0,5548	- 0,0722	0,7375
Flebotomíneos coletados X Temperatura Mínima	0,1483	0,4893	0,0362	0,8667
Flebotomíneos coletados X Umidade Máxima	- 0,3880	0,0609	0,0107	0,9605
Flebotomíneos coletados X Umidade Mínima	- 0,0687	0,7496	0,1748	0,4140
Flebotomíneos coletados X Pluviosidade	- 0,2175	0,4970	0,2566	0,4208

r_s = Valor de Spearman; p = valor de p

Porém quando se comparou a correlação mensal entre os flebotomíneos coletados com os fatores climáticos (Tmáx., Tmín., Umáx., Umín. e Pluviosidade), separadamente por período, verificou-se associação significativa. No bairro Pirajá, no período chuvoso, observou-se que a Umáx. variou de 50,75% a 87% e obteve correlação forte e negativa com os flebotomíneos coletados ($r_s = -0,7343$; $**p = 0,0065$). A Umín., Tmáx., Tmín. e Pluviosidade não apresentaram correlação com a quantidade de flebotomíneos coletados. Quanto ao período seco, julho a dezembro, a Umáx. variou de 30,75% a 55,75% e tanto a Umáx. quanto as Tmáx.; Tmín.; Umín e Pluviosidade não apresentaram correlação significativa entre os flebotomíneos coletados (Tabela 12).

Já no bairro Itapecuruzinho, no período chuvoso, não houve associação significativa entre as variáveis meteorológicas (Tmáx., Tmín., Umáx., Umín. e Pluviosidade), com o número mensal de flebotomíneos coletados. Em relação ao período seco, verificou-se que os fatores climáticos, Tmáx., Tmín., Pluviosidade e Umín., não apresentaram correlação com o número de flebotomíneos. Porém, a Umáx. obteve correlação moderada e negativa entre o número de flebotomíneos ($r_s = -0,6362$; $*p = 0,0261$) (Tabela 12).

Tabela 12. Correlação entre o número de flebotomíneos com os fatores climáticos, nos períodos chuvoso e seco, nos bairros Pirajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.

Correlação	Pirajá				Itapecuruzinho			
	Chuvoso		Seco		Chuvoso		Seco	
	r_s	P	r_s	p	r_s	p	r_s	p
Flebotomíneos X Temperatura máxima	-0,4786	0,1154	0,0493	0,8791	0,1272	0,6936	-0,0494	0,8789
Flebotomíneos X Temperatura mínima	0,1744	0,5877	-0,2505	0,4323	0,2403	0,4519	0,4813	0,1130
Flebotomíneos X Umidade máxima	-0,7343	0,0065**	0,0737	0,8200	-0,2544	0,4249	-0,6362	0,0261*
Flebotomíneos X Umidade mínima	0,2522	0,4291	0,1259	0,6967	0,0211	0,9482	-0,0527	0,8707
Flebotomíneos X Pluviosidade	-0,5429	0,2656	-0,2571	0,6228	0,1160	0,8268	0,2000	0,7040

r_s = Valor de Spearman; p = valor de p (**p < 0,01) e (*p < 0,05)

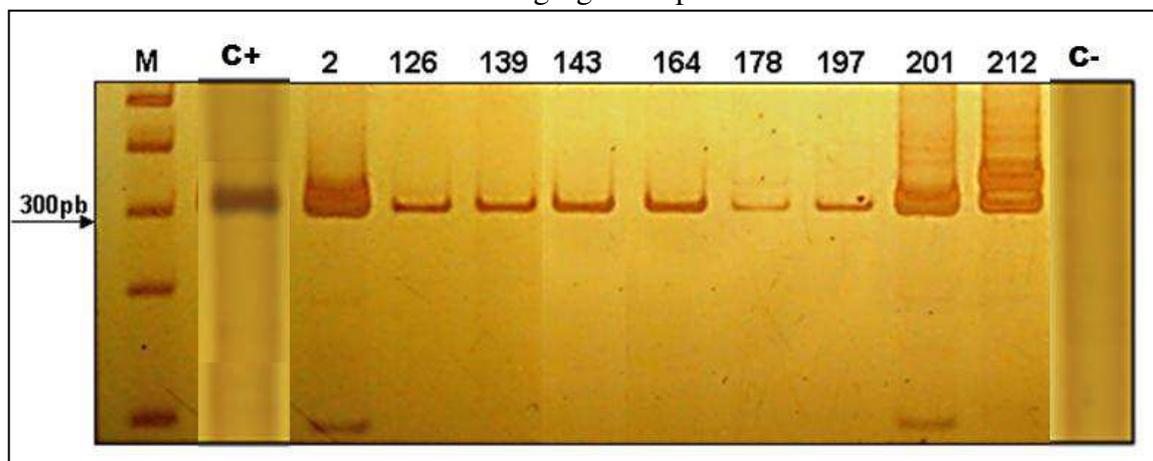
4.6 Infecção natural de flebotomíneos por *Leishmania* spp.

Foram analisadas, um total de 212 fêmeas de flebotomíneos ingurgitadas, 150 do bairro Pirajá e 62 do Itapecuruzinho, pertencentes a 15 espécies: *L. longipalpis* (N=60), *L. whitmani* (N=53), *L. evandroi* (N=18), *L. lenti* (N=7), *L. saulensis* (N=5), *L. gomezi* (N=3), *L. termitophila* (N=2), *L. trinidadensis* (N=10), *L. flaviscutellata* (N=10), *L. begoniae* (N=1), *L. rabelloi* (N=22), *L. antunesi* (N=16), *L. intermedia* (N=1), *L. hermanlenti* (N=1) e *B. avellari* (N=3), provenientes tanto do peridomicílio como do extradomicílio (Tabela 13).

Todas as 212 amostras amplificaram o fragmento de 200 pb do gene de cacofonia do flebotomíneo, o que era esperado pela técnica de PCR, validando a extração de DNA obtido a partir de todas as amostras (dados não mostrados).

Considerando os resultados obtidos para reação de PCR quanto à presença de DNA do gênero *Leishmania*, 42 amostras amplificaram uma banda de 300-350pb, sendo caracterizadas como positivas, provenientes de nove espécies de flebotomíneos: *Lu. longipalpis* (N=14), *L. whitmani* (N=15), *L. evandroi* (N=3), *L. lenti* (N=2), *L. saulensis* (N=1), *L. flaviscutellata* (N=2), *L. rabelloi* (N=3), *L. intermedia* (N=1) e *B. avellari* (N=1), 30 do bairro Pirajá e 12 do Itapecuruzinho. A Taxa de infecção Natural (TN) calculada para a área de estudo foi de 19,8% (Figura 12 e Tabela 13).

Figura 12. Gel de poliacrilamida 5% corado por nitrato de prata, mostrando produtos amplificados de 300-350pb com os iniciadores para ITS1. M: marcador molecular 100pb (PROMEGA); C+: controle positivo; C-: controle negativo; 2-212 são algumas amostras de fêmeas de flebotomíneos ingurgitadas positivas.



pb = pares de bases

Tabela 13. Fêmeas de flebotomíneos analisadas, amostras positivas com infecção de *Leishmania* e Taxa de infecção Natural (TN), nos bairros Pirajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.

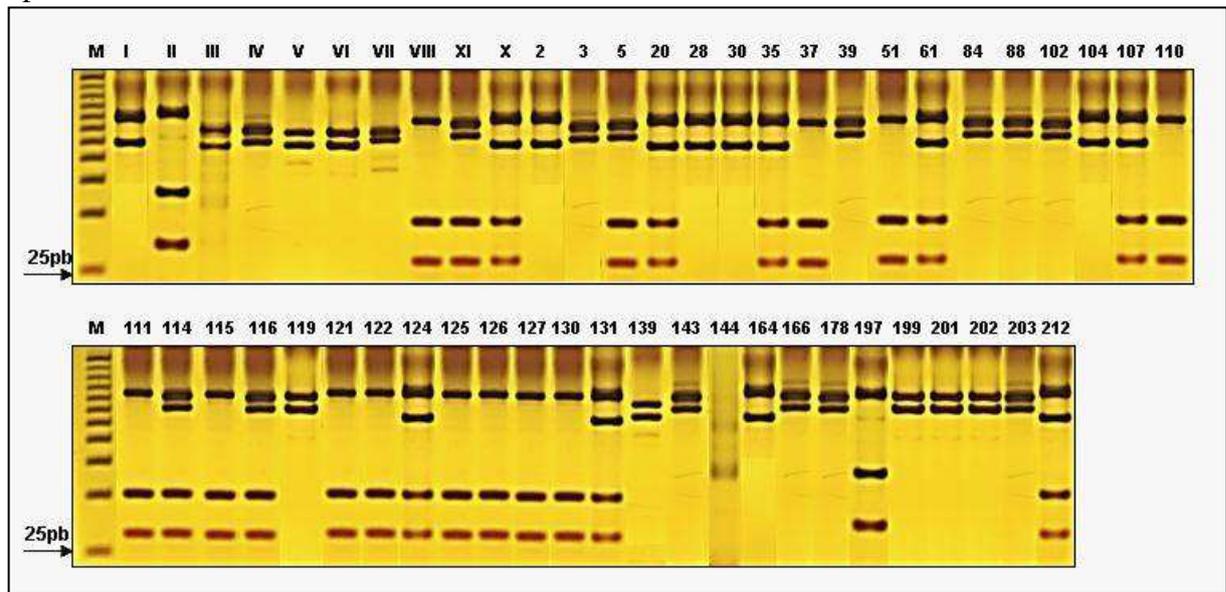
Espécies de flebotomíneos	Pirajá			Itapecuruzinho			Total de fêmeas analisadas		Amostras positivas		TN
	Peri	Extra	Total	Peri	Extra	Total	N	%	N	%	
<i>L. longipalpis</i>	16	14	30	18	12	30	60	28,30	14	33,33	6,6%
<i>L. whitmani</i>	21	16	37	9	7	16	53	25,00	15	35,71	7,1%
<i>L. evandroi</i>	6	5	11	4	3	7	18	8,49	3	7,14	1,4%
<i>L. lenti</i>	4	1	5	2	0	2	7	3,30	2	4,76	1,0%
<i>L. saulensis</i>	0	5	5	0	0	0	5	2,36	1	2,38	0,5%
<i>L. gomezi</i>	0	3	3	0	0	0	3	1,42	0	0	-
<i>L. termitophila</i>	0	0	0	1	1	2	2	0,94	0	0	-
<i>L. trinidadensis</i>	0	7	7	3	0	3	10	4,72	0	0	-
<i>L. flaviscutellata</i>	2	8	10	0	0	0	10	4,72	2	4,76	1,0%
<i>L. begoniae</i>	0	1	1	0	0	0	1	0,47	0	0	-
<i>L. rabelloi</i>	0	22	22	0	0	0	22	10,38	3	7,14	1,4%
<i>L. antunesi</i>	1	15	16	0	0	0	16	7,55	0	0	-
<i>L. intermedia</i>	0	1	1	0	0	0	1	0,47	1	2,38	0,5%
<i>L. hermanlenti</i>	0	0	0	1	0	1	1	0,47	0	0	-
<i>B. avellari</i>	1	1	2	1	0	1	3	1,42	1	2,38	0,5%
Total	51	99	150	39	23	62	212	100,00	42	100,00	19,8%

L. = *Lutzomyia*; *B.* = *Brumptomyia*; Peri = peridomicílio; Extra = extradomicílio

As amostras positivas quando foram submetidas à digestão por enzima de restrição *HaeIII* (PCR/RFLP), apresentaram o padrão de restrição para o fragmento das espécies de *Le. infantum* (N=11), *Le. braziliensis* (N=13), *Le. amazonensis* (N=5), *Le. mexicana* (N=1), *Leishmania* sp. (N=1), que não foi possível identificar ao nível específico e

infecção mista das espécies *Le. infantum/Le. braziliensis* (N=3), *Le. infantum/Le. amazonensis* (N=7), *Le. lainsoni/Le. naiffi* (N=1) (Figura 13).

Figura 13. Gel de poliacrilamida 5% corado por nitrato de prata, mostrando os produtos amplificados com ITS1 e digeridos com *HaeIII*. M: Marcador Molecular 25bp (PROMEGA); Linhas I-X controles positivos: I – *Le. amazonensis*; II – *Le. mexicana*; III – *Le. guyanensis*; IV – *Le. braziliensis*; V – *Le. lainsoni*; VI – *Le. naiffi*; VII – *Le. shawi*; VIII – *Le. infantum*; XI – *Le. infantum/Le. braziliensis*; X – *Le. infantum/Le. amazonensis*. Amostras 02-212: fêmeas de flebotomíneos positivas para *Leishmania* spp., exceto amostra 144 positiva para *Leishmania* sp.



pb = pares de bases

A ocorrência de flebotomíneos infectados com essas espécies de *Leishmania*, foram detectados, tanto no peridomicílio como no extradomicílio, em nove espécies de flebotomíneos do bairro Pirajá, *L. longipalpis* (N=8), *L. whitmani* (N=10), *L. evandroi* (N=3), *L. lenti* (N=1), *L. saulensis* (N=1), *L. flaviscutellata* (N=2), *L. rabelloi* (N=3), *L. intermedia* (N=1) e *B. avellari* (N=1) e em 3 espécies do Itapecuruzinho, *L. longipalpis* (N=6); *L. whitmani* (N=5) e *L. lenti* (N=1) (Tabelas 14 e 15).

Das 42 amostras positivas, 31 apresentaram infecção por um espécime de *Leishmania* e 11 apresentaram infecção mista, ou seja, duas espécies *Leishmania* em um único inseto, apresentadas nas tabelas 14 e 15.

Considerando o total de 31 espécimes de *Leishmania* detectadas, verificou-se que a maior parte das infecções naturais foi encontrada por *Le. braziliensis* (41,9%; N=13), nas espécies de flebotomíneos, *L. longipalpis* (N=6), *L. whitmani* (N=2), *L. saulensis* (N=1), *L. flaviscutellata* (N=2), *L. rabelloi* (N=1) e *L. intermedia* (N=1), seguida pela *Le. infantum*

(35,5%; N=11) encontrada nas espécies *L. longipalpis* (N=1), *L. whitmani* (N=9) e *L. evandroi* (N=1). A infecção por *Le. amazonensis* (16,1%; N=5) foi encontrada somente nos flebotomíneos *L. longipalpis* (N=3), *L. whitmani* (N=1) e *L. lenti* (N=1). Em relação à espécie *Le. mexicana* (3,2%; N=1) foi encontrada apenas em *B. avellari* (N=1) e uma espécie de *Leishmania* sp. (3,2%) foi detectada na *L. rabelloi* (N=1) (Tabela 14).

Em relação as infecções mista, no total de 11 exemplares, a *Le. infantum/Le. amazonensis* (63,6%; N=7) foi a mais encontrada em flebotomíneos, nas espécies *L. longipalpis* (N=2), *L. whitmani* (N=2), *L. evandroi* (N=2) e *L. lenti* (N=1), seguida da *Le. infantum/Le. braziliensis* (27,3%; N=3) em *L. longipalpis* (N=2) e *L. whitmani* (N=1). A *Le. lainsoni/Le. naiffi* (9,1%; N=1) foi encontrada em *L. rabelloi* (N=1) (Tabela 15).

Em relação aos locais de coleta, verificou-se que infecções por *Leishmania* foram mais encontradas no extradomicílio (N=19), que no peridomicílio (N=12). Quanto às infecções mistas, verificou-se o contrário, pois foram mais encontradas no peridomicílio (N=6) que no extradomicílio (N=4) (Tabelas 14 e 15).

O espécime de flebotomíneo *L. lenti* foi encontrado infectado com *Leishmania* somente no peridomicílio do bairro Itapecuruzinho, já as espécies *L. longipalpis*, *L. whitmani* e *L. evandroi* foram encontradas infectadas com *Leishmania* nos dois locais de coleta em ambos os bairros. As espécies *L. saulensis*, *L. flaviscutellata*, *L. rabelloi*, *L. intermedia* e *B. avellari* foram encontradas naturalmente infectadas apenas no extradomicílio do bairro Pirajá. As infecções por *Leishmania* e infecções mistas nos flebotomíneos examinados, estão ilustradas nas tabelas 14 e 15, separadamente por bairro e por local de coleta.

Tabela 14. Fêmeas de flebotomíneos ingurgitadas naturalmente infectadas por *Leishmania* spp., separadas por local de coleta, peridomicílio e extradomicílio, nos bairros Pirajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.

Bairro/Espécie	Fêmeas examinadas	Amostras positivas	Espécies de <i>Leishmania</i> identificadas (PCR-RFLP)									
			<i>Le. infantum</i>		<i>Le. braziliensis</i>		<i>Le. amazonensis</i>		<i>Le. mexicana</i>		<i>Leishmania</i> sp.	
Pirajá	N	N	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E
<i>L. longipalpis</i>	30	6	1	0	1	1	2	1	0	0	0	0
<i>L. whitmani</i>	37	8	2	4	1	1	0	0	0	0	0	0
<i>L. evandroi</i>	11	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>L. lenti</i>	5	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>L. saulensis</i>	5	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>L. flaviscutellata</i>	10	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
<i>L. rabelloi</i>	22	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>L. intermedia</i>	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>B. avellari</i>	2	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Outras espécies	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Totais (%)	150	23	3 5 8 (34,8)		2 7 9 (39,1)		3 1 4 (17,3)		0 1 1 (4,4)		0 1 1 (4,4)	
Itapecuruzinho	N	N	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E
<i>L. longipalpis</i>	30	4	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0
<i>L. whitmani</i>	16	4	1	2	0	0	1	0	0	0	0	0
Outras espécies	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Totais (%)	62	8	1 2 3 (37,5)		2 2 4 (50,0)		1 0 1 (12,5)		0 0 -		0 0 -	
Total geral (%)	212	31	4 7 11 (35,5)		4 9 13 (41,9)		4 1 5 (16,1)		0 1 1 (3,2)		0 1 1 (3,2)	

L. = *Lutzomyia*; *B.* = *Brumptomyia*; *Le.* = *Leishmania*; **N** = número amostral; **P** = peridomicílio; **E** = extradomicílio

Tabela 15. Fêmeas de flebotomíneos ingurgitadas com infecção mista por duas espécies de *Leishmania* em um único inseto, separadas por local de coleta, peridomicílio e extradomicílio, nos bairros Pirajá e Itapecuruzinho, no município de Caxias, Maranhão, 2015.

Bairro/Espécie	Fêmeas examinadas	Amostras positivas	Infecção mista por <i>Leishmania</i> identificadas (PCR-RFLP)					
			<i>Le. infantum/ Le. braziliensis</i>		<i>Le. infantum/ Le. amazonensis</i>		<i>Le. lainsoni/ Le. naiffi</i>	
Pirajá	N	N	P	E	P	E	P	E
<i>L. longipalpis</i>	30	2	0	2	0	0	0	0
<i>L. whitmani</i>	37	2	0	0	1	1	0	0
<i>L. evandroi</i>	11	2	0	0	2	0	0	0
<i>L. rabelloi</i>	22	1	0	0	0	0	0	1
Outras espécies	50	0	0	0	0	0	0	0
Total (%)	150	7	0 2 2(28,6)		3 1 4(57,1)		0 1 1(14,3)	
Itapecuruzinho	N	N	P	E	P	E	P	E
<i>L. longipalpis</i>	30	2	0	0	2	0	0	0
<i>L. whitmani</i>	16	1	0	1	0	0	0	0
<i>L. lenti</i>	2	1	0	0	1	0	0	0
Outras espécies	14	0	0	0	0	0	0	0
Total (%)	62	4	0 1 1(25,0)		3 0 3(75,0)		0 0 0	
Total geral (%)	212	11	0 2 3(27,3)		6 1 7(63,6)		0 1 1(9,1)	

L. = *Lutzomyia*; *Le.* = *Leishmania*; **N** = número amostral; **P** = peridomicílio; **E** = extradomicílio

5 DISCUSSÃO

Na presente pesquisa, verificou-se elevada abundância (N=16.332) de flebotomíneos e a identificação de uma diversidade de espécies (20), com todas essas, exceto a *B. avellari*, pertencentes ao gênero *Lutzomyia*. Esse gênero é importante por possuir ampla distribuição no Brasil, contendo grande número de espécies de flebotomíneos conhecidas, compreendendo aquelas envolvidas na transmissão de espécies de *Leishmania* (RANGEL; LAINSON, 2003; BRASIL, 2014).

As espécies *L. longipalpis*, *L. whitmani*, *L. evandroi* e *L. lenti* predominaram em ambos os bairros pesquisados, Pirajá e Itapecuruzinho, corroborando com Guimarães-e-Silva et al. (2012), em uma pesquisa, também, realizada no município de Caxias.

Outros autores também indicaram a predominância dessas espécies em regiões diferenciadas do Estado como: Silva et al. (2015a) em Codó; Silva et al. (2010a) em Chapadinha; Martin e Rebêlo (2006) em uma pesquisa realizada no município de Santa Quitéria; Penha et al. (2013) em Tirirical e Pereira Filho et al. (2015) em dois municípios, Barreirinhas e Santo Amaro.

A predominância de *L. longipalpis*, *L. whitmani*, *L. evandroi* e *L. lenti*, nas áreas investigadas é devido a atração desses insetos pelos animais domésticos como cão, galinha, porco entre outros, presentes nessas áreas antropizadas, que nos últimos anos vêm sofrendo modificações em sua vegetação para construção de residências. Esses dados corroboram com Guimarães (2016), que ao estudar a fonte alimentar dessas espécies na mesma região do presente estudo, também verificou a frequência abundante de *L. longipalpis*, *L. whitmani*, *L. evandroi* e *L. lenti* em áreas com presença de animais domésticos.

Rebêlo et al. (1999a), ao estudarem espécies de flebotomíneos da Ilha de São Luís no Maranhão, verificaram que, de todas as espécies desses insetos, a *L. longipalpis* é a mais frequente no ambiente domiciliar e provavelmente a melhor adaptada ao convívio com o homem e os animais domésticos. Estes resultados estão em consonância com os estudos de Spada (2014) em São Paulo e Vianna et al. (2016) em Minas Gerais que também, demonstraram esta espécie como domiciliada e sempre próxima a uma fonte de alimento como: o cão doméstico, galinha, porco, dentre outros.

Vários estudos têm demonstrado que a ocorrência de *L. whitmani* no peridomicílio está altamente adaptada às condições humanas (TEODORO et al. 1998; OLIVEIRA et al. 2000; LEONARDO; REBÊLO, 2004; SILVA et al. 2010a; VILELA et al. 2011; VIEIRA et al. 2015; SALES et al. 2015). Esses resultados estão de acordo com Pereira Filho et al. (2015), que demonstram a presença de *L. whitmani* e *L. longipalpis* no peridomicílio das

residências no entorno do Parque Nacional dos Lençóis, no Maranhão. É importante ressaltar que estas espécies estão envolvidas na transmissão dos agentes etiológicos de LTA e LVA em diversas áreas endêmicas do Brasil (LAINSON; RANGEL, 2005; MACEDO et al. 2008; BRASIL, 2010; BRASIL 2014).

Quanto à espécie *L. evandroi*, é um flebotomíneo antropofílico amplamente distribuído no Brasil, associado a ambientes peridomiciliares (SHERLOCK, 1996; REBÊLO et al. 2000). Foi encontrada nos mesmos ecótopos que *L. longipalpis* por Cortez et al. (2007) e Amóra et al. (2010) no Rio Grande do Norte, e no Maranhão por Silva; Carvalho e Souza (2012).

Neste estudo, a *L. lenti*, também, foi encontrada em áreas peridomésticas, corroborando com Oliveira et al. (2003) em uma pesquisa realizada na zona urbana da Cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul e Rêgo et al. (2015) no município de São João das Missões em Minas Gerais.

No Mato Grosso do Sul, a *L. lenti* foi intimamente associada a abrigos de animais domésticos em áreas rurais no município de Corguinho, por Galati et al. (1996). Além disso, Sherlock (1996) relata que esta espécie juntamente com a *L. evandroi* são altamente antropofílicas, mas geralmente preferem se alimentar do sangue de cães domésticos.

A ocorrência de algumas espécies de flebotomíneos em áreas urbanas deve-se a capacidade desses insetos de se adaptarem em áreas onde o processo de urbanização causa modificações nos seus habitats naturais. Este fenômeno leva a uma redução dos espaços ecológicos dos flebotomíneos, do número de animais silvestres, expondo os seres humanos e cães domésticos a se tornarem fontes alternativas de alimentação para esses insetos (XIMENES et al. 2007; BRASIL, 2014). Nesse contexto, a capacidade de adaptação das espécies descritas acima, predominantes nas duas áreas do presente estudo, pode estar relacionada com a capacidade alimentar eclética dessas espécies, com habilidade de picar o homem, o cão, as aves e outros animais (BRAZIL; BRAZIL, 2003).

Todas as espécies identificadas nesta pesquisa já foram encontradas em outras áreas do Maranhão (REBÊLO et al. 1996; REBÊLO et al. 1999a; REBÊLO et al. 1999b; SILVA et al. 2015a; MORAIS et al. 2015). A espécie *L. gomezi*, encontrada nas duas áreas pesquisadas, é o primeiro registro de ocorrência para o município de Caxias, sendo esta de interesse médico, pois foi comprovada na transmissão de LTA no Equador, Panamá e Venezuela (WALTERS et al. 1989; FELICIANGELI; RABINOVICH, 1998; JORQUERA et al. 2005; SHARMA; SINGH, 2008; VALDERRAMA; TAVARES; ANDRADE FILHO, 2011). No Brasil pode ser que *L. gomezi* participe na transmissão da LTA na região

amazônica brasileira, já que foi encontrada naturalmente infectada com *Le. shawi* na Floresta Nacional do Tapajós (SOUZA et al. 2016).

Outra espécie, também, encontrada nas duas áreas pesquisadas foi a *L. rabelloi*, que representa o primeiro registro de ocorrência para o estado do Maranhão, no nordeste brasileiro. A *L. rabelloi* não é considerada uma espécie vetora de *Leishmania* sp. (AGUIAR; MEDEIROS, 2003). Esta espécie foi descrita como novo registro de ocorrência para o estado de São Paulo por Galati e Gomes (1992) e Galati et al. (2007).

As áreas pesquisadas exibem fitofisionomias diferentes, apresentando maior abundância de flebotomíneos no bairro Pirajá, que correspondeu a 83,99% dos flebotomíneos coletados. Isso pode ser explicado pela presença do riacho próximo aos quintais das habitações, com distância de aproximadamente 4m, onde foram instaladas as armadilhas, apresentando fitofisionomia mais úmida e com a maioria dos pontos de coleta pouco perturbadas, com vegetações fechadas ao redor das residências.

Além disso, em todas as residências desse bairro, possuem criação de animais domésticos como: porco, galinha, cão, cavalo, bode, entre outros. Segundo Silva et al. (2008), a frequência e a densidade de flebotomíneos no ambiente antrópico parece depender do grau de degradação dessas áreas e da existência de fontes alimentares representadas, principalmente, pela criação de animais domésticos e como o comportamento original dos flebotomíneos é silvestre, a distribuição e a abundância das espécies sofrem influência direta das áreas com matas.

Os pontos de coleta do bairro Itapecuruzinho, que correspondeu a 16,01% de insetos coletados, encontram-se em uma distância considerável de cursos d'água, com aproximadamente 300 m do rio Itapecurú. Além do mais, as residências desse bairro se configuram em quintais agroflorestais, apresentando áreas mais abertas, ou seja, vegetação fragmentada entre as residências sujeita a receber mais calor, demonstrando que esse ambiente sofre mais ações antrópicas que o bairro Pirajá.

As espécies *L. longipalpis*, *L. whitmani*, *L. evandroi*, *L. lenti*, *L. gomezi*, *L. flaviscutellata*, *L. rabelloi* e *L. antunesi* foram mais representativas no bairro Pirajá que no Itapecuruzinho. A *L. flaviscutellata* é considerada estritamente silvestre, com pouca antropofilia, de hábito alimentar essencialmente noturno e de ocorrência principalmente em florestas residuais baixas, geralmente úmidas e de difícil acesso para o homem (LAINSON, 1985). No entanto, esta espécie invade ocasionalmente, os quintais das casas situadas muito próximas das florestas primárias e secundárias (LAINSON; RANGEL, 2005).

No bairro Itapecuruzinho, *L. flaviscutellata* foi registrada somente no extradomicílio, caracterizado pela presença de vegetação, corroborando com Rebêlo et al. (1999a) e Silva et al. (2010b), que também, encontraram esta espécie mais frequente em áreas de mata. Porém, esta espécie, apesar de preferir sangue de certos animais silvestres, pode se adaptar a ambientes antropizados e tornar-se peridoméstica (RANGEL; COSTA; CARVALHO, 2014).

Portanto, apesar da espécie *L. flaviscutellata* ser encontrada com menor frequência no peridomicílio das áreas estudadas, sua importância na epidemiologia da LTA não pode ser desconsiderada, uma vez que é o vetor comprovado de *L. amazonensis*, o agente etiológico responsável pela maioria dos casos de Leishmaniose Cutânea Difusa (LCD) no estado do Maranhão (COSTA et al. 1992; SALDANHA et al. 1992).

Em relação à distribuição dos flebotomíneos quanto ao sexo na presente pesquisa, os machos predominaram em relação às fêmeas, corroborando com vários trabalhos realizados no Maranhão (REBÊLO et al. 1999b; BARROS; REBÊLO e SILVA, 2000; MARTIN; REBÊLO, 2006; GUIMARÃES-E-SILVA et al. 2012; PENHA et al. 2013). Na maioria dos estudos envolvendo coletas de flebotomíneos com uso de armadilhas luminosas tipo CDC há maior predominância dos machos, que são mais atraídos pela fonte luminosa da armadilha, já as fêmeas estão em busca de fonte alimentar e muitas, já ingurgitadas, tendem a permanecer próximas ao local de repasto devido ao peso após a alimentação e, assim, escapam da atração das armadilhas (BARRETTO, 1943; AGUIAR et al. 1985; PENHA et al. 2013; AMORIM et al. 2015).

Outra hipótese, é que se as armadilhas foram colocadas próximo aos criadouros, é de se esperar que capture mais machos devido a estes nascerem antes das fêmeas. Há também, a possibilidade de que os machos sejam atraídos às armadilhas quando acompanham às fêmeas para a cópula, já que machos de flebotomíneos formam agregados com o propósito de acasalamento (BARRETTO, 1943; AGUIAR et al. 1985; OLIVEIRA et al. 2010).

Quanto ao local de coleta, geralmente em ambientes rurais ou de mata, a diversidade de espécie tende a ser maior do que a ambientes peridomiciliares (SILVA et al. 2008; SARAIVA et al. 2010; VILELA et al. 2011; MACHADO et al. 2012). Isso justifica os resultados encontrados no presente estudo, pois o extradomicílio foi frequentado por todas as 20 espécies, sendo que as *L. sallesi*, *L. abonnenci*, *L. aragaoi* e *L. begoniae* foram capturadas somente nesse ambiente. Pelo fato das áreas do peridomicílio serem mais afetadas pela intervenção humana, isso provavelmente dificulta a adaptação de algumas espécies de flebotomíneos para essas localidades (RÊGO et al. 2014).

A espécie *L. gomezi*, durante o período chuvoso do bairro Pirajá, foi encontrada significativamente com maior frequência no extradomicílio. Vilela et al. (2011) quando estudaram os flebotomíneos em áreas rurais e urbanas no estado do Tocantins, não encontraram esta espécie no ambiente urbano. No entanto, estudos têm mostrado que o desmatamento e a perda de habitat natural têm causado a adaptação desta espécie em áreas peridomiciliares, alimentando-se em uma grande variedade de animais domésticos (TRAVI et al. 2002; VALDERRAMA; TAVARES; ANDRADE FILHO, 2011). Em outro estudo de Valderrama, Tavares e Andrade Filho (2014), também se verificou a capacidade de migração e adaptação dessa espécie à ambientes perturbados pelo homem quando estudaram a população de *L. gomezi* no Panamá, situado na América Central.

No peridomicílio, a frequência de espécimes de flebotomíneos foi maior, com 59,14% dos exemplares coletados. Esse resultado também, foi relatado em vários trabalhos realizados no Maranhão, com frequência de flebotomíneos capturados, principalmente em áreas com presença de animais domésticos (REBÊLO et al. 1999a; REBÊLO et al. 1999b; REBÊLO et al. 2000; GUIMARÃES-E-SILVA et al. 2012; SILVA et al. 2015a). E em outras regiões do Brasil, como no estado do Paraná (CERINO; TEODORO; SILVEIRA, 2009; SANTOS et al. 2016), no estado do Mato Grosso do Sul (ALMEIDA et al. 2010b) e no estado do Rio Grande do Norte (AMORIM et al. 2015).

O predomínio de espécimes nesse ambiente pode ser explicado pela presença abundante de animais domésticos no peridomicílio das áreas pesquisadas, pois são fontes de alimento para os flebotomíneos adultos, além disso, áreas de peridomicílio possuem disponibilidade de abrigo para os flebotomíneos, bem como a matéria orgânica para o desenvolvimento de estágios imaturos (RÊGO et al. 2014).

Vale ressaltar que as espécies *L. longipalpis* e *L. whitmani* foram representadas por 56% dos espécimes coletados no peridomicílio, que são altamente adaptadas a esse tipo de ambiente. Martin e Rêbelo (2006) no Maranhão e Andrade et al. (2014) no Mato Grosso do Sul, também encontraram essas duas espécies mais frequentes no peridomicílio.

Nesse contexto, o encontro de abundância elevada de flebotomíneos em ambientes peridomiciliares, atraídos pelos animais domésticos, facilita o risco de exposição de flebotomíneos vetores, e com a proximidade desses animais domésticos das residências, aumenta o risco de infecção para os moradores da região (CUNHA et al. 1995; BRASIL, 2014).

Porém, de acordo com Barros et al. (2014), a presença de animais domésticos pode servir com uma barreira atrativa ou protetora, dependendo da distância do animal

doméstico para as residências, pois estes autores observaram que a presença de galinheiro próximo às residências aumenta a presença de flebotomíneos no intradomicílio, e com o distanciamento do referido abrigo das residências, a frequência desses insetos diminui drasticamente no intradomicílio.

Ainda em relação aos locais de coleta, duas espécies de interesse médico a *L. intermedia* e *L. antunesi* foram capturadas em ambos os ambientes, no peridomicílio e extradomicílio. A *L. intermedia* é considerada antropofílica e comprovada como vetor potencial de *L. braziliensis*, também já foi infectada experimentalmente com *L. infantum*, podendo ser considerada como vetor alternativo em potencial de LVA, no Brasil (RANGEL; LAISON, 2003). A *L. antunesi* é considerada silvestre, e foi encontrada infectada por *Leishmania* spp. em áreas endêmicas para leishmaniose no estado do Pará, por Ryan et al. (1984) e Silveira et al. (1991), e na Colômbia por Vásquez (2008).

Quanto a distribuição mensal dos flebotomíneos, na presente pesquisa estes foram capturados em todos os meses do estudo, como constatado também em outros trabalhos (REBÊLO et al. 2001; MARTINS et al. 2004; MARTIN; REBÊLO, 2006; MACEDO et al. 2008; MORAIS et al. 2015). Estudos têm demonstrado que a maioria das espécies de flebotomíneos tende a aparecer nos meses mais quentes e úmidos (GOMES; GALATI, 1977; GOMES; GALATI, 1989; TEODORO et al. 1993; TEODORO et al. 2001).

No bairro Pirajá a maior frequência de flebotomíneos foi representada pelos meses de janeiro e julho, que apresentaram valores significativos, possivelmente coincidindo com temperaturas elevada e índice pluviométrico relativamente baixos, pois nos meses de janeiro e julho de 2015 foram registrados, no momento da coleta, temperaturas acima de 20°C com índice pluviométrico mensal de 41,1mm. No bairro Itapecuruzinho constatou-se que somente o mês de janeiro obteve maior ocorrência de flebotomíneos, porém não apresentou significância estatística.

Em outros trabalhos realizados no Maranhão como o de Martin e Rebêlo (2006), verificou-se que os meses com maior frequência de flebotomíneos foram outubro, setembro, dezembro, na estação de estiagem, e abril, na estação chuvosa. Já Moraes et al. (2015) verificaram que agosto foi o mês com maior concentração de espécimes. Em outras regiões do Brasil, os meses de maior abundância de flebotomíneos foram: fevereiro e abril em Manaus (PEREIRA-JUNIOR, 2014); março no Ceará (MACEDO et al. 2008); janeiro e março no Mato Grosso do Sul (ALMEIDA et al. 2010b); junho, setembro, novembro e dezembro em Minas Gerais (RÊGO et al. 2014); e o mês de janeiro no Rio de Janeiro (VIEIRA, 2014).

Neste estudo, das 20 espécies de flebotomíneos identificadas, 13 foram classificadas como constantes, espécies presentes em mais de 50% dos meses, dentre estas a *L. longipalpis* e a *L. whitmani*, principais vetores da LVA e LTA no Brasil, ocorreram rigorosamente em todos os meses de estudo. Esses resultados corroboram com os de Vilela et al. (2011) no estado de Tocantins que também, encontraram estas espécies durante todo período de estudo em ambiente peridomiciliar. Isso mostra o potencial de adaptação destas espécies a ambientes urbanos. De acordo com Penha et al. (2013) o domínio das espécies constantes e acessórias sobre as acidentais é explicado pelas características ambientais da área pesquisada, se é antropizada, com vegetação degradada, dentre outros, além da influência dos fatores climáticos (temperatura, umidade e pluviosidade), na frequência sazonal dos flebotomíneos.

Quanto à sazonalidade, no bairro Pirajá, o período seco obteve maior número de flebotomíneos capturados, que no período chuvoso. Esses resultados corroboram com os de outros estudos realizados no estado do Maranhão que também verificaram maior captura de flebotomíneos no período seco (MARTIN; REBELO, 2006; MARTINS et al. 2011; MORAIS et al. 2015) e em outras regiões do Brasil como no Paraná (CERINO; TEODORO; SILVEIRA, 2009), Mato Grosso do Sul (ALMEIDA et al. 2010b) e São Paulo (SPADA, 2014). A intensidade das chuvas, com ocorrência forte, pode ser um fator que afeta a quantidade de insetos capturados no período chuvoso, pois chuvas intensas podem prejudicar o desenvolvimento dos flebotomíneos, podendo interferir nos criadouros, eliminando as formas jovens, como também afetar as populações de adultos (FARIAS, 2014).

Em relação ao bairro Itapecuruzinho, verificou-se o contrário, pois a prevalência de flebotomíneos no período chuvoso foi maior corroborando com Barros, Rebêlo e Silva (2000), Marinho et al. (2008) e Silva et al. (2012), no Maranhão; Macedo et al. (2008) no Ceará; Machado et al. (2012) em Tocantins e Rêgo et al. (2014) em Minas Gerais, que também encontraram maior ocorrência de flebotomíneos no período chuvoso.

Segundo Martins et al. (2011) e Penha et al. (2013), na maioria dos estudos realizados em diferentes localidades do Maranhão, a abundância de flebotomíneos geralmente é maior durante o período chuvoso, que de um modo geral propicia a proliferação de insetos, devido à maior umidade, alta temperatura e disponibilidade de alimento. Porém, tal ocorrência não constitui um padrão determinado no estado (MORAIS et al. 2015).

Para uma melhor compreensão dos resultados obtidos no presente estudo a respeito da distribuição sazonal dos flebotomíneos, devem também serem analisados os

fatores climáticos como pluviosidade, temperatura e umidade, separadamente por área pesquisada, já que em cada área do presente estudo ocorreram variações climáticas diferentes.

No Pirajá somente no período chuvoso, a análise de correlação da coleta de flebotomíneos com os fatores climáticos, demonstrou que apenas a Umidade máxima (Umáx.) apresentou correlação forte e negativa com o número de flebotomíneos, mostrando que estes diminuía conforme a umidade máxima aumentava. No Itapecuruzinho, observou-se que, apenas no período seco a Umáx. obteve correlação moderada e negativa entre o número de flebotomíneos, mostrando que a quantidade de insetos diminuía conforme a Umáx. aumentava. Esses resultados demonstram que os flebotomíneos são sensíveis às variações da umidade. Segundo Ovallos (2011), os flebotomíneos adultos costumam procurar abrigos para se protegerem quando a umidade do ambiente está alta. Isso provavelmente impediu a atração de elevada abundância desses insetos para as armadilhas no Pirajá durante o período chuvoso e no Itapecuruzinho durante o período seco.

Em relação aos outros fatores climáticos como a pluviosidade e temperatura, tanto no período chuvoso como no seco, não se correlacionaram com a abundância dos flebotomíneos em ambos os bairros estudados. De acordo com a literatura, esses fatores climáticos, influenciam a população de flebotomíneos de modo variável, dependendo da região analisada e do tempo de investigação que é no mínimo, dois anos consecutivos para apresentarem dados confiáveis e consistentes (DIAS et al. 2007; RÊGO et al. 2014).

No trabalho de Silva et al. (2015a), realizado em um período de um ano de estudo, no município de Codó, houve correlação negativa entre a densidade dos flebotomíneos com a umidade e positiva com a temperatura, mas não houve correlação com a pluviosidade.

No entanto, em Minas Gerais no município de Porteirinha em um período de dois anos de estudo, houve correlação negativa entre o número de flebotomíneos capturados com a pluviosidade e umidade (BARATA et al. 2004). Em Belo Horizonte, no estudo de dois anos, foram encontradas correlações significativas e positivas entre a densidade populacional da espécie *L. longipalpis* com a precipitação e temperatura (LARA-SILVA et al. 2015).

No Estado do Mato Grosso do Sul, Oliveira et al. (2010), no período de seis anos de pesquisa, evidenciaram correlação negativa com o número de flebotomíneos e a pluviosidade, Brito et al. (2014), em um ano de estudo, demonstraram correlação moderada com a temperatura e Almeida et al. (2010b) em dois anos de estudo, obteve correlação significativa positiva com a temperatura máxima e umidade.

Em trabalhos realizados no Maranhão e Minas Gerais, ambos realizados durante um ano, verificaram que não houve correlação entre a variação de espécimes de

flebotomíneos distribuídos ao longo do ano com os fatores climáticos (REBÊLO et al. 2001; DIAS et al. 2007; MARINHO et al. 2008).

O estudo da distribuição sazonal e a influência dos fatores climáticos com a densidade de flebotomíneos se faz importante para a compreensão da interação entre os flebotomíneos e seu habitat, assim como da dinâmica de transmissão das leishmanioses visando à implementação dos métodos de controle vetorial nos períodos mais propícios de reprodução desses insetos em determinada área (SARAIVA et al. 2006; MARTIN; REBÊLO, 2006; MACEDO et al. 2008; MICHALSKY et al. 2009).

Em relação a identificação de flebotomíneos naturalmente infectados com espécies de *Leishmania*, na presente pesquisa, obteve uma Taxa de infecção Natural (TN) para área de estudo de 19,8% em 212 fêmeas de flebotomíneos examinadas. Em outros estudos, no município de São João das missões em Minas Gerais, foi detectado por Rêgo et al. (2015) uma TN de 1,8% em 1.289 fêmeas examinadas, Michalsky et al. (2011) no município de Janaúba, estado de Minas Gerais detectou TN de 3,9% em 155 amostras testadas, Paiva et al. (2010) no Mato Grosso do Sul a TN foi de 1,6%, e Pereira-Junior (2014) no município de Tefé, Amazonas obteve TN de 0,83% em 1.679 fêmeas analisadas.

A maior parte das infecções em flebotomíneos foi encontrada por *Le. braziliensis* com 41,9%, detectada nas espécies *L. longipalpis*, *L. whitmani*, *L. saulensis*, *L. flaviscutellata*, *L. rabelloi* e *L. intermedia*. O extradomicílio foi mais prevalente com nove espécimes desse parasita contra quatro espécimes encontrados no peridomicílio. Este estudo é o primeiro registro no Maranhão de *Le. braziliensis* em *L. saulensis*, *L. flaviscutellata*, *L. rabelloi* e *L. intermedia*.

A *Le. braziliensis* também foi encontrada em *L. whitmani* em várias regiões do Brasil, no estado do Ceará por Queiroz et al. (1994), no Paraná por Luz et al. (2000), no Maranhão por Oliveira-Pereira et al. (2006), no Mato Grosso do Sul por Paiva et al. (2010) e em Minas Gerais por Lana et al. (2015).

Esse parasito é a principal espécie envolvida com a etiologia da LTA em toda América Latina desde a América Central até o norte da Argentina. No Brasil, é encontrada em todas as zonas endêmicas do país, transmitida por diferentes espécies de flebotomíneos tais como, *L. whitmani*, *L. complexa*, *L. intermedia*, *L. wellcomei*, *L. migonie* e *L. neivai* (BRASIL, 2010; BRITO et al. 2012; GONTIJO; CARVALHO, 2003; LACERDA, 1994).

Nesse cenário, o encontro de infecção por *Le. braziliensis* em *L. whitmani* e *L. intermedia*, vetores desta espécie de *Leishmania*, pode favorecer a ocorrência do ciclo de transmissão no município de Caxias, pois no ano de 2015 foram registrados 29 casos de LTA

na cidade (SINAN, 2015). Pode ser que a *L. intermedia*, não responda pela capacidade vetorial nas áreas pesquisadas, especialmente porque neste estudo a abundância desta espécie foi relativamente baixa. Segundo BRASIL (2014), um dos requisitos para uma espécie de flebotomíneo ser considerada vetora é sua presença abundante na natureza. Porém, no presente estudo esse achado não deve ser desconsiderado, pois esta espécie é um importante vetor da LTA no sudeste do Brasil (GOMES; GALATI, 1989; SILVA et al. 2010).

Vale ressaltar que a *L. intermedia* é uma espécie bem adaptada a vários habitats, desde florestas a ambientes modificados pelo homem, onde o desmatamento está mudando gradualmente o perfil epidemiológico (LAINSON; RANGEL, 2003), como é o caso do município de Caxias que vem passando, nos últimos anos, por mudanças ambientais para a construção de residências, indústrias, shopping, entre outros.

A espécie *L. longipalpis*, também foi encontrada infectada com *Le. braziliensis* por Paiva et al. (2006; 2010) no Mato Grosso do Sul e por Lana et al. (2015) e Lara-Silva et al. (2015) em Minas Gerais. De acordo com Lainson (2010), não há informações sobre a *L. longipalpis* transmitir outra espécie de *Leishmania* que não seja a *Le. infantum*.

Em relação a *Le. infantum*, esta foi a segunda espécie de *Leishmania* mais prevalente com 35,5% dos parasitos encontrados neste estudo. Foi encontrada tanto em fêmeas de *L. longipalpis*, seu principal vetor no Brasil, como também em *L. whitmani* e *L. evandroi*, que não são vetores desse parasito. Provavelmente isso aconteceu devido ao fato dessas espécies de flebotomíneos se alimentarem das mesmas fontes alimentares (animais domésticos ou silvestres) que, possivelmente estavam infectados com a *Le. infantum*.

A TN obtida de *Le. infantum* em *L. whitmani* foi de 2,8%, maior que a TN da espécie vetor, *L. longipalpis* que foi 1,7%. Vale ressaltar que a *Le. infantum* foi encontrada em *L. whitmani*, tanto no domicílio (N= 3) como no extradomicílio (N= 6) dos dois bairros, e somente em um espécime de *L. longipalpis* apenas no peridomicílio do bairro Pirajá.

Os vetores podem ser divididos em vetores específicos (são aqueles que permitem o crescimento de apenas uma espécie de *Leishmania*) e vetores permissivos (suportam o desenvolvimento de mais de uma espécie) (WHO, 2010). Algumas barreiras naturais existentes dentro do flebotomíneo vão conduzir à refração ou susceptibilidade do inseto à infecção (READY, 2013).

Diante disso, a *Le. infantum* e outras espécies de *Leishmania* podem infectar diferentes espécies de flebotomíneos, independentemente de seu vetor comprovado, mesmo que experimentalmente, mas sem impacto sobre a transmissão da doença, sendo considerados vetores permissivos, pois há evidências consistentes sobre a especificidade de vetores para

determinadas espécies de *Leishmania* (LAINSON; SHAW, 1998; SHERLOCK, 1997; VOLF; MYSKOVA, 2007; LANA et al. 2015).

No presente estudo, o achado de *L. evandroi* infectado com *Le. infantum*, é o primeiro registro para o estado do Maranhão. Em várias regiões do estado de Minas Gerais já foi relatada infecção natural de *L. longipalpis* com *Le. infantum* por Margonari et al. (2010) em Divinópolis, Michalsky et al. (2011) no município de Janaúba, Lara-Silva et al. (2015) em Belo Horizonte, Lana et al. (2015) em Jaboticatubas e Rêgo et al. (2015) em São João das Missões. Além disso, Saraiva et al. (2010) também em Minas Gerais encontraram tanto a *L. longipalpis* como a *L. whitmani* infectados por esse parasito. No estado do Maranhão, na Ilha de São Luís, Soares et al. (2010) encontraram a espécie *L. longipalpis* infectado por *Le. infantum* e no município de Caxias esse resultado foi detectado pela primeira vez por Nascimento et al. (2013).

Segundo a literatura, a taxa de infecção natural não justifica a alta transmissão da doença, pois a presença de *Leishmania* no *L. longipalpis* é considerada baixa na natureza, mesmo em áreas endêmicas para LVA. Porém a detecção da taxa de infecção natural é bastante relevante, pois possibilita verificar com precisão quais as espécies de *Leishmania* circulam nas áreas investigadas. A capacidade vetorial do *L. longipalpis* baseia-se, no registro de casos autóctones de LVA e na abundância e distribuição espacial desse vetor com a área de ocorrência de casos da doença, confirmando sua participação no ciclo de transmissão da LVA (COSTA, 2011; MIRANDA et al. 2002; NASCIMENTO et al. 2013).

De acordo com Afonso (2013), a espécie *L. longipalpis* se apresenta como o elo mais importante da cadeia de transmissão da LVA e é, sem dúvida, um fator biológico de risco, absolutamente essencial no processo de transformação do perfil epidemiológico e no incremento da urbanização da doença.

Quanto a *Le. amazonensis*, neste estudo foi detectada em três espécies de flebotomíneos a *L. longipalpis*, *L. whitmani* e *L. lenti*. Esse parasito também já foi encontrado em *L. longipalpis* por Paiva et al. (2006) no Mato Grosso do Sul e em *L. intermedia* por Rêgo et al. (2015) em Minas Gerais.

A *Le. amazonensis* ocorre em todas as regiões do Brasil, do norte até o sul do país (BRASIL, 2010). A espécie de flebotomíneo considerada vetora da *Le. amazonensis*, principalmente na região norte do Brasil, é a *L. flaviscutellata* (LAINSON; SHAW, 1968; WARD et al. 1973; ARIAS et al. 1985; RYAN et al. 1987). No presente estudo esse flebótomo foi encontrado infectado somente por *Le. braziliensis*.

Neste estudo o encontro de *L. lenti* infectado por *Le. amazonensis* é o primeiro registro para o estado do Maranhão. Esta espécie foi encontrada infectada com *Le. braziliensis* em Divinópolis no estado de Minas Gerais por Margonari et al. (2010) e por Paiva et al. (2010) no Mato Grosso de Sul. A *L. lenti* encontra-se bem distribuída no Brasil e, apesar de não ser uma espécie reconhecida como vetora de *Leishmania* é encontrada geralmente em conjunto com *L. longipalpis* em áreas com ocorrência de LVA (BRASIL, 2014).

Segundo Sherlock (2003), no Continente Americano, somente as espécies de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* são vetores de *Leishmania*. Porém, no presente estudo foi detectado um *B. avellari* infectado por *Le. mexicana*, no extradomicílio do bairro Pirajá, com TN baixa de 0,5%.

As espécies do gênero *Brumptomyia* não são importantes na epidemiologia da LTA e em sua totalidade, sugam o sangue de dasipodídeos (tatus), sendo encontradas sempre em folhas caídas no solo florestal e nas tocas destes animais (FILHO, 1942; DAMASCENO et al. 1949; AGUIAR; MEDEIROS, 2003; ECKERT; SOUZA, 2010). A *Le. mexicana* é endêmica nos países Belize, Guatemala e México, com registro de ocorrência em Honduras, Costa Rica e Sul dos EUA (BONFANTE-GARRIDO, 1983; LAINSON, 2010). Esse parasito foi encontrado pela primeira vez no município de Caxias, em *L. longipalpis*, por Guimarães-e-Silva (2016).

Não há relatos na literatura do gênero *Brumptomyia* infectado com espécies de *Leishmania*. Nardi (2010) em Paranapanema, São Paulo analisou amostras desse gênero, no entanto foram negativas para presença de DNA de *Leishmania*, portanto o presente estudo é o primeiro registro de *B. avellari* com *Le. mexicana*. Sabe-se que tatus são reservatórios silvestre de *Leishmania* sp. e também são fonte de alimento para o *B. avellari* (FILHO, 1942), isso pode explicar esse achado. Provavelmente esse espécime se alimentou de um reservatório silvestre infectado com *Le. mexicana*. A presença de *Le. mexicana* em apenas uma amostra de *B. avellari* capturado no presente estudo deve ser melhor investigado aumentando o número de amostras examinadas dessa espécie de flebotomíneo, já que foram examinados apenas três espécimes, com uma amostra positiva para *Le. mexicana*.

Com relação à amostra de *Leishmania* sp. a não identificação da mesma pode ter ocorrido devido a pequena quantidade de DNA, inviabilizando a técnica de PCR-RFLP ou não foi possível identificar o parasito presente no flebotomíneo pela técnica empregada.

Ressalta-se neste estudo, o registro de infecções mistas, ou seja, duas espécies de *Leishmania* em um único flebotomíneo. As espécies *L. longipalpis* e *L. whitmani* apresentaram infecção mista com *Le. infantum/Le. braziliensis*, e também com *Le.*

infantum/Le. amazonensis encontradas no peridomicílio e extradomicílio em ambos os bairros. Outras espécies de flebotomíneos que também apresentaram infecção mista foram a *L. evandroi* e *L. lenti* ambas infectadas com *Le. infantum/Le. amazonensis*, encontradas no peridomicílio, a *L. evandroi* no Pirajá e a *L. lenti* no Itapecuruzinho. A *L. rabelloi*, primeiro registro de ocorrência no estado do Maranhão, também foi encontrada com infecção mista por *Le. lainsoni/Le. naiffi* somente no extradomicílio do bairro Pirajá.

A *Le. lainsoni*, ocorre na região norte (Pará, Roraima e Acre) e a *Le. naiffi* nos estados do Pará e Amazonas. A *Le. lainsoni* foi isolada e caracterizada da paca (*Agouti paca*), seu possível reservatório e a *Le. naiffi* foi isolada e caracterizada em tatu (*Dasypus novemcinctus*), deste modo, provavelmente a espécie apresentará uma distribuição geográfica muito mais ampla se acompanhar a deste hospedeiro (GONTIJO; CARVALHO, 2003; RANGEL; LAINSON, 2009; BRASIL, 2010).

No Maranhão, na mesma região do presente estudo, Guimarães-e-Silva (2016) relata o encontro de poucas infecções mistas com *Le. infantum* e *Le. braziliensis* em duas espécies de flebotomíneos, *L. whitmani* e *L. trinidadensis* e infecção mista com *Le. lainsoni/Le. naiffi* em *L. longipalpis*. Acredita-se que a ocorrência e a frequência de infecção natural por mais de uma espécie de *Leishmania*, especialmente em focos onde duas espécies se sobrepõem, são mais comuns do que os casos reportados na literatura. Foi demonstrado que em co-cultivo com mais de uma espécie de *Leishmania*, que a espécie dominante tende a inibir o crescimento da outra espécie. O grau de detecção desse fenômeno não está inteiramente elucidado e provavelmente está subestimado (IBRAHIM et al. 1994; PACHECO et al. 1997).

Vários estudos realizados no Brasil relatam infecções mistas por *Leishmania* em amostras isoladas de pacientes acometidos pela doença e em reservatórios silvestres e domésticos: Silveira et al. (1984), em amostras de pacientes provenientes do Pará, identificaram infecção mista com *Le. braziliensis/Le. amazonensis*; Brito et al. (2009) no município de Amaraji, Pernambuco e Coelho et al. (2011) no Amazônia, verificaram várias infecções mistas em amostras clínicas coletadas a partir de uma única lesão, provenientes de pacientes acometidos por *Leishmania*; Madeira et al. (2006), evidenciaram infecção mista de *Le. braziliensis/Le. L. infantum* em amostras isoladas de cão provenientes da cidade do Rio de Janeiro. Segundo Prina et al. (1993) e Volf et al. (2007), a ocorrência de infecções mistas pode dificultar o diagnóstico e a terapia da doença, já que dependendo da espécie de *Leishmania* a forma clínica e o tratamento da doença são diferentes (PELLISSARI et al. 2011).

Diante do exposto, a presença de material genético de agentes etiológicos da LTA em vetores de LVA e vice-versa, podem ser explicadas por variações na permissividade das espécies de flebotomíneos para a infecção por *Leishmania* (LANA et al. 2015; LARA-SILVA et al. 2015).

Porém, a presença de DNA de *Leishmania* em flebotomíneos não implica que esses insetos podem desempenhar um papel na transmissão de leishmanioses, pois para que uma espécie de flebotomíneo seja incriminada como vetora, é preciso que se enquadre nos parâmetros descritos por Killick-Kendrik (1990), que são aceitos e adotados pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2007). Nesse contexto, mais estudos são necessários para elucidar a competência vetorial dos flebotomíneos suspeitos, bem como para melhorar a compreensão das interações entre os dois parasitas em um único inseto.

6 CONCLUSÕES

- Os bairros, Pirajá e Itapecuruzinho, apresentaram elevada abundância de flebotomíneos com predominância de espécies importantes na transmissão das leishmanioses como *L. whitmani* e *L. longipalpis*;
- A ocorrência das espécies *L. longipalpis*, *L. whitmani*, *L. lenti*, *L. gomezi*, *L. cortelezzi*, *L. trinidadensis*, *L. flaviscutellata*, *L. antunesi* e *L. intermedia*, vetoras e/ou suspeitas de LVA ou LTA, sugerem a participação destas espécies no ciclo zoonótico das doenças;
- A detecção de *Le. infantum* em *L. longipalpis* e *Le. brazilienses* em *L. whitmani*, bem como a abundância elevada desses flebotomíneos observado ao longo de todo período de estudo, reforça o papel desses insetos na transmissão dos agentes etiológicos da LVA e LTA no município de Caxias;
- A detecção do DNA de diferentes espécies de *Leishmania* nos flebotomíneos coletados nas áreas do presente estudo, demonstra que além da *Le. infantum* e *Le. brazilienses* outras espécies de *Leishmania*, como a *Le. mexicana*, *Le. amazonensis*, *Le. lainsoni* e *Le. naiiffi*, e também infecções mista estão circulando no estado do Maranhão;
- O encontro de flebotomíneos infectados com *Leishmania* sugerem que esses insetos têm capacidade vetorial de infectar ou talvez, apresentam apenas fragmentos de *Leishmania*;
- Há necessidade de estudos de competência vetorial para demonstrar quais as espécies de flebotomíneos são transmissoras de *Leishmania*, além disso, faz-se necessário, também, estudos voltados para verificar os reservatórios vertebrados potenciais de *Leishmania*.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADINI, I.; JACOBSON, R. L.; KASAP, M.; SCHLEIN, Y.; JAFFE, C. L. Species-specific detection of *Leishmania* in sand flies using an enzyme-linked immunosorbent assay. **Transaction of the Royal Society of Tropical Medical and Hygiene**, London, v. 92, n. 1, p. 35-37, 1998.
- AFONSO, M. M. S. **Estudos sobre *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): hábitos alimentares, infecção natural por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* (Cunha & Chagas, 1937) e correlação com a expansão da leishmaniose visceral americana**. 152f. 2013. In.: Tese (Doutorado) – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2013.
- AGUIAR, G. M.; MEDEIROS, W. N. **Distribuição regional e habitats de flebotomíneos do Brasil**. In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. (eds) *Flebotomíneos do Brasil*, Editora Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, p. 207-255, 2003.
- AGUIAR, G. M.; VILELA, M. L.; SCHUBACK, P.; SOUCASAUX, T.; AZEVEDO, A. C. R. Aspectos da ecologia dos flebotomos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro. IV. Frequência mensal em armadilhas luminosas (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 80, n. 4, p. 465-482, 1985.
- ALEXANDER, B. Tatuquiras of the Terra Firme: ecological and public health significance of the subgenus *Lutzomyia (Psychodopygus)* Mangabeira, 1941. p. 519-542. In: BURGER, J.F. (ed.). *Contributions to the knowledge of Diptera. Memoirs on entomology, International*, Associated Publishers. Gainesville, Florida. USA, v. 14. p. 648, 1999.
- ALMEIDA, P. S.; MINZÃO, E. R.; MINZÃO, L. D.; SILVA, S. R.; FERREIRA, A. D.; FACCENDA, O.; FILHO, J. D. A. Aspectos ecológicos de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em área urbana do município de Ponta Porã, Estado de Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 6, p. 723-727, 2010b.
- ALMEIDA, P. S.; NASCIMENTO, J. C.; FERREIRA, A. D.; MINZÃO, L. D.; PORTES, F.; MIRANDA, A. M.; FACCENDA, O.; FILHO, J. D. A. Espécies de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) coletadas em ambiente urbano em municípios com transmissão de leishmaniose visceral do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, n. 2, p. 304-310, 2010a.
- ALVAR, J.; VÉLEZ, I. D.; BERNA, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANO, J.; JANNIN, J.; BOER, M. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 7, n. 5, p. 1-12, 2012.
- AMÓRA, S. S. A.; BEVILAQUA, C. M. L.; DIAS, E. C.; FEIJÓ, F. M. C.; OLIVEIRA, P. G. M.; PEIXOTO, G. C. X.; ALVES, N. D.; OLIVEIRA, L. M. B.; MACEDO, I. T. F. Monitoring of *Lutzomyia longipalpis* Lutz & Neiva, 1912 in an area of intense transmission of visceral leishmaniasis in Rio Grande do Norte, Northeast Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 19, n. 1, p. 39-43, 2010.
- AMORIM, C. F.; AMÓRA, S. S. A.; KAZIMOTO, T. A.; COSTA, K. F. L.; SILVA, L. F.; MACIELA, M. V. Levantamento de flebotomíneos às margens do Rio Mossoró no Nordeste do Brasil. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 39, n. 3, p. 584-597, 2015.
- ANDRADE, A. R. O.; SILVA, B. A. K.; CRISTALDO, G.; ANDRADE, S. M. O.; FILHO, A. C. P.; RIBEIRO, A.; SANTOS, M. F. C.; ANDREOTTI, R. Spatial distribution and

environmental factors associated to phlebotomine fauna in a border area of transmission of visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 260, p. 1-7, 2014.

ARANSAY, A. M.; SCOULICA, E., TSELENTIS, Y. Detection and Identification of *Leishmania* DNA within Naturally Infected Sand Flies by Seminested PCR on Minicircle Kinetoplastic DNA. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 5, p. 1933-1938, 2000.

ARIAS, J.R.; MILES, M.A.; NAIFF, R.D.; POVOA, M.M.; FREITAS, R.A.; BIANCARDI, C.B.; CASTELLON, E.G. Flagellate infections of Brazilian sand flies (Diptera: Psychodidae): isolation in vitro and biochemical identification of *Endotrypanum* and *Leishmania*. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 34, n. 6, p. 1098-1108, 1985.

ASHFORD, R.W. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. **International Journal for Parasitology**, New York, v. 30, p. 1269-1281, 2000.

BACHA, H. A.; TUONA, F. F.; ZAMPIERI, R. A.; FLOETER-WINTER, L. M.; OLIVEIRA, J.; NICODEMO, A. C.; QUIROGA, M. M.; MASCHERETTI, M.; BOULOS, M.; AMATO, V. S. *Leishmania (Viannia) braziliensis* identification by PCR in the state of Para, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, n. 105, p. 173-178, 2011.

BARATA, R. A.; FRANÇA-SILVA, J. C.; FORTES-DIAS, C. L.; COSTA, R. T.; SILVA, J. C.; VIEIRA, E. P.; PRATA, A.; MICHALSKY, E. M.; DIAS, E. S. Phlebotomines sand flies in Porteirinha, an endemic area of American visceral leishmaniasis in the State of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, p. 481-487, 2004.

BARCKER, D. C. Molecular approaches to DNA diagnosis. **Parasitology**, Oxford, v. 99, p.125-146, 1989.

BARRETO, M. L.; TEIXEIRA, M. G.; BASTOS, F. I.; XIMENES, R. A.; BARATA, R. B.; RODRIGUES, L. C. Successes and failures in the control of infectious diseases in Brazil: social and environmental context, policies, interventions, and research needs. **Lancet**, London, v. 377, n. 9780, p. 1877-1889, 2011.

BARRETO, M. P. Sobre a sistemática da subfamília Phlebotominae Rondani (Díptera, Psychodidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 3, p. 173-190, 1955.

BARRETTO, M. P. Observações sobre a biologia, em condições naturais dos flebotomíneos do Estado de São Paulo (Diptera, Psychodidae). São Paulo: **Tipografia Rossotillo**. 1943.

BARROS, V. L. L.; MONTEIRO, P. S.; LOROSA, E. S.; REBÊLO, J. M. M. A importância das galinhas (*Gallus gallus*) na distribuição de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae) no ambiente domiciliar, na localidade de Preçueira, município de São José de Ribamar-MA, Brasil. **Revista Humana**, v. 1, n. 1, p. 15-29, 2014.

BARROS, V. L. L.; REBÊLO, J. M. M.; SILVA, F. S. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) de capoeira do município do Paço do Lumiar, Estado do Maranhão, Brasil. Área de transmissão de leishmaniose. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 1, p. 265-270, 2000.

BONFANTE-GARRIDO, R. Leishmanias y Leishmaniasis Tegumentaria en America Latina. **Bol OJ Sanzt Panam**, v. 95, n. 5, p. 418-426, 1983.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. 1. ed., 5. reimpr. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2014a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. 2. ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. SVS/MS –Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde. **Casos confirmados de Leishmaniose Visceral, Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2014**. 2014b. Disponível em:< <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/vigilancia-de-a-a-z>>. Acesso em 15 de junho de 2016.

BRASIL. SVS/MS –Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde. **Casos de Leishmaniose Tegumentar Americana. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2014**. 2014c. Disponível em:< <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/vigilancia-de-a-a-z>>. Acesso em 15 de junho de 2016.

BRASIL. SVS/MS –Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde. **Óbitos de Leishmaniose Visceral, Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 2000-2014**. 2014d. Disponível em:< <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/vigilancia-de-a-a-z>>. Acesso em 15 de junho de 2016.

BRAZIL, P. P.; BRAZIL, B. G. Biologia de flebotômíneos neotropicais. In.: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. (Eds.), **Flebotômíneos do Brasil**. Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 257-274, 2003.

BRITO, M. E.; ANDRADE, M. S.; DANTAS-TORRES, F.; RODRIGUES, E. H.; CAVALCANTI, M. P.; ALMEIDA, A. M.; BRANDÃO FILHO, S. P. Cutaneous leishmaniasis in northeastern Brazil: a critical appraisal of studies conducted in State of Pernambuco. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 45, p. 1-4, 2012.

BRITO, M. E.; ANDRADE, M. S.; MENDONÇA, M. G.; SILVA, C. J.; ALMEIDA, E. L.; LIMA, B. S.; FÉLIX, S. M.; ABATH, F. G.; GRAÇA, G. C.; PORROZZI, R.; ISHIKAWA, E. A.; SHAW, J. J.; CUPOLILLO, E.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Species diversity of *Leishmania* (*Viannia*) parasites circulating in an endemic area for cutaneous leishmaniasis located in the Atlantic rainforest region of northeastern Brazil. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v. 14, n. 10, p. 1278-86, 2009.

BRITO, V.N.; ALMEIDA, A.B.P.F.; NAKAZATO, L.; DUARTE, R.; SOUZA, C.O.; SOUSA, V.R.F. Phlebotomine fauna, natural infection rate and feeding habits of *Lutzomyia cruzi* in Jaciara, state of Mato Grosso, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 109, n. 7, p. 899-904, 2014.

CAMARGO, L. M. A; BARCINSKI, M. A. Leishmanioses, feridas bravas e kalazar. **Ciencia e Cultura**, v. 55, n. 1, p. 34-37, 2003.

CARDOSO, L.; CABRAL, M. *Leishmania* e leishmaniose canina. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 527, p. 121-141, 1998.

CARVALHO, G. M.; ANDRADE FILHO, J. D.; FALCAO, A. L.; ROCHA LIMA, A. C.; GONTIJO, C. M. Naturally infected *Lutzomyia* sand flies in a *Leishmania* endemic area of Brazil. **Vector borne zoonotic disease**, New York, v. 8, n. 3, p. 407- 414, 2008.

- CARVALHO, L. P.; PASSOS, S. T.; JESUS, A. R. Imunopatogênese da Leishmaniose Tegumentar. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 75, p. 57-65, 2005.
- CERINO, D. A.; TEODORO, U.; SILVEIRA, T. G. V. Sand Flies (Diptera: Psychodidae) in the urban area of the municipality of Cianorte, Paraná State, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 6, p. 853-858, 2009.
- COELHO, W. M. D.; RICHINI-PEREIRA, V. B.; LANGONI, H.; BRESCIANIA, K. D. S. Molecular detection of *Leishmania* sp. in cats (*Felis catus*) from Andradina Municipality, São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, n. 176, p. 281-282, 2011.
- CORTEZ, A. M.; SILVA, V. P.; QUEIROZ, P. V.; ANDRADE, H. T.; LOIOLA, M. I.; XIMENES, M. F. Vertical stratification and development aspects of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in an area of Atlantic Forest tree species in a metropolitan region in northeastern Brazil. **Journal of Vector Ecology**, v. 32, n. 2, p. 336-41, 2007.
- COSTA, J. M. L. Epidemiologia das leishmanioses no Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 75, p. 3-17, 2005.
- COSTA, J. M. L.; SALDANHA, A. C. R.; MELLO E SILVA, A. C.; SERRA-NETO, A.; GALVÃO, C. E. S.; PEDROSO E SILVA, C. M.; SILVA, A. R. Estado atual da leishmaniose cutânea difusa (LCD) no Maranhão. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 25, p. 115-123, 1992.
- COSTA, P. L. **Comportamento da fauna de flebotomíneos, com ênfase em *Lutzomyia Longipalpis*, em área endêmica para leishmaniose visceral no município de Passira, Agreste de Pernambuco**. 2011. 92f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Saúde Pública) — Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, 2011.
- CUNHA, S.; FREIRE, M.; EULALIO, C.; CRITOSVAO, J.; NETTO, E.; JOHNSON, W. D. JR.; REED, S. G.; BADARO, R. Visceral leishmaniasis in a new ecological niche near a major metropolitan area of Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 89, n. 2, p. 155-158, 1995.
- DAMASCENO, R. G.; AROUCK, R.; CAUSEY, O. R. Estudo sobre Flebotomus no Vale Amazônico. Parte VI – Contribuição ao conhecimento da distribuição geográfica e da incidência por tipo de captura de 64 espécies identificadas. **Revista da Fundação SESP 2**, p. 817-48, 1949.
- DANCEY, C.; REIDY, J. Estatística sem matemática para Psicologia: Usando SPSS para Windows. Porto Alegre: **Artmed**, 2005.
- DANTAS-TORRES, F.; ANDRADE, A. J.; TENÓRIO, K. E. R.; FILHO, J. D. A.; BALBINO, V. Q.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the State of Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 43, n. 6, p. 733-736, 2010.
- DANTAS-TORRES, F.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no estado de Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.39, p. 352-356, 2006.
- DESJEUX, P. Leishmaniniais: current situation and new perspectives. **Comparative, Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, Oxford, v. 27, n. 5, p. 305-318, 2004.

- DIAS, E. S. Psychodidae. In.: NEVES, D.P.; MELO, A.L.; LINARDI, P.M.; VITOR, R.W.A. **Parasitologia Humana**. Atheneu. 12ed. p. 377-85, 2011.
- DIAS, E. S.; FRANÇA-SILVA, J. C.; SILVA, J. C.; MONTEIRO, É. M.; PAULA, K. M.; GONÇALVES, C. M.; BARATA, R. A. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de um foco de leishmaniose tegumentar no Estado de Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 40, n. 1, p. 49-52, 2007.
- DOUGALL, A. M.; BRUCE, A.; HOLT, D. C.; HARRIS, T.; SULTAN, H. A.; BATES, P. A.; ROSE, K.; WALTON, S. F. Evidence incriminating midges (Diptera: Ceratopogonidae) as potential vectors of *Leishmania* in Australia. **International Journal for Parasitology**, n. 41, p. 571-579, 2011.
- ECKERT, J.; SOUZA, G. D. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) no município de Estrela e primeiro registro de *Lutzomyia pascalei* (Coutinho & Barretto) no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 8, n. 4, p. 399-402, 2010.
- FALQUETO, A.; SESSA, P. A. **Leishmaniose Tegumentar Americana**. In.: FOCACCIA, R. (org). Tratado de infectologia. 3 ed. São Paulo: Editora Atheneu, v. 2, p. 1543-1557, 2005.
- FARIAS, P. C. G. **Análise de fatores geográficos e climáticos relacionados à distribuição de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) em área de transmissão de Leishmaniose Tegumentar Americana do estado do Espírito Santo, Brasil**. 2014. 91f. Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas) – Universidade Federal do Espírito Santo, 2014.
- FELICIANGELI, M. D.; RABINOVICH, J. Abundance of *Lutzomyia ovallesi* but not *Lu. gomezi* (Diptera: Psychodidae) correlated with cutaneous leishmaniasis incidence in north-central Venezuela. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 12, p. 121–131, 1998.
- FILHO, O. M. 8ª Contribuição ao estudo dos flebotomus (Diptera: Psychodidae). Flebotomus (*Brumptomyia*) *avellari* Costa Lima, 1932. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 2, p. 225- 240, 1942.
- FONSECA, F. O. R.; BERMÚDEZ, E. G. C.; DESMOULIÉRE, S. J. M. Distribuição de flebotomíneos (DIPTERA: PSYCHODIDEA) na Amazônia legal através de técnicas de informática e geoprocessamento. **Caminhos de Geografia Uberlândia**, v. 11, n. 36, p. 142 – 149, 2010.
- FORATTINI, O. P. **Subfamília Phlebotominae**. In: Capítulo 4, p. 119-205. 4ª edição. Editora Edgard Blucher. 1973.
- GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L.; BOGGIANI, P. C.; DORVAL, M. E. C.; CRISTALDO, G.; ROCHA, H. C.; OSHIRO, E. T.; DAMASCENO-JUNIOR, G. A. Phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in forested áreas of the Serra da Bodoquena, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 2 p.175-193, 2006.
- GALATI, E. A. B.; FONSECA, M. B.; MARASSÁ, A. M. The subgenus *Migonemyia* Galati 1995 (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae), with description of a new species *Migonemyia vaniaie*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, n. 5, p. 605-615, 2007.
- GALATI, E. A. B.; GOMES, A. C. Descrição de *Lutzomyia rabelloi*, sp. N. (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) da Região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 36, n. 2, p. 457-463, 1992.

GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L. B.; DORVAL, M. E. C.; OSHIRO, E. T.; CRISTALDO, G.; ESPÍNDOLA, M. A.; ROCHA, H. C.; GARCIA, W. B. Estudo dos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae), em área de leishmaniose tegumentar, no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 30, n. 2, p. 115-28, 1996.

GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L. B.; REGO JR, F. A.; OSHIRO, E. T.; CHANG, M. R. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 31, p. 378-390. 1997.

GARCIA, A. L.; TELLEZ, T.; PARRADO, R.; ROJAS, E.; BERMUDEZ, H.; DUJARDIN, J. C. Epidemiological monitoring of American tegumentar leishmaniasis: molecular characterization of a peridomestic transmission cycle in the Amazonian lowlands of Bolivia. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 101, p. 1208-1213, 2007.

GEPLAN – Gerência de Planejamento e Desenvolvimento Econômico (**Atlas do Maranhão**). 2ª ed. São Luís: GEPLAN. Governo do Estado do Maranhão, 2002.

GOMES, A. C.; BARATA, J. M. S.; ROCHA E SILVA, E. O.; GALATI, E. A. B. Aspectos da leishmaniose tegumentar americana. 6. Fauna flebotomínea antropófila de matas residuais situadas na região centro-nordeste do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 32-39, 1989.

GOMES, A. C.; GALATI, E. A. Ecological aspects of the American cutaneous leishmaniasis. 7. Phlebotomus vectorial capacity in the primitive forest environment of the Serra do Mar system, Vale do Ribeira region, State of São Paulo, Brazil, **Revista de Saúde Pública**, v. 23, p. 136-142, 1989.

GOMES, A. C.; GALATI, E. A. B. Aspectos ecológicos da Leishmaniose tegumentar americana. 7- capacidade vetorial flebotomínea em ambiente florestal primário do Sistema Serra do Mar, região do Vale do Ribeira, estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 23, n. 2, p. 1-7, 1989.

GOMES, A. C.; GALATI, E. A. B. Flebotomíneos de Londrina, Paraná (Brasil), e observações ecológicas sobre algumas espécies. **Revista de Saúde Pública**, v. 11, p. 284- 87, 1977.

GONTIJO, B.; CARVALHO, M. L. R. Leishmaniose tegumentar americana. **Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v.36, n.1, p. 71-80, 2003.

GRIMALDI, G. JR.; TESEH, R. B.; MACMAHON-PRATT, D. A review of the geographical distribution and epidemiology of leishmaniasis in the New World. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 41, n. 6, p. 687-725, 1989.

GRIMALDI, G. JR.; TESH, R. B. Leishmaniasis of the New World: current concepts and implications for the future research. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 6, p. 230-250, 1993.

GUIMARÃES-E-SILVA, A. S. **Ecologia de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) e sua interação com Leishmania (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) e hospedeiros vertebrados em áreas de transmissão de leishmanioses**. 2016. Tese de Doutorado em andamento – Programa de Pós-Graduação da Rede Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal – Rede BIONORTE da Universidade Federal do Maranhão. 2016.

- GUIMARÃES-E-SILVA, A. S.; LEONARDO, F. S.; COSTA, E. R. S.; ALCÂNTARA, S. H.; PINHEIRO, V. C. S.; REBÊLO, J. M. M. The Occurrence of Flebotomines (Diptera psychodae) in a Leishmaniasis-Endemic Area. **Revista Paraense de Medicina**, v. 26, n. 2, p. 23-28, 2012.
- HANSON, W. J. The breeding places of *Phlebotomms* in Panama (Diptera, Psychodidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 54, p. 317-322, 1961.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Populacional 2013**. Disponível em: <<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=210300>>. Acesso em: 02 jul. 2015.
- IBRAHIM, M. E. SMYTH, A. J.; ALI, M. H.; BARKER, D. C.; KHARAZMI, A. The polymerase chain reaction can reveal the occurrence of naturally mixed infections with *Leishmania* parasites. **Acta Tropica**, Basel, v. 57, n.4, p.327–332, 1994.
- JORQUERA, A.; GONZÁLEZ, R.; MARCHÁN-MARCANO, E.; OVIEDO, M.; MERCEDES, M. Multiplex-PCR for detection of natural *Leishmania infection* in *Lutzomyia* spp. Captured in endemic region for cutaneous leishmaniasis in state of Sucre, Venezuela. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 1, p. 43-46, 2005.
- KILLICK-KENDRICK, R. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 4, n. 1, p. 1-24, 1990.
- LACERDA, M. M. The Brazilian leishmaniasis control program. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 89, n. 3, p. 489-495, 1994.
- LAINSON, R. Our present knowledge of the ecology and control of leishmaniasis in the Amazon Region of Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.18, n. 1, p. 47-56, 1985.
- LAINSON, R. The Neotropical *Leishmania* species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 2, p. 13-32, 2010.
- LAINSON, R.; RANGEL, E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 8, p. 811-827, 2005.
- LAINSON, R.; RANGEL, E. F. **Ecology of leishmaniasis**. In.: Flebotomíneos do Brasil, RANGEL, E.F.; LAINSON, R. Eds. Fio cruz, Rio de Janeiro, Brazil, p. 291–309, 2003.
- LAINSON, R.; SHAW, J. J. Leishmaniasis in Brazil: I. Observations on enzootic rodent leishmaniasis-incrimination of *Lutzomyia flaviscutellata* (mangabeira) as the vector in the lower amazonian basin. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 62, p. 385-395, 1968.
- LAINSON, R.; SHAW, J. J. New World Leishmaniasis: The neotropical leishmania species. In: Cox Feg, Kreier JP, Wakelin D. Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections. **Parasitology**, London, v. 5, p. 241-266, 1998.
- LANA, R. S.; MICHALSKY, É. M.; FORTES-DIAS, C. L.; FRANÇA-SILVA, J. C.; LARA-SILVA, F. O.; LIMA, A. C. V. M. R.; AVELAR, D. M.; MARTINS, J. C. D.; DIAS, E. S. Phlebotomine Sand Fly Fauna and *Leishmania* Infection in the Vicinity of the Serra do Cipó National Park, a Natural Brazilian Heritage Site. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1-19, 2015.

- LARA-SILVA, F. O.; MICHALSKY, É. M.; FORTESDIAS, C. L.; FIUZA, V. D. E. O.; PESSANHA, J. E.; REGINA-SILVA, S.; AVELAR, D. M.; SILVA, M. A.; LIMA, A. C.; COSTA, A. J.; MACHADO-COELHO, G. L.; DIAS, E. S. Epidemiological aspects of vector, parasite, and domestic reservoir in areas of recent transmission and no reported human cases of visceral leishmaniasis in Brazil. **Acta Tropica**, v. 148, p. 128-36, 2015.
- LEONARDO, F. S.; REBÊLO, J. M. M. A periurbanização de *Lutzomyia whitmani* em área de foco de leishmaniose cutânea, no Estado do Maranhão, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n. 3, p. 282-284, 2004.
- LESSA, M. M.; LESSA, H. A.; CASTRO, T. W. N.; OLIVEIRA, A.; SCHERIFER, A.; MACHADO, P.; CARVALHO, E. M. Mucosal leishmaniasis: epidemiological and clinical aspects. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 73, n. 6, p. 843-847, 2007.
- LEWIS, D. J. A taxonomic review of the genus *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae). **Bulletin of the British Museum (Natural History) Entomology**, v. 45, p. 121-209, 1982.
- LINS, R. M. M. A.; OLIVEIRA, S. G.; SOUZA, N. A.; QUEIROZ, R. G.; JUSTINIANO, S. C. B.; WARD, R. D.; KYRIACOU, C. P.; PEIXOTO, A. A. Molecular evolution of the cacophony IVS6 region in sandflies. **Insect Molecular Biology**, v. 11, n. 2, p. 117-122, 2002.
- LUZ, E.; MEMBRIVE, N.; CASTRO, E. A.; DEREURE, J.; PRATLONG, F.; DEDET, J. A.; PANDEY, A.; THOMAZ-SOCCOL, V. *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) as vector of *Leishmania* (V.) *braziliensis* in Paraná state, southern Brazil. **Annals of tropical medicine and parasitology**, v. 94, n. 6, p. 623-31, 2000.
- MACEDO, I. T. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, N. B.; SOUSA, L. C.; LINHARES, F. E.; AMÓRA, S. S. A.; OLIVEIRA, L. M. B. Sazonalidade de Flebotomíneos em Área Endêmica de Leishmaniose Visceral no Município de Sobral, Ceará, Brasil. **Ciência Animal**, v. 18, n. 2, p. 67-74, 2008.
- MACHADO, T. O.; BRAGANÇA, M. A. L.; CARVALHO, M. L.; FILHO, J. D. A. Species diversity of sandflies (Diptera: Psychodidae) during different seasons and in different environments in the district of Taquaruçú, state of Tocantins, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 107, n. 7, p. 955-959, 2012.
- MADEIRA, M. F.; SCHUBACH, A.; SCHUBACH, T. M.; PACHECO, R. S.; OLIVEIRA, F. S.; PEREIRA, S. A.; FIGUEIREDO, F. B.; BAPTISTA, C.; MARZOCHI, M. C. Mixed infection with *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* and *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* in a naturally infected dog from Rio de Janeiro, Brazil. **Transactions of the Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 100, p. 442-445, 2006.
- MARCELINO, A. P.; FERREIRA, E. C.; AVENDANHA, J. S.; COSTA, C. F.; CHIARELLI, D.; ALMEIDA, G.; MOREIRA, E. C.; LEITE, R. C.; REIS, J. K. P.; GONTIJO, C. M. F. Molecular detection of *Leishmania braziliensis* in *Rattus norvegicus* in an area endemic for cutaneous leishmaniasis in Brazil. **Veterinary Parasitology**, n. 183, p. 54-58, 2011.
- MARGONARI, C.; SOARES, R. P.; ANDRADE-FILHO, J. D.; XAVIER, D. D. C.; SARAIVA, L.; FONSECA, A. L.; SILVA, R. A.; OLIVEIRA, M. E.; BORGES, E. C.; SANGUINETTE, C. C.; MELO, M. N. Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae) and *Leishmania* Infection in Gafanhoto Park, Divinópolis, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 47, n. 6, p. 1212-1219, 2010.

- MARINHO, R. M.; FONTELES, R. S.; VASCONCELOS, G. C.; AZEVÊDO, P. C. B.; MORAES, J. L. P.; REBÊLO, J. M. M. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em reservas florestais da área metropolitana de São Luís, Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 52, n. 1, p. 112-116, 2008.
- MARSELLA, R.; GOPEGUI, R. R. Leishmaniasis: a reemerging zoonosis. **International Journal of Dermatology**, v. 37, p. 801-814, 1998.
- MARTIN, A. M. C. B.; REBÊLO, J. M. M. Dinâmica espaço-temporal de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) do município de Santa Quitéria, área de cerrado do Estado do Maranhão, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 96, n. 3, p. 283-288, 2006.
- MARTINS, F. C.; MORAES, J. L. P.; FIGUEIREDO, N.; REBÊLO, J. M. M. Estrutura da comunidade de Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) em mata ciliar do município de Urbano Santos, Maranhão, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 101, n. 1-2, p. 109-114, 2011.
- MARTINS, L. M.; REBÊLO, J. M. M.; SANTOS, M. C. F. V.; COSTA, J. M. L.; SILVA, A. R.; FERREIRA, L. A. Ecoepidemiologia da leishmaniose tegumentar no Município de Buriticupu, Amazônia do Maranhão, Brasil, 1996 a 1998. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 3, p. 735-743, 2004.
- MARTIN-SÁNCHEZ, J.; GÁLLEGO, M.; BARÓN, S.; MORILLAS-MÁRQUEZ, F. Pool screen PCR for estimating the prevalence of *Leishmania infantum* infection in sandflies (Diptera: Nematocera: Phlebotominae). **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 100, n. 6, p. 527-532, 2006.
- MENDES, W. L.; SILVA, A. A. M.; TROVÃO, J. R. Space expansion of the American visceral leishmaniasis in São Luiz, Maranhão, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.35, n. 3, p. 227-231, 2002.
- MICHALSKY, É. M.; FORTES-DIAS, C. L.; FRANÇA-SILVA, J. C.; ROCHA, M. F.; BARATA, R. A.; DIAS, E. S. Association of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) population density with climate variables in Montes Claros, an area of American visceral leishmaniasis transmission in the state of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 8, p. 1191-1193, 2009.
- MICHALSKY, E. M.; FORTES-DIAS, C. L.; PIMENTA, P. F. P.; SECUNDINO, N. F. C.; DIAS, E. S. Assessment of PCR in the detection of *Leishmania* spp. in experimentally infected individual phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, São Paulo. v. 44, n. 5, p. 255-9, 2002.
- MICHALSKY, E. M.; GUEDES, K. S.; SILVA, F. O. L.; FRANÇA-SILVA, J. C.; DIAS, C. L. F.; BARATA, R. A.; DIAS, E. S. Infecção natural de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Diptera: Psychodidae) por *Leishmania infantum chagasi* em flebotomíneos capturados no município de Janaúba, Estado de Minas Gerais, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, n. 44, p. 58-62, 2011.
- MIRANDA, J. C.; REIS, E.; SCHRIEFER, A.; GONÇALVES, M.; REIS, M. G.; CARVALHO, L.; FERNANDES, O.; BARRAL-NETTO, M.; BARRAL, A. Frequency of infection of *Lutzomyia* phlebotomines with *Leishmania braziliensis* in a Brazilian endemic area as assessed by pinpoint capture and polymerase chain reaction. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 2, p. 185-8, 2002.

MONTEIRO, E. M.; FRANÇA-SILVA, J. C.; COSTA, R. T.; COSTA, D. C.; BARATA, R. A.; PAULA, E. V.; MACHADO-COELHO, G. L. L.; ROCHA, M. F.; FORTES-DIAS, C. L.; DIAS, E. S. Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, p. 147-152, 2005.

MORAES, J. L. P.; SANTOS, C. L. C.; BASTOS, V. J. C.; PEREIRA, A. C. N.; MORAES, L. S.; MORAES, J. R. L.; COSTA, M. C.; REBÊLO, J. M. M. Espécies de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em matas ciliares na transição entre a Amazônia úmida e o Nordeste semi-árido do Brasil. **Entomotópica**, v. 30, n. 3, p. 20-29, 2015.

NARDI, M. S. **Pesquisa de *Leishmania* sp. em flebotomíneos e mamíferos silvestres de fragmentos florestais na região do Pontal do Paranapanema, SP.** 63f. 2010. In.: Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, 2010.

NASCIMENTO, J. C.; PAIVA, B. R.; MALAFRONTA, R. S.; FERNANDES, W. D.; GALATI, E. A. B. Natural infection of phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in a visceral-leishmaniasis focus in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Sao Paulo, v. 49, p. 119-122, 2007.

NASCIMENTO, M. D. S. B.; SILVA, M. H.; VIANA, G. M. C.; LEONARDO, F. S.; BEZERRA, G.F.B.; GUIMARÃES E SILVA, A.S.; SOARES, V.C.P., PEREIRA, S.R.F.; REBÊLO, J. M. M.; BRAZIL, R. P. Spatial dynamics of urban populations of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in Caxias, State of Maranhão, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.46, n.5, p. 555-559, 2013.

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 11. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

NEVES, D. P. **Parasitologia Dinâmica**. 3a Ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2009.

OLIVEIRA, A. G.; ANDRADE-FILHO, J. D.; FALCÃO, A. L.; BRAZIL, R. P. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) na zona urbana da Cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, 1999-2000. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 4, p. 933-944, 2003.

OLIVEIRA, F. J. A.; COSTA, I. C.; NUNES, V.; OLIVEIRA, O.; OLIVEIRA NETO, B. P.; OLIVEIRA, J. E. Leishmaniose tegumentar americana: Flebotomíneos de área de transmissão do Parque Arthur Thomas na região de Londrina – PR. **Biosaúde**, v. 2, p. 81-87, 2000.

OLIVEIRA, G. M. G.; FILHO, E. A. F.; ANDRADE, G. M. C.; ARAÚJO, L. A.; OLIVEIRA, M. L. G.; CUNHA, R. V. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) no Município de Três Lagoas, área de transmissão intensa de leishmaniose visceral, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 3, p. 83-94, 2010.

OLIVEIRA-PEREIRA, Y. N.; REBÊLO, J. M. M.; MORAES, J. L. P.; PEREIRA, S. R. F. Diagnóstico molecular da taxa de infecção natural de flebotomíneos (Psychodidae, *Lutzomyia*) por *Leishmania* sp na Amazônia maranhense. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 6, p. 540-543, 2006.

OVALLOS, F. G. **Estudo da capacidade vetorial de *Migonemyia migonei* (França) e de *Pintomyia fischeri* (Pinto) (Diptera: Psychodidae) para *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* Cunha & Chagas.** 2011. 107f. In.: Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Faculdade de Saúde Pública. 2011.

- PACHECO, A. B. F.; GUTH, B. E. C.; SOARES, K. C. C.; NISHIMURA, L.; ALMEIDA, D. F.; FERREIRA, L. C. Random amplification of polymorphic DNA reveals serotype-specific clonal clusters among enterotoxigenic *Escherichia coli* strains isolated from humans. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, p. 1521-1525, 1997.
- PAIVA, B. R.; OLIVEIRA, A. G.; DORVAL, M. E. M. C.; GALATI, E. A. B.; MALAFRONTTE, R. S. Species-specific identification of *Leishmania* in naturally infected sand flies captured in Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Acta Tropica**, v. 115, p. 126-130, 2010.
- PAIVA, B. R.; SECUNDINO, N. F. C.; NASCIMENTO, J. C.; PIMENTA, P. F. P.; GALATI, E. A. B.; ANDRADE-JUNIOR, H. F.; MALAFRONTTE, R. S. Detection and identification of *Leishmania* species in field-captured phlebotomine sandflies based on mini-exon gene PCR. **Acta Tropica**, v. 99, p. 252-259, 2006.
- PAIVA, R. B.; SECUNDINO, N. F. C.; PIMENTA, P. F. P.; GALATI, E. A. B.; ANDRADE-JUNIOR, H. F.; MALAFRONTTE, R. S. Padronização de condições para a detecção de DNA de *Leishmania* spp. em flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) pela reação em cadeia da polimerase. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 1, p. 87-94, 2007.
- PELLISSARI, D. M.; CECHINEL, M. P.; SOUSA-GOMES, M. L.; LIMA, F. E. F. JR. Tratamento da Leishmaniose Visceral e Leishmaniose Tegumentar Americana no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 20, n. 1, p.107-110, 2011.
- PENHA, T. A.; SANTOS, A. C. G.; REBÊLO, J. M. M.; MORAES, J. L. P.; GUERRA, R. M. S. N. C. Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em área endêmica de leishmaniose visceral canina na região metropolitana de São Luís - MA, Brasil. **Revista Biotemas**, v. 26, n. 2, p. 121-127, 2013.
- PEREIRA FILHO, A. A.; BANDEIRA, M. C. A.; FONTELES, R. S.; MORAES, J. L. P.; LOPES, C. R. G.; MELO, M. N.; REBÊLO, J. M. M. An ecological study of sand flies (Diptera: Psychodidae) in the vicinity of Lençóis Maranhenses National Park, Maranhão, Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 8, n. 442, p. 1-8, 2015.
- PEREIRA-JÚNIOR, A. M. **Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) e taxa de infecção natural por *Leishmania* Ross (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) em ambientes de várzea e de terra firme no município de Tefé, Amazonas, Brasil.** 2014. 81f. Dissertação (Ciências Biológicas, área de concentração em Entomologia) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2014.
- PEREZ, J. E.; OGUSUKU, E.; INGA, R.; LOPEZ, M.; MONJE, J.; PAZ, L.; NIETO, E.; AREVALO, J.; GUERRA, H. Natural *Leishmania* infection of *Lutzomyia* spp. in Peru. **Transaction of the Royal Society of Tropical Medical and Hygiene**, London, v. 88, p. 1614, 1994.
- PEREZ, J. E.; VELAND, N.; ESPINOSA, D.; TORRES, K.; OGUSUKU, E.; LLANOS-CUENTAS, A.; GAMBOA, D.; ARÉVALO, J. Isolation and molecular identification of *Leishmania* (*Viannia*) *peruviana* from naturally infected *Lutzomyia peruensis* (Diptera: Psychodidae) in the Peruvian Andes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, n. 5, p. 655-658, 2007.
- PESSOA, F. A. C.; MEDEIROS, J. F.; BARRETT, T. V. Effects of timber harvest on phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a production forest: abundance of species on tree trunks and prevalence of trypanosomatids. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, p. 593-599, 2007.

PITA-PEREIRA, D.; ALVES, C. R.; SOUZA, M. B.; BRAZIL, R. P.; BERTHO, A. L.; BARBOSA, A. F.; BRITTO, C. C. Identification of naturally infected *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia migonei* with *Leishmania (Viannia) braziliensis* in Rio de Janeiro (Brazil) revealed by a PCR multiplex non-isotopic hybridisation assay. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 99, p. 905-913, 2005.

PITA-PEREIRA, D.; CARDOSO, M. A.; ALVES, C. R.; BRAZIL, R. P.; BRITTO, C. Detection of natural infection in *Lutzomyia cruzi* and *Lutzomyia forattini* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) by *Leishmania infantum chagasi* in an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil using a PCR multiplex assay. **Acta Tropica**, Basel, v.107, p. 66-69, 2008.

PITA-PEREIRA, D.; SOUZA, G. D.; PEREIRA, T. A.; ZWETSCH, A.; BRITTO, C.; RANGEL, E. F. *Lutzomyia (Pintomyia) fischeri* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), a probable vector of American Cutaneous Leishmaniasis: Detection of natural infection by *Leishmania (Viannia)* DNA in specimens from the municipality of Porto Alegre (RS), Brazil, using multiplex PCR assay. **Acta Tropica**, n. 120, p. 273-275, 2011.

PRINA, C.; JOUANNE, C.; SOUZA LÃO, S.; SZABO, A.; GUILLET, J.G.; ANTOINE, J.C. Antigen presentation capacity of murine macrophages infected with *Leishmania amazonensis* amastigotes. **Journal of Immunology**, Copenhagen, v.151, p. 2050-2061, 1993.

QUEIROZ, R. G.; VASCONCELOS, I. A.; VASCONCELOS, A. W.; PESSOA, F. A.; SOUSA, R. N.; DAVID, J. R. Cutaneous leishmaniasis in Ceara state in northeastern Brazil: incrimination of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) as a vector of *Leishmania braziliensis* in Baturite municipality. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 50, n. 6, p. 8-693, 1994.

RANGEL, E. F.; LAINSON, R. Proven and putative vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil: aspects of their biology and vectorial competence. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 7, p. 937-954, 2009.

RANGEL, E. F.; COSTA, S. M.; CARVALHO, B. M. **Environmental Changes and the Geographic Spreading of American Cutaneous Leishmaniasis in Brazil**. In: Leishmaniasis. 2014. Editado: CLABORN, D.M., INTECH- Trends in Epidemiology, Diagnosis and Treatment, Science, Technology and Medicine open access publisher, cap.1, p. 3-25, 2014.

RANGEL, E. F.; LAINSON, R. **Ecologia das leishmanioses**. In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. (eds) Flebotomíneos do Brasil, Editora Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, p. 291-309, 2003.

READY, P. D. Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 58, p. 227-250, 2013.

REBÊLO, J. M. M.; ASSUNÇÃO JÚNIOR, A. N.; SILVA, O. Ocorrência de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em focos de leishmanioses, em área de ecoturismo do entorno do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 1, p. 195 - 198, 2010a.

REBÊLO, J. M. M.; LEONARDO, F. S.; COSTA, J. M. L.; PEREIRA, Y. N. O.; SILVA, F. S. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) de área endêmica de leishmaniose na região dos

cerrados, Estado do Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 3, p. 623-630, 1999b.

REBÊLO, J. M. M.; MENDES, W. A.; COSTA, J. M. L.; CAVALEIRO, N. Lista preliminar das espécies do gênero *Lutzomyia*, França, 1924 (Psychodidae, Phlebotominae) do Estado do Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 4, p. 545-549, 1996.

REBÊLO, J. M. M.; OLIVEIRA, S. T.; BARROS, V. L. L.; SILVA, F. S. Flebotomíneos da Amazônia maranhense. VI. Riqueza e abundância relativa das espécies em área de colonização antiga. **Entomologia y Vectores**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 1, p. 61-72, 2000a.

REBÊLO, J. M. M.; OLIVEIRA, S. T.; BARROS, V. L. L.; SILVA, F. S.; COSTA, J. M. L.; FERREIRA, L. A.; SILVA, A. R. Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) de Lagoas, município de Buriticupu, Amazônia Maranhense. I - Riqueza e abundância relativa das espécies em área de colonização recente. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, n. 1, p. 11-19, 2000.

REBÊLO, J. M. M.; OLIVEIRA, S. T.; SILVA, F. S.; BARROS, V. L. L.; COSTA, J. M. L. Sandflies (Diptera: Psychodidae) of the Amazônia of Maranhão. V. Seasonal occurrence in ancient colonization area and endemic for cutaneous leishmaniasis. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 61, n. 1, p. 107-115, 2001.

REBÊLO, J. M. M.; ROCHA, R. V.; MORAES, J. L. P.; SILVA, C. R. M.; LEONARDO, F. S.; ALVES, G. A. The fauna of phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in different phytogeographic regions of the state of Maranhão, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, n. 3, p. 494-500, 2010b.

REBÊLO, J. M. M.; ARAÚJO, J. A. C.; CARVALHO, M. L.; BARROS, V. L. L.; SILVA, F. S.; OLIVEIRA, S. T. Flebotomos (Diptera, Phlebotominae) da Ilha de São Luis, zona do Golfão Maranhense, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 3, p. 247-253, 1999a.

RÊGO, F. D.; RUGANI, J. M. N.; SHIMABUKURO, P. H. F.; TONELLI, G. B.; QUARESMA, P. F.; GONTIJO, C. M. F. Molecular Detection of Leishmania in Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae) from a Cutaneous Leishmaniasis Focus at Xakriabá Indigenous Reserve, Brazil. **PLoS ONE**, v. 10, n. 4, p. 1-14, 2015.

RÊGO, F. D.; SHIMABUKURO, P. H. F.; QUARESMA, P. F.; COELHO, I. R.; TONELLI, G. B.; SILVA, K. M. S.; BARATA, R. A.; DIAS, E. S.; GONTIJO, C. M. F. Ecological aspects of the Phlebotominae fauna (Diptera: Psychodidae) in the Xakriabá Indigenous Reserve, Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 220, p. 2-12, 2014.

REY, L. **Bases da Parasitologia Médica**. 3a Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

RODRIGUEZ, N.; GUZMAN, B.; RODAS, A.; TAKIFF, H.; BLOOM, B. R.; CONVIT, J. Diagnosis of cutaneous leishmaniasis and species discrimination of parasites by PCR and hybridization. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 9, p. 2246-2252, 1994.

ROSSI, E.; BONGIORNO, G.; CIOLLI, E.; DI MUCCIO, T.; SCALONE, A.; GRAMICCIA, M.; GRADONI, L.; MAROLI, M. Seasonal phenology, host-blood feeding preferences and natural *Leishmania* infection of *Phlebotomus perniciosus* (Diptera, Psychodidae) in a high-endemic focus of canine leishmaniasis in Rome province, Italy. **Acta Tropica**, v.105, n. 2, p. 158-165, 2008.

- RYAN, L.; LAINSON, R.; SHAW, J. J.; FRAIHA NETO, H. Ecologia de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) na região amazônica. **Instituto Evandro Chagas “50 anos”**, v. 1, p. 307-320, 1987.
- RYAN, L.; SILVEIRA, F. T.; LAINSON, R.; SHAW, J. J. Infecções de *Leishmania* em *Lutzomyia longipalpis* e *Lu. antunesi* (Diptera: Psychodidae) na ilha de Marajó, Estado do Pará, Brasil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 78, n. 4, p. 547-8, 1984.
- SALDANHA, A. C. R.; SILVA, A. C. M.; GALVÃO, C. E. S.; SILVA, C. M. P.; COSTA, J. M. L. Procedência de pacientes portadores de leishmaniose cutânea difusa (LCD) no estado do Maranhão – Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 25, n. 4, p. 271-273, 1992.
- SALES, N. M. C.; JUNIOR, A. S. S.; MACHADO, T. O. **Antropização x Circulação Enzoótica de *Leishmania* spp. em duas Áreas de uma Capital Brasileira Planejada: Palmas**. In: VI Jornada de Iniciação Científica e Extensão. Instituto Federal de Tocantins. 2015. Tocantins. Artigo publicado em anais. p. 1-7, 2015.
- SAMBROOK, J.; FRITCH, E. F.; MANIATIS, T. Molecular cloning: A Laboratory Manual. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**, USA, 2ed., p. 1650, 1989.
- SANTOS, B. A.; REINHOLD-CASTRO, K. R.; CRISTÓVÃO, E. C.; SILVEIRA, T. G. V.; TEODORO, U. Sand flies on Paraná River Islands and natural infection of *Nyssomyia neivai* by *Leishmania* in southern Brazil. **Journal of Vector Ecology June**, v. 41, n. 1, p. 186-189, 2016.
- SANTOS, J. B.; PENA, S. D. J.; EPPLEN, J. T. Genetic and population study of a Y-linked tetranucleotide repeat DNA polymorphism with a simple non-isotopic technique. **Human Genetic**, v. 90, p. 655-656, 1993.
- SANTOS, S. O.; ARIAS, J.; RIBEIRO, A.; HOFFMANN, M. P.; FREITAS, R. A.; MALACCO, M. A. F. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American visceral leishmaniasis. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 12, p. 315-317, 1998.
- SARAIVA, E.M.; BARBOSA, A.F.; SANTOS, F.N.; BORJA-CABRERA, G.P.; NICO, D.; SOUZA, L.O.; MENDES-AGUIAR, C.O.; SOUZA, E.P.; FAMPA, P.; PARRA, L.E.; MENZ, I.; DIAS, J.G.J R.; OLIVEIRA, S.M.; PALATNIK-DE-SOUSA, C.B. The FML-vaccine (Leishmune®) against canine visceral leishmaniasis: A transmission blocking vaccine. **Vaccine**, v.24, p. 2423-2431, 2006.
- SARAIVA, L.; ANDRADE FILHO, J. D.; SILVA, S. O.; ANDRADE, A. S. R.; MELO, M. N. The molecular detection of different *Leishmania* species within sand flies from a cutaneous and visceral leishmaniasis sympatric area in Southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 105, n. 8, p. 1033-1039, 2010.
- SCANDAR, S. A. S.; SILVA, R. A.; CARDOSO-JÚNIOR, R. P.; OLIVEIRA, F. H. Ocorrência de leishmaniose visceral americana na região de São José do Rio Preto, Estado de São Paulo, Brasil. **Bep**, v.8, n.88, p.13-22, 2011.
- SCHONIAN, G.; NASEREDDIN, A.; DINSE, N.; SCHWEYNOCH, C.; SCHALLIG, H. D. F. H.; PRESBER, W.; JAFFE, C. L. PCR diagnosis and characterization of *Leishmania* in local and imported clinical samples. **Diagnostic Microbiology & Infectious Disease**, v. 47, p. 349-358, 2003.

- SCHRIEFER, A. L. F.; SOUSA, R. S.; GUIMARÃES, L. H.; GÓES-NETO, A.; SCHRIEFER, A. Papel do parasita e do hospedeiro na expressão clínica das Leishmanioses. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 75, p. 46-56, 2005.
- SHARMA, U.; SINGH, S. Insect vectors of *Leishmania*: distribution, physiology and their control. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 45, n. 4, p. 255-272, 2008.
- SHAW, J. J.; LAINSON, R. **Ecology and epidemiology: new world**. In: PETERS, W.; KILLICK-KENDRICK, R., editors. The leishmaniasis in biology and medicine. v. 1. Orlando: Academic Press, p. 291-363, 1987.
- SHERLOCK, I. A. Ecological Interactions of Visceral Leishmaniasis in the State of Bahia, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 6, p. 671-683, 1996.
- SHERLOCK, I. A. Há especificidade dos flebotômíneos para as leishmânias? **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 30, p. 359- 368, 1997.
- SHERLOCK, I. A. **Importância Médico-Veterinária**. In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. (Org.). Flebotômíneos do Brasil. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, cap. 1, p. 15-22, 2003.
- SHERLOCK, I. A. **Importância Médico-Veterinária: A importância dos flebotômíneos**. In.: RANGEL, E. F.; LAINSON, R., editores. Flebotômíneos do Brasil. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p. 15-21, 2005.
- SHIMABUKURO, P. H. F.; GALATI, E. A. B. Checklist dos Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do estado de São Paulo, Brasil, com comentários sobre sua distribuição geográfica. **Biota Neotropica**, v. 11, p. 685-704, 2011.
- SILVA, A. C.; GOMES, A. C. Estudo da competência vetorial de *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) para *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Viannia* 1911. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n.2, p. 187-91, 2001.
- SILVA, A. M.; CAMARGO, N. J.; SANTOS, D. R.; MASSAFERA, R.; FERREIRA, A. C.; POSTAI, C.; CRISTÓVÃO, E. C.; KONOLSAISEN, J. F.; BISELTO JR, A.; PERINAZO, R.; TEODORO, U.; GALATI, E. A. B. Diversidade, Distribuição e Abundância de Flebotômíneos (Diptera: Psychodidae) no Paraná. **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 2, p. 209-225, 2008.
- SILVA, C. M. L.; MORAES, L. S.; BRITO, G. A.; SANTOS, C. L. C.; REBÊLO, J. M. M. Ecology of phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in rural foci of leishmaniasis in tropical Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 6, p. 696-700, 2012.
- SILVA, F. S.; CARVALHO, L. P. C.; CARDOZO, F. P.; MORAES, J. L. P.; REBÊLO, J. M. M. Sand flies (Diptera: Psychodidae) in a cerrado area of the Maranhão state, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 6, p. 1032-1038, 2010.
- SILVA, F. S.; CARVALHO, L. P. C.; CARDOZO, F. P.; MORAES, J. L. P.; REBÊLO, J. M. M. Sand Flies (Diptera: Psychodidae) in a Cerrado Area of the Maranhão State, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 6, p. 1032-1038, 2010a.
- SILVA, F. S.; CARVALHO, L. P. C.; SOUZA, J. M. Flebotômíneos (Diptera: Psychodidae) associados a abrigos de animais domésticos em área rural do Nordeste do Estado do Maranhão, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 41, n. 3, p. 337-347, 2012.

- SILVA, F. S.; BRITO, J. M.; COSTA-NETA, B. M.; LOBO, S. E. P. D. Evaluation of light-emitting diodes as attractant for sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in northeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 110, n. 6, p. 801-803, 2015b.
- SILVA, L. B.; AQUINO, D. M. C.; LEONARDO, F. S.; GUIMARÃES-E-SILVA, A. S.; MELO, M. N.; REBÊLO, J. M. M.; PINHEIRO, V. C. S. Flebotomíneos (DIPTERA, PSYCHODIDAE) em focos urbanos de leishmaniose visceral no Estado do Maranhão, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 44, n. 2, p. 181-193, 2015a.
- SILVA, P. E. S.; FREITAS, R. A.; SILVA, D. F.; ALENCAR, R. B. Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de uma reserva de campina no Estado do Amazonas, e sua importância epidemiológica. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 1, p. 78-81, 2010b.
- SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARDIN D.; VILLANOVA, N. A. Manual de Ecologia dos Insetos. **Agronômica Ceres**, Piracicaba, Brasil, p. 419, 1976.
- SILVEIRA, F. T.; ISHIKAWA, E. A.; SOUZA, A. A. A.; LAINSON, R. An outbreak of cutaneous leishmaniasis among soldiers in Belem, Para State, Brazil, caused by *Leishmania linderbergi* n. sp. "A new parasite of man in the Amazon region". **Parasite**, v. 9, n. 1, p. 43, 2002.
- SILVEIRA, F. T.; LAINSON, R.; SHAW, J. J.; RIBETBO, R. S. M. Leishmaniose cutânea na Amazônia. Registro do primeiro caso humano de infecção mista, determinado por duas espécies distintas de Leishmânias: *Leishmania braziliensis* e *Leishmania mexicana amazonensis*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 26, n. 5, p. 272-275, 1984.
- SILVEIRA, F. T.; MÜLLER, S. R.; SOUZA, A. A. A.; LAINSON, R.; GOMES, C. M. C. Revisão sobre a patogenia da leishmaniose tegumentar americana na Amazônia, com ênfase à doença causada por *Leishmania (V.) Braziliensis* e *Leishmania (L.) Amazonensis*. **Revista Paraense de Medicina**, Belém, v. 22, n. 1, p. 9-20, 2008.
- SILVEIRA, F.T.; SOUZA, A.A.A.; LAINSON, R.; SHAW, J.J.; BRAGA, R.R.; ISHIKAWA, E.A.Y. Cutaneous leishmaniasis in the Amazon region, natural infection of the sandfly *Lutzomyia ubiquitalis* (Psychodidae: Phlebotominae) by *Leishmania (Viannia) lainsoni* in Pará State, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 86, n. 1, p. 127-30, 1991.
- SINAN. Sistema de Informação Nacional. **Investigação de Leishmaniose Visceral e Tegumentar no Município de Caxias**, Maranhão, 2015.
- SIQUEIRA, A. L.; TIBÚRCIO, J. D. Estatística na área da saúde – Conceitos, metodologias, aplicações e prática computacional. Belo Horizonte: **Coopmed**, 2011.
- SKRABA, C. M. PEDROSO, R. B.; FIORINI, A.; ROSADO, F. R.; ARISTIDES, S. M.; LONARDONI, M. V.; TEIXEIRA, J. J.; SILVA, T. G. Diagnosis of American cutaneous leishmaniasis by enzyme immunoassay using membrane antigens of *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, New York, v. 78, n. 4, p. 411-417, 2014.
- SOARES, M. R. A.; CARVALHO, C. C.; SILVA, L. A.; LIMA, M. S. C. S.; BARRAL, A. M. P.; REBÊLO, J. M. M.; PEREIRA, S. R. F. Análise molecular da infecção natural de

Lutzomyia longipalpis em área endêmica de leishmaniose visceral no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 12, p. 2409-2413, 2010.

SOUZA, A. A. A.; SANTOS, T. V.; JENNINGS, Y. L. L.; ISHIKAWA, E. A. Y.; BARATA, I. R.; SILVA, M. G. S.; LIMA, J. A. N.; SHAW, J.; LAINSON, R.; SILVEIRA, F. T. Natural *Leishmania* (*Viannia*) spp. infections in phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) from the Brazilian Amazon region reveal new putative transmission cycles of American cutaneous leishmaniasis. **Parasite**, v. 23, n. 22, p. 1-10, 2016.

SOUZA, W. Doenças negligenciadas. **Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências**, p. 56, 2010.

SPADA, J. C. P. **Fatores de riscos associados à leishmaniose visceral canina na área de Cinturão Verde de Ilha Solteira, SP**. 2014. 106f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal), Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2014.

SUDIA, W. A.; CHAMBERLAIN, R. W. Battery-operated light trap: an improved model. **Mosquito News**, v.22, n.2, p. 126-129, 1962.

TEODORO, U.; KÜHL, J. B.; RODRIGUES, M.; SANTOS, E. S.; SANTOS, D. R.; MARÓSTICA, L. M. F. Flebotomíneos coletados em matas remanescentes e abrigos de animais silvestres de zoológico no perímetro urbano de Maringá, Sul do Brasil. Estudo preliminar. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, n. 6, p. 517-522, 1998.

TEODORO, U.; SILVEIRA, T. G. V.; SANTOS, D. R.; SANTOS, E. S.; SANTOS, A. R.; OLIVEIRA, O.; KTÍHL, J. B. Frequência da Fauna de Flebotomíneos no Domicílio e em Abrigos de Animais Domésticos no Peridomício, nos Municípios de Cianorte e Doutor Camargo - Estado do Paraná – Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 30, n. 2, p. 209-224, 2001.

TESH, R. B.; MODI, G. B. A simple method for experimental infection of phlebotomine sand flies with *Leishmania*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 33, p. 41-46, 1984.

TRAVI, B. L.; ALDER, G. H.; LOZANO, M.; CADENA, H.; MONTOYA-LERMA, J. Impact of habitat degradation on Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) of tropical dry forest in northern Colombia. **Journal of Medical Entomology**, v. 39, p. 451–456, 2002.

VALDERRAMA, A.; TAVARES, M. G.; ANDRADE FILHO, J. D. Anthropogenic influence on the distribution, abundance and diversity of sandfly species (Diptera: Phlebotominae: Psychodidae), vectors of cutaneous leishmaniasis in Panama. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 106, n. 8, p. 1024–1031, 2011.

VALDERRAMA, A.; TAVARES, M. G.; ANDRADE FILHO, J. D. Phylogeography of the *Lutzomyia gomezi* (Diptera: Phlebotominae) on the Panama Isthmus. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 9, p. 1-11, 2014.

VASCONCELOS, D. R. B.; MELO, L. M.; ALBUQUERQUE, E. S.; LUCIANO, M. C. S.; BEVILAQUA, M. L. Real-time PCR to assess the *Leishmania* load in *Lutzomyia longipalpis* sand flies: Screening of target genes and assessment of quantitative methods. **Experimental Parasitology**, v. 129, n. 3, p. 234-239, 2011.

VÁSQUEZ, T. A.; SANTAMARÍA, H. E.; GONZÁLEZ, R. A. E.; BUITRAGO, Á. L. S.; GÓNGORA, O. A.; CABRERA, Q. O. L. *Lutzomyia antunesi*, Probable Vector de

Leishmaniasis Cutânea en el Área Rural de Villavicencio. **Revista de Salud Pública**, v. 10, n. 4, p. 625-632, 2008.

VASSILIOS, J. K. Old World canine leishmaniasis. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian**, v. 15, p. 941-949, 1993.

VIANNA, E. N.; MORAIS, M. H. F.; ALMEIDA, A. S.; SABROZA, P. C.; REIS, I. A.; DIAS, E. S.; CARNEIRO, M. Abundance of *Lutzomyia longipalpis* in urban households as risk factor of transmission of visceral leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 111, n. 5, p. 302-310, 2016.

VIANNA-MARTINS, A.; WILLIAMS, P.; FALCÃO, A. L. American sandflies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro. 1978.

VIEIRA, V. R. **Aspectos da ecologia dos flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) em área de ocorrência de leishmaniose tegumentar, município de Paraty, Orla Marítima do estado do Rio de Janeiro, Brasil**. 2014. 89f. Dissertação (Biodiversidade e Saúde) - Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014.

VIEIRA, V. R.; AZEVEDO, A. C.; ALVES, J. R.; GUIMARÃES, A. E.; AGUIAR, G. M. Ecological Aspects of Phlebotomine Sand Flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in Areas of American Cutaneous Leishmaniasis, in the Municipality of Paraty, Rio de Janeiro, Brazil. I-Index of Abundance by Location and Type of Capture. **Journal of Medical Entomology**, v. 52, n. 5, p. 886-95, 2015.

VILELA, M. L.; AZEVEDO, C. G.; CARVALHO, B. M.; RANGEL, E. F. Phlebotomine Fauna (Diptera: Psychodidae) and Putative Vectors of Leishmaniasis in Impacted Area by Hydroelectric Plant, State of Tocantins, Brazil. **PLoS ONE**. v. 6, p. 1-7, 2011.

VILELA, M. L.; RANGEL, E. F.; LAINSON, R. **Métodos de Coleta e Preservação de flebotomíneos: Transmissores de Leishmaniose Tegumentar Americana**. In.: RANGEL, E.F.; LAINSON, R. *Flebotomíneos do Brasil*. 1.ed. Rio de Janeiro, Ed. Fiocruz, 2003, p. 291-309, 2003.

VOLF, P.; MYSKOVA, J. Sand flies and Leishmania: specific versus permissive Vectors. **Trends in Parasitology**, London, v. 23, n. 3, p. 91-92, 2007.

WALTERS, L. L.; CHAPLIN, G. L.; MODI, G. B.; TESH, R. B. Ultrastructural biology of *Leishmania (Viannia) panamensis* (= *Leishmania braziliensis panamensis*) in *Lutzomyia gomezi* (Diptera: Psychodidae): natural host-parasite association. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 40, p. 19-39, 1989.

WARD, R. D.; SHAW, J. J.; LAINSON, R.; FRAIHA, H. Leishmaniasis in Brazil: VIII. Observations on the phlebotomine fauna of an area of highly endemic cutaneous leishmaniasis in the Serra dos Carajás, Pará State. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 67, p. 174-183, 1973.

WHO – World Health Organization. Leishmaniasis. 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>>. Acesso em: 26 jun. 2016.

WHO, World Health Organization. **Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis**. Geneva, p. 940, 2010.

WILLIAMS, P. Relationships of phlebotomine sand flies (Diptera). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 88, n. 2, p. 177-183, 1993.

XIMENES, M. F. F. M.; SILVA, V. P. M.; QUEIROZ, P. V. S.; REGO, M. M.; CORTEZ, A. M.; BATISTA, L. M. M. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) e Leishmanioses no Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil - Reflexos do Ambiente Antrópico. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.36, n. 1, p. 128-137, 2007.

YAMEY, G.; TORREELE, E. The world's most neglected diseases. **BMJ**, v. 325, n. 7357, p. 176-177, 2002.

YOUNG, D. C.; DUNCAN, N. A. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in México, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). **Memoirs of the American Entomological Institute**, n. 54, p. 1-881, 1994.