

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

RAFAELLA ALBUQUERQUE E SILVA

**CONTRIBUIÇÃO AO ENTENDIMENTO DA TRANSMISSÃO DA
LEISHMANÍASE VISCERAL NO MUNICÍPIO DE
FORTALEZA, CEARÁ.**

FORTALEZA/CE

2011

RAFAELLA ALBUQUERQUE E SILVA

**CONTRIBUIÇÃO AO ENTENDIMENTO DA TRANSMISSÃO
DA LEISHMANÍASE VISCERAL NO MUNICÍPIO DE
FORTALEZA, CEARÁ.**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Ciências Veterinárias.

Área de Concentração: Sanidade e Reprodução em carnívoros, onívoros e aves.

Linha de pesquisa: Sanidade em carnívoros

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Claudia Maria Leal Bevilaqua

FORTALEZA/CE

2011

S586c

Silva, Rafaella Albuquerque e

Contribuição ao entendimento da Leishmaníase Visceral no Município de Fortaleza, Ceará / Rafaella Albuquerque e Silva. — Fortaleza, 2011.

75 p. ; il.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Cláudia Maria Leal Bevilaqua.

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Elizabeth Ferreira Rangel.

Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciências Veterinária) – Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária. Área de Concentração: Sanidade e reprodução de carnívoros, onívoros e aves.

1. *Lutzomyia longipalpis*. 2. *Lutzomyia migonei*. 3. Competência vetorial. I. Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária.

RAFAELLA ALBUQUERQUE E SILVA

**CONTRIBUIÇÃO AO ENTENDIMENTO DA TRANSMISSÃO DA
LEISHMANÍASE VISCERAL NO MUNICÍPIO DE
FORTALEZA, CEARÁ.**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Ciências Veterinárias.

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Cláudia Maria Leal Bevilaqua
Universidade Estadual do Ceará
Orientador

Dr^a Elizabeth Ferreira Rangel
Pesquisadora do Instituto Oswaldo
Cruz/FIOCRUZ
Co-orientador

Prof^a Dr^a Sthenia dos Santos Albano
Amora
Universidade Federal Rural do Semi-
árido
Examinador

Prof^a Dr^a Michelline do Vale Maciel
Faculdade de Enfermagem e Medicina
Nova Esperança - Mossoró RN
Examinador

FORTALEZA/CE

2011

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por tudo o que é a minha vida.

Agradeço a Universidade Estadual do Ceará, em particular a Faculdade de Veterinária (FAVET) pela minha formação acadêmica.

Agradeço ao Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV) por todo o aprendizado nestes dois anos de dissertação.

Agradeço imensamente a Secretaria de Saúde do estado do Ceará, por todo o apoio e compreensão durante o período de realização da dissertação. Agradeço pela oportunidade de emprego e por todo o aprendizado adquirido na área de Entomologia Médica e Vigilância e Controle de Endemias.

Aos meus pais, Júlia e Daniel, por todo aprendizado, apoio e amor durante todos os dias de minha vida. Todos os meus princípios e valores foram construídos a partir do que me foi ensinado por eles.

Em especial à professora Dr^a Claudia Maria Leal Bevilaqua por toda orientação, conversas, conselhos e amizade. Eu devo dizer que ela foi a pessoa mais importante no meu processo de formação profissional, e sem o seu apoio, eu talvez não tivesse chegado aonde cheguei.

A Dra. Elizabeth Ferreira Rangel, do Instituto Oswaldo Cruz, por todo o apoio, acolhimento e oportunidades oferecidas.

Ao colega Maurício Luiz Vilela, pela sensibilidade e presteza na finalização desta dissertação.

Aos mestrandos e doutorandos do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Estadual do Ceará, em especial a Fernanda Rondon, pela companhia, companheirismo, conversas e muitas vezes “sermões” durante este período.

Aos funcionários Adriana, Cristina e Fred da Secretaria do Programa Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Estadual do Ceará por toda a ajuda fornecida durante o curso.

A todos os funcionários do Laboratório de entomologia Dr. Thomaz Correa Aragão / NUVET / SESA, por todo o aprendizado, amizade, conversas e brincadeiras.

Ao amigo Raimundo Nonato de Sousa, que me ensinou quase tudo o que eu sei acerca dos flebotomíneos. Mas não só por isso, por todo o apoio, as conversas, o carinho durante o período em que eu passei trabalhando na colônia de flebotomíneos.

Ao Dr Manoel Dias da Fonseca Neto, pela confiança e apoio durante o período em que eu trabalhei no NUVET.

Aos amigos Hibiss Farias, Ricristhi Gonçalves, Vivian da Silva e Asevedo Quirino, por todo apoio para a finalização desta dissertação, salvo os momentos de extrema alegria que estes me proporcionaram.

As amigas Natália Caldas, Gustavo Bezerril e Ana Caroline Cabral, por todos os conselhos, e por me fazerem viver intensamente o hoje.

Sou eternamente grata a todas as pessoas que mesmo em sua mais breve passagem ou curta convivência me ofereceram contribuição, de qualquer natureza, para a minha vida.

“Tudo na vida é um entre um milhão de caminhos”

(Carlos Castañeda)

À minha mãe Julia
Ao meu irmão, André Fellipe
Dedico

RESUMO

A Leishmaníase Visceral (LV) é uma antropozoonose causada pelo protozoário *Leishmania infantum chagasi*, considerada grave problema de saúde pública. É endêmica em 88 países, com cerca de 500.000 casos registrados anualmente, sendo que a maioria destes ocorre na Índia, Nepal e Bangladesh, seguido do Sudão e Brasil, que é responsável por 90% das notificações registradas nas Américas. O principal vetor de LV no Brasil é *Lutzomyia longipalpis*. Entretanto, a ausência de *L. longipalpis* em área com casos autóctones de LV demonstra a existência de outras espécies na transmissão desta doença. Estudo realizado na cidade de La Banda, Argentina, correlacionou à ausência de *L. longipalpis* e a presença de *Lutzomyia migonei* com casos autóctones de LV. Fato similar foi observado em São Vicente Férrer, Pernambuco, onde foi comprovada a infecção natural de *L. migonei* por *Leishmania infantum chagasi*, o que evidencia sua participação na transmissão da doença nessas áreas. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ecologia dos flebotomíneos *L. longipalpis* e *L. migonei* no município de Fortaleza, avaliando indicadores entomológicos considerados na vigilância da LV, bem como discutir se estas espécies simpátricas compartilham o papel de transmissores de LV em área urbana no município. A captura de flebotomíneos foi realizada em 22 pontos de coleta distribuídos nas quatro regiões do município de Fortaleza. Foram utilizadas duas armadilhas luminosas do tipo CDC por ponto de coleta, armadas no intra e peridomicílio, durante quatro noites consecutivas por mês, durante um período de 12 meses. No total, foram capturados 32.403 flebotomíneos. Destes, 18.166 (56%) eram da espécie *L. longipalpis* e 14.237 (44%) eram *L. migonei*. Não houve diferença significativa de densidade entre os vetores ($p=0,2472$), nem entre os locais de coleta (intra e peridomicílio) ($p=0,3038$), demonstrando a adaptação de ambas as espécies no ambiente intradomiciliar. Apesar das características ambientais semelhantes entre os pontos de coleta, houve diferenças estatísticas na densidade de ambos os vetores por região ($p<0,001$), sendo as regiões Norte e Sul aquelas com maior quantidade de exemplares coletados. Não houve correlação entre o número de casos humanos e caninos de LV com o aparecimento de *L. longipalpis* e *L. migonei*. Este fato pode ser justificado uma vez que não somente a alta densidade vetorial determina a transmissão da doença, mas também a distribuição da carga parasitária na população de vetores. Esses achados confirmam que, na cidade de Fortaleza, *L. migonei* está bem distribuído, bem como adaptado ao ambiente intradomiciliar, semelhante à espécie *L.*

longipalpis. Tendo sido comprovado à infecção natural de *L. migonei* com *Leishmania infantum chagasi*, sugere-se que *L. migonei* compartilhe com *L. longipalpis* o papel de vetor da LV na cidade de Fortaleza.

Palavras-chaves: *Lutzomyia longipalpis*; *Lutzomyia migonei*; Competência vetorial.

ABSTRACT

Visceral leishmaniasis (VL) is an anthroponosis caused by *Leishmania infantum chagasi*, considered a serious public health problem. It is endemic in 88 countries with nearly 500,000 cases reported annually, with most of these occurring in India, Nepal and Bangladesh, followed by Sudan and Brazil, which accounts for 90% of reported cases in the Americas. The main vector of VL in Brazil is *Lutzomyia longipalpis*. However, the absence of *L. longipalpis* in an area with autochthonous LV demonstrates the existence of other species in the transmission of this disease. A study performed in La Banda, Argentina, correlated the absence of *L. longipalpis* and the presence of *Lutzomyia migonei* with autochthonous cases of VL. A similar finding was observed in San Vicente Ferrer, Pernambuco, where it was proven natural infection of *L. migonei* with *Leishmania infantum chagasi*, which highlights its participation in disease transmission in these areas. Thus, the objective was to assess the ecology of sandflies *L. longipalpis* and *L. migonei* in Fortaleza, evaluating indicators considered in entomological surveillance of LV, and discuss whether these sympatric species share the role of transmitters of VL in urban areas in the county. The capture of sand flies was conducted in 22 sampling points distributed in four regions of the city of Fortaleza. We used two CDC light traps for collection point, armed indoors and outdoors during four consecutive nights per month over a period of 12 months. In total, 32,403 sand flies were captured. Of these, 18,166 (56%) were *L. longipalpis* and 14,237 (44%) were *L. migonei*. There was not significant difference in density between the vectors ($p = 0.2472$), or between the sampling sites (inside and outside homes) ($p = 0.3038$), demonstrating the adaptation of both species in the indoor environment. Despite similar environmental characteristics between the collection points, there were statistical differences in the density of both vectors by region ($p < 0.001$), and the North and South ones with the largest number of specimens collected. There was no correlation between the number of human and canine cases of VL with the appearance of *L. longipalpis* and *L. migonei*. This fact can be justified since it is not only high vector density determines the transmission of the disease but is associated with the distribution protozoan load in the vector population. These findings confirm that, in Fortaleza, *L. migonei* is well distributed, and adapted to the indoor environment, similar to *L. longipalpis*. Having proved the natural infection of *L. migonei* with *Leishmania infantum chagasi*, it is

suggested that *L. migonei* share with *L. longipalpis* the role of vector of VL in the city of Fortaleza.

Keywords: *Lutzomyia longipalpis*; *Lutzomyia migonei*; Vectorial competence.

LISTA DE FIGURAS

DISSERTAÇÃO

Figura 1: Casos confirmados e incidência de LV no Ceará – 1986 a 2010. Fonte: NUVEP/SESA.....	22
Figura 2: Ciclo da <i>Leishmania spp</i> no inseto vetor. Fonte: adaptada de KAMHAWI, 2006.....	24
Figura 3: Estágios imaturos do ciclo biológico dos flebotomíneos. A. Ovo. B. Larva. C. Adulto. Fonte: Maurício Luiz Vilela.....	26
Figura 4: <i>Lutzomyia longipalpis</i>	29
Figura 5: <i>Lutzomyia migonei</i>	30

ARTIGO

Figure 1 - Distribution of <i>L. longipalpis</i> and <i>L. migonei</i> per collection point (neighborhoods) in Fortaleza, Ceará.....	57
Figure 02 – Quantitative difference in the density of both species, <i>L. migonei</i> and <i>L. longipalpis</i> , crafted by region.....	58
Figure 03 – Quantitative difference in vector density in the collection points or domestic animals.....	59
Figure 4 - Distribution of cases of canine and human VL and density of both species, <i>Lutzomyia longipalpis</i> and <i>Lutzomyia migonei</i>	60

LISTA DE TABELAS

ARTIGO

Table 1 - Number of <i>Lutzomyia longipalpis</i> and <i>Lutzomyia migonei</i> per collection site (indoor and outdoor), region (North, South, East and West) and sex (male or female).....	52
Table 2 - Analysis of deviance (ANODEV) considering the factors studied (region, sex, species and location of capture).....	53
Table 3 - Environmental characteristics of sites.....	54
Table 4 - Correlation among canine cases, human cases, male and female <i>L. migonei</i> , and <i>L. migonei</i> indoors and outdoors.....	55
Table 5 - Correlation among canine cases, human cases, male and female <i>L. longipalpis</i> , and <i>L. longipalpis</i> indoors and outdoors.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS/SIGLAS

- AR – Abundância relativa
- AD – Aldeota
- AW - Álvaro Weyne
- CA - Cajazeiras
- CB - Cambeba
- CCII - Conjunto Ceará II
- CDC – Central of Disease Control
- CP - Conjunto Palmeira
- COPROM – Coordenadoria de Promoção e Proteção à Saúde da Secretaria de Saúde do estado do Ceará
- DR - Demócrito Rocha
- EDI - Edson Queiroz I
- EDII - Edson Queiroz II
- FB - Farias Brito
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- IDD – Índice de Infestação Domiciliar
- JA - Jardim América
- JD - Jardim das Oliveiras
- LPG – Lipofosfoglicano
- L. cruzi – Lutzomyia cruzi*
- L. longipalpis – Lutzomyia longipalpis*
- L. migonei – Lutzomyia migonei*
- LV – Leishmaníase Visceral
- LR - Lagoa Redonda
- LTA – Leishmaníase Tegumentar Americana
- MD - Mondumbim
- NUVEP – Núcleo de epidemiologia da Secretaria de Saúde do estado do Ceará
- PA - Passaré
- PAS - Planalto Airton Sena
- PU - Paupina

PJW - Prefeito José Walter

QC - Quitino Cunha

SESA-CE – Secretaria da Saúde do estado do Ceará

SQ - Siqueira

VMS - Vila Manuel Sátiro

VL – Visceral leishmaniasis

VP - Vicente Pizon

WHO – World Health Organization

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1 GENERALIDADES.....	20
2.2 HISTÓRICO E DISTRIBUIÇÃO DE LV NO BRASIL.....	20
2.3 <i>Leishmania</i> sp.....	22
2.4 FLEBOTOMÍNEOS.....	25
2.5 COMPETÊNCIA VETORIAL.....	26
2.6 <i>Lutzomyia longipalpis</i>	28
2.7 <i>Lutzomyia migonei</i>	30
3 JUSTIFICATIVA.....	32
4 HIPÓTESE CIENTÍFICA.....	33
5 OBJETIVOS.....	34
5.1 Objetivo geral.....	34
5.2 Objetivos específicos.....	34
6 CAPÍTULO.....	35
7 CONCLUSÃO.....	63
8 PESPECTIVAS.....	64
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
10 ANEXOS.....	75

1 INTRODUÇÃO

A Leishmaníase Visceral (LV) é uma antropozoonose causada pelo protozoário *Leishmania infantum chagasi*, considerada grave problema de saúde pública. É endêmica em 88 países, com cerca de 500.000 casos registrados anualmente, sendo que a maioria destes ocorre na Índia, Nepal e Bangladesh, seguido do Sudão e Brasil, que é responsável por 90% das notificações registradas nas Américas (DESJEUX, 2004).

No Brasil, a região de maior representatividade de casos de LV é a Nordeste, com destaque para os estados do Ceará e Piauí. Entretanto, esta enfermidade encontra-se em ampla expansão, sendo registrado aumento de casos nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Norte, albergando 20%, 10% e 25% dos casos registrados, respectivamente (LAINSON; RANGEL, 2005; NUVEP / COPROM / SESA - CE, 2010). Recentemente, foi identificado na região Sul, o primeiro caso autóctone de LV humana, no município de São Borja, Rio Grande do Sul (BRASIL, 2009; BRASIL, 2010). No Nordeste, o Estado do Ceará é endêmico para LV e dessa forma considerado prioritário pelo Ministério da Saúde. As cidades de maior incidência são Fortaleza, Sobral, Juazeiro do Norte, Barbalha e Caucaia. A cidade de Fortaleza é a única classificada como área de transmissão intensa alta, tendo sido notificados 218 e 262 casos nos anos de 2009 e 2010, respectivamente (NUVEP/COPROM/SESA, 2010). Historicamente, a LV, no Brasil, era considerada uma endemia rural, e a partir de 1980, essa vem se expandindo e se tornando endêmica e epidêmica em quase todas as regiões do país (LUZ et al, 2001, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). A expansão da LV se justifica pelas mudanças ambientais e sociais ocasionadas pelo processo de urbanização das cidades. O desequilíbrio ambiental acarreta desalojamento dos vetores e reservatórios, o que favorece o aumento da domiciliação crescendo o risco de transmissão (DESJEUX, 2004; COSTA, 2008; RANGEL; VILELA, 2008). Além disso, o incremento da densidade populacional causado pelo êxodo rural contribui para o crescimento do número de moradias em condições desfavoráveis, onde há carência de saneamento básico e acúmulo de lixo. Esse ambiente precário é favorável à sobrevivência e adaptação de vetores, contribuindo também para a transmissão da LV (MISSAWA, 2006).

O principal vetor de LV no Brasil é *Lutzomyia longipalpis* (BARATA et al., 2004). Entretanto, a ausência de *L. longipalpis* em área com casos autóctones de LV já foi descrita em diversos trabalhos (GALATI et al., 1997; SANTOS et al., 1998), sugerindo a existência de outras espécies de flebotomíneos que participam da transmissão desta enfermidade. Estudo realizado na cidade de Corumbá, no Mato Grosso do Sul demonstrou a ausência de *L. longipalpis* e a presença e prevalência de *Lutzomyia cruzi* sobre as outras espécies tanto no intra como no peridomicílio (GALATI et al., 1997). Posteriormente, foi comprovada a infecção natural de *L. cruzi* por *Leishmania infantum chagasi*, também na cidade de Corumbá, no Mato Grosso do Sul (SANTOS et al., 1998). Hoje, já é aceito que a espécie *L. cruzi* é uma espécie secundária na transmissão da LV, estando restrita a região do Mato Grosso (RIBEIRO, 2007) e Mato Grosso do Sul (GALATI et al., 1997).

Mais recentemente, em estudos realizados na cidade de La Banda, Argentina, correlacionaram-se a ausência de *L. longipalpis* e a presença de *Lutzomyia migonei* em áreas com casos autóctones de LV (SALOMÓN et al. 2010). Caso similar foi demonstrado na cidade de São Vicente Férrer, em Pernambuco, onde foi detectada a infecção natural de *L. migonei* por *L. chagasi*, o que evidencia sua possível participação na transmissão da doença nessas áreas (CARVALHO et al., 2010).

Estudos entomológicos objetivando o entedimento das mudanças na dinâmica da transmissão da LV, principalmente em relação ao aparecimento de novos vetores, são imprescindíveis para a reformulação das ações de vigilância e controle desta enfermidade. Estudos entomológicos realizados no município de Fortaleza, Ceará, pela Secretaria Estadual de Saúde, registraram a ocorrência de *L. longipalpis* e *L. migonei*, em simpatria, em todas as áreas de ocorrência de casos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Generalidades

A Leishmaníase Visceral (LV) é considerada uma das principais doenças negligenciadas no Mundo, acometendo principalmente pessoas de baixa renda, habitantes de países em desenvolvimento. É endêmica em 88 países e ocorre principalmente na Ásia, Europa, Oriente Médio, África e Américas. Estima-se que, em todo o mundo, cerca de 350 milhões de pessoas estejam expostas ao risco de contrair esta enfermidade e, que em média, dois milhões de casos sejam notificados por ano (DESJEUX, 2004; WHO, 2010). Dentre os países da América Latina, o Brasil é o país com maior prevalência da doença, tendo sido notificados no período de 1990 a 2006, 50.060 casos, o que corresponde a 90% do total de casos registrados. Porém, acredita-se que o número dos casos de Leishmaníase visceral no Brasil seja subnotificada, uma vez que existem limitações nos sistemas de vigilância e controle das Leishmaníases neste país (ZERPA et al., 2003; BERN et al., 2008; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Nas Américas, a LV é uma doença sistêmica severa causada pelo protozoário intracelular *Leishmania infantum chagasi* e transmitida pela picada de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia*, sendo a principal espécie transmissora *Lutzomyia longipalpis* (ZELEDON et al., 1984; CARRASCO et al., 1998; LAISON; RANGEL, 2005; SALOMON; ORELLANO, 2005). Das 470 espécies e subespécies de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia*, 229 são encontrados no Brasil, e somente três, *L. longipalpis*, *L. cruzi* e *L. migonei*, estão relacionadas com a transmissão da doença (SANTOS et al., 1998; RANGEL; LAISON, 2003; BARATA et al., 2004; CARVALHO et al., 2010).

2.2 Histórico e Distribuição da LV no Brasil

Em 1912, foi descrito pela primeira vez o flebotomíneo *L. longipalpis* no Brasil (LUTZ; NEIVA, 1912). Contudo, até meados da década de 30 do século XX, o interesse neste inseto era apenas de natureza entomológica. Em 1934, através da análise do fígado coletado de pessoas com suspeita de terem morrido de febre amarela, de várias localidades rurais do país, foram confirmados 41 casos de LV (PENNA, 1934). A partir deste fato, o diretor do Instituto Oswaldo Cruz, Carlos Chagas, enviou o seu filho, Evandro Chagas, para a realização do estudo epidemiológico desta enfermidade. A investigação teve início em Sergipe, onde Evandro Chagas observou que o inseto hematófago mais encontrado, tanto no intradomicílio como no peridomicílio, era o

flebotomíneo *L. longipalpis*. Mais tarde, em estudos realizados em Abaetetuba e Mojú, no estado do Pará, foram registrados mais casos de LV, não somente em humanos, mas também em cães. Mais uma vez, o flebotomíneo *L. longipalpis* foi apontado como principal inseto hematófago, tornando-se assim o provável vetor (LAISON; RANGEL, 2005). Porém somente no ano de 1953, a LV foi considerada um agravo sério e dessa forma muito preocupante às autoridades de saúde, devido à morte de cerca de uma centena de habitantes do município de Sobral, no estado do Ceará. Foi então organizada mais uma investigação epidemiológica onde participaram o casal de pesquisadores Leônidas Deane e Maria Deane. Estes pesquisadores encontraram exemplares de *L. longipalpis* infectados com “*Leishmania donovani*”, como era denominada a espécie na época, e realizaram infecção experimental por este parasita em raposas (DEANE; DEANE, 1954a; DEANE; DEANE, 1954b; RANGEL; LAINSON, 2003).

Neste período, Deane e Deane observaram também que os casos de LV ocorriam em boqueirões úmidos com vegetação, o que os levou a crer que a LV estava relacionada somente às áreas silvestres e rurais. Essa realidade se modificou a partir de meados de 1980, quando se verificou a distribuição da LV em quase todas as regiões do país. Essa expansão justifica-se pelo processo de urbanização desenfreado, onde foram observadas transformações ambientais causadas principalmente pelo homem, que permitiram a invasão humana do habitat natural dos vetores da LV, assim como sua adaptação às áreas urbanas (RANGEL, 1995; RANGEL; LAINSON, 2003; LAISON; RANGEL, 2005).

Até 1980, a região Nordeste era responsável por cerca de 80% dos casos no país. A partir de então, casos de LV foram confirmados em todas as regiões do país. Foram notificados na década de 80, casos e surtos autóctones dentro dos limites da cidade de São Luís (Maranhão), Teresina (Piauí), Natal (Rio Grande do Norte), Aracajú (Sergipe), Fortaleza (Ceará), Rio de Janeiro, Corumbá (Mato Grosso do Sul), Montes Claros e Sabará (Minas Gerais). No início de 1990 foram registrados outros surtos de LV em áreas urbanas, como na cidade de Belo Horizonte (Minas Gerais), Feira de Santana (Bahia), Várzea Grande (Mato Grosso), Araçatuba (São Paulo) e Aquidauana (Mato Grosso do Sul). E desde 2000, novas epidemias urbanas foram notificados nos municípios de Palmas (Tocantins), Três Lagoas e Campo Grande (Mato Grosso do Sul), Caxias, Timon, Codó e Imperatriz (Maranhão), Bauru (São Paulo), Paracatu (Minas Gerais), Cameté (Paraná), e outros (COSTA et al., 1990; SILVA et al., 1997; BEVILACQUA, 2001; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Atualmente a maior incidência de LV ainda encontra-se no Nordeste albergando aproximadamente 48% do total de casos do país, seguido pela região Sudeste, a região Norte, Centro-Oeste e, finalmente, a região Sul. Assim sendo a LV está distribuída em 21 dos 26 estados do país (LAINSON; RANGEL, 2005; MISSAWA; LIMA, 2006; NUVEP/SESA-CE, 2010; BRASIL, 2009; BRASIL, 2010). Na região Nordeste, o estado do Ceará no período de 2001 a 2008 foram confirmados 3.746 casos (Figura 1). Em 2008 foram confirmados 598 casos com 33 óbitos, sendo 15 óbitos ocorridos no município de Fortaleza. Em 2009 foram notificados 787 casos, sendo 432 casos com 16 óbitos. O maior número de casos foi notificado em Fortaleza, com 194 casos (NUVEP/SESA-CE, 2010).

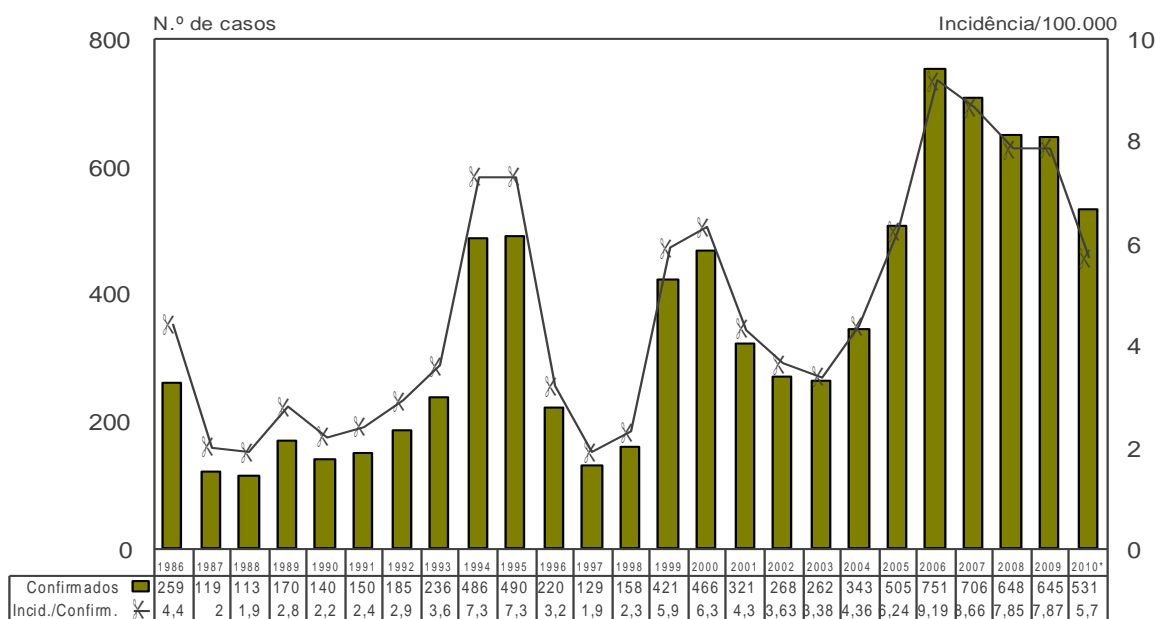


Figura 1 – Casos confirmados e incidência de LV no Ceará – 1986 a 2010.

Fonte: NUVEP/SESA- CE

2.3 *Leishmania* spp.

As leishmânias são protozoários pertencentes à ordem *Kinetoplastida*, família *Trypanosomatidae*, gênero *Leishmania*, que parasitam células do sistema mononuclear fagocítico de mamíferos. Possuem duas formas: a forma promastigota, que é alongada e flagelada, sobrevive extracelularmente e é encontrada no trato intestinal de insetos vetores; e a forma amastigota, que é imóvel e possui um flagelo rudimentar, presente em macrófagos (PUENTES et al., 2000).

A classificação das leishmânias se dá de acordo com o processo patológico que provocam em humanos ou em outros mamíferos, caracterizando assim a forma cutânea ou visceral da doença (MILON, 2008). Existe cerca de 12 espécies de leishmânia neotropicalmente aceitas. Destas, oito são descritas no Brasil: *Leishmania (Leishmania) mexicana*, *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *Leishmania (Leishmania) guyanensis*, *Leishmania (Viannia) shawi*, *Leishmania (Viannia) lainsoni* e *Leishmania (Viannia) lindenberg* causando a Leishmaníase tegumentar americana; e somente a *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* é responsável por causar a Leishmaníase visceral (PIMENTA et al., 2003; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

Para que sejam transmitidas aos hospedeiros, as leishmânias precisam passar por transformações bioquímicas, ocorridas no tubo digestivo de insetos vetores. Ao realizar o repasto sanguíneo, os insetos vetores ingerem, junto com o sangue, macrófagos parasitados com *Leishmania* spp. No trato digestivo do inseto, os macrófagos se rompem liberando as amastigotas, que se transformam em promastigotas procíclicas, não infectantes. Essas formas são encontradas no sangue recém ingerido (até 24 a 28 horas após o repasto sanguíneo) e ficam encobertas por uma matriz peritrófica que as protege da ação das enzimas digestivas, fornecendo proteção por tempo suficiente para que 50% das procíclicas se diferenciem em formas mais resistentes enquanto que a outra metade da carga parasitária é destruída pelas proteases nos primeiros dois dias após a infecção do flebotomíneo. As procíclicas sobreviventes se multiplicam e se diferenciam em nectomonas, formas delgadas e grandes do parasito que escapam do confinamento da matriz peritrófica para se fixarem às células epiteliais do intestino médio (MILON, 2008). As nectomonas dão origem às leptomonas, que são formas menores, e sofrem a segunda multiplicação do ciclo. Finalmente, duas fases são observadas na válvula estomacal: haptomonas e metacíclicas. As haptomonas, cuja forma precursora ainda não está esclarecida (nectomonas ou leptomonas) são formas com curto flagelo, imóveis e que se mantêm aderidas à válvula estomacal. É provável que nesse estágio o parasito produza quitinases que irão degradar a cutícula que reveste a válvula estomacal, prejudicando assim a dinâmica alimentar do flebotomo. Dessa forma, o período gasto para o repasto sanguíneo pelo flebotomíneo é maior, o que favorece a transmissão. As formas metacíclicas, estágio infectante, são encontradas abaixo da válvula estomacal e são altamente adaptadas para a transmissão bem sucedida ao hospedeiro vertebrado.

Elas têm um corpo pequeno com um flagelo alongado, são velozes e resistentes à lise mediada pelo complemento (PIMENTA et al., 2003; KAMHAWI, 2006).

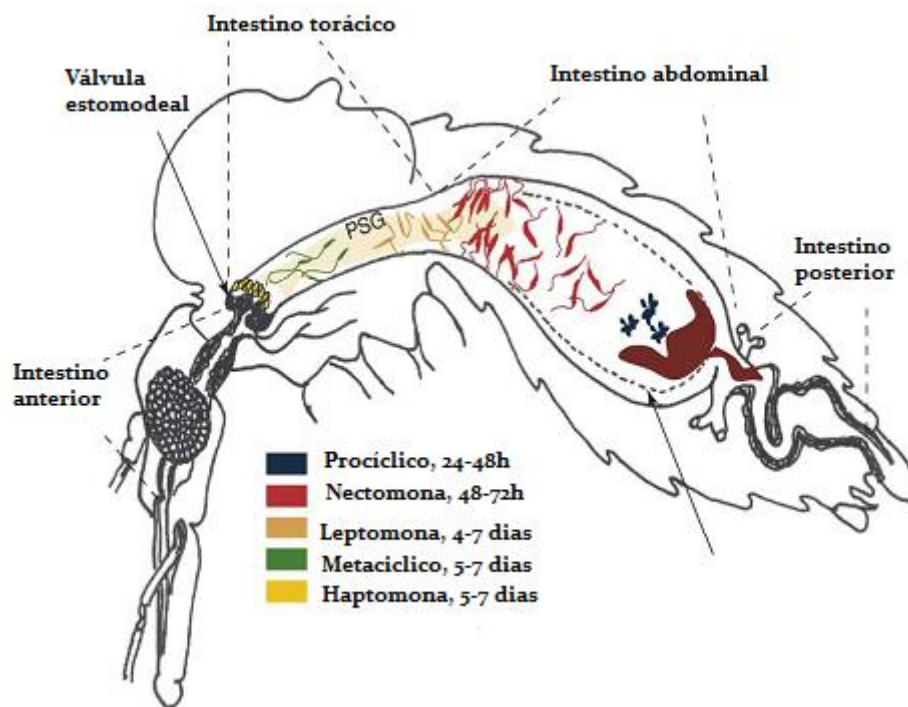


Figura 2. Ciclo da *Leishmania spp* no inseto vetor.

Fonte: adaptada de KAMHAWI, 2006.

Após a inoculação, as promastigotas precisam sobreviver à imunidade inata do hospedeiro. As promastigotas introduzidas na epiderme dos hospedeiros, através da picada dos flebotomíneos são atacadas por células do sistema imune. Estes mecanismos ainda não estão totalmente esclarecidos, pois envolvem específicos receptores/ligantes da superfície de membrana. O parasito utiliza mecanismos de evasão para facilitar sua aderência à superfície dos macrófagos passando para o meio intracelular através de um processo de fagocitose mediada por receptores. No interior do vacúolo parasitóforo, a promastigota sofre influência do pH ácido (5,5) e da temperatura (37 °C) se transformando na forma amastigota, sendo esta forma característica do parasitismo em mamíferos. No interior dos macrófagos, as amastigotas se multiplicam intensamente por divisão binária até provocarem sua lise, ocorrendo à liberação dessas formas que serão fagocitadas por novos macrófagos em um processo contínuo, e há então sua disseminação hematogênica para outros tecidos ricos em células do sistema

mononuclear fagocítico, como linfonodos, fígado, baço e medula óssea (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

2.4 Flebotomíneos

As leishmaníases são transmitidas, com raríssimas exceções, pela picada de fêmeas de flebotomíneos infectadas (SYMMERS, 1960; BRUCE-CHWATT, 1972; ELTOUM et al., 1992; DESJEUX et al., 1997; SILVA et al., 2009).

Os flebotomíneos são pequenos dípteros psicodídeos medindo de 2 a 3 mm, conhecidos popularmente por “mosquito palha”, “tatuquiras”, “birigui”. Possuem corpo revestido de pêlos, delgado e piloso, patas longas e asas lanceoladas (BRAZIL; BRAZIL, 2003). Somente as fêmeas são hematófagas, e a ingestão de sangue por estes dípteros é necessária para o desenvolvimento ovariano, sendo o número de ovos diretamente proporcional à quantidade de sangue ingerido (READY, 1979; LEHANE, 1991). Tanto os machos quanto as fêmeas ingerem carboidratos, necessários para as atividades de vôo, acasalamento, postura e longevidade (BRAZIL; BRAZIL, 2003). O hábito de voarem em saltos reforça a hipótese de que estes insetos não se afastam muito dos criadouros e a sua dispersão máxima não excede um quilômetro (QUATE, 1964; YUVAL et al., 1988; DOHA et al., 1991; KAMHAWI et al., 1991; ALEXANDER, 1992; MORRISON et al., 1993). Apesar das características descritas anteriormente, compreendidas na biologia dos flebotomíneos adultos, terem influência direta na epidemiologia das leishmaníases e no controle vetorial, poucos estudos foram realizados visando descrever as diferenças destas características entre as espécies de flebotomíneos (WHO, 2010).

O ciclo biológico dos flebotomíneos se processa no ambiente terrestre e compreende quatro fases de desenvolvimento: ovo, larva, pupa e adulto (Fig. 2). O período determinado para a mudança entre estágios varia de acordo com a temperatura ambiente, sendo este período maior em temperatura mais baixa e menor em temperatura mais alta (WHO, 2010). O aumento da umidade no ambiente das fêmeas alimentadas acelera o desenvolvimento dos ovos (MILLERON et al., 2008).

Os ovos possuem forma variando de elipsoíde à oval, com comprimento variando de 300 a 500 e largura de 70 a 150 mm. Logo após a postura, apresentam cor clara, tornando-se castanho escuro com o decorrer do tempo. As fêmeas põem uma média de 40 ovos por postura, e esta ação é realizada em substrato úmido e sombreado e rico em matéria orgânica, para garantir a sobrevivência e alimentação das larvas.

Geralmente estes ovos são postos de forma isolada ou em pequenos grupos, ficando aderidos aos substratos graças às substâncias produzidas pelas glândulas acessórias. Os ovos demoram cerca de 7 a 10 dias para eclodir e dar origem as larvas. O estágio larvar é composto por quatro estádios, diferindo em tamanho e número de cerdas caudais. Larvas de primeiro estágio possuem um par de cerdas caudais enquanto que os demais estádios possuem dois pares. As formas larvares são pequenas, brancas e de aspecto vermiforme. Alimentam-se de matéria orgânica, das cascas dos ovos eclodidos e dos corpos dos adultos mortos após a postura. O desenvolvimento larvar dura pelo menos três semanas, quando então as larvas de quarto estágio se transformam em pupas, que são mais resistentes às variações de umidade do que as fases de desenvolvimento anteriores. A pupa é esbranquiçada ou amarelada, escurecendo a medida que se aproxima a eclosão do adulto. Após 10 dias, os adultos emergem, com predomínio dos machos inicialmente. O desenvolvimento de ovo a inseto adulto decorre num período de aproximadamente 30 a 40 dias dependendo da temperatura (BRAZIL; BRAZIL, 2003; WHO, 2010).



Figura 3 – Estágios imaturos do ciclo biológico dos flebotomíneos. **A.** Ovo. **B.** Larva. **C.** Adulto. Fonte: Maurício Luiz Vilela.

2.5 Competência vetorial

Existe diversos aspectos que conferem a competência vetorial dos flebotomíneos à LV. Aspectos definidos pela biologia e ecologia dos flebotomíneos, como a sua distribuição e presença em alta densidade nos locais onde há a transmissão de LV, predileção alimentar por reservatórios naturais de *L. (L.) infantum chagasi* e grau de antropofilia da espécie podem ser indicativos de que esta espécie esteja participando da transmissão da doença (KILLICK-KENDRICK, 1990; DA SILVA et al., 2001;

SENGHOR et al., 2011). Entretanto, para que seja confirmada esta participação, é necessário que seja detectada a infecção natural do flebotomíneo (KILLICK-KENDRICK, 1990; PITA-PEREIRA et al., 2005, 2008; PAIVA et al., 2006; SILVA et al., 2008; RANASINGHE et al., 2008; CARVALHO et al., 2010). E em seguida observar diversos aspectos que caracterizam a susceptibilidade do inseto ao protozoário, possibilitando o desenvolvimento do parasito e transmissão da doença. Estes aspectos vêm sendo estudados em espécies de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* e *Phlebotomus*, vetores da *Leishmania* spp. no Novo e Velho Mundo respectivamente, (SCHLEIN et al. 1986; KILLICK-KENDRICK et al. 1977, 1977a; PIMENTA et al. 1992; 1994, 1997; SARAIVA et al. 1995; BUTCHER et al. 1996).

Dentre os aspectos intrínsecos ao vetor podemos destacar cinco pontos principais: a capacidade dos parasitos de resistirem à atividade das enzimas digestivas; de escaparem da matriz peritrófica que reveste o bolo alimentar; de se aderirem ao epitélio intestinal no momento da excreção do resto alimentar; de completarem o ciclo de vida dentro do inseto vetor, culminando no desenvolvimento e diferenciação de formas infectantes e inocularem os parasitos infectantes no hospedeiro vertebrado (PIMENTA et al., 2003).

A resistência às atividades digestivas das promastigotas está relacionada à cobertura celular proporcionada pelas moléculas de LPG (lipofosfoglicanas) em sua superfície, que as protegem da lise. Essas moléculas não estão presentes nas formas amastigotas, e no período de transição entre uma forma e outra, a integridade do protozoário pode estar comprometida (SCHLEIN et al, 1990; PIMENTA et al., 1994).

Além disso, durante o processo de digestão, há a formação da matriz peritrófica, estrutura física formada principalmente por quitina cuja função é proteção do epitélio intestinal do inseto e, assim, proteção às formas promastigotas do parasito também (PIMENTA et al. 1997). O tempo de formação desta matriz protetora varia de espécie para espécie de flebotomíneo, o que pode ser fatal para algumas espécies de leishmânia. Dessa forma, mesmo com todos estes fatores contribuindo à sobrevivência dos protozoários no tubo digestivo dos insetos, somente as espécies de protozoários específicos para cada flebotomíneo conseguem sobreviver. Estudos demonstraram que protozoários “específicos” conseguem bloquear a produção de enzimas pelo flebotomíneo, permitindo a sua permanência e desenvolvimento (SCHLEIN et al., 1986). A ausência de especificidade destes protozoários implicará na morte destes parasitos durante o processo digestório. Para que as leishmânias consigam se aderir ao

epitélio intestinal do flebotomíneo é necessário que escapem do interior da matriz peritrófica. Este fato se concretiza a partir da excreção da enzima quitinase pelas leishmânias, uma vez que o principal constituinte da matriz é a quitina (LEHANE et al., 1997).

Fora da matriz, a adesão dos protozoários ao tubo digestivo se dá, também, a partir da utilização da molécula LPG. Esta é polimórfica, variando as suas unidades sacarídicas de acordo com a espécie de *Leishmania*, e assim se ligando aos receptores específicos presentes nas microvilosidades do trato digestivo dos flebotomíneos (PIMENTA et al., 1994). Após a aderência, as promastigotas, denominadas procíclicas, passam por um processo denominado metaciclogênese, e então se transformam em promastigotas metacíclicas, que migram para as peças bucais dos flebotomíneos e estão aptas a sobreviver dentro do vertebrado, a fim de garantir a continuidade do seu ciclo de vida (PIMENTA et al., 2003).

Até o momento, as espécies de *L. longipalpis*, *L. cruzi* e *L. migonei* são consideradas vetores da leishmaníase visceral, pois são as únicas a apresentarem todos os critérios descritos de competência vetorial (SANTOS et al., 1998; RANGEL; VILELA, 2008). Entretanto, com as mudanças constantes na dinâmica da transmissão da LV, estudos objetivando a busca por novas espécies de vetores estão sendo desenvolvidos, principalmente em áreas com casos autóctones da doença e ausência de ambos os vetores conhecidos.

Na cidade de La Banda, Argentina, área com casos autóctones de LV, através de estudo entomológico, observou-se a inexistência de exemplares de *L. longipalpis* e a presença de *L. migonei* com prevalência de 93% dos flebotomíneos coletados (SALOMON et al., 2010). Fato similar foi observado em São Vicente Férrer, Pernambuco, Brasil, área com casos de LV, onde se confirmou a infecção natural de *L. migonei* por *Leishmania infantum chagasi* (CARVALHO et al., 2010).

2.6 *Lutzomyia longipalpis*

L. longipalpis é o principal vetor da LV no Brasil (Figura 4). O alto grau de antropofilia e a preferência alimentar eclética desses flebotomíneos associado com a sua presença e prevalência em áreas com casos autóctones de LV, seguida da infecção experimental e transmissão da *L. (L) infantum chagasi* para hamsters em cinco ocasiões, comprova essa afirmação (DEANE, 1956; LAINSON et al., 1977; LAINSON; RANGEL, 2005; MISSAWA et al., 2008).



Figura 4 – *Lutzomyia longipalpis*.

Primordialmente, *L. longipalpis* era considerada uma espécie silvestre, capturada em regiões de florestas e matas, longe de habitações humanas (CHAGAS et al., 1938; LAINSON et al., 1986, 1990). Com o processo de urbanização da LV, a partir da abertura de estradas, construção de ferrovias, usinas hidrelétricas e assentamentos populacionais, concomitante com o processo de êxodo rural e aumento populacional nas cidades, podemos observar a expansão da distribuição do vetor em áreas antes não encontrados, sugerindo sua fácil adaptação ao ambiente urbano (LAINSON et al., 1990; DESJEUX et al., 2004; LAISON; RANGEL, 2005; RANGEL; VILELA, 2008). Essa adaptação é bem exemplificada em estudos realizados na região Norte do Brasil, onde no peridomicílio de casas construídas ao longo da estrada recém aberta que liga Igarapé-Mirí a Tucuruí, foram encontrados exemplares de *L. longipalpis* em abrigos de animais (RANGEL; LAINSON, 2003).

O processo de adaptação a novos ambientes sugere também mudanças alimentares. Estudos relacionados com a preferência alimentar de *L. longipalpis*, demonstraram o caráter eclético de alimentação desta espécie, uma vez que foi encontrada evidência de sangue proveniente de aves, roedores, caninos, equinos, bovinos e humanos (PASSOS-DIAS et al., 2003; BARATA et al., 2005; MISSAWA et al., 2008).

No Brasil, até o presente momento, a distribuição do flebotomíneo *L. longipalpis* inclui os estados de Alagoas, Bahia, Ceará, 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, Tocantins e Rio Grande do

Sul (COSTA et al., 1997; OLIVEIRA et al., 2000; LAISON; RANGEL, 2005; SOUZA et al, 2009).

2.8 *Lutzomyia migonei*

L. migonei é considerado vetor da Leishmaníase Tegumentar Americana (LTA), inicialmente associado à região Sudeste, e considerado vetor secundário na região Nordeste (Figura 5). As primeiras evidências de que este vetor estaria participando da transmissão de LTA foi ao início da década de 40, quando foi encontrado naturalmente infectado por *Leishmania* spp (PESSÔA; COUTINHO, 1941). É uma espécie silvestre, sendo encontrada na mata, em geral em áreas com farta vegetação. Entretanto, é comum observar esta espécie frequentando o domicílio e abrigo de animais domésticos (RANGEL et al., 1986; QUEIRÓZ et al., 1994). Assim como observado em *L. longipalpis*, em áreas com alterações ambientais, tem capacidade de se adaptar as novas condições (RANGEL; LAISON, 2003). Na região Nordeste, *L. migonei* mostrou capacidade de invadir habitações humanas, especialmente em época de maior abundância das chuvas. Com relação à sazonalidade, não é encontrada em todos os meses do ano, sendo ausente nos meses secos e frios. Em relação aos hábitos alimentares, é dotada de alto grau de antropofilia, alimentando-se ainda de cães, galinhas, equinos e tatus (RANGEL et al., 1986).



Figura 5 – *Lutzomyia migonei*.

Recentemente, *L. migonei* foi considerada possível vetor de LV em estudos realizados em La Banda, Argentina, e São Vicente Férrer, Brasil, já que nestas áreas haviam casos autóctones e ausência de *L. longipalpis* com elevada prevalência de *L.*

migonei (SALÓMON et al., 2010; CARVALHO et al., 2010) seguida da confirmação da infecção natural de *L. migonei* por *L. infantum chagasi* (CARVALHO et al., 2010).

3 JUSTIFICATIVA

A LV apresenta-se de forma endêmica no Estado do Ceará, com registro de surtos em vários municípios. Desde 2006, no processo de expansão da doença que atingiu 99 municípios (53,8%), Fortaleza vem se destacando dentre aqueles com maior número de casos humanos e registro expressivo de óbitos, sendo categorizado como área de transmissão intensa de LV. Diante deste cenário, Fortaleza é considerado como município prioritário para o Ministério da Saúde no contexto das ações de Vigilância e Controle, dentre os municípios considerados mais críticos.

As políticas de vigilância e controle da LV planejadas pelo Ministério da Saúde (Programa Nacional de Leishmanioses) estão focadas em três eixos, dentre eles os vetores. No controle destes, as diretrizes estão dirigidas principalmente para o uso de inseticidas químicos e manejo ambiental, cuja proposta é diminuir a densidade populacional do vetor e/ou reduzir seu contato com o homem. Ainda que as estratégias de controle estejam bem definidas, a presença de vetores em áreas urbanas se constitui como o maior desafio para o Programa de Controle da Leishmaniose Visceral, remetendo claramente a necessidade de melhor entender o comportamento do vetor na área urbana e os fatores de sua adaptação aos habitats.

Aspecto relevante a ser destacado neste estudo refere-se às evidências entomológicas apresentadas pela Secretaria Estadual de Saúde demonstrando em Fortaleza a presença e prevalência de *L. longipalpis*, o mais importante vetor de LV nas Américas, seguido por *L. migonei*, flebotomíneo recentemente sugerido como potencial vetor em Pernambuco.

A avaliação de alguns indicadores entomológicos em Fortaleza certamente trará informações importantes para o melhor entendimento da epidemiologia local da LV, bem como direcionamento de forma mais adequada das ações de controle.

4 HIPÓTESES CIENTÍFICAS

Lutzomyia longipalpis e *Lutzomyia migonei*, ocorrendo em simpatria, compartilham o papel de transmissores de leishmaniose visceral em Fortaleza, Ceará.

Dados de indicadores entomológicos, abundância, frequência, infestação domiciliar e distribuição de *L. longipalpis* e *L. migonei*, correlacionam positivamente a participação destes flebotomíneos na eco-epidemiologia da leishmaniose visceral em Fortaleza.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo Geral

Ampliar os conhecimentos sobre a transmissão da leishmaniose visceral em Fortaleza, Estado do Ceará.

5.2 Objetivos Específicos

1. Avaliar a distribuição de *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia migonei* por regiões trabalhadas;
2. Correlacionar a frequência de *L. longipalpis* e *L. migonei* nos sítios de coleta (intra e peridomicílio) por região;
3. Calcular o índice de infestação domiciliar de *L. longipalpis* e *L. migonei* por residência trabalhada em cada região;
4. Identificar características ambientais associadas às presenças de *L. longipalpis* e *L. migonei*;
5. Correlacionar a ocorrência de casos humanos e caninos de LV com o registro de *L. longipalpis* e *L. migonei*.

6 CAPÍTULO

Aspectos da ecologia de *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) em áreas de transmissão intensa de Leishmaníase Visceral no Nordeste do Brasil.

Aspects of the ecology of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in area of intense transmission of Visceral Leishmaniasis in northeast of Brazil.

Submetido ao periódico Veterinary Parasitology em 01 de junho de 2011.

**Aspects of the ecology of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei*
(DIPTERA: Psychodidae: Phlebotominae) in area of intense
transmission of Visceral Leishmaniasis in northeast of Brazil:
Fortaleza, state of Ceará.**

Rafaella A. Silva^{a,b}, Fabricio K. M. Santos^a, Lindemberg C. Sousa^a, Elizabeth F.

Rangel^c, Claudia M. L. Bevilaqua^{b*}

^aNúcleo de Controle de Vetores, Secretaria da Saúde do Estado do Ceará, ^bLaboratório de Doenças Parasitárias / Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará

^cLaboratório de Transmissores das Leishmanioses, Instituto Oswaldo Cruz

Corresponding author: Tel.: + 85 3101 9853; Fax: +55 3101 9840

*E-mail address: claudia.bevilaqua@pq.cnpq.br

Abstract

The main vector for visceral leishmaniasis (VL) in Brazil is *Lutzomyia longipalpis*. However, the absence of *L. longipalpis* in a region of autochthonous VL demonstrates the participation of other species in the transmission of this disease. Studies conducted in La Banda, Argentina, and São Vicente Férrer, Brazil, have correlated the absence of *L. longipalpis* and the presence of *L. migonei* with autochthonous cases of VL. In São Vicente Férrer, there was evidence for natural infection of *L. migonei* with *Leishmania infantum chagasi*, which strongly supports the participation of this vector in disease transmission in the area. Thus, the objective of this work was to assess the ecology of the sand flies *L. longipalpis* and *L. migonei* in Fortaleza, an endemic area for VL in

Brazil. Insect capture was conducted from February 2009 to January 2010, at 22 sampling points that were distributed across four regions of Fortaleza, and two CDC light traps were used at each collection point. In total, 32,403 sand flies were captured; of these, 18,166 (56%) were identified as *L. longipalpis* and 14,237 (44%) as *L. migonei*. There were no significant differences found between the vectors when density ($p=0.2472$) or sampling site (indoors and outdoors) ($p=0.3038$) were compared, which demonstrated that both species have adapted to an indoor environment. These findings confirm that *L. migonei* and *L. longipalpis* are evenly distributed throughout Fortaleza, where they have adapted to an indoor environment. Because these species have been shown to be competent vectors for VL, our results suggest that *L. migonei* shares the role of vector with *L. longipalpis* for the transmission of VL in Fortaleza.

Key words: *Lutzomyia longipalpis*; *Lutzomyia migonei*; Vectorial competence; Entomological indicators; Ecology; Visceral leishmaniasis.

Introduction

Brazil is responsible for approximately 90% of the reported cases of Visceral Leishmaniasis (VL) on the South American continent. The northeastern area of Brazil is considered more representative with 48% of the cases (Zerpa et al., 2003, Bern et al., 2008; Ministry of Health, 2008; Brasil, 2010). In the northeast, the state of Ceará has endemic VL that is considered a priority for health surveillance and control by the Ministry of Health. The cities with the highest incidence of VL are Fortaleza, Sobral, Juazeiro, Barbalha and Caucaia. However, Fortaleza is the only city classified as an area of intense transmission, as 218 and 262 cases were reported in 2009 and 2010,

respectively (Nuvep / Coprom / Sesa, 2010). Based on studies of vector competence, the main vector for VL in Brazil is *Lutzomyia longipalpis* (Deane, 1956; Lainson and Rangel, 2005). Studies conducted in Corumbá, Mato Grosso do Sul, found a greater prevalence of *Lutzomyia cruzi* than other species, both indoors and outdoors (Galati et al., 1997). Natural infection of *L. cruzi* with *Leishmania infantum chagasi* has also been documented in Corumbá (Santos et al., 1998). *L. cruzi* has become an accepted vector for VL, but its range is restricted to Mato Grosso (Ribeiro, 2007) and Mato Grosso do Sul (Galati et al., 1997, Ministry of Health, 2006).

More recently, studies from La Banda, Argentina, have correlated the absence of *L. longipalpis* and the presence of *L. migonei* with autochthonous VL (Salomón et al., 2010). A similar pattern has been demonstrated in San Vicente Ferrer, Pernambuco. Here, natural infection of *L. migonei* with *L. (L.) infantum chagasi* was documented, which highlights the potential role of this vector for disease transmission in these areas (Carvalho et al., 2010).

The objective of this study was to gain insight into the transmission of VL in Fortaleza by studying the ecology of *L. longipalpis* and *L. migonei*, evaluating entomological indicators of VL and discussing whether these sympatric species share the role of vector for VL in urban areas.

Material and Methods

Study area

The study was conducted in Fortaleza, Ceará, Brazil, which is located along the Atlantic coast at an average altitude of 21 m and covers an area of 313.8 km² with 2,505,552 inhabitants. Fortaleza is the capital and has the highest population density, at 8,001 inhabitants per km². The average annual temperature is 26°C; December and January are the warmest months, and July is the coolest, although the

temperature differences between months are minor. The average rainfall is 1,600 mm and is concentrated between February and May. The wettest month is April (348 mm), and the driest is November (13 mm). The vegetation is typical of coastal areas and consists of mangroves and restingas. The remaining vegetation in the city is varied but includes many fruit trees (Ibge, 2008).

Capture of sand flies

Phlebotomine sand flies were captured from February of 2009 to January of 2010. Captures were made in the following 22 districts within Fortaleza: the northern districts of Quitino Cunha (QC), Alvaro Weyne (AW), Farias Brito (FB), Aldeota (AD) and Jardim America (JA); the southern districts of Mondumbim (MD), Passaré (PA), Cajazeiras (CA), Planalto Airton Sena (PAS), Prefeito José Walter (PJW), Conjunto Palmeira (CP) and Paupina (PU); the eastern districts of Vicente Pizon (VP), Jardim das Oliveiras (JD), Edson Queiroz I (EDI), Edson Queiroz II (EDII), Cambeba (CB) and Lagoa Redonda (LR); and the western districts of Conjunto Ceara II (CCII), Democrito Rocha (DR), Siqueira (SQ) and Vila Manuel Sátiro (VMS) (Figure 1).

Districts were chosen according to the reported number of VL cases in the past 5 years and in accordance with features suggestive of vector presence, such as fruit trees, livestock and organic matter accumulation, as evaluated by environmental characterization forms. Captures were performed over 12 months using CDC light traps (Sudia and Chamberlain, 1962) that were armed for four consecutive nights per month from 6 p.m. to 6 a.m. Traps were placed near animal shelters when possible, and two were placed at each residence with one trap inside and another outside of the home (Ministry of Health, 2006).

Identification of Phlebotomine sand flies

Collected sandflies were sent to the Entomology Laboratory of the Health Secretariat of Ceará State for identification. Specimens were killed with ethyl acetate and placed in small petri dishes in a solution of 10% potassium hydroxide for 2 hours. The sand flies were then submerged in acetic acid for 15 minutes and in lactophenol for 24 hours. Assembly onto slides with coverslips used Berlese fluid (Vilela et al., 2003). Males and females were classified using the key of Young and Duncan (1994).

Data from human and Canine Visceral Leishmaniasis

Data relating to the human and canine cases from February 2009 to January 2010 were obtained from the Secretary of Health and the Zoonosis Control Center of Fortaleza, respectively.

Statistical Analysis

The index of home infestation (IDI) and the relative abundance (RA) were calculated using the following formulas (Ministry of Health, 2006):

$$\text{IID} = \frac{\text{Total households by positive sort/ per search site and technical} \times 100}{\text{No. of local searches}}$$

$$\text{RA} = \frac{\text{Number of } L. \textit{longipalpis} \text{ or } L. \textit{migonei} \text{ collected by household (outdoors or indoors)}}{\text{Total number of households surveyed (outdoors or indoors)}}$$

Descriptive statistical analyses were performed for the following factors evaluated in the study: species, sex, capture location, environmental characteristics and region studied. For each factor, a comparison of the number of phlebotomines was made using the Poisson generalized linear model (canonical connection) and the Kruskal-Wallis

test. Relationships between human or canine cases, sand fly density, sex and sampling site were determined using a Pearson correlation coefficient.

Results

From February 2009 to January 2010, 32,403 sand flies were captured. Of these, 18,166 (56%) were identified as *L. longipalpis* and 14,237 (44%) as *L. migonei* (Table 1). Therefore, there was no significant difference ($p>0.05$) in density between the species (0.2472) or between collection sites ($p=0.3038$) (Table 2).

The presence of both species was confirmed in each neighborhood (Figure 1), although the density of sand fly density was heterogeneous (Table 1). This ranged from 112.23 insects per trap in Farias Brito (FB) to 0.04 in Vicente Pizon (VP). The environmental characterization of each collection point is shown in Table 3. All sampling sites showed abundant vegetation, composed mainly of fruit trees. Regarding the presence of domestic animals, dogs and birds were found in more collection points, especially in the South.

The index of home infestation in Fortaleza was 90.90% indoors and 95.45% outdoors for both species. When analyzed by region, the infestation index was 100% for all regions, both indoors and outdoors, except in the interior of the eastern region that had index values of 83.3% for *L. longipalpis* and 85.71% for *L. migonei*.

In Fortaleza, the relative abundance of *L. longipalpis* flies per household was 510 indoors and 315.72 outdoors. For *L. migonei*, the RA was 306.04 indoors and 342.90 outdoors.

Lutzomyia longipalpis

In this study, 18,166 specimens of *L. longipalpis* were captured; 11,220 (61.76%) were caught indoors, and 6,946 (38.24%) were caught outdoors (Table 1). Of

the regions studied, the north and the south were more representative and had the greatest densities of specimens, at 46.3% and 35%, respectively. These densities were not statistically different. However, within a given region, we observed differences in the density of *L. longipalpis* between sample points. These differences were greatest among the sampling sites outdoors in the north and south (Figure 2).

We evaluated separately the collection points with domestic animals (dogs and chickens) to determine whether this criterion would alter vector density. However, we found no differences in the density of *L. longipalpis*, which had previously been found to be higher in the north and south (Figure 3).

The district with the highest density of *L. longipalpis* was Farias Brito (FB). Here, the densities were 5.189 (46.25%) indoors and 1.575 (22.67%) outdoors. Lower densities were found in the district of Vicente Pizon, where these values were 0 (0%) indoors and 1 (0.01%) outdoors (Table 1). The predominant sex of the fly was male, and the male-to-female ratio was 1.85.

Lutzomyia migonei

We captured 14,237 specimens of *L. migonei*; 6,727 (47.25%) of these were caught indoors and 7,510 (52.75%) caught outdoors (Table 1). Most of these specimens were collected from the north and south, as 6,450 (45.3%) came from the north and 6,805 (47.7%) came from the south. However, compared to *L. longipalpis*, the density of *L. migonei* was more variable between sites. Eastern and western regions did not differ in *L. migonei* density, although the number of specimens collected from each site differed. For example, 440 specimens were collected in the suburb of Lagoa Redonda (LR), while 3 were collected in the district of Vicente Pizon (VP). As for *L. longipalpis*, there was no difference in the density of *L. migonei* when the collection locations with

domestic animals were analyzed separately (Figure 3).

The north and the south were more representative and had the greatest densities of specimens, 45.30% and 47.79%, respectively. These densities were not statistically different. However, within a given region, we observed differences in the density of *L. migonei* between sample points. These differences were greatest among the sampling sites indoors in the north and outdoors in the south (Figure 2).

Also similarly to *L. longipalpis*, the density of *L. migonei* was highest in FB, as 2,800 (41.62%) samples were collected indoors and 1,211 (16.13%) were collected outdoors. The district of VP had the lowest neighborhood density of 0 (0%) indoors and 3 outdoors (0.04%). Male flies were predominant, but the male-to-female ratio was slightly lower at 1.23 than it was for *L. longipalpis*.

The western region had the greatest number of canine (754) and human (13) VL cases. However, this region also had the lowest vector density for *L. longipalpis* (6.85%) and *L. migonei* (3.16%) (Figure 4). Thus, there was no correlation between the number of cases and vector density in this region. For canine cases, the correlation coefficients were 0.086 (p=0.704) for *L. longipalpis* and 0.141 (p=0.532) for *L. migonei*, and for human cases, the coefficients were and -0.062 (p=0.784) for *L. longipalpis* and -0.033 (p=884) for *L. migonei* (Tables 4 and 5).

Discussion

The urbanization of visceral leishmaniasis has been extensively studied and is related to environmental changes caused by human action, the intense process of rural-urban migration and the interaction between susceptible individuals (Lainson, 1989; Silva et al. 1997, Dias et al. 2003; Taiul, 2006; Elkoury et al., 2008). However there are a factor determining the expansion and urbanization of the LV: the enormous adaptability of the main vector *L. longipalpis* to the changed environment (Rangel and

Vilela, 2008; Rangel and Lainson, 2009).

This present study, conducted in Fortaleza, has documented the presence of these species at each of the 22 sites examined, which supports the wide distribution of these vectors. These species appear to be fully adapted to the urban areas of Fortaleza due to the negligible differences in density between the regions studied. This adaptation is of concern due to the increased interactions between the vector and susceptible individuals that could make prevention and control of this disease difficult. This study has demonstrated high vector density (56%) but did not find one species to be most prevalent, as there were no significant differences in density between *L. longipalpis* and *L. migonei*. The adaptability of the species *Lutzomyia longipalpis* in urban areas demonstrated in this study corroborate with studies developed by Oliveira et al. (2006, 2008), who found *L. longipalpis* to be the most prevalent species (92.2%) in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, and to have a high density and degree of adaptation in this city.

In relation to socio-environmental factors that may contribute to the emergence of sand flies, the work by Fernandez et al. (2010) in the city of Posadas, Misiones province, Argentina, found that few factors observed in the routine activities of capture of sand flies, such as presence or absence of electric light, may be influencing the density of sampling vectors. Despite not having been included in this study the statistical analysis of environmental factors due to small number of collection points for each region, we can observe that even with similar environmental characteristics between the collection points, such as vegetation and abundant presence of domesticated animals, large differences in the density of each vector species. The northern area of FB and the southern area of MD had the highest number of specimens collected. These large densities may be due to the size of the property and/or the

diversity of plant and animal species because these collection points had the largest acreage and the greatest plant and animal diversity. Thus, further analysis of the local environmental characteristics must be included in future studies that use local capture. The VP district had the least amount of collected specimens of both species, which is justified by its location near the beach in the presence of strong winds.

Lutzomyia migonei is a species found mainly in the wild or in outdoor environments and is mainly associated with the transmission of cutaneous leishmaniasis, as this species is endowed with a remarkable degree of anthropophilicity (Queiroz et al. 1994; Pita-Pereira et al., 2005; Rangel and Lainson, 2009). Although described in the literature, this study showed that the species *Lutzomyia migonei* is well distributed and adapted to the urban environment of the city of Fortaleza. In addition to this, recent studies have found *L. migonei* to participate in the transmission of VL. Indeed, *L. migonei* possesses the three essential characteristics of vector competence, including anthropophily, distribution coincident with human cases and evidence of natural infection with *L. (L.) infantum chagasi* (Killick-Kendrick, 1990). Studies in La Banda, Argentina have shown *L. migonei* to be the predominant species (93%) in areas with indigenous cases of VL and an absence of *L. longipalpis* and *L. cruzi*, last another potential vector of VL in central Brazil (Salomon et al., 2010). Then, it was suggested an enzootic cycle of LV and accidental transmission to humans, which would be this sandfly vector (Salomón et al., 2010). Similar reports were made in San Vicente Ferrer in Pernambuco, Brazil, and the natural infection of this species by *L. (L.) infantum chagasi* has been documented (Carvalho et al., 2007, Carvalho et al., 2010).

The results of this study suggest changes in the urban behavior of *L. migonei*; this vector was found at high density (44%) at all collection points but specifically with a high level of infestation both indoors (90.90%) and outdoors (95.45%) to suggest an

adaptation to the environment in and around the home. Based on the analysis of entomological indicators (index of relative abundance and level of home infestation), there were no differences in density between species, as both were found at high density indoors and outdoors. This suggests that these two species share the role of vector for the transmission of VL. Due to little difference in the density of this species between regions worked, assumed to be fully adapted to the urban area of Fortaleza. Considering the high prevalence of canine in the city of Fortaleza, this adaptation process is of concern regarding the increased interaction between the vector, the domestic reservoir and susceptible individuals, making it challenging to prevent and control this disease.

Thus, with the vector capacity of *L. migonei* for VL confirmed, it is essential to further study the behavior and distribution of this species for the correct implementation of vector control and prevention in VL.

The male-to-female ratio in this study was 1.23 for *L. migonei* and 1.85 for *L. longipalpis*, which indicated the predominance of males described previously (Castellón et al. 1989; Cabanillas and Castellón, 1999, Ximenes et al., 2000, Cortez et al., 2007). This could be due to the fact that males are born earlier than females (Chaniots, 1967) or to the courtship behavior between males and females (Kelly and Dye, 1997).

Although we found no correlation between *L. migonei* and *L. longipalpis* density and the occurrence of human or canine VL, *L. migonei* and *L. longipalpis* cannot be excluded from participation in the transmission of VL in Fortaleza because additional factors, such as parasite load in the vector population, determine disease transmission (Medley, 1992). Also, delayed reporting of cases or the incubation period of the disease, which can vary up to one year, may explain this lack of correlation (Zerpa et al., 2003, Bern et al. 2008, Who, 2010).

The presented data clearly reveal the wide dispersion of both, *L. longipalpis* e *L.*

migonei in Fortaleza and it is worth noting that aspects of ecology and information about entomological indicators associated to characterization and monitoring of vectors not present significant differences between these sand flies. Distribution in the areas of transmission, the occurrence indoors, the relative abundance and adaptation to diverse environmental characteristics suggest that *L. migonei* may be sharing with *L. longipalpis* the transmission of VL in urban area.

The results of these studies added to the literature information may suggest *L. migonei* as potential vector of VL in Fortaleza. However, research of natural infection of *L. migonei* by *Leishmania* sp. could in fact, evaluate the real role of each species, *L. longipalpis* and *L. migonei*, in local epidemiology of VL.

In this context it should be considered, forward of the possibility of another sand fly vector transmitting VL, that the analysis of entomological indicators should be done periodically, especially for assessing progress in the epidemiology and environmental assistance in expanding areas of transmission.

Acknowledgements

We thank the entomology team from the Center for Vector Control and the Health Department of the State of Ceará. In particular, we thank Oseas Ribeiro de Queiroz, José Maria Paz Araujo, Neilton Moteiro Pascoal, Agostinho Gomes de Sousa, Asevedo Quirino de Sousa and Dr. Manuel Dias da Fonseca Neto, all of whose technical assistance was essential to the completion of this study.

Dr. Claudia Maria Leal Bevilaqua and Dr. Elizabeth Ferreira Rangel have a grant from CNPq.

References

- Bern, C, Maguire, JH, Alvar, J, 2008. Complexities of assessing the disease burden attributable to leishmaniasis. *Plos N.T.D.*, 2, e313.
- Brasil, 2010. Guia epidemiológico – Serie A - Normas e Manuais Técnicos. 7ª. Edição, Ministério da Saúde: Brasília, 810pp.
- Cabanillas, MRS., Castellón, EG, 1999. Distribution of sand flies (Diptera: Psychodidae) on tree-tunks in a non-flooded area of the Ducke forest Reserve, Manaus, AM, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 94, 289-296.
- Castellón, EG, Araújo-Filho, NA, Fé, NF, Alves, JMCM, 1989. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Estado de Roraima, Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 84, 95-99.
- Carvalho, MR, Lima, BS, Marinho, J, Ferreira, J, Silva, FJ, Valença, HF, Almeida, FA, Silva, AL, Brandão-Filho, SP, 2007. Phlebotomine sandflies species from American visceral leishmaniasis in the North Rainforest region of Pernambuco State, Brazil. *Cad. Saúde Pública* 23, 1227–1232.
- Carvalho, MR, Valença, HF, Silva, FJ, Pitta-Pereira, D, Pereira, TA; Britto, C, Brazil, RP; Filho, SB, 2010. Natural *Leishmania infantum* infection in *Migonemyia migonei* (França, 1920) (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil. *Acta Trop.* 116 (1), 108-110.
- Cortez, AM, Silva, VPM, Queiroz, PVS, Andrade, HTA, Loiola, MIB, Ximenes, MFFM, 2007. Vertical stratification and development aspects of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in an area of Atlantic Forest tree species in a metropolitan region in northeastern Brazil. *J. Vector Ecol.* 32 (2), 336-341.
- Dias, FOP, Lorosa, ES, Rebelo, JMM, 2003. Fonte alimentar sangüínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae,

Phlebotominae). Cad. Saúde Pública 19, 1373-80.

Elkhoury, ANSM, Alves, WA, Sousa-Gomes, ML, Sena, JM, Luna, EA, 2008. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. Cad Saúde Pública 24(12):2941-2947.

Fernandez, MS, Salomon, OD, Cavia, R, Perez, AA, Acardic, SA, Guccioned, JD, 2010. *Lutzomyia longipalpis* spatial distribution and association with environmental variables in an urban focus of visceral leishmaniasis, Misiones, Argentina. Acta Trop. 114, 81-87.

Galati, EAB, Nunes, VLB, Rêgo, JRFA, Oshiro, ET, Chang, MR, 1997. Estudo de Flebotomíneos (Diptera:Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. Rev. de Saúde Pública 31, 378-90.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_impressao.php?id_noticia=1215.

Pagina acessada em 01 de outubro de 2009, às 19:04.

Kelly, DW, Dye, C, 1997. Pheromones, Kaironomes and the agregation dynamics of the sand fly *Lutzomyia longipalpis*. Anim. Behav. 53, 721-731.

Killick-Kendrick, R, 1990. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. Med. Vet. Entomol. 4, 1-24.

Lainson, R, 1989. Demographic changes and their influence on the epidemiology of American leishmaniasis. In: Service MW (Eds), Demography and vector-borne diseases. CRC Press, Boca Raton, pp. 85-106.

Lainson, R, Rangel, EF, 2005. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – A Review. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 100(8) 811-827.

Medley, GF, 1992. Which comes first in host-parasite systems: density dependence or parasite distribuion. Parasitol. today, v. 8, n. 10.

Ministry of Health, 2006. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose visceral –

Série A – Normas e Manuais Técnicos, 120 pp.

http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_leish_visceral2006.pdf Ministry of

Health, 2008. Casos confirmados de leishmaniose visceral, segundo UF de residência,

Brasil, grandes regiões e unidades federadas. 1990 a 2006. Available from:

http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_lv.pdf (Acessado em 11 Março

2011). http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual2_lta_2ed.pdf Nuvep/Sesa-

CE. Informe Epidemiológico – Leishmaniose Visceral (02/02/2010). Núcleo de

Epidemiologia da Secretaria de Saúde do estado do Ceará (NUVEP/SESA).

http://www.saude.ce.gov.br/site/index.php?option=com_phocadownload&view=category&id=9

[:boletins&Itemid=247](http://www.saude.ce.gov.br/site/index.php?option=com_phocadownload&view=category&id=9). Acessado em 20 de outubro de 2010.

Oliveira, AG, Galati, EAB, Oliveira, O, Oliveira, GR, Espindola, IAC, Dorval, MEC,

Brazil, RP, 2006. Abundance of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae:

Phlebotominae) and urban transmission of visceral leishmaniasis in Campo Grande,

state of Mato Grosso do Sul, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 101(8) 869-874.

Oliveira, AG, Galati, EAB, Fernandes, CE, Dorval, MEC, Brazil, RC, 2008. Seasonal

variation of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae:

Phlebotominae) in endemic area of visceral leishmaniasis, Campo Grande, state of Mato

Grosso do Sul, Brazil. Acta Trop., 105, 55-61.

Queiroz, RG, Vasconcelos, IA, Vasconcelos, AW, Pessoa, FA, Souza, RN, David, JR,

1994. Cutaneous leishmaniasis in Ceará state in Northeastern Brazil: incrimination of

Lutzomyia whitmani (Diptera: Psychodidae) as a vector of *Leishmania braziliensis* in

Baturité municipality. Am. J. Trop. Med. Hyg. 50, 693–698.

Pita-Pereira, D, Alves, CR, Souza, MB, Brazil, RP, Bertho, AL, Barbosa, AF, Britto, C,

2005. 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 hybridization assay. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 99, 905–913.
- Rangel, EF, Vilela, ML, 2008. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Cad. Saúde Pública, 12, p. 2948-2952.
- Rangel, EF, Lainson, R, 2009. Proven and putative vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil: aspects of their biology and vectorial competence. Mem Inst Oswaldo Cruz 104(7): 937-954.
- Ribeiro, ALM., Missawa, NA, Zeilhofer, P, 2007. Distribuion of phlebotomine sandflies (DIPTERA: PSYCHODIDAE) of medical importance in Mato Grosso state, Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo 49(5), 317-321.
- Salomon, OD, Bezzi, G, Morán, ML, Betbeder, E, Valdéz, DV. *Lutzomyia migonei* as putative vector of visceral leishmaniasis in La Banda, Argentina., 2010. Acta Trop. 113, 84–87.
- Santos, SO, Arias, J, Ribeiro, AA, Hoffman, MP, Freitas, RA, Malacco, MAF, 1998. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of american visceral leishmaniasis. Med. Vet. Entomol. 12, 315-317.
- Silva, AR, Viana, GM, Varonil, C, Pires, B, Nascimento, MD, Costa, JM, 1997. Leishmaniose visceral (calazar) na ilha de São Luís, Maranhão, Brasil: evolução e perspectivas. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 30, 359-68.
- Sudia, WD, Chamberlain, RW, 1962. Battery operated light trap, an improved model. Mosq news 22, 126-129.
- Tauil, PL, 2006. Perspectivas de controle de doenças transmitidas por vetores no Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 39, 275-277.
- Vilela, ML, Rangel, EFR, Lainson, R, 2003. Métodos de coleta e preservação de flebotomíneos. Rangel, EF, Laison, R, Inn: Flebotomíneos do Brasil. Fiocruz, Rio de

Janeiro, pp 353-367.

Who - World Health Organization. Controle das Leishmanioses. Relatório de uma reunião do Comitê de Peritos sobre o Controle das leishmanioses, Genebra, 22-26 de março 2010.

Ximenes, MFFM.; Castellón, EG, Souza, MF, Freitas, RA, Pearson, RD, Wilson, ME, Jerônimo, SMB, 2000. Distribution of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the State of Rio Grande do Norte. *J. Med. Entomol.* 37, 162-169.

Young, DG, Duncan, MA, 1994. Guide to the Identification and Geographic Distribution of *Lutzomyia* Sand Flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Mem. Amer. Inst. Entomol.* 54, Associate Publishers, Gainesville, 881 pp.

Zerpa, O, Ulrich, M, Borges, R, Rodriguez, V, Centeno, M, 2003. Epidemiological aspects of human and canine visceral leishmaniasis in Venezuela. *Rev. Pan. Salud Publica* 13, 239–245.

Table 1 - Number of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei* flies collected per site (indoor and outdoor), region (North, South, East and West) and sex (male or female).

Region	Collection site	<i>Lutzomyia longipalpis</i>								<i>Lutzomyia migonei</i>									
		Indoor				Outdoor				Indoor				Outdoor					
		M	F	Total	%	M	F	Total	%	M	F	Total	%	M	F	Total	%		
North	QC	114	44	158	1.41	145	73	218	3.14	42	33	75	1.11	79	78	157	2.09		
	AW	58	27	85	0.76	46	24	70	1.01	62	50	112	1.66	47	50	97	1.29		
	FB	3293	1896	5189	46.25	967	608	1575	22.67	1525	1275	2800	41.62	663	548	1211	16.13		
	AD	123	95	218	1.94	64	36	100	1.44	560	479	1039	15.45	178	138	316	4.21		
	JA	159	93	252	2.25	396	164	560	8.06	57	68	125	1.86	300	218	518	6.90		
South	MD	2057	1242	3299	29.40	340	181	521	7.50	808	710	1518	22.57	1391	1505	2896	38.56		
	PA	97	91	188	1.68	87	54	141	2.03	48	31	79	1.17	68	68	136	1.81		
	CA	324	116	440	3.92	422	140	562	8.09	172	105	277	4.12	148	74	222	2.96		
	PAS	68	38	106	0.94	32	19	51	0.73	14	16	30	0.45	15	9	24	0.32		
	PJW	36	33	69	0.61	221	114	335	4.82	100	96	196	2.91	725	335	1060	14.11		
	CP	90	34	124	1.11	242	79	321	4.62	46	28	74	1.10	104	43	147	1.96		
	PU	66	31	97	0.86	76	31	107	1.54	36	22	58	0.86	49	39	88	1.17		
East	VP	0	0	0	0.0	1	0	1	0.01	0	0	0	0.0	2	1	3	0.04		
	JO	83	58	141	1.26	67	41	108	1.55	3	1	4	0.06	1	0	1	0.01		
	EQI	4	0	4	0.04	3	4	7	0.10	2	8	10	0.15	2	5	7	0.09		
	EQII	41	38	79	0.70	54	58	112	1.61	11	4	15	0.22	2	11	13	0.17		
	CB	44	21	65	0.58	46	9	55	0.79	14	3	17	0.25	16	6	22	0.29		
	LR	82	49	131	1.17	990	441	1431	20.60	39	26	65	0.97	271	104	375	4.99		
West	CCII	77	23	100	0.89	171	83	254	3.66	53	65	118	1.75	86	61	147	1.96		
	DR	145	60	205	1.83	134	51	185	2.66	67	44	111	1.65	36	25	61	0.81		
	SQ	67	32	99	0.88	73	44	117	1.68	2	1	3	0.04	2	3	5	0.07		
	VMS	106	65	171	1.52	79	36	115	1.66	1	0	1	0.01	1	3	4	0.05		
Total		7134	4086	11220	100	4656	2290	6946	100	3662	3065	6727	100	4186	3324	7510	100		
													18166						14237

Table 2. Analysis of deviance (ANODEV) across the factors studied (region, sex, species and location of capture).

	Df	Deviance	F	p-value	
Region	3	16740.4	15.7724	<0.001	**
Species	1	477.6	1.3499	0.2472	ns
Region:Species	3	1220.1	1.1495	0.3313	ns
Sampling site	1	376.8	1.0650	0.3038	ns
Region:Sampling site	3	2540.5	2.3936	0.0709	ns
Species:Sampling site	1	1019.4	2.8814	0.0918	ns
Region:Species: Sampling site	3	700.3	0.6598	0.5781	ns
Sex	1	1469	4.1522	0.0434	*
Region:Sex	3	63.6	0.0599	0.9807	ns
Species:Sex	1	283.2	0.8005	0.3724	ns
Sampling site:Sex	1	10.3	0.0291	0.8648	ns
Region:Species:Sex	3	29.4	0.0277	0.9938	ns
Region:Sampling site:Sex	3	8.8	0.0083	0.9990	ns
Species:Sampling site:Sex	1	4.4	0.0124	0.9114	ns
Region:Species: Sampling site:Sex	3	10.9			
Residue	144	50946.0			

ns – not statistically different

* p<0.05

** p<0.001

Table 3 - Environmental characteristics of sites.

Collection site	DOMESTIC ANIMALS							VEGETATION		
	Canine	Feline	Porcine	Veal	Equine	Bird	Others	Vegetable garden	Garden	Fruit trees
Aldeota		X					Tamarin		X	X
Álv. Weyne	X					X				X
Cajazeiras	X					X				X
Cambeba	X			X		X				X
Conj. Ceará II						X				X
Conj. Palmeira	X			X		X				X
Demócrito Rocha	X									X
Ed Queiroz I	X							X		X
Ed Queiroz II	X				X	X				X
Farias Brito	X							X	X	X
Jardim América						X				X
Jardim das Oliveiras	X		X		X	X			X	X
Lagoa Redonda	X					X			X	X
Modumbim	X					X		X		X
Palpina	X		X			X				X
Passaré	X					X	Fox		X	X
Planalto Airton Senna							Rabbit	X		X
Quitino Cunha	X		X			X				X

Siqueira	X		X			X				X
Vicente Pizon						X				X
Vila Man Sátiro	X									X
José Walter	X					X				X

Table 4 - Correlation among canine cases, human cases, sex of *L. migonei* and *L. migonei* specimens collected indoors and outdoors.

		Human cases	male	female	Indoor	Outdoor	Total
Canine cases	Pearsons' Correlation	0.162	0.104	0.18	0.047	0.212	0.141
	p	0.472	0.644	0.424	0.834	0.344	0.532
	N	22	22	22	22	22	22
Human cases	Pearsons' Correlation		-0.036	-0.029	-0.147	0.088	-0.033
	p		0.872	0.898	0.515	0.697	0.884
	N		22	22	22	22	22
Male	Pearsons' Correlation			0.986**	0.923**	0.903**	0.997**
	p			<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	N			22	22	22	22
Female	Pearsons' Correlation				0.905**	0.921**	0.996**
	p				<0.001	<0.001	<0.001
	N				22	22	22
Indoor	Pearsons' Correlation					0.678**	0.917**
	p					0.001	<0.001
	N					22	22
Outdoor	Pearsons' Correlation						0.915**
	p						<0.001
	N						22

Values of $p \leq 0,05$ indicate significant correlation.

Table 5 - Correlation among canine cases, human cases, sex of *L. longipalpis* and *L. longipalpis* specimens collected indoors and outdoors.

		Human cases	male	female	Indoor	Outdoor	Total
Canine cases	Pearsons' Correlation	0.162	0.078	0.099	0.139	-0.095	0.086
	p	0.472	0.73	0.662	0.537	0.673	0.704
	N	22	22	22	22	22	22
Human cases	Pearsons' Correlation		-0.056	-0.072	-0.144	0.199	-0.062
	p		0.804	0.751	0.522	0.374	0.784
	N		22	22	22	22	22
Male	Pearsons' Correlation			0.996**	0.973**	0.811**	0.999**
	p			<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	N			22	22	22	22
Female	Pearsons' Correlation				0.986**	0.770**	0.998**
	p				<0.001	<0.001	<0.001
	N				22	22	22
Indoor	Pearsons' Correlation					0.656**	0.979**
	p					0.001	<0.001
	N					22	22
Outdoor	Pearsons' Correlation						0.796**
	p						<0.001
	N						22

Values of $p \leq 0,05$ indicate significant correlation.

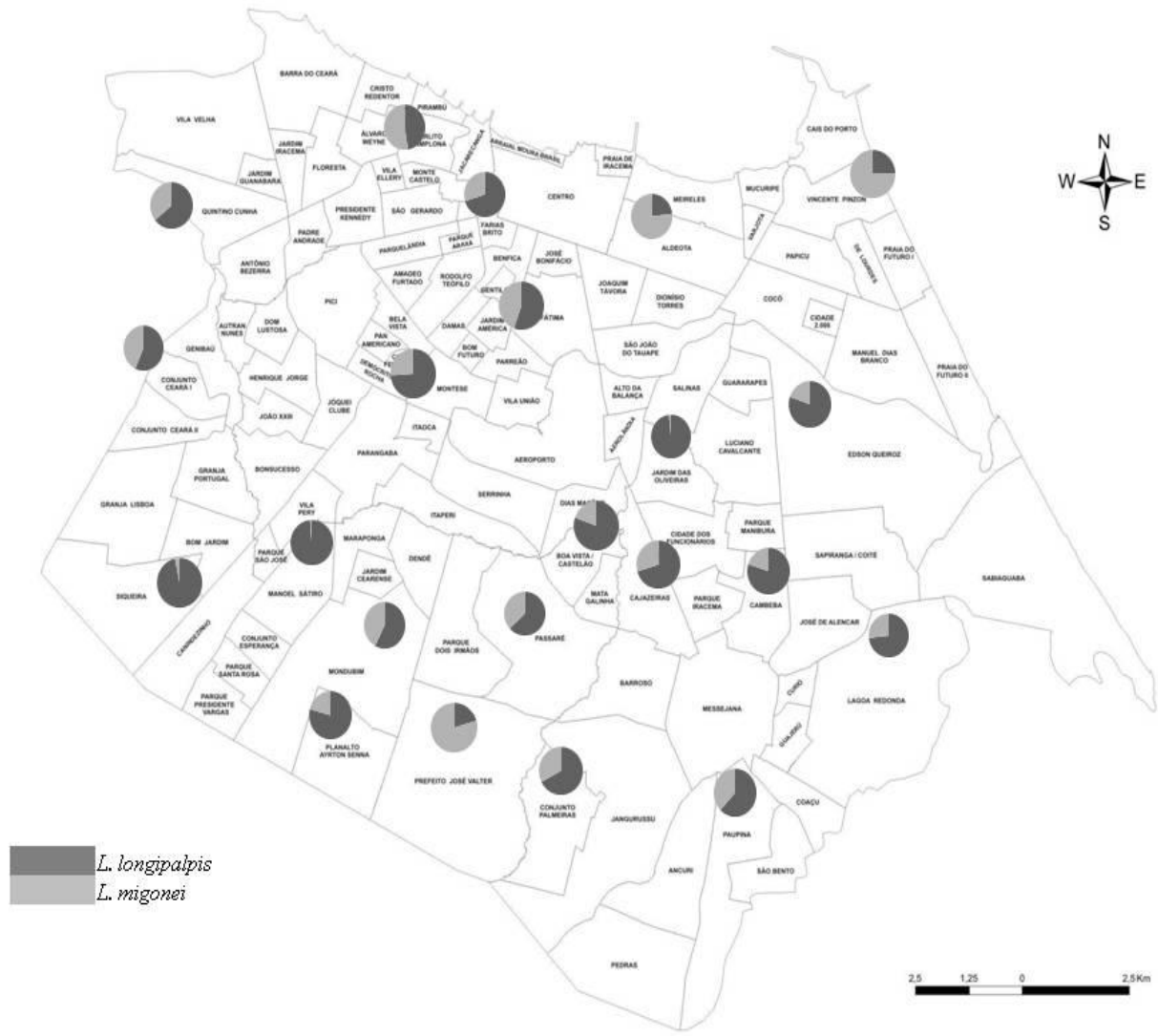


Figure 01 - Distribution of *L. longipalpis* and *L. migonei* by collection point (neighborhood) in Fortaleza, Ceará.

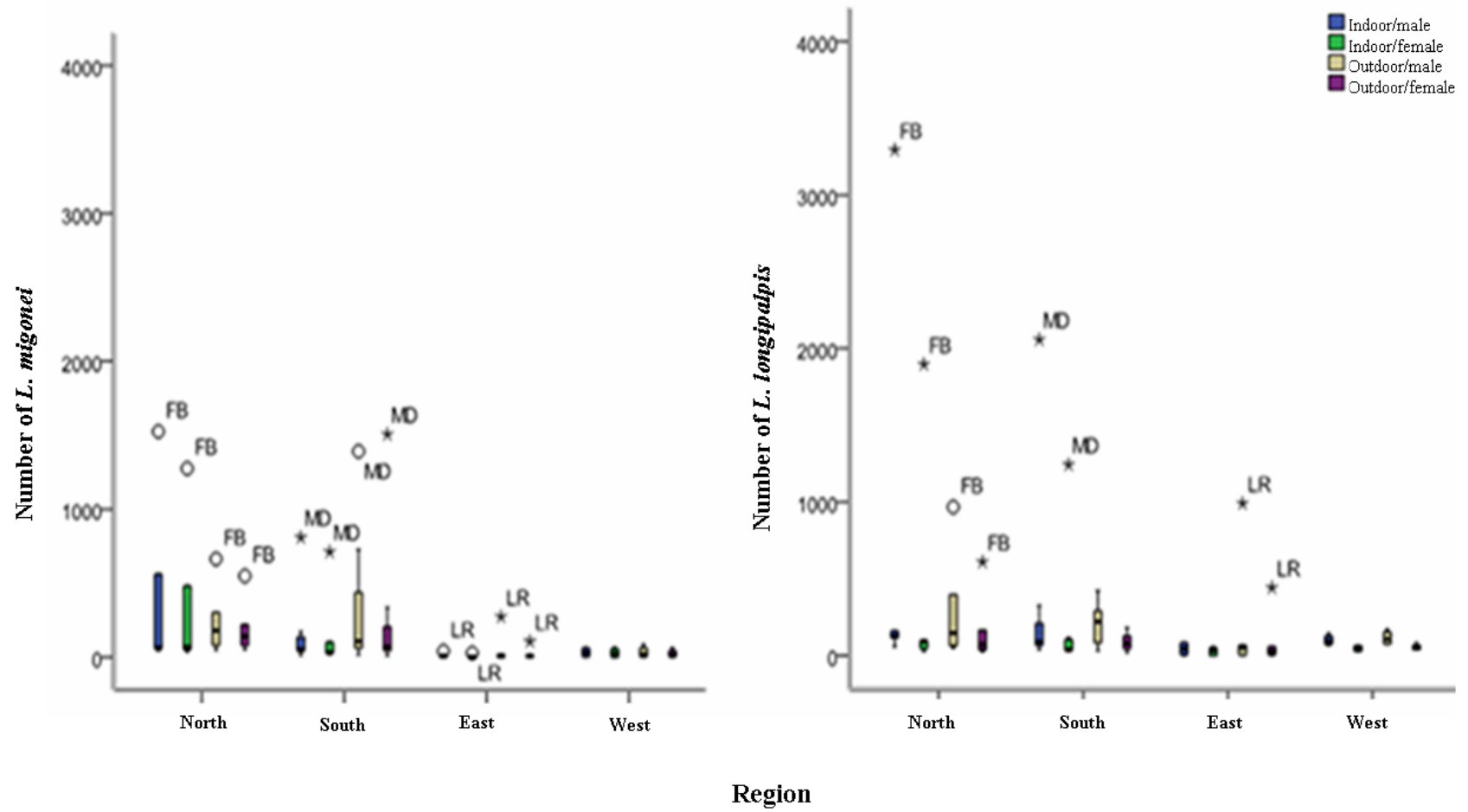


Figure 2 - Quantitative difference in the density of each species, *L. migonei* and *L. longipalpis*, crafted by region.

FB = Faria Brito; MD = Mondumbim; LR = Lagoa Redonda

* / o - Discrepant values

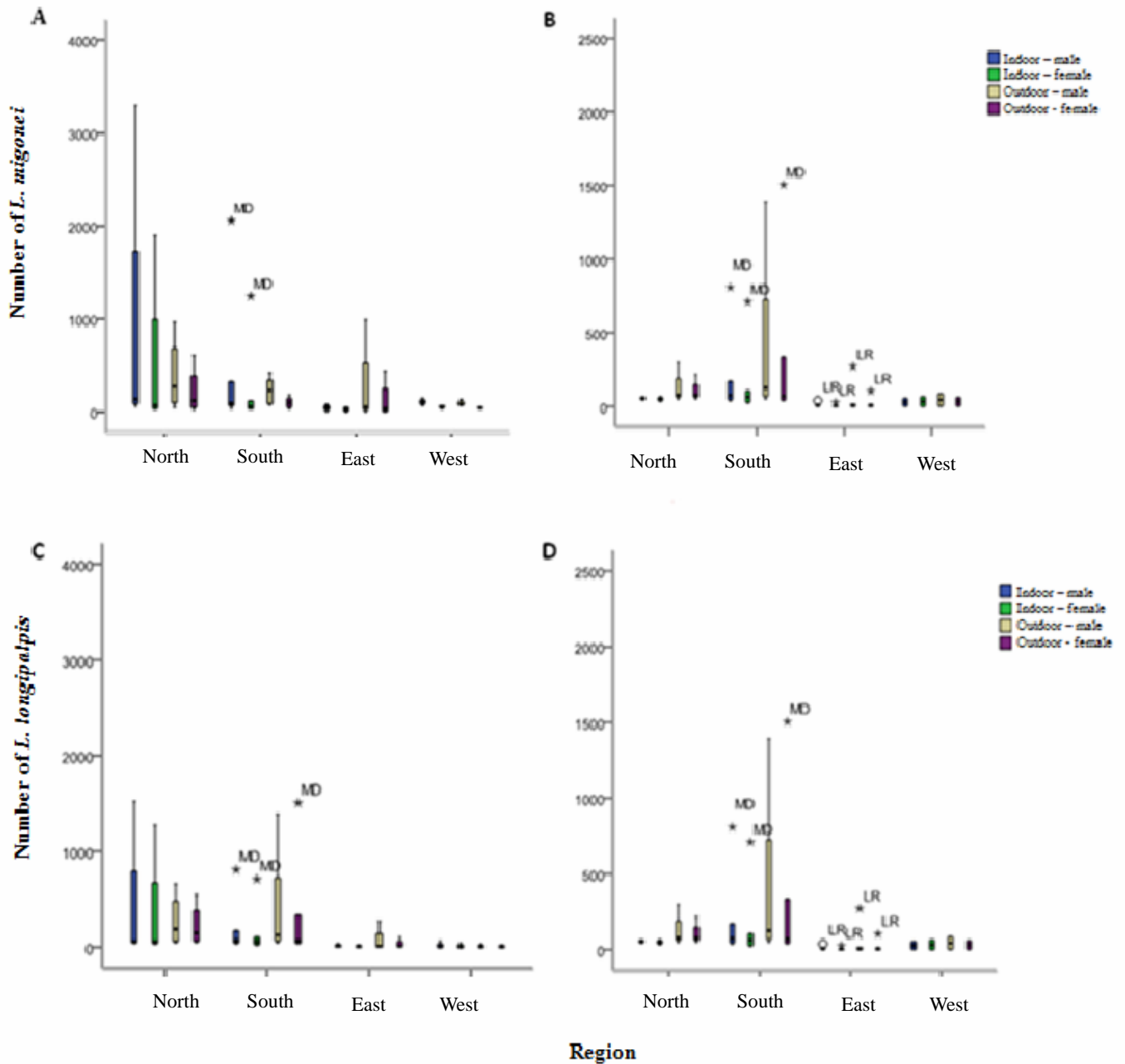


Figure 3 - Quantitative difference in vector density from the collection points with domestic animals.

A and B – Quantitative difference in the density of *L. migonei* in the point of collection with dogs and birds respectively.

C and D – Quantitative difference in the density of *L. longipalpis* in the point of collection with dogs and birds respectively.

* and ○ - discrepant values.

MD – Mondumbim; LR – Lagoa Redonda

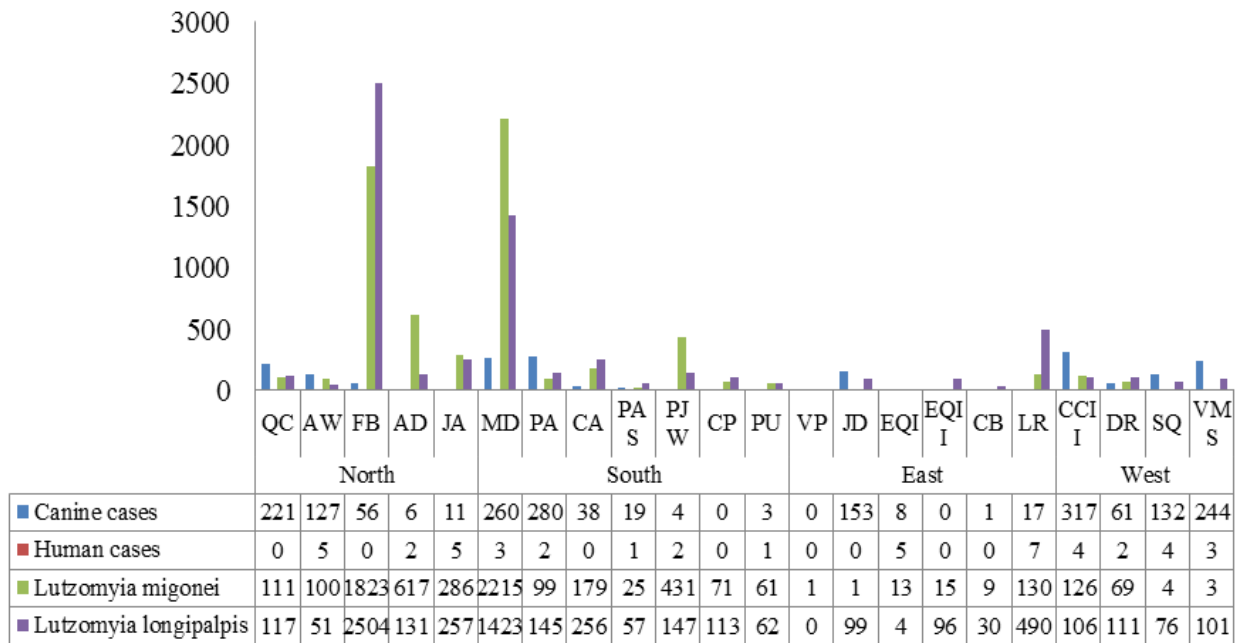


Figure 4 - Distribution of the cases of canine and human VL and the density of each species, *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei*.

Quitino Cunha (QC), Alvaro Weyne (AW), Farias Brito (FB), Aldeota (AD), Jardim America (JA), Mondumbim (MD), Passaré (PA), Cajazeiras (CA), Planalto Airton Sena (PAS), Prefeito José Walter (PJW), Conjunto Palmeira (CP), Paupina (PU), Vicente Pizon (VP), Jardim das Oliveiras (JD), Edson Queiroz I (EDI), Edson Queiroz II (EDII), Cambeba (CB), Lagoa Redonda (LR), Conjunto Ceara II (CCII), Democrito Rocha (DR), Siqueira (SQ) and Vila Manuel Sátiro (VMS).

7 CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos neste trabalho foi possível identificar mudanças na ecologia de *Lutzomyia migonei*, vetor de LV na cidade de Fortaleza, Ceará. *L. migonei* está bem distribuído em toda a cidade, bem como adaptado ao ambiente intradomiciliar, semelhante à espécie *L. longipalpis*, o que sugere, uma vez que já foi comprovada sua competência vetorial na transmissão da LV, que *L. migonei* compartilhe com *L. longipalpis* o papel de vetor da LV.

8 PESPECTIVAS

Os achados neste estudo ressaltam a necessidade de mensuração da carga parasitária em *L. migonei* a fim de comprovar a sua importância na transmissão de LV em áreas onde convive em simpatria com *L. longipalpis*.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, B.; YOUNG, D. Dispersal of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 87, p. 397-403, 1992.
- BARATA, R.A., FRANÇA-SILVA, J.C., COSTA, R.T., FORTES-DIAS, C.L., SILVA, J.C, PAULO, E.V. Phlebotomine sand flies in Porteirinha, an area of American visceral leishmaniasis transmission in the state of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*; v. 99, p. 481-87, 2004.
- BARATA, R. A.; FRANÇA-SILVA, J. C.; MAYRINK, W.; SILVA, J.C.; PRATA, A.; LOROSA, E. S.; FIÚZA, J. A.; GONÇALVES, C. M.; DE PAULA, K.M.; DIAS, E. S. Aspectos da ecologia e do comportamento de flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose visceral, Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 38, p. 421-425, 2005.
- BERN, C.; MAGUIRE, J. H.; ALVAR, J. Complexities of assessing the disease burden attributable to leishmaniasis. *Plos Neglected Tropical Diseases*, v. 2, p. e313, 2008.
- BEVILACQUA, P.D.; PAIXÃO, H. H; MODENA, C.M.; CASTRO, M. C. P. S. Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 53, p. 1-8, 2001.
- BRASIL. BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO - Leishmaniose visceral, 1º caso autóctone no Rio Grande do Sul - Núcleo Hospitalar de Epidemiologia – Hospital Nossa Senhora Conceição. Ano II, n. 2, agosto de 2009.
- BRASIL. NOTA TÉCNICA - Nota técnica conjunta da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde e da Secretaria de Estado da Saúde do Rio Grande do Sul sobre a situação da Leishmaniose Visceral na fronteira do Estado do Rio Grande do Sul com a Argentina. COVEV/CGDT/DEVEP/SVS/MS, 2010.
- BRAZIL, R. P.; BRAZIL, B. G. Biologia de flebotomíneos neotropicais. Rangel, E., Lainson, R. *Inn: Flebotomíneos do Brasil*, editora Fiocruz, pp. 257-274, 2003.
- BRUCE-CHWATT, L. J. Blood transfusion and tropical disease. *Tropical Disease Bulletin*, v. 69, pág. 825-862, 1972.

BUTCHER, B. A.; TURCO, S. J.; HILTY, B. A.; PIMENTA, P.F.P.; PANUNZIO, M.; SACKS, D. L. Deficiency in b1,3-Galactosyltransferase of a *Leishmania major* lipophosphoglycan mutant adversely influences the Leishmanias and β y interaction. The Journal of Biological Chemistry, v. 271, p. 20573-20579, 1996.

CARRASCO, J.; MORRISON, A.; PONCE, C. Behaviour of *Lutzomyia longipalpis* in an area of southern Honduras endemic for visceral/atypical cutaneous leishmaniasis. Annals of Tropical Medicine and Parasitology, v. 92, p. 869–876, 1998.

CARVALHO, M. R.; VALENÇA, H. F.; SILVA, F. J.; PITTA-PEREIRA, D.; PEREIRA, T. A.; BRITTO, C.; BRAZIL, R. P.; FILHO, S. B. Natural *Leishmania infantum* infection in *Migonemyia migonei* (França, 1920) (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil. Acta Tropica, v. 116, n. 1, p. 108-110, 2010.

CHAGAS, E.; CUNHA, A. M.; FERREIRA, L. C.; DEANE, L.; DEANE, G.; GUIMARÃES, F. N.; PAUMGARTTEN, M. J.; SÁ, B. Leishmaniose visceral americana (Relatório dos trabalhos realizados pela Comissão Encarregada do Estudo da Leishmaniose Visceral Americana em 1937). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 33, p. 89-229, 1938.

COSTA, C. H.; PEREIRA, H. F.; ARAÚJO, M. V. Epidemia de leishmaniose visceral no Estado do Piauí, Brasil, 1980-1986. Revista de Saúde Pública, v. 24, p. 361-372, 1990.

COSTA, A. I. P., CASANOVA, C., RODAS, L. A. C., GALATI, E. A. B. Atualização da distribuição geográfica e primeiro encontro de *Lutzomyia longipalpis* em área urbana no Estado de São Paulo, Brasil. Revista de Saúde Pública, v. 31, n. 6, p. 632-633, 1997.

COSTA, C. H. N. Characterization and speculations on the urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Caderno de Saúde Pública, v., 24, n. 12, p. 2959-2963, 2008.

DA SILVA, A. C.; GOMES, A. C. Estudo da competência vetorial de *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) para *Leishmania (Viannia) braziliensis*, Vianna, 1911. Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 34, p. 187-191, 2001.

DEANE, M. P.; DEANE, L. M. Infecção natural do *Phlebotomus longipalpis* por leptomonas, provavelmente de *Leishmania donovani*, em foco de calazar, Ceará. Hospital (Rio de Janeiro), 45: 697-702, 1954a.

DEANE, L. M.; DEANE, M. P. Encontro de leishmanias nas visceras e na pele de uma raposa, em zona endêmica de calazar, nos arredores de Sobral, Ceará. Hospital (Rio de Janeiro), v. 45, p. 419-421, 1954b.

DEANE, L. M. Leishmaniose visceral no Brasil. Rio de Janeiro: Serviço Nacional de Educação Sanitária, 162pp., 1956.

DESJEUX, P.; ALVAR, J.; GRADONI, L. Epidemiological analysis of 692 retrospective cases of *Leishmania*/HIV co-infection. Geneva: World Health organization, p. 1-11, 1997.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. Comparative immunology. Microbiology and Infectious Diseases, v. 27, p. 305-18, 2004.

DOHA, S.; SHEHATA, M.G.; EL SAID, S.M. Dispersal of *Phlebotomus papatasi* (Scopoli) and *P. langeroni* Nitzulescu in El Hammam, Matrouh Governorate, Egypt. Annales de Parasitologie Humaine et Comparee, v. 66, p. 69-76, 1991.

ELTOUM, I. A.; ZIJLSTRA, E. E.; ALI, M. S. Congenital kala-azar and leishmaniasis in the placenta. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, v. 46, p. 57-62, 1992.

GALATI, E.A.B.; NUNES, V.L.B.; RÊGO, J.R 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, v. 31, p. 378-90, 1997.

KAMHAWI, S.; ABDEL HAFEZ, S. K.; MOLYNEUX, D. H. The behavior and dispersal of sandflies in Ras el Naqb, South Jordan with particular emphasis on *Phlebotomus kazeruni*. Parasitologia, v. 33 (supplement 1), p. 307-314, 1991.

KAMHAWI, S. Phlebotomine sand flies and *Leishmania* parasites: friends or foes? TRENDS in Parasitology, v. 22, n. 9, 2006.

KILLICK-KENDRICK, R., LAISON, R., LEANEY, A. J., WARD, R. D., SHAW, J. J. Promastigotes of *Leishmania b.braziliensis* in the gut wall of a natural vector, *Psychodopygus wellcomei*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 71, p. 381, 1977.

KILLICK-KENDRICK, R., MOLYNEUX, D. H., HOMMEL, M., LEANEY, A. J., ROBERTSON, E. S. *Leishmania* in phlebotomine sandflies. V. The nature and significance of infections of the pylorus and ileum of the sandfly by *Leishmania* of the braziliensis complex. Proceedings of the Royal Society, 1977a.

KILLICK-KENDRICK, R. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. Medical and Veterinary Entomology, v. 4, p. 1-24, 1990.

LAINSON, R.; WARD, R. D.; SHAW, J. J. Experimental transmission of *Leishmania chagasi*, causative agent of neotropical visceral leishmaniasis, by the sand fly *Lutzomyia longipalpis*. Nature (London), v. 266, p. 628 a 630, 1977.

LAINSON, R.; SHAW, J. J.; SILVEIRA, F.T.; BRAGA, R.R.; RYAN, L.; POVOA, M. M.; ISHIKAWA, E. A. Y. A *Leishmania* e as leishmanioses. Instituto Evandro Chagas: 50 anos de Contribuição às Ciências Biológicas e à Medicina Tropical. Serviços de Saúde Pública, Belém, Pará, v. 1, p. 83-124, 1986.

LAINSON R., DYE, C., SHAW, J. J., MACDONALD, D. W., COURTENAY, O., SOUZA, A. A. A., SILVEIRA, F.T. Amazonian visceral leishmaniasis – Distribution of the vector *Lutzomyia longipalpis* (Lutz&Neiva) in relation to the fox *Cerdocyon thous* (Linn) and the efficiency of this reservoir host as a source of infection. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 85, p. 135-137, 1990.

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, v. 100, n. 8, p. 811-827, 2005.

LEHANE, M. J. Biology of blood-sucking insects. London: Harper-Collins Academic, p. 288, 1991.

LEHANE, M. J. Peritrophic matrix structure and function. Annual Review of Entomology, v. 42, p. 525–550, 1997.

LUTZ, A.; NEIVA, A. Contribuição para o conhecimento das espécies do gênero *Phlebotomus* existentes no Brasil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 4, p. 82-95, 1912.

LUZ, Z.M.P.; PIMENTA, D.N.; CABRAL, A.L.L.V.; FIÚZA, V.O.P.; RABELO, A. A urbanização das leishmanioses e a baixa resolutividade diagnóstica em municípios da Região Metropolitana de Belo Horizonte. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 34, p. 339-45, 2001.

MILON, GUINEVÈRE. Parasitas Leishmania: poderíamos considerá-los como organismos vivos, por si só? *Microbes and Infection*, v. 10, p. 1077-1081, 2008.

MILLERON, R. S.; MENESES, C. R.; ELNAIEM, D. A.; LANZARO, G. C. Effects of Varying Moisture on Egg Production and Longevity of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 45(1), p. 160-165, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Ministério da Saúde, 120 pp., 2006. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_leish_visceral2006.pdf

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saude. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana / Ministerio da Saude, Secretaria de Vigilancia em Saude. 2. edição atual. Editora do Ministério da Saude, 180 pp., 2007. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual2_lta_2ed.pdf

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Casos confirmados de leishmaniose visceral, segundo UF de residência, Brasil, grandes regiões e unidades federadas. 1990 a 2006. Available from: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_lv.pdf (Acessado em 11 Março de 2011), 2008.

MISSAWA, N.A.; LIMA, G. B. M. L. Distribuição espacial de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) and *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) no estado de Mato Grosso. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 39: 337-340, 2006.

MISSAWA, N. A., LOROSA, E. S., DIAS, E. S. Preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz Neiva, 1912) em área de transmissão de leishmaniose visceral em Mato Grosso. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 4, p. 365-368, 2008.

MORRISON, A. C.; FERRO, C.; TESH, R. B. Host preferences of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* at an endemic focus of American visceral leishmaniasis in Colombia. *American Journal of Tropical Medicine Hygiene*, v. 49, p. 68–75, 1993.

NUVEP/SESA-CE. INFORME EPIDEMIOLÓGICO – Leishmaniose Visceral (02/02/2010). Núcleo de Epidemiologia da Secretaria de Saúde do estado do Ceará (NUVEP/SESA). Acessado em 20 de outubro de 2010.

OLIVEIRA, A. G., FALCÃO, A. L., BRAZIL, R. P. Primeiro encontro de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz&Neiva, 1912) na área urbana de Campo Grande, MS, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 34, p. 654-655, 2000.

PAIVA, B.R.; SECUNDINO, N.F.C.; NASCIMENTO, J.C.; PIMENTA, P.F.P.; GALATI, E.A.B.; ANDRADE-JUNIOR, H.F.; MALAFRANTE, 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.

PASSOS-DIAS, F. O.; LOROSA, E. L.; REBELO, J. M. M. Fonte alimentar sanguínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). *Cadernos de Saúde Pública* v. 19, p. 1373-1380, 2003.

PENNA, H. A. Leishmaniose visceral no Brasil. *Brasil-Médico*, v. 48, p. 949-950, 1934.

PESSÔA, S. B.; COUTINHO, J. O. Infecção natural e experimental de flebótomos pela *Leishmania braziliensis*, no estado de São Paulo. *Hospital*, v. 20, p. 49-63, 1941.

PIMENTA, P.F.P., TURCO, S. J., McCONCILLE, M. J., LAWYER, P. G., PERKINS, P. V., SACKS, D. L. Stage-specific adhesion of *Leishmania* promastigotes to the sandfly midgut. *Science*, v. 256, p. 1812-1815, 1992.

PIMENTA, P.F.P., SARAIVA, E. M., ROWTON, E., MODI, G. B., GARAWAY, L. A., BEVERLEY, S.M., TURCO, S., SACKS, D. L. The vectorial competence of phlebotomine sand flies for different species of *Leishmania* is controlled by structural polymorphisms in the surface lipophosphoglycan. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, v. 91, p. 9155-9159, 1994.

PIMENTA, P.F.P., MODI, G. B., PEREIRA, S. T., SHAHABUDDIN, M., SACKS, D. L. A novel role for the peritrophic matrix in protecting *Leishmania* from the hydrolytic activities of the sand by midgut. *Parasitology*, v. 115, p. 359-369, 1997.

PIMENTA, P. F. P.; SECUNDINO, N. F. C.; BLANCOM E. E. N. Interação *Leishmania* hospedeiro invertebrado. In: *Flebotomíneos do Brasil*, editora Fiocruz, 367pp, 2003.

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. B.; ALVES, C. R.; BRAZIL, R. P; BRITTO, C. C. Detection of natural infection in *Lutzomyia cruzi* and *Lutzomyia forattinii* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) by *Leishmania infantum chagasi* in an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil using a PCR multiplex assay. *Acta Tropica*, v. 107, n. 1, p. 66-9, 2008.

PUNTES, F.; DIAZ, D.; HOYA, R.D. Cultivation and characterization of stable *Leishmania guyanensis* complex axenic amastigota derived from infected U937 cells. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 63, p. 102-110, 2000.

QUATE, L.W. *Phlebotomus* sandflies of the Paloich area in the Sudan. *Journal of Medical Entomology*, v. 1, p. 213-268, 11, 1964.

QUEIRÓZ, R. G. Cutaneous leishmaniasis in Ceará state in Northeastern Brazil: incrimination of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) as a vector of *Leishmania braziliensis* in Baturité municipality. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 50, p. 693-698, 1994.

RANGEL, E. F. Flebotomos de Vargem Grande, foco de leishmaniose tegumentar no estado do Rio de Janeiro. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 81, p. 347-349, 1986.

RANGEL, E.F. Transmission of American cutaneous leishmaniasis in peridomestic foci in Rio de Janeiro State and other similar situations compared to the classical epidemiology in Amazon region. In: *Proceedings from a Research Seminar on Tropical Diseases, Society and the Environment*. v. 2. Geneva: Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases/SAREC; p. 103-10, 1995.

- RANGEL, E. F.; LAINSON, R. *Lutzomyia longipalpis* e a eco-epidemiologia da Leishmaniose Visceral Americana (LVA) no Brasil. In: Flebotomíneos do Brasil, editora Fiocruz, 367pp, 2003.
- RANGEL, E. F.; VILELA, M. L. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Cadernos de Saúde Pública, v. 12, p. 2948-2952, 2008.
- RANASINGHE, S.; ROGERS, M. E.; HAMILTON, J. G. C.; BATES, P. A.; MAINGON, R. D. C. A real-time PCR assay to estimate *Leishmania chagasi* load in its natural sand fly vector *Lutzomyia longipalpis*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 102, p. 875—882, 2008.
- READY, P. D. Factors affecting egg production of laboratory-bred *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). Journal of Medical Entomology, v. 16, p. 413-423, 1979.
- RIBEIRO, A. L. M.; MISSAWA, N. A.; ZEILHOFER, P.. Distribution of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) of medical importance in Mato Grosso State, Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v. 49(5), p. 317-321, 2007.
- SALOMÓN, O. D.; ORELLANO, P. W. *Lutzomyia longipalpis* in Clorinda, Formosa province, an area of potential visceral leishmaniasis transmission in Argentina. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 100, p. 475–476, 2005.
- SALOMÓN, O.D.; BEZZI, G; MORÁN, M.L.; BETBEDER, E.; VALDÉZ, D.V. *Lutzomyia migonei* as putative vector of visceral leishmaniasis in La Banda, Argentina. Acta Tropica v. 113, p. 84–87, 2010.
- SANTOS, S.O.; ARIAS, J.; RIBEIRO, A. A.; HOFFMAN, 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.B., PIMENTA, P.F.P., BRODIN, T. N., ROWTON, E., MODI, G. D., SACKS, D. L. Changes in lipophosphoglycan and gene expression associated with the development of *Leishmania major* in *Phlebotomus papatasi*. Parasitology, v. 111, p. 275-287, 1995.

SCHLEIN, Y., ROMANO, H. 1986. *Leishmania major* and *Leishmania donovani*: effects of proteolytic enzymes of *Phlebotomus papatasi*. *Experimental Parasitology*, v. 62, p. 376-380, 1986.

SCHLEIN, Y.; SCHUNER, L. F.; JACOBSON, R. L. Release conjugate of indigenous *Leishmania major* enhances survival of a foreign *L. major* in *Phlebotomus papatasi*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 84, p. 353-355, 1990.

SENGHOR, M. W.; FAYE, M. N.; FAYE, B.; DIARRA, K.; ELGUERO, E.; GAYE, O.; BAÑULS, A. L.; NIANG, A. A. Ecology of Phlebotomine Sand Flies in the Rural Community of Mont Rolland (Thiès Region, Senegal): Area of Transmission of Canine Leishmaniasis. *Plos One*, v. 3, p. e14773, 2011.

SILVA, A. R.; VIANA, G. M.; VARONIL, C.; PIRES, B.; NASCIMENTO, M. D.; COSTA, J. M. Leishmaniose visceral (calazar) na ilha de São Luís, Maranhão, Brasil: evolução e perspectivas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 30, p. 359-368, 1997.

SILVA, E. A.; ANDREOTTI, R.; DIAS, E. S.; BARROS, J. C.; BRAZUNA, J.C.M. Detection of *Leishmania* DNA in phlebotomines captured in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Experimental Parasitology*, v. 119, n. 3, p. 343-8, 2008.

SILVA, F. L.; OLIVEIRA, R. G.; SILVA, T. M. A.; XAVIER, M. N.; NASCIMENTO, E. F.; SANTO, R. L. Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*, v. 160, p. 55-59, 2009.

SOUZA, G. D.; SANTOS, E.; ANDRADE-FILHO, J. D. The first report of the main vector of visceral leishmaniasis in America, *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 104(8), p. 1181-1182, 2009.

SYMMERS, W. S. Leishmaniasis acquired by contagion. A case of marital infection in Britain. *Lancet*, v. 7116, p. 127-132, 1960.

WHO - World Health Organization. Controle das Leishmanioses. Relatório de uma reunião do Comitê de Peritos sobre o Controle das leishmanioses, Genebra, 22-26 de março 2010.

YUVAL, B.; WARBURG, A.; SCHLEIN, Y. Leishmaniasis in the Jordan Valley. Dispersal characteristics of the sandfly *Phlebotomus papatasi*. Med. Vet. Ent., v. 2. p. 391-395, 1988.

ZERPA, O.; ULRICH, M.; BORGES, R.; RODRIGUEZ, V.; CENTENO, M. Epidemiological aspects of human and canine visceral leishmaniasis in Venezuela. Revista Panamericana de Salud Publica v. 13, p. 239–245, 2003.

ZELEDON, R.; MURILLO, J.; GUTIERREZ, H. Ecology of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) and possibilities of the existence of visceral leishmaniasis in Costa Rica. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 79, p. 455–459, 1984.

Anexo 1

Características do peridomicílio								
Animas de estimação	Canino	Felino	Bovino	Suíno	Equino	Aves	Primatas	Outros
Observação								
Vegetação	Jardim	Horta	Árvores frutíferas					
			Banana	Manga	Laranja	Caju	Coco	Outros
Observação								
Outas características	Sim	Não	Observações					
Presença de anexo								
Acúmulo de matéria orgânica animal								
Acúmulo de matéria orgânica vegetal								
Presença de piso cimentado								

