

**HELEN REZENDE DE FIGUEIREDO**

**FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE) EM AQUIDAUANA, ÁREA  
ENDÊMICA PARA LEISHMANIOSE VISCERAL, PANTANAL SUL-  
MATOGROSSENSE, BRASIL**

**CAMPO GRANDE  
2016**

**HELEN REZENDE DE FIGUEIREDO**

**FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE) EM AQUIDAUANA, ÁREA  
ENDÊMICA PARA LEISHMANIOSE VISCERAL, PANTANAL SUL-  
MATOGROSSENSE, BRASIL**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, sob a orientação da Prof.<sup>a</sup> Dra. Alessandra Gutierrez de Oliveira.

**CAMPO GRANDE  
2016**

## RESUMO

O Município de Aquidauana é classificado como uma área de transmissão intensa para esta para a leishmaniose visceral, apresentando também casos da leishmaniose tegumentar anualmente. Os flebotomíneos são os vetores do agente etiológico *Leishmania*, parasita responsável pelas doenças. O conhecimento de alguns aspectos do comportamento dos vetores, tais como hábitos alimentares e sua distribuição em áreas urbanas, tornam-se importantes para a compreensão da epidemiologia da doença em um estudo região. Este estudo tem como objetivo identificar aspectos ecológicos dos flebotomíneos. As capturas foram realizadas em área urbana do Município de Aquidauana, de abril de 2012 a março de 2014, em seis bairros, quinzenalmente, com armadilhas automáticas Falcão das 18:00h-06:00h sem obedecer ao horário de verão, no peri e intradomicílio de cada residência. Os espécimes foram transportados para o Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) para a montagem, identificação. Foi analisado a presença de DNA de *Leishmania* nas fêmeas não ingurgitadas. Foi utilizada técnica de geoprocessamento e cálculos dos índices de NDVI e NDWI para caracterização da fitofisionomia de cada ponto de coleta e também para os locais em que foram notificados casos de leishmanioses. Um total de 9.341 espécimes foram coletados, 3179 e 6162 utilizando armadilhas luminosas e aspiração ativa, respectivamente. A fauna consistiu em: *Brumptomyia brumpti*, *Evandromyia aldafalcaoae*, *Evandromyia evandroi*, *Evandromyia lenti*, *Evandromyia orcyi*, *Evandromyia sallesi*, *Evandromyia termitophila*, *Evandromyia walkeri*, *Lutzomyia longipalpis* e *Psathyromyia bigeniculata*. Durante o período de captura foram recolhidas 2957 exemplares de *Lutzomyia longipalpis*, 2631 machos (88,97%) e 326 fêmea (11,03%). Do total, 68,17% (2016) foram capturados no primeiro ano e no segundo ano, 941 indivíduos, mostraram distribuição irregular ao longo dos meses. O bairro Guanandy apresentou maior diversidade de espécies. Os flebotomíneos foram capturados com maior frequência no peridomicílio 81,08% (2.083) do que nos domicílios 18,91% (486). Todas as fêmeas submetidas a análise da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) foram negativas para a presença de DNA de *Leishmania* sp. Os flebotomíneos responderam a diferença de fitomassa em escala focal e a alteração no peridomicílio. Em relação aos casos de leishmaniose constatou bairros com maior frequência da doença. A maioria dos casos de leishmanioses ocorreram em locais com presença de fragmentos de mata no raio de 500 metros.

## ABSTRAT

The Aquidauana municipality is classified as an intense transmission area for this visceral *leishmaniasis*, also presenting cases of cutaneous *leishmaniasis* annually. Sand flies are vectors of *Leishmania* etiological agent, the parasite accountable for the disease. The knowledge of some aspects of behavior of vectors, such as eating habits and distribution in urban areas, become important for understanding the epidemiology of the disease in a study area. This study aims to identify environmental aspects of sandflies. Catches were carried out in the urban area of the municipality of Aquidauana, from april 2012 to march 2014 in six neighborhoods, fortnightly, with automatic traps Falcon from 18: 00h-06: 00h without obeying DST in peri- and intradomicile of each residence. The specimens were transported to the Parasitology Laboratory of the Federal University of Mato Grosso do Sul (UFMS) for mounting, identification. It analyzed the presence of DNA in *Leishmania* not engorged females. It used remote sensing technique and calculation of NDVI and NDWI indices to characterize the physiognomy of each collection point and also to the sites that have been reported cases of *leishmaniasis*. A total of 9,341 specimens were collected, 3179 and 6162 using light traps and active aspiration, respectively. The fauna composed of: *Brumptomyia brumpti*, *Evandromyia aldafalcaoae*, *Evandromyia evandroi*, *Evandromyia Lenti*, *Evandromyia orcyi*, *Evandromyia sallesi*, *Evandromyia termitophila*, *Evandromyia walkeri*, *Lutzomyia longipalpis* and *Psathyromyia bigeniculata*. During the capture period they were collected 2957 specimens of *Lutzomyia longipalpis*, 2631 males (88.97%) and 326 female (11.03%). Of the total, 68.17% (2016) were captured in the first year and second year, 941 individuals showed irregular distribution over the months. The Guanandy neighborhood had higher species diversity. The sandflies were captured more frequently in peridomicile 81.08% (2,083) than in households 18.91% (486). All females undergoing analysis of polymerase chain reaction (PCR) were negative for the presence of DNA of *Leishmania* sp. The sandflies answered Phytomass difference in focal range and the change in peridomicile. For cases of *leishmaniasis* found neighborhoods with higher frequency of the disease. Most cases of *leishmaniasis* it occurred in places with presence of forest fragments within 500 meters.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	6
1. <b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	7
1.1 Leishmanioses.....	7
1.1.1 <i>Leishmaniose Tegumentar</i> .....	8
1.1.2 <i>Leishmaniose Visceral</i> .....	9
1.2 Importância epidemiológica.....	10
1.3 Flebotomíneos.....	12
1.4 Histórico da sistemática de Phlebotominae.....	13
1.5 Sensoriamento remoto como ferramenta para controle de flebotomíneos.....	17
1.6 Índice de diversidade e equitabilidade.....	19
2. <b>OBJETIVOS</b> .....	21
2.1 Objetivo geral.....	21
2.2 Objetivos específicos.....	21
3. <b>METODOLOGIA</b> .....	22
3.1 Tipo de estudo.....	22
3.2 Local e período.....	22
3.3 Técnicas de capturas e procedimentos.....	24
3.3.1 <i>Coletas de flebotomíneos</i> .....	24
3.3.2 <i>Identificação da fauna de flebotomíneos</i> .....	24
3.4 Identificação da espécie de <i>Leishmania</i> .....	25
3.4.1 <i>Extração do DNA</i> .....	25
3.4.2 <i>Técnica da Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR)</i> .....	25
3.4.3 <i>Identificação dos produtos amplificados</i> .....	26
3.4.4 <i>PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)</i> .....	26
3.4.4.1 Incubação com <i>Hae III</i> .....	26
3.5 Caracterização dos ambientes de coleta.....	27
3.6 Análise dos dados.....	29
3.7 Aspectos éticos.....	29
4. <b>RESULTADOS</b> .....	30
4.1 Artigo 1:.....	30
4.2 Artigo 2:.....	64
4.3 Artigo 3:.....	95
5. <b>CONCLUSÕES</b> .....	121

## INTRODUÇÃO

Os flebotomíneos apresentam importância na saúde pública por serem vetores de *Leishmania* spp. agente etiológico das leishmanioses. Estas são doenças consideradas prioritárias no mundo, atingindo diversos países nas regiões tropical e subtropical. Tem implicações econômicas devido à alta incidência e letalidade. Estas doenças apresentam uma grande diversidade de agentes, de reservatórios e de vetores, com isto podem apresentar diferentes padrões de transmissão.

Em Mato Grosso do Sul estão presentes em todos os municípios. No município de Aquidauana, no ano de 2013 foram registrados 15 casos de leishmaniose visceral e dois casos de leishmaniose tegumentar. Até o momento não houve estudos sistemáticos sobre a fauna de flebotomíneos na região. O conhecimento de alguns aspectos da fauna e a ecologia dos vetores, por exemplo, o hábito alimentar e a sua distribuição na área urbana tornam-se importante para o entendimento da epidemiologia da doença no município.

## 1. REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1 Leishmanioses

As leishmanioses são zoonoses causadas por protozoários flagelados do gênero *Leishmania* (ROSS, 1903), pertencentes à ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae. São transmitidas pelos flebotomíneos, insetos dípteros da família Psychodidae.

Existem diferentes espécies de *Leishmania* que apresentam diversas manifestações clínicas e cada uma das espécies de parasitas tem um padrão epidemiológico único. Estas são agrupadas em três complexos: *Leishmania mexicana* e *Leishmania braziliensis*, responsáveis pelas formas cutânea, cutânea difusa e mucocutânea e ainda *Leishmania donovani*, pela leishmaniose visceral (GRIMALD; TESH, 1993; LAINSON, 2010).

O parasita é heteroxeno, ou seja, necessita de dois hospedeiros para completar seu ciclo de vida. O protozoário *Leishmania* é dimórfico e sua forma depende do hospedeiro em que se encontra. A forma amastigota está presente nos hospedeiros vertebrados e se caracteriza por ser ovalada, com 2,5 a 5µm de comprimento e 1,5 a 2µm de largura. Possui um único núcleo, um cinetoplasto e um flagelo rudimentar, imperceptível à microscopia de luz. Reproduzem-se por divisão binária, dentro das células do sistema mononuclear fagocitário em vários locais do organismo, até destruírem a célula hospedeira (GONTIJO; CARVALHO, 2003).

Outra forma encontrada é a promastigota, presente no intestino do hospedeiro invertebrado, os flebotomíneos (KILLICK-KENDRICK, 1989; WALTERS *et al.* 1989). Após multiplicação intensa por divisão binária no intestino dos flebotomíneos, os flagelados invadem as porções anteriores do estômago e do proventrículo, onde podem determinar uma obstrução mecânica ou dificultar a ingestão de sangue pelo inseto, quando este tentar se alimentar novamente. Depois de cada esforço por ingerir sangue, os músculos encarregados da sucção relaxam e causam a regurgitação do material aspirado (TURCO; DESCOTEAUX, 1992).

Na hematofagia das fêmeas, a saliva é de fundamental importância, pois afeta as respostas hemostáticas, inflamatórias e imunológicas dos hospedeiros. Ainda são poucos os estudos da saliva em espécies de artrópodes vetores, mas sabe-se que

todos os hematófagos têm pelo menos uma substância antiplaquetária, uma anticoagulante e uma substância vasodilatadora, e que estas substâncias contribuem para a formação de um microambiente favorável ao parasitismo (SHIMABUKURO, 2007).

### 1.1.1 *Leishmaniose Tegumentar*

Sabe-se que no Brasil são sete os agentes etiológicos da leishmaniose tegumentar (LT), sendo divididos em dois subgêneros: seis espécies do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania*: *Leishmania (Viannia) guyanensis*, *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Viannia) lainsoni*, *Leishmania (Viannia) naiffi*, *Leishmania (Viannia) lindenberg*, *Leishmania (Viannia) shawi* e *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, respectivamente (BASANO; CAMARGO, 2004; GONTIJO; CARVALHO, 2003; VEXENAT *et al.* 1986). Em Mato Grosso do Sul (MS), encontram-se as espécies *L. (V.) braziliensis* e a *L. (L.) amazonensis* (DORVAL *et al.* 2006).

Em relação aos vetores, esses parasitas podem apresentar mais de um vetor dependendo da espécie de *Leishmania*, como *L. (L.) braziliensis*, tendo como vetores as espécies de flebotomíneos: *Nyssomyia intermedia*, *Ny. neivai*, *Ny. whitmani*, *Micropygomyia migonei*, *Psathyromyia wellcomei* e *Psy. complexus*, todas com ocorrência no Brasil. Bem como para *Leishmania (L) lainsoni*, os vetores são: *Lu. nuneztovari*, *Trichopygomyia velascoi* e *Tr. ubiquitalis*, somente o último ocorrendo no país. E também *Leishmania (L.) amazonensis*, tendo como vetores as espécies *Bichromomyia flaviscutellata* (presente no Brasil) e *Pinfomyia nuneztovari* (BRAZIL; RODRIGUES; ANDRADE-FILHO, 2015; GALATI, 2003).

As demais espécies apresentam apenas um vetor: *L. (L.) guyanensis* (vetor *Ny. umbratilis*), *L. (L.) naiffi* (*Py ayrozai*), *L. (L.) shawi* (*Ny. whitmani*) e *L. (L.) lindenbergi* (*Ny. antunesi*).

As infecções por LT se manifestam frequentemente em áreas expostas do corpo como face, membros e pescoço. No local da picada surgem lesões cutâneas que podem evoluir para diversas formas: cutânea localizada, disseminada, difusa e mucosa (COSTA *et al.* 2009; GONTIJO; CARVALHO, 2003; GUIMARÃES *et al.* 2005).



### 1.1.2 Leishmaniose Visceral

A leishmaniose visceral (LV) tem sua importância na saúde pública devido à sua ampla distribuição e alta letalidade, principalmente em crianças desnutridas, idosos, pacientes portadores de coinfeção com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e em pacientes não tratados (BRASIL, 2014; GONTIJO; MELO, 2004). É uma doença crônica grave, potencialmente fatal para o homem, com taxas de letalidade em torno de 10% quando não tratado adequadamente (GONTIJO; MELO, 2004). Clinicamente a doença é caracterizada por acessos de febre irregular, perda de peso, anemia, aumento do volume do fígado (hepatomegalia) e do baço (esplenomegalia).

No Brasil, *Leishmania (Leishmania) infantum* é o agente causador da leishmaniose visceral (LV) e seu vetor comprovado é *Lu. longipalpis*. As espécies *Lu. cruzi* e *Lu. evansi* são incriminadas vetores em áreas que não há ocorrência da espécie *Lu. longipalpis* (GRIMALDI; TESH, 1993; LAINSON; RANGEL, 2005; LAINSON, 2010; MONTOYA-LERMA *et al.* 2003; TRAVI *et al.* 1990). A espécie *Lutzomyia migonei* apresentou DNA de *L. (L.) infantum* detectado através da técnica de PCR multiplex em área de transmissão de LV no Estado de Pernambuco, sugerindo que esta espécie possa estar relacionada com o ciclo de *L. (L.) infantum* (CARVALHO *et al.* 2010).

O primeiro relato de LV no Brasil ocorreu em 1913, em Porto Esperança, no município de Corumbá, Mato Grosso do Sul (MIGONE, 1913). Em 1942 Pondé e colaboradores a pedido do Dr. Carlos Chagas Filho, superintendente do Serviço de Estudo das Grandes Endemias do Instituto Oswaldo Cruz, foram em excursão para realizar um inquérito epidemiológico nos estados do Ceará, Pernambuco e Bahia, onde registraram o encontro de *Lu. longipalpis* e casos humanos de leishmaniose visceral. Os autores relataram precárias condições de vida das populações sugerindo que poderiam estar relacionadas com a doença (PONDÉ; MANGUABEIRA, JANSE, 1942).

No Brasil, até início da década de 1950, foram notificados 379 casos de LV presentes em 13 estados, e acreditava-se que a transmissão era exclusivamente rural e nas periferias das grandes cidades (AMBROISE-THOMAS, 2000). Entretanto, a prevalência, vem se modificando em algumas regiões, onde a doença encontra-se

urbanizada. Esse processo tem sido relacionado a modificações ambientais causadas por ações antrópicas, pelo rápido processo migratório e pela adaptação do vetor *Lu. longipalpis* ao peridomicílio (PATZ *et al.* 2000).

## 1.2 Importância epidemiológica

As leishmanioses representam uma das seis endemias consideradas prioritárias no mundo (BRASIL, 2014) pela sua complexidade, que envolve a biologia do parasito, dos vetores e dos hospedeiros, tornando-se difícil a erradicação. Este grupo de doenças apresenta um caráter espectral de manifestações clínicas, sendo que, de acordo com o quadro clínico apresentado e com a espécie infectante, podem ser classificadas em: Leishmaniose tegumentar localizada (LT), mucocutânea (LMC), cutânea difusa (LCD) e visceral (LV) (BRASIL, 2013; BRASIL, 2014; DESJEUX, 1999). A LV é considerada a mais importante devido à alta incidência e letalidade, sobretudo em indivíduos não tratados, crianças desnutridas e em indivíduos com imunodeficiência (BRASIL, 2006). Tais doenças são importantes pelo impacto que produzem na saúde pública e nas implicações econômicas que geram (DESJEUX, 2004).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2015), as leishmanioses são classificadas como doenças tropicais negligenciadas (DNT) e apresentam-se como doenças endêmicas em 98 países. Mais de 90% dos casos ocorrem em apenas seis países: Irã, Arábia Saudita, Síria e Afeganistão (Velho Mundo), Brasil e Peru (América do Sul) (BRASIL, 2006; DESJEUX, 1999). Nas Americas o Brasil corresponde por 38,4% dos casos de LT e 96% de LV (OMS, 2015).

A LT e a LV estão amplamente distribuídas no continente americano. A LT está presente desde o sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina, sendo que o foco mais importante se encontra na América do Sul, excetuando-se o Uruguai e o Chile (COSTA, 2005; GONTIJO; CARVALHO, 2003). A LV estende-se desde o norte do México até o sul da Argentina (LAINSON; RANGEL, 2005).

No Brasil, as leishmanioses estão em franca expansão (ANDRADE-FILHO, BRAZIL, 2009; BRASIL, 2014; COSTA, 2005). Há trabalhos que correlacionam a expansão dos casos ao desmatamento e processo de ocupação desordenada das

periferias das cidades, que não apresentam infraestrutura adequada (NEGRÃO; FERREIRA, 2014).

Estima-se que no país, entre cinco a dez mil pessoas são acometidas pela doença anualmente, dos quais cerca de 10% acabam indo a óbito (DIAS, 2008; SABROZA, 2006). A partir dos anos 1990, os estados do Pará e Tocantins (região Norte), Mato Grosso do Sul (região Centro Oeste), Minas Gerais e São Paulo (região Sudeste) passaram a influenciar de maneira significativa as estatísticas da LV no Brasil (BRASIL 2006; GONTIJO; MELO 2004). Em Mato Grosso do Sul, a LV humana era restrita aos municípios de Corumbá e Ladário, de onde se disseminou gradativamente depois de 1995 para outras localidades, sendo registrada até agosto de 2010 em 58 dos 79 municípios do estado (SINAN, 2013). Observou-se um aumento no número de casos diagnosticados e no coeficiente de incidência, sendo a letalidade média em MS de 7,8% (OLIVEIRA *et al.* 2006).

Na região Centro-Oeste, a forma tegumentar é a forma prevalente, com o estado de Mato Grosso registrando a maioria dos casos da região (ALMEIDA *et al.* 2009; BRASIL, 2006). Em MS, a LT possui ampla distribuição, atingindo 72 dos 79 municípios (SINAN, 2013). Apesar do estado ser considerado área endêmica, ainda são necessários novos estudos clínicos e epidemiológicos para se conhecer os fatores envolvidos na incidência humana dessa doença na região (DORVAL *et al.* 2006, NUNES *et al.* 1998).

No estado de Mato Grosso do Sul ocorreram, nos últimos anos, modificações ambientais que podem ter contribuído para a disseminação do vetor, como a construção de um gasoduto e a destruição de áreas do cerrado. No município de Campo Grande, a abertura de avenidas acompanhando os cursos das águas e a derrubada da vegetação para construção de casas populares, foram fatores de mudança do ambiente (SILVA *et al.* 2007). Essas alterações ambientais de caráter antrópico estão associadas ao surgimento da LV principalmente em áreas urbanas, em virtude da redução dos nichos silvestres dos vetores. O aumento de disputas intra e interespecíficas dos flebotomíneos por espaço e alimento pode ter ocasionado a migração destes para áreas periurbanas em busca de alimento e abrigo, dando início à disseminação da LV nas populações canina e humana destas áreas (GOMES-NETO, 2006; GUERRA *et al.* 2004; MOLYNEUX, 1998; PATZ *et al.* 2000).

A presença de animais domésticos e silvestres em áreas peridomiciliares provavelmente, atrai um grande número de espécies de flebotomíneos, contribuindo para a agregação das espécies de vetores das leishmanioses em áreas rurais e peridomiciliares (COUTINHO, 2005; XIMENES *et al.* 1999). Nos centros urbanos, com a diminuição dos reservatórios silvestres, o cão se tornou o mais importante reservatório para o parasita (COUTINHO, 2005; GARNHAM, 1965; FORATTINI, 1960). Entretanto, já foram encontrados animais silvestres infectados por *Leishmania* em ambientes urbanos (HUMBERG, 2009).

No Estado a leishmaniose tegumentar é notificada com maior incidência nos municípios de Aquidauana, Bodoquena, Bonito, Campo Grande, Coxim e Nioaque LT (DORVAL *et al.* 2006, SINAN, 2014) e a LV nos municípios de Anastácio, Aquidauana, Campo Grande e Três lagoas da LV (SINAN, 2014).

### 1.3 Flebotomíneos

Os flebotomíneos são conhecidos popularmente como “mosquito palha”, “asa dura” ou “birigui” entre outras denominações comuns. São insetos holometábolos. Os ovos são elipsoides, medem de 300 a 500µm de comprimento e 70 a 150µm de largura, são claros logo após a postura, mas logo adquirem cor castanho-escuro. Cada fêmea coloca em média 40 a 50 ovos, de acordo com a espécie, que aderem ao substrato através de ácidos graxos presentes na superfície. As larvas possuem coloração branca e aspecto vermiforme, e são divididas em cabeça e 13 segmentos: três torácicos, com cerdas, e nove abdominais, sendo os últimos modificados para locomoção. As larvas desenvolvem quatro estádios larvais, onde o primeiro possui um par de cerdas caudais e os demais, dois pares de cerdas caudais. O quarto estágio apresenta uma mancha escura no último segmento. As larvas alimentam-se de matéria orgânica. As pupas são esbranquiçadas ou amareladas, tornando-se escuras próximas à eclosão; são fixadas ao substrato e apresentam os movimentos de flexão e extensão (BRAZIL; BRAZIL, 2003).

Os adultos são pequenos, medindo de 1 a 3 mm de comprimento, possuem o corpo revestido por pelos e são, em geral, de coloração clara (castanho claro ou cor de palha) e apresentam nítido dimorfismo sexual. Os machos e as fêmeas alimentam-se de açúcares procedentes de plantas e insetos, constituindo assim a

sua dieta energética rica em carboidratos. Contudo, apenas as fêmeas se alimentam de sangue para o desenvolvimento dos ovos, possibilitando a infecção por protozoários causadores das leishmanioses (BRAZIL; BRAZIL, 2003).

Possuem comportamento peculiar quanto ao voo e ao pouso, voam em pequenos saltos e pousam com as asas entreabertas. Encontram-se próximos à vegetação, bem como em raízes e/ou troncos de árvores, além de abrigo de animais; por isso, encontram-se normalmente junto aos locais onde se alimentam (BRASIL, 2006; LAINSON; RANGEL, 2003).

Estes insetos têm como criadouros locais com acúmulo de matéria orgânica em decomposição e alta umidade, principalmente folhas, frutos, raízes, fezes de animais e húmus, entre outros. Pesquisas mostram que abrigos de animais domésticos que contenham essas condições tornam-se propícios para encontro de grande número de flebotomíneos e habitat ideais para as formas imaturas (FORATTINI, 1954; TEODORO *et al.* 2010).

Desde a década de 1950 verifica-se a adaptação desses vetores aos ambientes antropizados, podendo ser encontrados em zonal rural no peridomicílio das moradias, como galinheiros, chiqueiros, canis, paióis e também em ambientes urbanos, no intradomicílio de residências (AGUIAR; VILELA; LIMA, 1987; FORATTINI, 1953; FORATTINI; RABELLO; GALATI, 1976; GALATI *et al.* 1985; OLIVEIRA *et al.* 2012).

O vetor, principalmente *Lu. longipalpis*, adapta-se facilmente aos diversos tipos de habitat e às variações climáticas. Há indícios de que o período de maior transmissão da LV ocorra durante e logo após a estação chuvosa, quando há um aumento da densidade populacional do inseto (OLIVEIRA *et al.* 2008; ANDREOTTI; HONER, 2007).

#### **1.4 Histórico da sistemática de Phlebotominae**

Os flebotomíneos pertencem à ordem Diptera, subordem Nematocera, família Psychodidae. A primeira espécie de Psychodidae descrita com nomenclatura binominal foi *Bibio papatasi* por Scopoli (1786) (THEODOR, 1948). Somente em 1940 foi erigido o gênero *Flebotomus* por Rondani, entretanto Agassiz (1946) o

modificou para *Phlebotomus*, com os primeiros descrito por Coquillett (1907), sendo *Phlebotomus vexator* e *F. cruciatus* (GALATI, 2003).

A primeira chave de identificação foi de Young e Duncan (1994) intitulada “Guia para identificação e distribuição geográfica de *Lutzomyia* no México, América do Sul e Central e oeste da Índia”, estes autores dividiram a subfamília Phlebotominae em seis gêneros. No Velho Mundo, *Phlebotomus*, *Sergentomyia* e *Chinius*; no Novo Mundo, *Brumptomyia*, *Warileyia* e *Lutzomyia*. Este último foi dividido em 15 subgêneros e 11 grupos, e incluem as espécies de importância médica em relação ao agente etiológico da leishmaniose visceral, *Leishmania infantum*, podendo-se apontar três espécies vetores: *Lutzomyia longipalpis*, a qual é, de fato, um vetor (RANGEL, 2006); *Lutzomyia evansi*, incriminado na Venezuela e Colômbia (AGUILAR *et al.* 1995; FELICIANGELI *et al.* 1993; GALATI, 2003; GONZÁLES *et al.* 1999; LAINSON, 2010; TRAVI *et al.* 1990) e *Lutzomyia cruzi*, encontrada na Bolívia e no Brasil (GALATI *et al.* 1997; GALATI, 2003; SANTOS *et al.* 1998).

Estudo realizado por Galati (2003) enfatizou as espécies da América e propuseram a subdivisão de Phlebotominae em duas tribos, utilizando a filogenética e 88 caracteres morfológicos: Hertigini (sinonímia de Idiophlebotomini), que inclui os gêneros *Warileya*, *Hertigia*, *Chinius*; e Phlebotomini, subdividida em seis subtribos - Phlebotomina (*Phlebotomus*), Australophlebotomina, Brumptomyiina, Sergentomyiina, Lutzomyina (*Lutzomyia*) e Psychodopygina. A subtribo Psychodopygina possuía muitos subgêneros e com isso foi elevado ao nível de gênero (*Psathyromyia*, *Viannamyia*, *Nyssomyia*, *Trichophoromyia* e *Psychodopygus*), constituindo 16 gêneros. As maiores mudanças ocorreram no gênero antes conhecido como *Lutzomyia* e isso gerou a reclassificação de várias espécies em relação à publicação de Young e Duncan (1994), a mais utilizada mundialmente.

Até hoje, foram descritas aproximadamente 990 espécies de flebotomíneos em todo o mundo (ALMEIDA *et al.* 2015; ANDRADE *et al.* 2013; LADEIA-ANDRADE *et al.* 2014; OLIVEIRA *et al.* 2015; SHIMABUKURO; GALATI, 2010; VILELA *et al.* 2015). Destas, 236 (23, 85%) já foram relatadas no Brasil (GALATI, 2003; SOUZA, *et al.* 2009; READY, 2013). No estado de Mato Grosso do Sul, estão presentes 67 espécies (ALMEIDA, 2010; ANDRADE *et al.* 2009; GALATI *et al.* 1996; 2003; 2006; OLIVEIRA; FALCÃO; BRAZIL, 2000; OLIVEIRA *et al.* 2012; OLIVEIRA *et al.* 2015). Dentre elas, encontram-se *Lu. longipalpis*, amplamente distribuída pelo estado, e

presente em 42 dos 79 municípios (ALMEIDA *et al.* 2013; ANDRADE *et al.* 2014; GALATI *et al.* 1996; GALATI, 1997; GALATI *et al.* 2007) e *Lu. cruzi*, presente nos municípios de Corumbá, Ladário, Campo Grande e Camapuã (GALATI *et al.* 1997; GALATI, 2014; OLIVEIRA *et al.* 2006; SANTOS *et al.* 1998).

Foram realizados estudos em 26 municípios, onde o primeiro relato do conhecimento faunístico de flebotomíneos no Estado de Mato Grosso do Sul foi em 1985 no município de Corumbá, que é considerada área endêmica para leishmaniose visceral. Na pesquisa publicada por Galati *et al.* (1985) foi relatado o encontro de oito espécies e também a descrição de uma nova espécie, *Lutzomyia forattinii* (GALATI; REGO; NUNES; TERUYA, 1985). Nesse mesmo estudo, em 1989 foi publicada a descrição de *Evandromyia corumbaensis* (GALATI; NUNES; OSHIRO; REGO, 1985) (Tabela1). Além disso, só em 1997 foi divulgada a fauna da região, com coletas realizadas com armadilhas luminosas dispostas no intra e peridomicílio, relatando oitos espécies.

Outro município onde foram realizados estudos foi Corguinho, por Galati *et al.* (1996) que realizaram estudo de fauna devido ao aumento de casos de LT. Foram capturadas 26 espécies de flebotomíneos. Em destaque, *Ny. whitmani*, que foi a mais frequente em armadilhas de Shannon e iscas humanas, sugerindo ser mais antropofílica que as demais e importante na epidemiologia local da parasitose.

Na capital do Estado, Campo Grande, no ano de 2000 foi relatado o primeiro encontro de *Lu. longipalpis* em área urbana do município por Oliveira *et al.* (2000). Na época, ainda não havia registros de casos humanos, mas já haviam sido diagnosticados casos caninos no município. No mesmo estudo, um ano depois foi descrita uma nova espécie, *Psathyromyia campograndensis* (OLIVEIRA *et al.* 2001). Assim, em 2003 foi publicado o levantamento da fauna de flebotomíneos na cidade, que revelou a presença de 28 espécies, dentre as quais a espécie *Ev. termitophila* foi a mais frequente, sendo encontrada em todos os locais analisados. Na região central, foram encontradas quatro espécies: *Lu. longipalpis*, *Ev. sordellii*, *Ev. termitophila* e *Ev. cortelezii*, sendo a primeira a predominante, confirmando sua preferência por ambientes antrópicos. Destaca-se também a presença dos vetores da LT, *Ny. whitmani*, *Bi. flaviscutellata* e *Mg. migonei* (OLIVEIRA *et al.* 2003).

Santos, Andrade-Filho e Honer (2001) descreveram uma nova espécie de *Evandromyia* encontrada no município de Aquidauana, nomeada *Ev. aldafalcaoae*. Neste trabalho foi relatada a coleta de 12 espécies.

No município de Bonito, um importante polo do ecoturismo do Estado e conhecido mundialmente, foi realizado um trabalho por Nunes *et al.* (2008) na área urbana e foi relatada a presença expressiva de *Lu. longipalpis* em todos os meses do ano, apresentando picos no verão, primavera e inverno. Outros autores relataram a espécie *Br. flaviscutellata*, vetor da *Leishmania (L) amazonensis*, agente etiológico da leishmaniose difusa.

O município de Três Lagoas apresenta altos índices de casos de leishmaniose humana e estudos demonstram a predominância de *Lu. longipalpis* (OLIVEIRA *et al.* 2010).

Almeida *et al.* (2010) realizaram estudos em área urbana de 18 municípios com transmissão de LV no Estado com o objetivo de conhecer as principais espécies e assim fornecer subsídios para o programa de controle das leishmanioses. Foram coletadas um total de 36 espécies, as mais frequentes foram *Lu. longipalpis* (56,33%), seguida por *Lu. cruzi* (37,95%), *Lu. forattinii* (2,88%) e *Ny. whitmani* (1,10%) de todos os municípios estudados. As demais espécies perfizeram 1,74% dos exemplares capturados. Os municípios com maior índice de diversidade, segundo o cálculo da diversidade de Simpson, foram Santa Rita do Pardo (D=4,63) e Miranda (D=3,04), e com a menor diversidade foi Três Lagoas (D=1,00), porém neste foi coletada *Ev. bacula*, até então não relatada no Estado. Foi encontrada grande variabilidade específica para cada região, que os autores associaram à alta heterogeneidade espacial, devido à presença de vários biomas e ecótopos, havendo necessidade de pesquisas mais específicas em cada município.

O estudo mais recente no Estado foi a descrição de uma nova espécie, a *Evandromyia orcyi* (OLIVEIRA; SANGUINETTE; ALMEIDA, 2015), encontrada no município de Selvíria, baseado no encontro de três machos e uma fêmea. Esta é a sexta espécie de *Evandromyia* presente no Estado (OLIVEIRA; SANGUINETTE; ALMEIDA, 2015)



## 1.5 Sensoriamento remoto como ferramenta para controle de flebotomíneos

Geoprocessamento têm mostrado um potencial crescente para a análise da informação que requer uma compreensão da distribuição espacial (CÂMARA; MONTEIRO, 2001). Segundo Câmara e Monteiro (2001) uma definição simplificada para a técnica de geoprocessamento é técnica computacional aplicada a problemas geográficos. É definida por Lillesand *et al.* (2004) como a ciência de se obter informações sobre um objeto, área ou fenômeno através da análise dos dados adquiridos por um dispositivo que não está em contato com o objeto. Uma definição mais recente é que são conjuntos de técnicas de processamento e análises de dados espaciais, sendo dividida em três linhas: cartografia, Sistema de Informações Gráficas (SIG) e sensoriamento remoto, que é a forma mais importante de obtenção de dados espaciais (PARANHOS FILHO; MARCATO JUNIOR; GAMARRA, 2016).

Em especial o sensoriamento remoto, para Avery e Berlin (1992) e Meneses (2001), é uma técnica para se obter informações sobre objetos através de dados coletados por instrumentos que não estejam em contato físico com os objetos investigados. Para outro autor, é a técnica utilizada para obter imagens ou outros dados da superfície terrestres através da captação e registro da energia refletida ou emitida pela superfície (FLORENZANO, 2002). Outros autores abarcam os fenômenos naturais que não estejam em contato com o sensor de amostragem (PARANHOS FILHO; MARCATO JUNIOR; GAMARRA, 2016).

Esses métodos vêm sendo utilizados para ajudar a esclarecer a epidemiologia de doenças, nas quais seus agentes patogênicos necessitam de vetores para a transmissão. Além disso, orientam a elaboração de medidas contra a expansão destas enfermidades, com o monitoramento das mudanças bióticas e abióticas, prevendo a ocorrência da doença em determinada região, além de ser possível maior esclarecimento de fatores que favoreçam a proliferação de vetores.

Técnicas mais apuradas como o uso de índices, em destaque o *Normalized Difference Vegetation Index* (NDVI) e o *Normalized Difference Water Index* (NDWI) têm dado subsídios para o esclarecimento da epidemiologia das leishmanioses (THOMSON; CONNOR 2000). Assim como as análises espaciais, podem incrementar o conhecimento da biologia e auxiliar nas medidas de controle aos

flebotomíneos (ANTONIALLI *et al.*, 2007). Além disso, auxiliam na comparação espacial e temporal da atividade fotossintética podendo realizar o monitoramento sazonal e variações de curto, médio e longo prazo, dos fatores biofísicos das vegetações. Esses índices são resultados da diferença de refletância da superfície através de cálculos de álgebra das bandas como infravermelho próximo, infravermelho médio e vermelho com suas respectivas correlações espectrais, em relação a fatores bióticos e abióticos. O NDVI indica o vigor da vegetação e destaca a biomassa de uma determinada área (PACHECO *et al.* 2006). São sensíveis à atividade de clorofila na vegetação verde e as condições das folhas. Quanto mais “verde” a cobertura, maior atividade fotossintética e maior quantidade de fitomassa, conseqüentemente o valor do NDVI será mais elevado. Da mesma forma, com a menor quantidade de clorofila o valor do índice se reduz. Podem também indicar outros fatores, tais como a secura do solo, o uso da terra e a umidade da superfície (JACKSON *et al.* 2002; 2004). Esse mesmo princípio é utilizado para o cálculo para o NDWI, que avalia a umidade presente (GAO, 1996).

Vários estudos têm sido realizados utilizando essa técnica para esclarecer aspectos comportamentais dos flebotomíneos. Em MS foram realizados estudos por Oliveira *et al.* (2012) que avaliaram a influência das variações ambientais na abundância e distribuição de *Lu. longipalpis* em Campo Grande e observaram que a residência com elevada quantidade de fitomassa apresentou maior quantidade de flebotomíneos, com correlação positiva significativa entre a abundância de flebotomíneos e a porcentagem de cobertura vegetal.

Também no estado, Casaril *et al.* (2013) utilizaram o método do NDVI (Normalized Difference Vegetation Index) no município de Corumbá (MS) e observaram a maior diversidade de espécies em bairro com maior quantidade de vegetação. E utilizando os índices de NDVI, NDWI e *Soil Adjusted Vegetation Index* (SAVI), Andrade *et al.* (2014) também observaram maior quantidade de indivíduos e maior variedade de espécies no bairro com maior quantidade de massa vegetal, no município de Ponta Porã (MS).

Esses métodos também têm sido empregados na avaliação da expansão da doença em alguns municípios como em Araçatuba (SP) que verificaram as técnicas de análises espaciais na epidemiologia da leishmaniose visceral americana para estabelecer um modelo de vigilância e redimensionar a estratégia de controle no município. A técnica demonstrou que a transmissão da LT não foi homogênea,

sendo que as infecções humanas ocorreram em locais com altas taxas de casos caninos, bem como onde a densidade dos vetores era mais elevada (CAMARGO-NEVES *et al.* 2001). Desta forma, esse método auxilia a elucidar a complexidade e a heterogeneidade de habitats dos insetos.

Com objetivo de avaliar as áreas de riscos na transmissão da leishmaniose, no Município de Itapira (SP), utilizou-se sensoriamento remoto. Notaram a presença de fragmentos de mata nos limites dos quintais das casas, ou a distâncias pequenas dessas residências, onde houve um ou mais casos de LT (APARÍCIO; BITENCOURT, 2004).

GURGEL *et al.* (2005) utilizaram o índice de vegetação para avaliar a fitofisionomia de 33 municípios no Nordeste Baiano correlacionando com os casos de leishmaniose visceral americana de cada município. Observaram que a taxa de infecção e o índice de vegetação apresentaram correlação estatisticamente significativa e a maior parte dos casos foram registrados na região onde ocorrem os valores mais baixos de NDVI.

## 1.6 Índice de diversidade e equitabilidade

Os índices da diversidade de Shannon e de *Pielou* são empregados com grande frequência para estimar a diversidade de espécies e obter maiores informações sobre o padrão de ocupação de uma espécie em determinado ecótipo, assim buscar a compreensão da natureza e, por extensão, para otimizar o gerenciamento da área em relação as atividades de exploração, gerenciamento das espécies e também das antropozoonoses (MELO, 2008).

A diversidade para Mac Arthur (1964) é a própria riqueza de espécies na área. E segundo Hill (1973), é um parâmetro possível de ser mensurado, cujos valores encontrados podem ser explicados por uma série de teorias e expressões matemáticas. Conceitos mais recentes descrevem a diversidade não como densidade de indivíduos na população, mas ao conjunto de espécies e o seu número de representantes em determinada área (SCOLFORO *et al.* 2008).

Assim, pode-se dizer que a diversidade é composta por dois elementos: a variedade e a abundância relativa das espécies. Segundo Mueller-Dombois; Ellenberg (1974), na maioria das vezes os estudos de diversidade estão

relacionados com os padrões de variação espacial e ambiental. Desse modo, quanto maior a variação ambiental, maior será a diversidade de espécies do ecossistema.

Existem vários métodos para os cálculos da diversidade das espécies, entre esses o índice de diversidade de Shannon (H) que se baseia na teoria da informação (LUDWIG; REYNOLDS, 1988) e fornece uma idéia do grau de incerteza em prever, a qual espécie pertenceria um indivíduo retirado aleatoriamente da população. Quanto maior o valor de H, maior a diversidade da área em estudo.

Índice de Equabilidade de *Pielou* (J) é derivado do índice de diversidade de Shannon e permite representar a uniformidade da distribuição dos indivíduos entre as espécies existentes (Pielou, 1966). Seu valor apresenta uma amplitude de 0 (uniformidade mínima) a 1 (uniformidade máxima).

Vários trabalhos utilizam esses índices na tentativa de se conhecer a dinâmica dos flebotomíneos. O Estado de Mato Grosso do Sul é conhecido pelas belezas naturais como a Serra da Bodoquena e o Pantanal. Em um estudo realizado por Galati *et al.* (2006) analisaram a diversidade de flebotomíneos coletados em diferentes cavernas da Serra de Bodoquena, e a caverna com maior relevância turística da região foi que apresentou maior índice de diversidade de Shannon. Fato este explicado pela densa cobertura vegetal e sua preservação.

No Município de Bonito, um polo turístico, foi realizado estudo em vários pontos do limete territorial do município, como em fazendas, matas e na região urbanizada. Verificou que o maior índice de diversidade de Shannon e equabilidade de *Pielou* foi em área de mata residual de preservação e os menores valores em áreas urbanizadas (NUNES *et al.* 2008). Outro trabalho no Estado que constata essa diferença no padrão de ocupação entre áreas urbanizadas e de matas foi no Município de Campo Grande, capital do Estado. As áreas com presença de matas foram as que apresentaram maiores valores para ambos os índices do que nas áreas residenciais (OLIVEIRA *et al.* 2012).

Em Corumbá, região do Pantanal, Casaril *et al.* (2014), verificaram que a grande diversidade de insetos, calculada pelo índice de Shannon, apresentou perto de um morro com presença de vegetação nativa, bem como o índice de *Pielou*.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Identificar padrões de ocorrência de flebotomíneos na área urbanizada do Município de Aquidauana, região endêmica para as leishmanioses, Mato Grosso do Sul, Brasil.

### 2.2 Objetivos específicos

- a) Identificar as espécies de flebotomíneos presentes na área urbanizada de Aquidauana, MS;
- b) Detectar a presença de DNA de *Leishmania* nos flebotomíneos;
- c) Caracterizar a fitofisionomia e umidade dos ambientes de coleta através de índices de sensoriamento remoto;
- d) Analisar espacialmente e caracterizar os ambientes com casos notificados de leishmaniose visceral e tegumentar na área urbanizada de Aquidauana.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1 Tipo de estudo

Trata-se de uma pesquisa descritiva, observacional, de corte transversal que se fundamentou em dados primários com atividades de campo e de laboratório.

#### 3.2 Local e período de captura

A pesquisa foi realizada no Município de Aquidauana, pertencente ao Estado de Mato Grosso do Sul, que possui uma área territorial de 16.958.496 Km<sup>2</sup> (4,75% do Estado de Mato Grosso do Sul). Apresenta população de aproximadamente 45.000 habitantes, densidade demográfica de 2,65 hab/km<sup>2</sup>. A altitude é de 174 m, longitude de -55.67° e a latitude de -20.45°. Está localizada na região da Serra de Piraputanga a 139 km da capital, Campo Grande. A cidade de Aquidauana compreende a área norte do Estado, desde o Morrinho do Pimentel na divisa com Corumbá e Rio Verde até Anastácio, ao sul. O Município é cortado pelo rio Aquidauana, que possui cerca de 1.200 km de leito e cumpre importante papel ao atender a demanda das pequenas embarcações de fazendeiros da região que, nas épocas de cheia do Pantanal, não conseguem acesso aos caminhos necessários ao escoamento e trânsito.

O clima é o subtropical, com média anual de 27°C. O período entre outubro e abril é marcado pelas cheias e temperaturas altas, já em meados de julho a setembro, representam um período de seca, com ocorrência de geadas, e temperatura mais amena de, aproximadamente, 15°C. As precipitações variam de 750 a 1.800 mm anuais. Na estação seca os índices pluviométricos médios são inferiores a 50 mm (ZARONI *et al.* 2011).

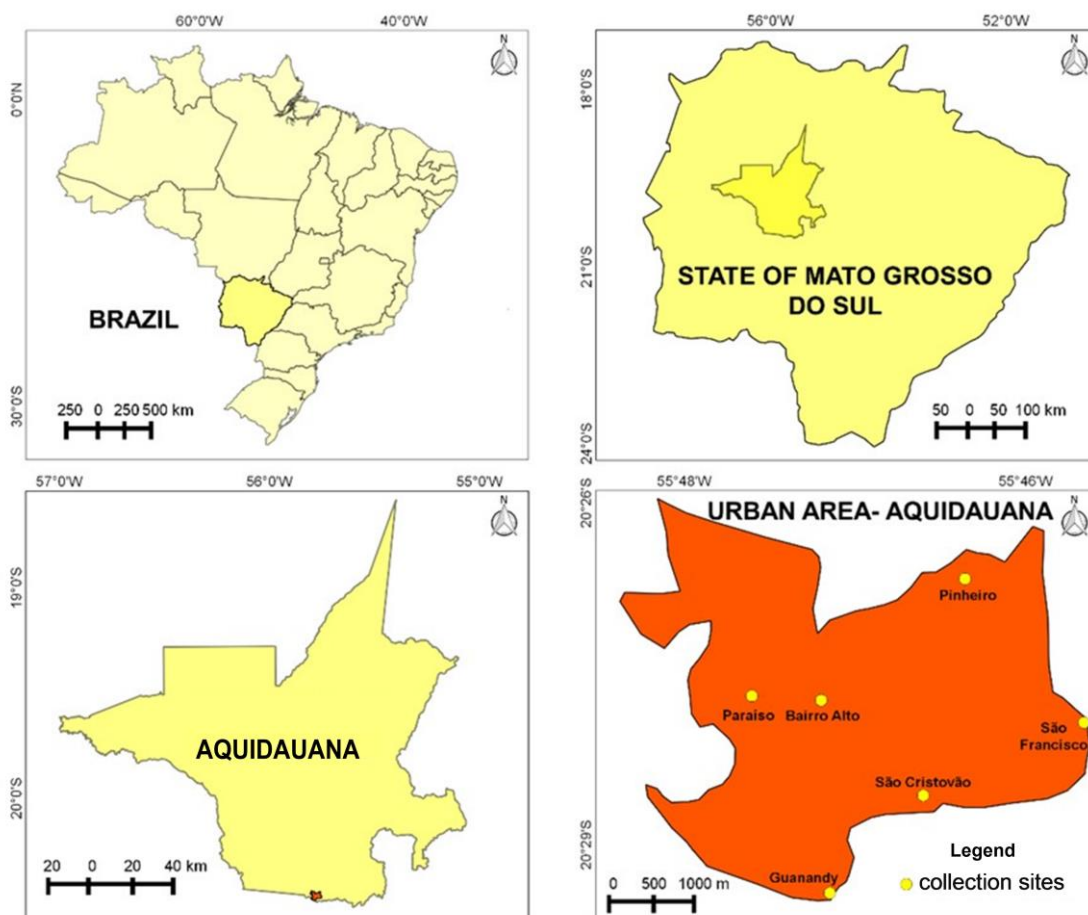
A economia está relacionada a serviços e à agropecuária. A agricultura é baseada em lavouras temporárias onde se destaca o cultivo de milho, mandioca e olerícolas. O mesmo acontece na pecuária, com destaque para o gado de corte e galináceos (IBGE, 2014).

A área de estudo assenta-se sobre a Formação Aquidauana, datada do período Carbonífero Superior e que compreende arenitos com granulometria

variável, de fina a grosseira (SCHIAVO *et al.* 2010; SOUZA *et al.* 2015). Os solos de maior ocorrência na região são podzol hidromórfico, plintossolo álico, distrófico e eutrófico e latossolo vermelho escuro (SILVA *et al.* 1996).

O critério de seleção de bairros foi baseado nos relatórios de notificações de casos de leishmaniose visceral e/ou tegumentar (humana e/ou canina), bem como pelo registro de abrigos de animais domésticos tais como cães, galinheiros e chiqueiros, fornecidos pelo Centro de Controle de Vetores do Município de Aquidauana. Os bairros selecionados de acordo com a maior incidência de ocorrências foram: Bairro Alto, Pinheiro, São Francisco, São Cristovão, Guanandy e Paraíso (Figura 1).

**Figura 1.** Área de estudo e respectivos pontos de coleta no Município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil, 2014.



As residências selecionadas apresentaram árvores frutíferas no quintal, bem como em casas vizinhas, além da presença de aves domésticas e cães. O Bairro Guanandy se destacou pela sua heterogeneidade, tanto por possuir remanescentes de mata ciliar no peridomicílio como também uma pocilga. Os bairros Paraíso e

Pinheiro são margeados pelos córregos João Dias (que dista cerca de 120 m do ponto de coleta do Paraíso e 500m do Pinheiro) e pelo córrego Guanandy, que delimitam também os pontos São Francisco (cerca de 40m da residência), São Cristovão (aproximadamente 200m) e Guanandy (o córrego situa-se no peridomicílio). Todos esses bairros se encontram na periferia da cidade, com exceção do Bairro Alto, que se situa na região mais urbanizada, a cerca de 180m do Parque Lagoa Comprida, área de lazer para a população que apresenta uma reserva de matas.

As coletas foram realizadas de abril de 2012 a março de 2014, por meio de duas campanhas ao mês, quinzenalmente, para as coletas através da armadilha luminosa Falcão. Nas coletas realizadas com aspiração ativa o período foi de novembro de 2012 a março de 2014.

### **3.3 Técnicas de capturas e procedimentos**

#### **3.3.1 Coletas de flebotomíneos**

As capturas na cidade de Aquidauana foram efetuadas com armadilhas luminosas do tipo Falcão modificado instaladas no intradomicílio e no peridomicílio de cada residência, por região, das 18h as 06h, sem obedecer ao horário de verão. Através da aspiração ativa as coletas foram realizadas somente no peridomicílio por 10 minutos em cada residência.

As coletas foram realizadas com o auxílio da equipe do Centro de Controle de Vetores do Município de Aquidauana.

#### **3.3.2 Identificação da fauna de flebotomíneos**

Os espécimes capturados foram acondicionados em microtubos e mantidos em câmaras dessecadoras à temperatura ambiente, sendo que os machos foram clarificados e montados para identificação através das características estruturais e morfológicas da espécie. Somente as fêmeas não ingurgitadas, previamente identificadas, foram submetidas à detecção de DNA de *Leishmania*. Foi utilizada



como caráter taxonômico na identificação específica das fêmeas, a visualização das espermatecas e do cibário através da microscopia ótica, mantendo no momento da dissecação a parte ventral da cabeça voltada para cima. Para a identificação da espécie para ambos os sexos (machos e fêmeas) foi utilizado a classificação proposta por Galati (2014).

### **3.4 Identificação da espécie de *Leishmania***

#### **3.4.1 Extração do DNA**

As fêmeas foram mantidas em *pools* de no máximo dez indivíduos da mesma espécie, mesmo local de coleta e data, em microtubos contendo álcool isopropílico e enviados ao Laboratório de Biologia Molecular da UFMS para o processamento. Para a extração, os insetos foram triturados com auxílio de pistilo plástico em tubos de 1,5 mL em 300 µL contendo solução de resina *Chelex® Molecular Biology Grade Resin* (Bio-Rad Laboratories) a 5%. A solução foi misturada com ajuda de vortex por 15s e posterior centrifugação por 20s a 13000rpm. Então, foi colocado em banho-maria a 80°C por 30 min e, a seguir, tal procedimento foi repetido. O sobrenadante foi retirado e transferido para outro tubo de polipropileno estéril e depois congelado a – 20°C.

#### **3.4.2 Técnica da Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR).**

A reação em cadeia pela polimerase (PCR) foi realizada tendo como alvo uma região do espaçador transcrito interno do gene ribossomal (ITS1) de aproximadamente 300pb de *Leishmania*. Para um volume final de 25µL de reação foi adicionada 5µL de amostra, 12,5µL de GoTaq® Green Master Mix (Promega) e 1µL de cada oligonucleotídeo LITSR (5'-CTGGATCATTTTCCGATG-3') e L5.8S (5'-TGATACCACTTATCGCACTT-3'), segundo (El Tai *et al.* 2000).

As condições de amplificação foram: 95°C por 3min, seguido de 34 ciclos de 95°C por 30s, 53°C por 30s, 72°C por 1min, com pós-extensão a 72°C por 5min, em termociclador de marca BIOER *XP Cycler*. Como controle negativo foi utilizado uma

reação sem DNA e como controle positivo o DNA de *Leishmania infantum* (MHOM/BR/1972/BH96) proveniente do Centro de Pesquisas René Rachou da Fiocruz Minas Gerais.

### **3.4.3 Identificação dos produtos amplificados**

Os produtos de PCR obtidos foram visualizados em eletroforese com gel de agarose a 1,5%. Para a aplicação da amostra em gel, foram utilizados 7µL dos produtos amplificados e homogeneizados com 3µL de GelRed™ e submetidos a corrida eletroforética a 120 volts por 40 minutos em tampão tris-borato EDTA (TBE) 1x. A visualização das bandas foi realizada sob incidência de luz ultravioleta, com filtro de 300 nm.

### **3.4.4 PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)**

Os produtos das PCRs foram submetidos à digestão com enzimas de restrição Hae III (isolada de *Haemophilus aegyptius*), que cliva fragmentos nos segmentos onde têm a seqüência 5'....GG▼CC....3' ou 3'....CC▲GG....5'.

#### **3.4.4.1 Incubação com Hae III**

Foram adicionado 1 µL de buffer 10x, uma unidade (1U) de enzima Hae III, 1 µg de DNA da PCR, completando-se o volume de 10 µL com água ultrapura. Em seguida, a amostra foi incubada em banho-maria a 37°C 'overnight'. Após este período, o material foi submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida a 10% não desnaturante, com tampão TBE por 2 horas.

Utilizando-se a enzima Hae III, o DNA da *Leishmania* foi clivado em bandas com 120, 80, 60 e 40 bp.

### 3.5 Caracterização dos ambientes de coleta

Essa etapa do trabalho foi realizada no Laboratório de Geoprocessamento para Aplicações Ambientais da UFMS.

Foram utilizadas imagens *Landsat 5 TM* (de 22/09/2011 - INPE, 2011) e *Landsat 8 OLI* (27/09/2013 - USGS, 2013), de órbita-ponto 225/074.

Foram escolhidas imagens do período de seca com o menor percentual de nuvens. Antes de ser utilizada, a imagem do satélite *Landsat 5* foi georreferenciada com base na imagem *Landsat 8*. Posteriormente as imagens L5 e L8 passaram por correção atmosférica. Nesse trabalho adotou-se o *datum* WGS84, zona 21 sul e o processamento foi realizado no software QGIS Versão 8.1 (QGIS DEVELOPMENT TEAM, 2015).

Para as variáveis ambientais e cálculo da cobertura vegetal de cada ponto de coleta foi utilizado o *Normalized Difference Vegetation Index* (NDVI), que neste estudo foi usado para caracterizar a fitofisionomia predominante em cada local de coleta, assim o valor médio do NDVI expressa a fitofisionomia e o desvio padrão de seus valores a heterogeneidade do ambiente.

Para o cálculo de NDVI (ROUSE *et al.* 1973) foram utilizadas a refletância da vegetação nas bandas do vermelho (bandas 4 TM e 3 OLI) e infravermelho próximo (bandas 5 TM e 4 OLI):

$$\text{NDVI} = (\text{NIR} - \text{R}) / (\text{NIR} + \text{R})$$

Em que NIR é a energia refletida no infravermelho próximo e R é a energia refletida da região do vermelho.

Para caracterizar a umidade nos ambientes de coleta foi utilizado o índice *Normalized Difference Water Index* (NDWI), que permite ainda estimar a impermeabilização das áreas, avaliando o grau de antropização.

O NDWI foi gerado a partir das bandas infravermelho médio (bandas 6 TM e 5 OLI) e infravermelho próximo bandas 5 (OLI) e banda 4 (TM). Esse índice foi gerado de acordo com Gao (1996):

$$\text{NDWI} = (\text{NIR} - \text{SWIR}) / (\text{NIR} + \text{SWIR})$$

Onde SWIR é a energia refletida no infravermelho médio.

O NDWI detecta a presença de umidade na vegetação e assim como o NDVI os valores variam de -1 a 1. Quando os valores de reflectância na faixa espectral do

infravermelho médio são altas os valores do Índice são negativos indicando ausência de umidade na cobertura vegetal. Por outro lado, valores baixos de reflectância na faixa espectral do infravermelho médio indicam que o teor de água da vegetação é alto, uma vez que a água absorve a radiação nessa faixa espectral. Como resultado o NDWI apresenta valores positivos.

Para os seis pontos de coleta das residências foram gerados *buffers* da área central da casa, com distâncias de 60m (pontual), 500m (considera a região do entorno próximo) e 1000m (bairro/região), para caracterizar a fitofisionomia dos pontos de coleta do Município de Aquidauana/MS.

Esses *buffers* serviram de base para definir e caracterizar os ambientes de cada ponto de coleta. As correlações entre os flebotomíneos e o ambiente foram realizadas de acordo com os valores máximos, médios, mínimos e o desvio-padrão das amostras geradas a partir dos índices.

Para o cálculo da área ocupada pelas fitofisionomias, o índice de vegetação (NDVI) foi reclassificado e vetorizado. Usando uma escala de cores em verde, foram reclassificadas as faixas de NDVI em áreas de mata em verde escuro, cerrado com verde médio, áreas de vegetação rasteira (gramínea e equivalentes, inclui áreas de pastagens) na cor verde claro, ambiente antropizado, que inclui solo exposto e impermeável, na cor marrom e corpos hídricos em azul. Os intervalos de classificação realizados para os cálculos do NDVI estão na tabela 1.

**Tabela 1.** Classificação das áreas segundo os cálculos do NDVI e seus respectivos intervalos: áreas de mata, cerrado, áreas de gramíneas (inclui toda a vegetação rasteira e pastagens), ambiente antropizado (inclui solo exposto e impermeável) e corpos hídricos.

Classificação	Intervalos
Água	-1,00 — 0,00
Área Antrópica	0,01 — 0,30
Vegetação Raste	0,31 — 0,50
Cerrado	0,51 — 0,60
Mata	0,61 — 1,00

### 3.6 Análise dos dados

Os cálculos do Índice de Abundância Padronizado (SISA) foram realizados para determinar a espécie mais abundante de acordo com a distribuição espacial desta, sendo que o número 1,00 corresponde a espécie mais abundante segundo Roberts & Hsi (1979). Além disso, foi calculado o índice da diversidade de Shannon (H) segundo Margalef (1949) e para avaliação da equitabilidade e espécie dominante foi utilizado o índice de Pielout (J).

A análise estatística utilizada foi o qui-quadrado para comparar população de *Lu. longipalpis* no intra e peridomicílio. Para a relação machos e fêmeas de cada bairro foram usadas a técnica de *box plot*, podendo visualizar a dispersão, simetria e valores *outliers* (atípicos). Para analisar a diferença entre eles, foi utilizado o teste U de Mann-Whitney.

O grau de associação entre os índices (NDVI e NDWI) e a frequência absoluta (número total) por ano de *Lu. longipalpis* foi avaliado pelo coeficiente de correlação de Spearman. Considerou-se o valor de  $p \leq 0,05$  para demonstrar a significância estatística. O software R versão 3.2.0 (R CORE TEAM, 2014) foi utilizado para esta análise.

### 3.7 Aspectos éticos

Para a coleta dos insetos foi concedida a licença permanente de coleta e transporte de material zoológico sob o número 25592-1, no nome da Professora Dr.<sup>a</sup> Alessandra Gutierrez de Oliveira, através do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (Sisbio/IBAMA).

#### 4. RESULTADOS

##### 4.1 Artigo 1: Aceito na Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. Sand flies (Diptera: Psychodidae) in an endemic area for *leishmaniasis* in Aquidauana municipality, Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil

Helen Rezende de FIGUEIREDO(1); Mirella Ferreira da Cunha SANTOS(2), Aline Etelvina CASARIL(1,3), Jucelei Oliveira de Moura INFRAN(3), Leticia Moraes RIBEIRO(3), Carlos Eurico dos Santos FERNANDES(4), Alessandra Gutierrez de OLIVEIRA(1,3)

(1)Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias, Faculdade de Medicina Dr Hélio Mandetta, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Cidade Universitária s/n.79070-900, Campo Grande, MS, Brazil. E-mails: helenrezende.bio@gmail.com; aline.casaril@gmail.com; alessandra.oliveira@ufms.br.

(2)Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Rua dos Dentistas, 500, Bairro Arnaldo Estevão de Figueiredo, 79043-250, Campo Grande, MS, Brazil. E-mail: mirellabio@hotmail.com.

(3) Laboratório de Parasitologia Humana, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Cidade Universitária s/n.79070-900, Campo Grande, MS, Brazil. E-mail: alessandra.oliveira@ufms.br; aline.casaril@gmail.com, juinfran@gmail.com.

(4) Laboratório de Patologia, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Cidade Universitária s/n.79070-900, Campo Grande, MS, Brazil. E-mail: carlos.fernandes@ufms.br.

#### **Abstract**

Aquidauana municipality is considered an endemic area for *leishmaniases* and an important tourist site in Mato Grosso do Sul State. The aim of this study was to investigate the sand fly fauna in the city of Aquidauana. Captures were carried out twice a month, from April 2012 to March 2014 with automatic light traps and active aspiration, in the peridomicile and domicile of six residences. A total of 9,341 specimens were collected, 3,179 and 6,162 using light traps and active aspiration, respectively. The fauna consisted of: *Brumptomyia brumpti*, *Evandromyia aldafalcaoae*, *Ev. evandroi*, *Ev. lenti*, *Ev. orcyi*, *Ev. sallesi*, *Ev. termitophila*, *Ev. walkeri*, *Lutzomyia longipalpis* and *Psathyromyia bigeniculata*. The most abundant species captured in both techniques was *Lutzomyia longipalpis*. It was present in all ecotopes, predominantly in peridomicile and more males. *Leishmania* DNA was not detected in the insects. It was observed the abundance of the sandfly fauna in the region as well as the high frequency of *Lu. longipalpis*, the main vector of *L. infantum*. It shows the necessity to increase monitoring and more effective control measures. It is noteworthy that the studied region presents several activities related to tourism and recreation, increasing the risk of transmission of *leishmaniases*.

**Key words:** Phlebotomine sand fly; *Lutzomyia longipalpis*; fishing tourism

## INTRODUCTION

Sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) present medical importance for being vectors of protozoans of the genus *Leishmania*, which are the etiological agents of *leishmaniases*. These diseases are considered a major worldwide public health issue due to their high incidence and lethality rates<sup>1,2,3,4,5</sup>. In Mato Grosso do Sul State, *leishmaniases* are rapidly expanding; cases of visceral *leishmaniasis* (VL) and cutaneous *leishmaniasis* (CL) have been reported in 56 and 72 municipalities, respectively<sup>6,7</sup>. In the municipality of Aquidauana, VL has been notified since 1998, with six cases reported<sup>8</sup>. From 1999 through 2011, 162 cases were registered; in 2013, seven cases were confirmed, including one death, and the city is now considered an area of intense transmission of VL. Regarding CL, Aquidauana is an area of moderate transmission, with five confirmed rural cases in 2013<sup>7</sup>.

Approximately 900 species of sand flies are known worldwide. In Brazil, about 235 species have been reported<sup>9,10,11</sup> and 66 of these were registered in Mato Grosso do Sul<sup>12,13,14,15,9,16,17,18,19</sup>.

Sand flies are found in different climatic conditions, in the wild, rural areas and often urban centers<sup>20,21,4,22</sup>. Therefore, studies regarding the fauna of these insects and their behavioral aspects are determinant in epidemiology of *leishmaniases*. They are also of major importance in endemic areas, once they provide basic information to diseases control measures carried out by the health services<sup>23,24, 25,19,6,26</sup>.

Thus, this study aimed to investigate the fauna, as well as the distribution and the abundance of sand flies in the urban area of the municipality of Aquidauana, State of Mato Grosso do Sul, Brazil.



## MATERIALS AND METHODS

**Study Area:** The municipality of Aquidauana (20°28'15"S and 55°47'13"W) is located 139 km from the capital of the State, Campo Grande, in the western portion of Mato Grosso do Sul <sup>27</sup>. According to the Brazilian Institute of Geography and Statistics<sup>28</sup> census in 2014, the city population was 45,614 inhabitants. Aquidauana is situated at the beginning of the plain area of the Pantanal biome. The city presents geomorphological characteristics of Maracajú plateau and Aquidauana/Bela Vista valley, which form the border of its territory. The river Aquidauana and the streams João Dias and Guanandy are located in the urban area of the municipality<sup>27</sup>. The climate, according to the Köppen Climate Classification System is AW, defined as humid tropical climate. The daily temperature average starts to increase in August and reaches its peak in December<sup>29</sup>.

Six neighborhoods were selected, Bairro Alto, Pinheiro, São Francisco, São Cristovão, Guanandy and Paraíso (Fig. 1). In each of them, one residence was chosen to install two light traps, in peridomicile and in domicile. The selection of the neighborhoods followed the criteria: notified cases of VL and/or CL human/canine cases, together with the presence of domestic animals shelters such as kennels, hen houses and pig pens.

The selected residences, likewise the neighboring houses, had fruit trees in the backyard. Bairro Alto is located in the central region with no streams nearby. Pinheiro, São Cristovão, São Francisco, Guanandy and Paraíso are located in the outskirts of the city and are delimited by the streams João Dias and Guanandy. In these neighborhoods, the traps were installed about 200m away from the remaining riparian forest, except for the selected residence in Guanandy, which also had a pig pen.

**Sand flies captures:** The collections were carried out twice a month with Falcão modified light traps placed both in the domicile and the peridomicile area of the selected residences, from April 2012 to March 2014. The captures were always conducted from 6 pm to 7 am even during the period of daylight saving time. In order to increase females sample size, captures were also made with electric manual aspirator inside animal shelters in each selected residence. These collections began in November 2012 and lasted 10-15 minutes. The insects captured were identified based on the classification by Galati<sup>30</sup> and genus abbreviations followed Marcondes<sup>31</sup>.

**Molecular analysis:** After identification, females were grouped in pools of up to 10 specimens, according to species, location area and date of capture. Later, samples were sent to the Laboratory of Molecular Biology at the Federal University of Mato Grosso do Sul to investigate the presence of *Leishmania* spp. using the polymerase chain reaction (PCR) technique. The DNA was extracted with 5% Chelex® resin solution Molecular Biology Grade Resin (Bio-Rad Laboratories) and PCR was carried out according to the method of El Tai et al.<sup>32</sup>.

**Data analysis:** The Standardized Index of Species Abundance (SISA) was calculated to determine the most abundant species, according to spatial distribution, for which 1.00 corresponds to the most abundant species<sup>33</sup>. For the analysis of diversity, Shannon's diversity index (H)<sup>34</sup> was calculated (LogIn) and the measure of evenness or dominance of species was obtained using Pielou's Index (J)<sup>35</sup>. Statistical analysis used Chi-square to compare population of *Lu. longipalpis* in the domicile and peridomicile. For male-to-female ratio at neighborhoods were used the following tests: display of the dispersion, symmetry and outliers, the box plot

technique and to analyze the difference between them, it was used the U Test of Mann-Whitney .

## RESULTS

After 7,488 hours of collection made with light traps and 72 hours of collection using active aspiration, 9,338 sand flies were captured, distributed among the genus: *Brumptomyia*, *Evandromyia*, *Lutzomyia* and *Psathyromyia*. The fauna comprised ten species: *Brumptomyia brumpti* (Larrousse, 1920), *Evandromyia aldafalcaoae* (Santos, Andrade-Filho and Honer, 2001), *Evandromyia evandroi* (Costa Lima, 1932), *Evandromyia lenti* (Mangabeira, 1938), *Evandromyia orcyi* (Oliveira, Sanguinette, Almeida and Andrade Filho, 2015), *Evandromyia sallesi* (Galvão and Coutinho, 1939), *Evandromyia termitophila* (Martins, Falcão and Silva, 1964), *Evandromyia walkeri* (Newstead, 1914), *Lutzomyia longipalpis* (Lutz and Neiva, 1912) and *Psathyromyia bigeniculata* (Floch & Abonnenc 1941).

Through the use of light traps, 3,179 specimens were captured, from which 2,780 (87.44%) were males and 399 (12.55%) were females. Table 1 demonstrates the predominance of *Lu. longipalpis*, with 2,957 (93.02%) specimens, followed by *Evandromyia walkeri* with 135 (4.25%), *Ev. aldafalcaoae* with 31 (0.98%) and others species totaling 57 specimens (1.75%). Although eight out of the ten species reported in this study were captured in Guanandy neighborhood with Shannon diversity index of 0.6165, São Francisco, where fewer species were caught presented a higher Shannon's index with 1.3107 and the Pielou equitability of 0.7312 (Table1).

Table 1. Distribution of sandfly species captured with Falcão trap, according to neighborhoods, intradomicile and peridomicile, gender, Shannon's and Pielou's indexes per species in Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brazil, from April 2012 to March 2014 (n= 3179).

Species	Pinheiro				São Francisco				São Cristovão				Guanandy				Paraíso				Bairro Alto				Total		Total	
	Intra		Peri		Intra		Peri		Intra		Peri		Intra		Peri		Intra		Peri		Intra		Peri		M	F	n	(%)
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F				
<i>Br. brumpti</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	0,03
<i>Ev. aldafalcaoae</i>	3	3	12	3	1	-	-	-	-	2	1	2	-	-	1	-	2	-	-	-	1	-	-	-	21	10	31	0,98
<i>Ev. evandroi</i>	-	1	-	1	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	8	-	2	-	-	-	-	-	1	-	15	15	0,47
<i>Ev. lenti</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	3	1	4	0,13
<i>Ev. oreyi</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3	2	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3	6	0,19
<i>Ev. sallesi</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	6	6	-	-	-	-	-	-	-	-	6	8	14	0,44
<i>Ev. termitophila</i>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	0,03
<i>Ev. walkeri</i>	-	-	-	-	4	-	4	1	1	-	-	-	23	-	65	29	-	-	5	-	3	-	-	-	105	30	135	4,25
<i>Lu. longipalpis</i>	90	15	670	72	4	1	3	-	278	41	522	62	12	2	688	75	1	-	45	4	116	25	202	29	2631	326	2957	93,02
<i>Pa. bigeniculata</i>	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	3	2	2	3	-	-	-	1	-	-	-	-	9	6	15	0,47
Total	96	19	682	76	11	1	8	1	279	44	524	66	38	6	767	123	3	3	50	5	120	25	202	30	2780	399	3179	100,00
Shannon Diversity Index	0.1530				1,3103				0.0726				0.6046				0.7257				0.0822							
Pielou Eveness Index	0.0950				0.7312				0.0405				0.2907				0.4509				0.0592							

Intra: intradomicile; Peri: peridomicile; M: male; F: female; *Br.:* *Brumptomyia*; *Ev.:* *Evandromyia*; *Lu.:* *Lutzomyia*; *Pa.:* *Psathyromyia*.

*Lutzomyia longipalpis* was the most abundant species (SISA = 1.00), ranking first in the classification (Table 2). The species was captured in all sampled areas, especially in the peridomicile, except for São Francisco neighborhood (Fig. 2).

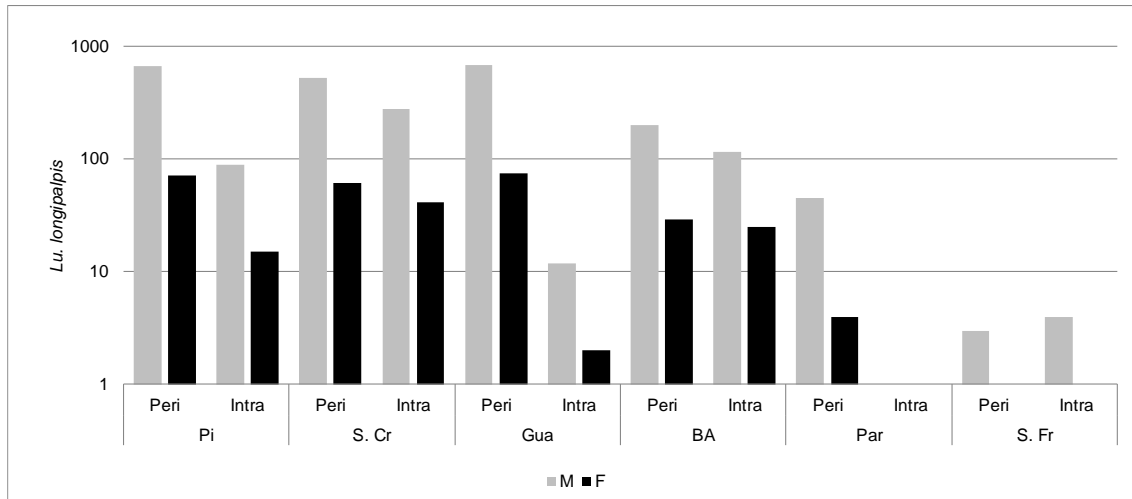
Table 2. Classification of the sand flies species captured with Falcão trap according to Standardized Index of Species Abundance (SISA) in Aquidauana, MS, from April 2012 to March 2014.

Species	Ranking	SISA
<i>Br. brumpti</i>	9°	0.02
<i>Ev. aldafalcaoae</i>	2°	0.95
<i>Ev. evandroi</i>	5°	0.83
<i>Ev. lenti</i>	7°	0.41
<i>Ev. orcyi</i>	8°	0.06
<i>Ev. sallesi</i>	6°	0.50
<i>Ev. termitophila</i>	9°	0.02
<i>Ev. walkeri</i>	3°	0.89
<i>Lu. longipalpis</i>	1°	1.00
<i>Pa. bigeniculata</i>	4°	0.85

Br.: *Brumptomyia*; Ev.: *Evandromyia*; Lu.: *Lutzomyia*; Pa.: *Psathyromyia*.

**Figure 2**

Log10 of the number of specimens of *Lu. longipalpis* according to neighborhood, sex and ecotope, captured by Falcão modified traps in the city of Aquidauana, MS, Brazil, from April 2012 to March 2014.



Peri: peridomicile; Intra: domicile; Pi: Pinheiro neighborhood ( $\chi^2= 479,09$ ,  $p < 0,001$ , M+F); S. Cr: São Cristovão neighborhood ( $\chi^2= 77,76$ ,  $p < 0,001$ , M+F); Gua: Guanandy neighborhood ( $\chi^2= 722$ ,  $p < 0,001$ , M+F); BA: Bairro Alto neighborhood ( $\chi^2= 21,77$ ,  $p < 0,01$ , M+F); Par: Paraíso neighborhood ( $\chi^2= 46,08$ ,  $p < 0,01$ ; M+F); S. Fr: São Francisco neighborhood (not assessed). M; male; F: female.

*Evandromyia aldafalcaoae* was the second most abundant species and presented SISA = 0.95, despite having fewer collected specimens compared to *Ev. walkeri* (SISA = 0.89, the third in the ranking. *Ev. aldafalcaoae* was more abundant in the neighborhood Pinheiro ( $n = 21$ ), where a hen house was present in the peridomicile; while *Ev. walkeri* ( $n = 135$ ) had the highest number of individuals collected in the pig pen of the residence located in Guanandy. The

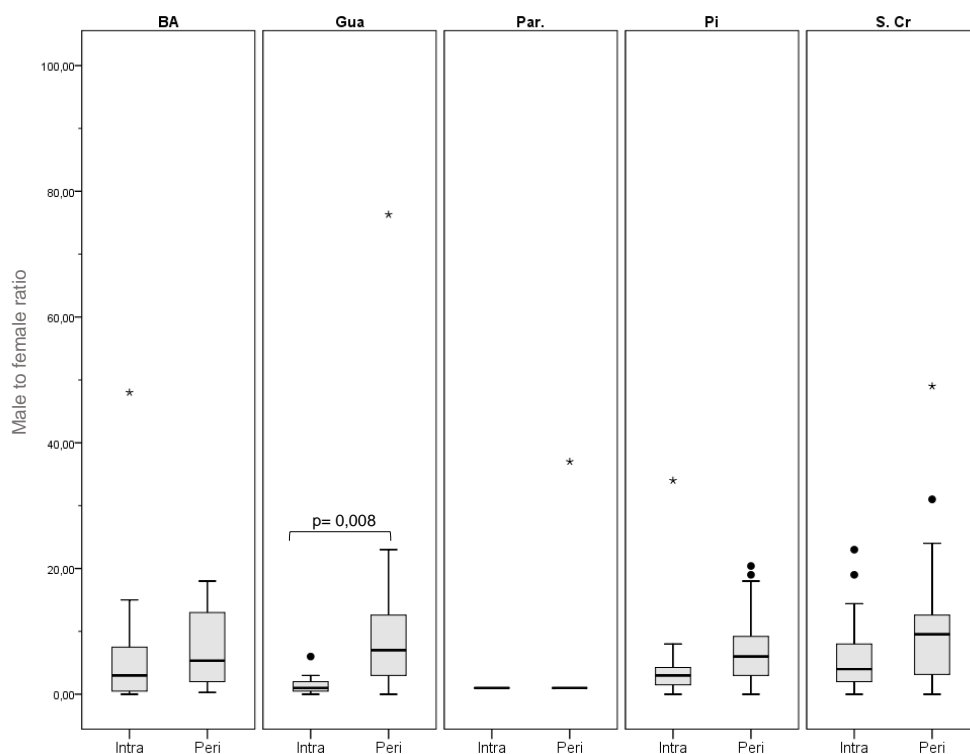
species *Ev. evandroi*, *Ev. lenti*, *Ev. sallesi*, *Pa. bigeniculata* and *Evandromyia orcyi* were slightly present (Table 2).

In total, both in peridomicile and domicile, more males were captured than females, with a ratio of 6.97. *Lu. longipalpis* presented a ratio of 8.07 and *Ev. walkeri* presented 3.5. However, the species *Ev. sallesi* had more females than males, with a ratio of 0.75 and *Ev. evandroi* presented only females.

Figure 3 demonstrates the male-to- female ratio of *Lu. longipalpis* correlating it to the peridomicile and domicile areas of the neighborhoods. Only in Guanandy was observed a statistically significant difference pelo teste U de Mann-Whitney ( $p = 0.001$ ) between the two ecotopes.

### Figure 3

Male-to-female ratio of *Lu. longipalpis* collected with Falcão traps according to peridomicile and domicile areas of the neighborhoods in the municipality of Aquidauana, MS, Brazil, from April 2012 to March 2014.



Peri: peridomicile; Intra: domicile; Pi: Pinheiro neighborhood; S. Cr: São Cristovão neighborhood; Gua: Guanandy neighborhood; BA: Bairro Alto neighborhood; Par: Paraíso neighborhood; Asterisk and dot: *outliers* values;  $p < 0,05$  for statistically significant (teste U de Mann-Whitney).

### **Aspiration**

Seven species totaling 6,159 specimens were collected, with 5,120 (83.13%) being males and 1,039 (16.87%) females, such as: *Ev. aldafalcaoae*, *Ev. evandroi*, *Ev. sallesi*, *Ev. walkeri*, *Lu. longipalpis*, *Pa. bigeniculata* and *Ev. orcyi*.

Table 3 describes the species captured in each ecotope and Table 4 shows their SISA. *Lutzomyia longipalpis* was the most frequent species (97.68%) and was present in all neighborhoods, being in the first place ranking (SISA = 1.00). In second comes *Ev. walkeri* and *Ev. sallesi* in third place. Other species corresponded to 0.16% of the specimens' total.



Table 3. Distribution of sand fly species captured using aspiration in peridomicile according to neighborhoods and gender in Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brazil, from April 2012 to March 2014 (n= 6159).

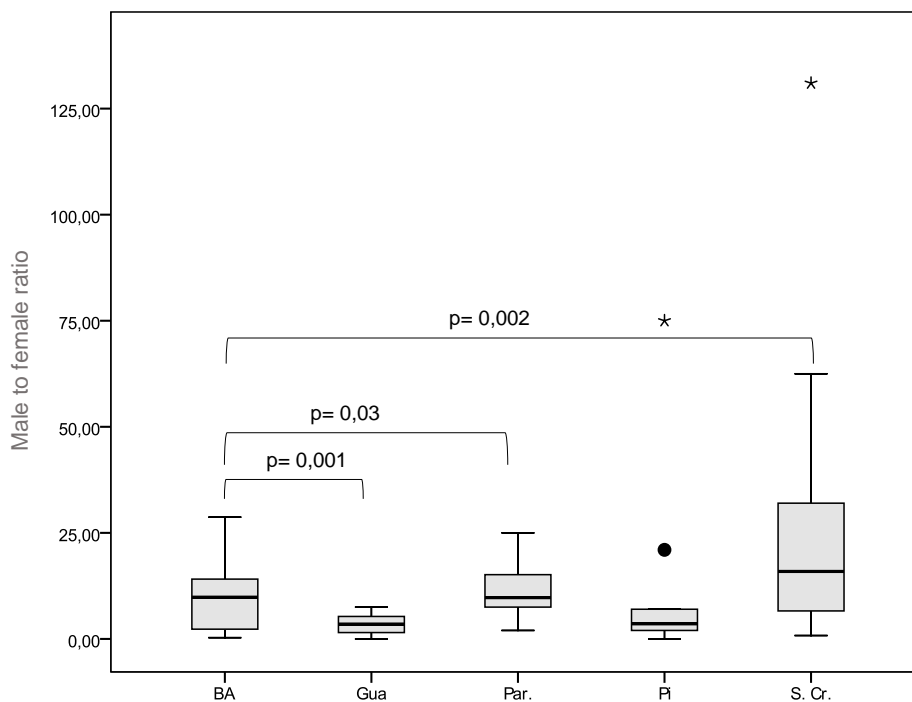
Species	Pinheiro		São Francisco		São Cristovão		Guanandy		Paraíso		Bairro Alto		Total		Total	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F				
<i>Ev. aldafalcaoae</i>	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	2	2	0,03
<i>Ev. evandroi</i>	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	1	-	3	3	0,05
<i>Ev. orcyi</i>	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	4	4	0,06
<i>Ev. sallesi</i>	-	-	-	-	-	5	16	39	-	-	-	-	16	44	60	0,97
<i>Ev. walkeri</i>	-	-	-	-	3	-	66	4	-	-	-	-	69	4	73	1,19
<i>Lu. longipalpis</i>	578	145	18	1	1375	110	1374	497	155	7	1534	222	5034	982	6016	97,68
<i>Pa. bigeniculata</i>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	1	0,02
Total	578	145	18	1	1378	117	1457	546	155	7	1534	223	5120	1039	6159	100,00

Peri: peridomicile; M: male; F: female; *Br.*: *Brumptomyia*; *Ev.*: *Evandromyia*; *Lu.*: *Lutzomyia*; *Pa.*: *Psathyromyia*.

The male-to-female ratio was 4.9 total; 5.1 for *Lu. longipalpis* and, oppositely, *Ev. sallesi* presented a female predominance (0.32) (Table 3). By analyzing the male-to-female ratio of *Lu. longipalpis* captured using aspiration, there was significant difference between the neighborhood Bairro Alto and the neighborhoods Guanandy, Paraíso, and São Cristovão (Fig. 4).

#### Figure 4

Male-to-female ratio of *Lu. longipalpis* collected by aspiration, in the peridomicile of the neighborhoods in the municipality of Aquidauana, MS, from November 2012 to March 2014.



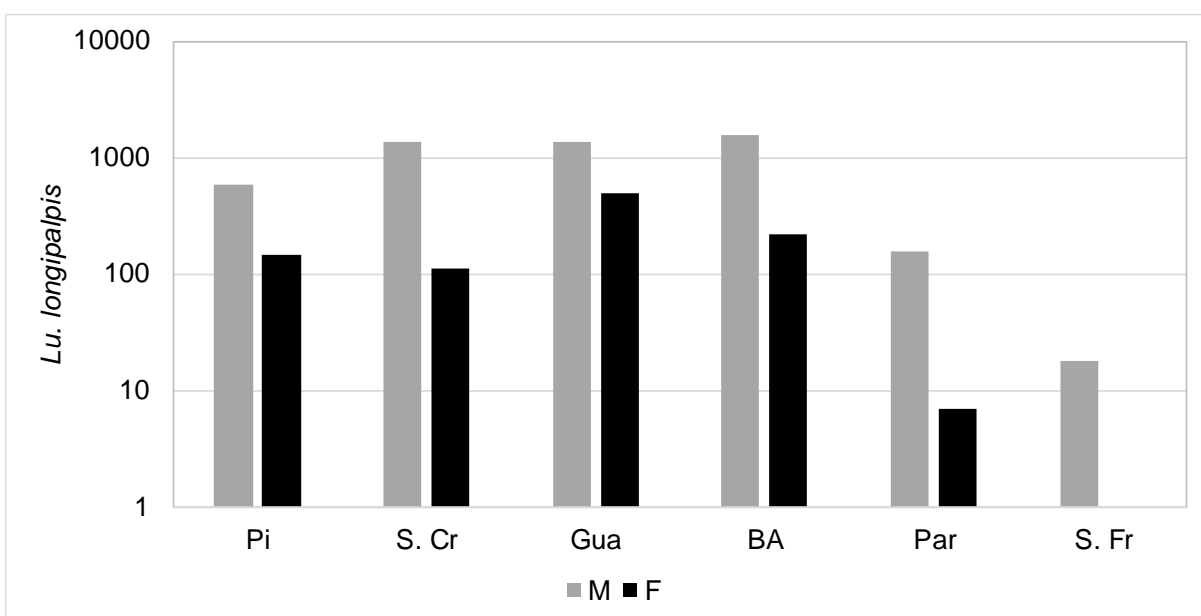
Pi: Pinheiro neighborhood; S. Cr: São Cristovão neighborhood; Gua: Guanandy neighborhood; BA: Bairro Alto neighborhood; Par: Paraíso neighborhood; Asterisk and dot: *outliers* values;  $p < 0,05$  for statistically significant.

From the insects' total, 82.96% were captured in the following neighborhoods: Guanandy, Bairro Alto and São Cristóvão (Figure 5).

From the insects' total, 82.96% were captured in the following neighborhoods: Guanandy, Bairro Alto and São Cristóvão (Figure 5).

### Figure 5

Number of specimens of *Lu. longipalpis*, collected by aspiration, according to neighborhood and gender in the municipality of Aquidauana, MS, from November 2012 to March 2014.

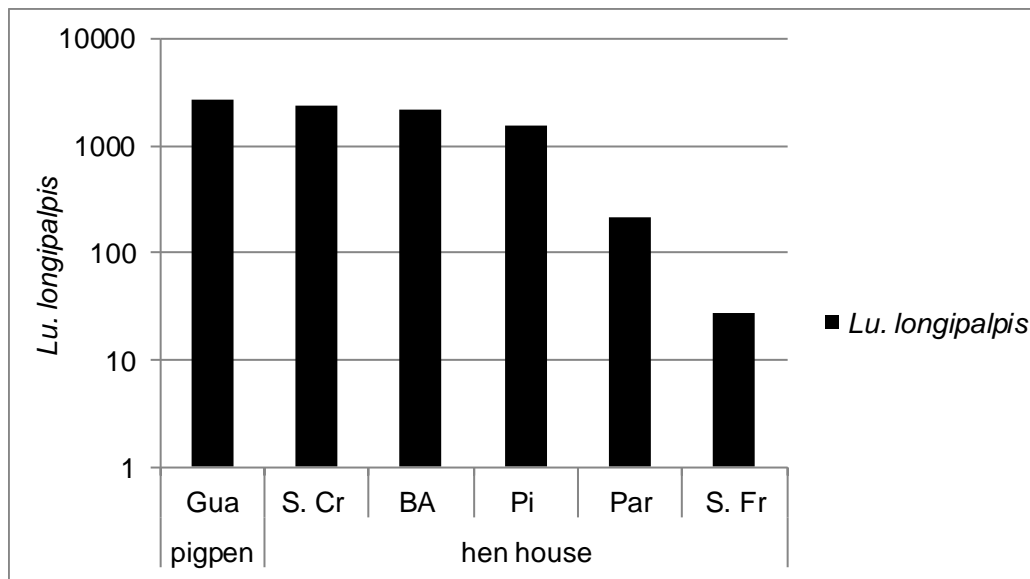


Pi: Pinheiro neighborhood; S. Cr: São Cristóvão neighborhood; Gua: Guanandy neighborhood; BA: Bairro Alto neighborhood; Par: Paraíso neighborhood; S. Fr: São Francisco neighborhood; M: male; F: female.

Comparing the peridomicile ecotopes, the pig pen located in Guanandy presented the highest yield and the greatest variety, with eight out of the ten species collected (Fig. 6 and Table 1).

**Figure 6**

Absolut number in  $\text{Log}_{10}$  of *Lu. longipalpis*, according to ecotopes and neighborhoods in the municipality of Aquidauana, MS, from April 2012 to March 2014.



Pi: Pinheiro neighborhood; S. Cr: São Cristovão neighborhood; Gua: Guanandy neighborhood; BA: Bairro Alto neighborhood; Par: Paraíso neighborhood; S. Fr: São Francisco neighborhood.

***Leishmania* DNA detection in the females**

No DNA of *Leishmania* was detected in the 418 females sand flies assessed through molecular analysis.

**DISCUSSION**

The epidemiology of *leishmaniasis* is complex and thus requires flexible control strategies suitable for each region or focal occurrence. Therefore, knowledge

about vectors is a fundamental tool to understand the transmission dynamics of these morbidities, in order to plan preventive and control measures. This information is especially important in the city studied, where cases of visceral and cutaneous *leishmaniasis* are increasing. Considering that Aquidauana is a part of Pantanal and ecotourism tours and fishing activities are developed in this portion of the State, the contact between vector and human population in is favored.

Several methods of sand flies capture have been used, but among these, light traps stand out and are widely used in fauna studies, as they are easy to use and inexpensive; although they may interfere in both the quality and the quantity of specimens collected<sup>36,37,38</sup>. On the other hand, by standardizing the collections for fortnightly captures during two consecutive years, associated with other capture technique, it was possible to increase the number of specimens collected, providing data to understand the behavior of the species present in the urban area of the city.

Considering the limitations of this type of capture, active aspiration was chosen in order to increase primarily the number of females to investigate the presence of flagellates. After analyzing the performance of the two techniques, it was observed that aspiration obtained the highest number of insects in less time gathering (72h). In contrast, in 7488 hours, light traps captured fewer specimens, but presented more variety. This amount could be explained by the dynamics of the capture technique; while the sandfly is attracted by light and host in one method, in another, the collection is active, without giving the insect a chance to choose.

The wider variety of species profile observed in light traps has already been reported by other authors<sup>39,40,15,16,41,42,43,38</sup>. In fact, this high diversity has also been demonstrated in other municipalities inserted in Pantanal. Casaril et al.<sup>26</sup> found 12 species in a total of 7,370 specimens in the city of Corumbá, MS. In Cáceres, State

of Mato Grosso, despite the lower frequency of insects, 28 different species were observed<sup>44</sup>. In Aquidauana, during the study period, ten species of sand flies were captured in a total of 9,338 individuals, differing from a previous study, conducted between 2003 and 2005<sup>13</sup>, when 16 species were reported and ten of them were different from the present study.

It is known that changes in the environment caused by human action, such as road construction, deforestation, fires, migration and mining can modify some aspects of sand flies' ecology and lead to modifications in the local fauna<sup>45, 46, 47, 48</sup>. Such changes were noted in Aquidauana over this period and possibly interfered with the sandfly fauna of the municipality. The fact that some species can adapt to changes occurred in their environment, while others have their frequency decreased or even disappear is already known<sup>26,22</sup>. Furthermore, both the collection sites and the methodology used in the study of Almeida et al.<sup>13</sup> were different from those used in the present study. In this work, the collections were systematized and performed twice a month during two consecutive years. These issues may explain the differences between both studies regarding the species found.

The four most abundant species in this study were *Lu. longipalpis*, which had the highest number of individuals captured in both techniques used, followed by *Ev. aldafacaoae*, *Ev. walkeri* and *Ev. sallesi*.

An increased frequency of *Lu. longipalpis* was noted when compared to the one reported by Almeida et al.<sup>13</sup>. It is known that the ability of a species to adapt to an environment can be influenced by environmental conditions, abiotic factors, food supply and interspecific competitive interactions<sup>49,50</sup>, therefore *Lu. longipalpis* could be exerting greater selective pressure over the local species<sup>47,49,50,51</sup>, besides that, this species seems to be more anthropized<sup>52, 53, 54, 17, 18, 19, 55, 56, 57, 48, 58</sup>.

The urbanization of the vector strongly indicates its anthropophilic behavior and points out its important role in local transmission of the parasite, since Aquidauana is considered an area of intense transmission of VL<sup>7</sup>. Previous studies have demonstrated the association of a high frequency of *Lu. longipalpis* in regions of higher prevalence of the disease<sup>6,59,60,61,54</sup>. This fact reinforces the species' importance in the link of transmission of the etiologic agent.

The species *Ev. aldafalcaoae* was found in all ecotypes, and appears in second place in the most abundant species ranking. A higher frequency of this species was observed in Pinheiro neighborhood. Aquidauana is the type locality of this species' male<sup>62</sup>. *Ev. aldafalcaoae* has already been reported in other regions of Pantanal, such as Corumbá<sup>26</sup>, Nhecolândia<sup>63</sup> and Caceres in Mato Grosso<sup>40</sup>. In addition to these locations, Dorval et al.<sup>64</sup> found a single male in the domicile of a residence in Bela Vista, Mato Grosso do Sul.

*Evandromyia walkeri* was the third most abundant species however it took the second position in the active aspiration ranking. Although it has been reported in areas of forest and woods<sup>65,66,67,68</sup>, this species was captured in the peridomicile and domicile of almost all the sampled sites. The highest number of *Ev. walkeri* specimens was collected in the neighborhood Guanandy, a fact that could be explained by the proximity of this location to the insect's natural habitat. This neighborhood is inserted into a riparian area of the Guanandy stream and it is located about 100 meters away from the confluence with the Aquidauana river. The presence of *Ev. walkeri* at various sites in the city, even in small numbers, indicates an adaptation process to the urban and anthropic environment, considering that Aquidauana is in expansion process and natural ecotypes are decreasing.

It is highly important to know the behavior of *Ev. walkeri*, as it has been found naturally infected by *Leishmania (Viannia) spp.*<sup>69</sup>. Its participation in the transmission of CL agents is still not proven, but it is believed that this species may be involved in the epidemiological chain of the disease in agroforestry environments<sup>69</sup>.

Captures made by aspiration reflected a different pattern regarding the abundance index. The ranking of species had *Lu. longipalpis* in first place and a variation between *Ev. walkeri* and *Ev. sallesi*. Despite being in third place, *Evandromyia sallesi* presented a low yield in the collection, fact that was also verified by Nunes et al.<sup>54</sup> in the municipality of Bonito, which borders with Aquidauana municipality, where a sporadic low density presence of this species was reported. Although there is no report of anthropophilic behavior, this species has been found with DNA of *L. infantum*<sup>70</sup> enhancing its epidemiological significance.

The Guanandy neighborhood had the highest number of specimens and variety of species caught (eight out of ten) in both techniques of capture; however this site showed a dominance of *Lu. longipalpis*, and therefore Pielou's and Shannon's indexes of this neighborhood occupied the third place among the sampled ecotopes; a tendency also observed in other studies performed in the State<sup>54,22</sup>. On the other hand, São Francisco neighborhood was the ecotope where the highest abundance and evenness indexes of species caught through light trap was registered. Despite the low frequency in capture and the presence of only seven of the ten species collected in the city, it appears that species are in equilibrium in this site, without the predominance of a single one. Guanandy is located in the outskirts of the city; therefore its surroundings presented rural characteristics, including the presence of synanthropic animals near the residences according to the residents.



The second lowest Shannon's index was observed in Bairro Alto neighborhood, situated downtown in the city. This result was similar to the reported by Oliveira et al.<sup>22</sup> in Campo Grande. Usually, central areas of cities are an altered environment by human action; most terrain features constructions and vegetal biomass is reduced, which probably disfavors the presence of several species of sand flies. Species able to adapt to modified environments demonstrates an anthropophilic tendency and the possibility of transmitting pathogens<sup>71,72,73,22,58,74</sup>.

With respect to gender ratio, regardless the type of capture, a predominance of males compared to females was noted. The male-to-female ratio of *Lu. longipalpis* was 8.07:1 using light traps and 5.1:1 through manual aspiration. Comparing both capture methods, a higher yield of females was observed in aspiration, due to the decline of the male-to-female ratio. Ximenes et al.<sup>38</sup> observed a ratio of 18.26 and 4.62 using light traps and manual aspiration, respectively.

Through the use of light traps, was observed that, comparing male-to-female ratios of peridomicile and domicile, only Guanandy neighborhood showed no significant difference among the ecotopes. The domicile presented a greater equilibrium between males and females, probably due to the presence of dogs living inside the residences, which may have contributed to the encounter of more females in this environment<sup>75,76,52,77</sup>. Other authors previously reported differences among the peridomicile and domicile ratios, however a higher proportion of males in all ecotypes was reported<sup>13,6</sup>.

The predominance of males is unanimous, including in studies performed in the State, like Bonito with a ratio of 5.7<sup>54</sup>, Ponta Porã with 4.8<sup>13</sup> and 2.95 in Campo Grande<sup>19</sup>. This behavior may also be influenced by the characteristic of males hatching before females<sup>78,14, 36,19</sup>.

Moreover, the observed predominance can be explained by the lekking behavior described for *Lu. longipalpis*<sup>79,80,81,82</sup>. In this behavior, males are attracted by kairomones released by the hosts, which causes them to release pheromones that attracts females<sup>83,84,85</sup>, providing an environment where sand flies can perform copulation and females can feed in the present animals. Because of the weight of the females after feeding, they could seek refuge in shelters with less luminosity to perform digestion, thus becoming less attracted to the traps<sup>80</sup>. It is possible that the presence of large amounts of males and the attraction of females close to a host is an adaptive process to increase reproductive success of species<sup>81,79,38</sup>.

Regarding the peridomicile and domicile environments, a significant difference was noted between them. The peridomicile was the ecotope with greater quantity and diversity of species, except for San Francisco neighborhood, where the total amount of insects collected was so low that it was impossible to infer about this behavior. Another neighborhood that showed a large quantity of insects in the domicile was Sao Cristovao. It is important to note the proximity of this site to the hen house, since the house wall bordered the enclosure of the hen.

Other studies that reported a higher yielding of *Lu. longipalpis* in the domicile suggested that this behavior may occur, probably, due to unfavorable weather conditions, lack of hosts in the peridomicile and in some cases the presence of domestic animals living inside home, which highlights their endophilic capacity and the possibility of increasing the parasite transmission in this environment<sup>86,39,87</sup>.

Therefore, the greater number of specimens captured in the peridomicile is probably related to the presence of animals. This behavior, as described in several works, shows sand flies' preference for environments with the presence of domestic

or farmed animals<sup>88,89,90,52,91,54,92,93,94</sup>. In fact, some authors emphasize the insects' preference for farmed animals over animals from natural habitats<sup>95,96</sup>.

Regarding *Lu. longipalpis* feeding habit, several studies reported the eclectic habit of this species<sup>75,97,45,76,98,48</sup>, however Morrison et al.<sup>99</sup>, suggested that it may be opportunistic and feeds on the closest animal to its breeding site. A higher attraction for birds, especially chickens, and dogs have also been demonstrated<sup>75,76,52,98,19</sup>. Other domestic mammals such as cats, equines, goats, cattle and swine have also been evidenced participating in the diet of these insects<sup>75,76,100,52,98</sup>.

The pig pen was an environment where the amount of insects collected was very significant. This result is consistent with the studies of Galati et al.<sup>15</sup> and Carvalho et al.<sup>101</sup> who also observed greater attractiveness of sand flies in this ecotope. It can be noted that the presence of large amounts of organic matter, produced by faeces and food scraps show a precarious hygienic environment, which in addition to the shading of the area by a remnant of riparian vegetation, were probably important to create and maintain the insects at this site. This can be justified by other studies that have already shown the presence of organic matter as a predisposal factor to the finding of these insects in environments with such characteristics<sup>102,91,93,94</sup>. Alexander et al.<sup>88</sup> reported other factors that could influence in the attractiveness by different host species that must be considered. The biomass difference, heat loss, CO<sub>2</sub> production and the odor released by the animal, besides blood nutritional value.

According Gomes<sup>51</sup>, this eclectic behavior is a precondition for the ability of a species to evolve to synanthropy. Also according this author, the evidence is in identifying habits related to preferences and shelters. In domiciliation for example, the species tendency of using humans or domestic animals as food supply and

artificial ecotopes as shelters is clear. This fact evidences the survivability of species after the destruction of their natural ecotopes.

Certainly, additional studies regarding the feeding habits and breeding sites of sand flies are needed for a better understanding of *leishmaniases* transmission cycle in the municipality.

In the present study, no sand fly was detected naturally infected with *Leishmania* in a total of 418 females subjected to PCR. A result similar to the recorded by Souza et al.<sup>92</sup>, who found no positivity in their 318 samples. In several studies, the positivity frequency of natural infection by *Leishmania* is described as low. In Brazil, the estimates for infection rates were 0.4% in Bahia and Maranhão<sup>103,104</sup>, 0.7% in Mato Grosso<sup>105</sup>, 0.9% in Minas Gerais<sup>106</sup>, 1.1% in Corumbá<sup>107</sup> and 2% in Rio de Janeiro<sup>108</sup>.

Infection rates can be influenced by vectors' ecological factors such as intraspecific behavior, diet and host population of each region. The selection of the molecular technique employed also influences these rates, once it may lead to lower rates of natural infection<sup>109, 32,110,108,111</sup>.

In the municipality of Aquidauana, the maintenance of *leishmaniases*, especially VL is likely related to the high prevalence of canine infection, since only in 2013, 883 dogs were diagnosed and 1,666 were euthanized, among suspected and confirmed cases<sup>112</sup>.

In the present study was possible to observe sand flies adaptation to the urban area of the municipality of Aquidauana, which was confirmed by the presence of several species both in peridomicile and domicile of all ecotypes. The abundance of the sand fly fauna in the region and the high frequency of *Lu. longipalpis*, a *L. infantum* vector, was noted, demonstrating the need to intensify the monitoring and to

establish more efficient control measures. It is noteworthy that the studied region is involved in several recreational activities, thus representing an even greater risk factor in the transmission of *leishmaniasis*.

### **CONFLICT OF INTEREST**

The authors declare there is no conflict of interests.

### **ACKNOWLEDGMENTS**

We are grateful to the Controle de Vetores, to the residents of the municipality of Aquidauana, Kezia Oliveira Kawasaki (PIBIC-Junior), the whole lab team of human parasitology and the Brazilian agency CAPES and and FUNDECT/SUCITEC/SEMAC Nº 09/2012 – BIOTA-MS for their financial support.

### **REFERENCES**

1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Leishmaniose visceral: recomendações clínicas para redução da letalidade. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.
3. Desjeux P. *Leishmaniasis*: current situation and new perspectives. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis 2004; 27:305- 318.
4. Dantas- Torres F, Brandão- Filho SP. Visceral *leishmaniasis* in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. Rev. Inst. Med. Trop. de São Paulo 2006; 48:151-156.
5. Gontijo B, Carvalho MLR. Leishmaniose tegumentar americana. Rev Soc Bras Med Trop 2003; 36:71- 80.
6. Oliveira GMG, Figueiró- Filho EA, Andrade GMC, Araújo LA, Oliveira MLG, Cunha RV. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) no Município de Três Lagoas, área de transmissão intensa de leishmaniose visceral, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. Rev. Pan- Amazônica de Saúde 2010; 1:83-94.
7. SES/MS - Secretaria de Saúde do Estado de Mato Grosso do Sul. Relatório de notificações de leishmaniose visceral humana, Governo do Estado de Mato Grosso do Sul, Campo Grande 2013

8. Antonialli SAC, Torres TG, Paranhos- Filho AC, Tolezano JE. Spatial analysis of American Visceral *Leishmaniasis* in Mato Grosso do Sul State, Central Brazil. *J Infect* 2007; 54:509-514.
9. Galati EAB, Nunes VLB, Boggiani PC, Dorval MEC, Cristaldo G, Rocha HC, et al. Phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in caves of the Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Rev Bras Entomol* 2003a; 47:283- 296.
10. Ready PD. Biology of Phlebotomine sand flies as Vec. of disease agents. *Annu Rev Entomol* 2013; 58:227 - 250.
11. Souza CF, Borges Maz, Andrade AJ. Contribution to the Knowledge of the Phlebotomine Sand Flies Fauna (Diptera: Psychodidae) of Timóteo Municipality, Minas Gerais, Brazil. *Neotrop Entomol* 2009; 38:267-271.
12. Andrade AR, Nunes VLB, Galati EAB, Arruda CCP, Santos MFC, Rocca MEG, et al. Estudo epidemiológico das leishmanioses em área de turismo ambiental e ecoturismo, Estado de Mato Grosso do Sul, 2006-2007. *Rev Soc Bras Med Trop* 2009; 42:488- 493.
13. Almeida PS, Nascimento JC, Ferreira AD, Minzão LD, Portes F, Miranda AM, et al. Espécies de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) coletadas em ambiente urbano em Municípios com transmissão de Leishmaniose Visceral do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev Bras Entomol* 2010; 54:304–310.
14. Galati EAB, Nunes VLB, DorVAL Mec, Oshiro ET, Cristaldo G, Espíndola MA, et al. Estudo dos flebotomíneos (Diptera, Pychodidae), em área de leishmaniose tegumentar, no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev Saude Pública* 1996; 30:115-128.
15. Galati EAB, Nunes VLB, Cristaldo G. Aspectos do comportamento da fauna flebotomínea (Diptera: Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral e tegumentar na Serra da Bodoquena e área adjacente, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev patol trop* 2003b; 32:235- 261.
16. Galati EAB, Nunes L.B, Boggiani PC, Dorval Mec, Cristaldo G, Rocha HC, et al. Phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in forested areas of the Serra da Bodoquena, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 2006; 101:175-193.
17. Oliveira AG, Falcão AL, Brazil RP. Primeiro encontro de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) na área urbana de Campo Grande, MS, Brasil. *Rev Saude Pública* 2000; 34:654-655.
18. Oliveira AG, Andrade-Filho JD, Falcão AL, Brazil RPA. New Sand Fly, *Lutzomyia campograndensis* sp. n. (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) from the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Mem. do Inst. Oswaldo Cruz* 2001; 96:325-329.
19. Oliveira AG, Galati EAB, Fernandes CE, Dorval Mec, Brazil RP. Ecological aspects of Phlebotomines (Diptera: Psycodidae) in endemic area of visceral

*leishmaniasis*, Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. J Med Entomol 2012a; 49:43-50.

20. Andrade- Filho JD, Carneiro APS, Lima MLN, Santiago RM, Gama MA, Santos CA, et al. Flebotomíneos de Timóteo, Estado de Minas Gerais, Brasil (Diptera: Psychodidae). Cad Saude Publica 1997; 13:767-770.

21. Andrade AJ, Dantas - Torres F. Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae) of the State of Minas Gerais, Brazil. Neotrop Entomol 2010; 39:115-123.

22. Oliveira AG, Galati EAB, Oliveira O, Oliveira GR, Espindola IAC, Dorval MEC, et al. Abundance of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) and urban transmission of visceral *leishmaniasis* in Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2006; 101:869-874.

23. Fraiha H, Ward RD, Shaw JJ, Lainson R. Fauna antropófila de flebotomos da rodovia transamazonica, Brasil (Diptera: Psychodidae). Boletim De La Oficina Sanitaria Panamericana 1978; 84:134-139.

24. Lainson R., Shaw JJ., *Leishmaniasis* in the New World, in L Collier, A Balows, M Sussman (eds), Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Parasitology. Arnold, London, 2005. p. 313-349.

25. Oliveira AG, Galati, EAB, Fernandes CE, Dorval Mec., Brazil RP,. 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 2008; 105:55-61.

26. Casaril AE, Manaco NZN, Oliveira EF, Eguchi GU, Paranhos- Filho AC, Perira LE, et al. Spatiotemporal analysis of sandfly fauna (Diptera: Psychodidae) in an endemic area of visceral *leishmaniasis* at Pantanal, central South America. Parasit Vectrs 2014; 7:1-12.

27. Fernandes EFL, Anunciação VS, impactos de eventos climáticos extremos e seus reflexos na cidade de Aquidauana- MS. Rev. Geonorte, Edição Especial 2012; 1: 207- 720.

28. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Cidades@ [Internet]. Aquidauana: IBGE. [Cited 2013 September 25]. Available at: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=500110>.

30. Galati, E.A.B. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) Classificação, morfologia, terminologia e identificação de Adultos. Departamento de Epidemiologia Faculdade de Saúde Pública. Apostila Disciplina HEP 5752 Bioecologia e Identificação de Phlebotominae 2014 [Internet]. Universidade de São Paulo; [Cited 2011 December 28]. Available from: [http://www.fsp.usp.br/egalati/ApostilaPhlebotominae\\_2014\\_vol\\_I.pdf](http://www.fsp.usp.br/egalati/ApostilaPhlebotominae_2014_vol_I.pdf).

31. Marcondes CB. A proposal of generic and subgeneric abbreviations of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the world. *Entomol News* 2007; 118:351–356.
32. El Tai NOO, Of El Fari M, El Fari M, Presber WH, Schonian G. Genetic heterogeneity of ribosomal internal transcribed spacer (its) in clinical samples of *Leishmania donovani* spotted on filter paper as revealed by single-strand conformation polymorphisms (sscp) and sequencing. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000; 94:575-579.
33. ROBERTS DR, HSI BP. An index of species abundance for use with mosquito surveillance data. *Environ Entomol* 1979; 8:1007- 1013.
34. Margalef R. La teoría de la información en ecología. *Memórias de la Real Academia de Ciencias y Artes de Barcelona* 1957; 32:373-449.
35. Hayek LAC, Buzas MA. *Surveying natural populations*. New York: Columbia University Press. 1997.
36. Galati EAB, Nunes VLB, Rego-JR FA, Oshiro ET, Chang MR. Estudo de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev Saude Publica* 1997; 31:378-390.
37. Oliveira AG, Andrade-Filho JD, Falcão AL, Brazil RP. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) na zona urbana da Cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, 1999-2000. *Cad Saude Publica* 2003; 19:933-944.
38. Ximenes MFFM, Souza MF, Castellón EC. Density of sand flies (Diptera: Psychodidae) in domestic and wild animal shelters in an area of visceral *leishmaniasis* in the State of Rio Grande do Norte, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999; 94:427-432.
39. Flórez M, Martínez JP, Guitierrez R, Luna KP, Serrano VH, Ferro C, et al. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at a suburban focus of visceral *leishmaniasis* in the Chicamocha, Canyon, Santander, Colombia. *Biomedica*, 2006; 26(Supl. 1): 109- 20.
40. Cabrera OL, Mosquera L, Santamaría E, Ferro C. Flebótomos (Diptera: Psychodidae) del departamento de Guaviare, Colombia, con nuevos registros para el país. *Biomédica* 2009; 29:73-86.
41. Galati, EAB., Marassá, AM., Fonseca, MB., Gonçalves- Andrade, R.M., Consales, C.A., Bueno, E.F.M.,. Phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in the Speleological Province of the Ribeira Valley: 3. Serra district - area of hostels for tourists who visit the Parque Estadual do Alto Ribeira (PETAR), state of São Paulo, Brazil. *Rev. Bras. Entomol* 2010; 54:665-76.



42. Moschin JC, Ovallos FG, Sei IA, Galati EAB. Ecological aspects of phlebotomine fauna (Diptera, Psychodidae) of Serra da Cantareira, Greater São Paulo Metropolitan region, state of São Paulo, Brazil. *Rev Bras Epidemiol* 2013; 16: 190-201.
43. Silva, DF., Freitas, R.A., Franco, A.M.R., 2008. Diversidade e Abundância de Flebotomíneos do Gênero *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) em Áreas de Mata do Nordeste de Manacapuru, AM. *Neotrop. Entomol* 2008; 36:138-44.
44. Alvez GB, Oshiro, ET, Leite MC, Melão AV, Ribeiro LM, Mateus NLF, et al. Phlebotomine sandflies fauna (Diptera: Psychodidae) at rural settlements in the municipality of Cáceres, State of Mato Grosso, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2012; 45: 437-43.
45. Barata RA, França-Silva JC, Mayrink W, Silva JC, Prata A, Lorosa ES, et al. Aspectos da ecologia e do comportamento de flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose visceral, Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005; 38:421-25.
46. Costa CHN, Tapety CMM, Werneck GL. Controle da leishmaniose visceral em meio urbano: estudo de intervenção randomizado fatorial. *Rev Soc Bras Med Trop* 2007; 40:415- 19.
47. Forattini OP.. Novas observações sobre a biologia de flebotomos em condições naturais (Diptera, Psychodidae). *Arq Fac Hig Saude Publica Univ Sao Paulo* 1960; 85:209-15.
48. Rangel EF, Vilela ML. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) e urbanização da leishmaniose visceral no Brasil. *Cad Saude Publica, Rio de Janeiro* 2008; 24:2948-52.
49. Peroni N., Hernández MIM. *Ecologia de populações e comunidades*, first ed. Florianópolis, UFSC. 2011.
50. Ricklefs RE. *A Economia da Natureza*, sixth ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2010.
51. Gomes AC. Mecanismos e significado epidemiológico da domiciliação. *Rev Saude Publica* 1986; 20:385-90.
52. Dias FOP, Lorosa ES, Rebêlo JMM. Fonte alimentar sanguínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). *Cad Saude Publica* 2003; 19, 1373-80.
53. Maia- Elkhoury ANS, Sousa- Gomes ML, Sena JM, Luna EA. Visceral *leishmaniasis* in Brazil: trends and challenges. *Cad Saude Pública* 2008; 24:2941-47.
54. Nunes VLB, Galati EAB, Cardozo C, Rocca MEG, Andrade A RO, Santos MFC, et al. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em área urbana do Município de Bonito, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev. Bras. Entomol.* 2008; 52:446-51.

55. Oliveira EF, Silva EA, Fernandes CES, Paranhos- Filho AC, Gamarra, RM, Ribeiro AA, et al. Biotic-factors and occurrence of *Lutzomyia longipalpis* in endemic área of visceral *leishmaniasis*, Mato Grosso do Sul, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2012b; 101:396 - 401.
56. Oliveira EF, Fernandes CES, Silva EA, Brazil RP, Oliveira AG. Climatic factors and population density of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) in an urban endemic area of visceral *leishmaniasis* in midwest Brazil. J Vector Ecol 2013; 2:224-28.
57. Queiroz MFM, Varjão JR, Moraes SC, Salcedo GE. Analysis of sandflies (Diptera: Psychodidae) in Barra do Garças, State of Mato Grosso, Brazil, and the influence of environmental variables on the vector density of *Lutzomyia longipalpis*(Lutz & Neiva, 1912). Rev Soc. Bras Med Trop 2013; 45:313-317.
58. Rêgo FD, Shimabukuro PHF, Quaresma PF, Coelho IR, Tonelli GB, Silva KMS, et al. Ecological aspects of the Phlebotominae fauna (Diptera: Psychodidae) in the Xakriabá Indigenous Reserve, Brazil. Parasit Vectors. 2014; 7: 2- 12.
59. Lainson R, Rangel EF. *Lutzomyia longipalpis* e a eco- epidemiologia da leishmaniose visceral americana (LVA) no Brasil, in: RANGEL, E. F., LAINSON, R. (Org.). Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003. p. 311 - 326.
60. Marcondes M, Rossi CN. Leishmaniose visceral no Brasil. Braz. J Vet Res Anim Sci 2013; 50:341-352.
61. Monteiro EM, Silva JCF, Costa RT, Costa DC, Barata RA, Paula EV, et al. Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. Rev Soc Bras Med Trop 2005; 38:147-52.
62. Santos SO, Andrade- Filho JD, Honer MR. *Lutzomyia aldafalcaoae* sp. n. a New Species of Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) from Mato Grosso do Sul, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2001; 96:791-794.
63. Braga- Miranda LC, Miranda M, Galati EAB. Phlebotomine fauna in a rural area of the Brazilian Pantanal. Rev Saude Publica. 2006; 40:324-26.
64. Dorval ME, Cristaldo G, Rocha HC, Alves TP, Alves MA, Oshiro ET, et al. Phlebotomine fauna (Diptera: Psychodidae) of an American cutaneous *leishmaniasis* endemic area in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. Mem Inst. Oswaldo Cruz 2009; 104:695-702.
65. Guimarães VCFV, Costa PL, Silva FJ, Silva KT, Silva KG, Araújo AIF, et al. . Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in São Vicente Férrer, a sympatric area to cutaneous and visceral *leishmaniasis* in the State of Pernambuco, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 2012; 45: 66- 70.

66. Pinheiro MPG, Silva JHT, Cavalcanti KB, Azevedo PRM, Ximenes MFFM. Ecological interactions among phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in an agroforestry environment of northeast Brazil. *J Vector Ecol* 2013; 38:307- 16.
67. Rangel Ef, Lainson R. Proven and putative vectors of American cutaneous *leishmaniasis* in Brazil: aspects of their biology and vectorial competence. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009;104:937-954.
68. Vilela ML, Azevedo CG, Carvalho BM, Rangel EF. Phlebotomine Fauna (Diptera: Psychodidae) and Putative Vec. of *Leishmaniasis* in Impacted Area by Hydroelectric Plant, State of Tocantins, Brazil. *PLoS ONE*. 2011; 6:1-7.
69. Nieves E, Oraá L, Rondón Y, Sánchez M, Sánchez Y, Rojas M, et al. Effect of Environmental Disturbance on the Population of Sandflies and *Leishmania* Transmission in an Endemic Area of Venezuela. *J Trop Med*, 2014, 2- 7.
70. Saraiva L, Carvalho GML, Gontijo CMF, Quaresma PF, Lima ACVMR. et al. Natural Infection of *Lutzomyia neivai* and *Lutzomyia sallesi* (Diptera: Psychodidae) by *Leishmania infantum chagasi* in Brazil. *J. Medical Entomol* 2009; 46:1159-1163.
71. Silva REA, Andreotti R, Honer MR. Comportamento de *Lutzomyia longipalpis*, vetor principal da leishmaniose visceral americana, em Campo Grande, Estado do Mato Grosso do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop* 2007; 40:420-425.
72. Brazil RP. The dispersion of *Lutzomyia longipalpis* in urban áreas. *Rev Soc Bras Med Trop* 2013; 46,:263- 264.
73. Desjeux P. The increase in risk factors for *leishmaniasis* worldwide. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001; 95:239- 43.
74. Ximenes M De FF, Silva, VPM., Queiroz PVS, Rego M. ,Cortez ALM, Batista L DE M. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) e Leishmanioses no Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil - Reflexos do Ambiente Antrópico. *NeoTrop Entomol* 2007; 36:128-137.
75. Afonso MMS, Duarte, R, Miranda JC, Caranha L, Rangel EF, 2012. Studies on the Feeding Habits of *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) Populations from Endemic Areas of American Visceral *Leishmaniasis* in Northeastern Brazil. *J Trop Med* 2012, 1 -5.
76. Baum M, Ribeiro MCV, Lorosa ES, Damasio GAC, Castro EA,. Eclectic feeding behavior of *Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in the transmission area of American cutaneous *leishmaniasis*, State of Paraná, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2013; 46:560 -65.
77. Muniz Lhg, Rossi Rm, Neitzke Hc, Monteiro Wm, Teodoro U. Estudo dos hábitos alimentares de flebotomíneos em área rural no sul do Brasil. *Rev Saude Publica* 2006; 40:1087-93.

78. Domingues MF, Carreri- Bruno GC, Ciaravolo RMC, Galati EAB, Wanderley DMV, Corrêa FMA. Leishmaniose tegumentar americana: flebotômíneos de área de transmissão, no Município de Pedro de Toledo, região sul do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 1998; 31:425- 432.
79. Jones TM, Quinnell R. Testing predictions for the evolution of lekking in the sandfly, *Lutzomyia longipalpis*. *Anim Behav* 2002; 63:605- 12.
80. Quinnell RJ, Dye C. An experimental study of the peridomestic distribution of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:Psychodidae). *Bull Entomol Res* 1994; 84:379-82.
81. Kelly DW, Dye C. Pheromones, kairomones and the aggregation dynamics of the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. *Anim Behav* 1997; 53:721–31.
- 82 Spiegel CN, Batista- Pereira LG, Bretas JAC, Eiras AE, Hooper AM, Peixoto AA, Soares MJ. Pheromone Gland Development and Pheromone Production in *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *J Med Entomol* 2011; 48:489- 95.
83. Dye C, Davies CR, Lainson R. Communication among phlebotomine sandflies: a field study of domesticated *Lutzomyia longipalpis* populations in Amazonian Brazil. *Anim Behav* 1991; 42:183- 192.
84. . Hamilton JGC, Maingon RDC, Alexander B, Ward RD, Brazil RP. Analysis of the sex pheromone extract of individual male *Lutzomyia longipalpis* sandflies from six regions in Brazil. *Med Vet Entomol* 2005; 19:480-88.
85. Hamilton JGC. Sandfly pheromones their biology and potential for use in control programs. *Parasit* 2008; 15:252-56.
86. Carrasco J, Morrison A, Ponce C. Behaviour of *Lutzomyia longipalpis* in na area of southern Honduras endemic for visceral/atypical cutaneous *leishmaniasis*. *An Med Trop Parasitol* 1998; 92:869- 76.
87. Resende MC, Camargo MCV, Vieira JRM, Nobi RCA, Porto MNM, Oliveira CL, et al. Seasonal variation of *Lutzomyia longipalpis* in Belo Horizonte, State of Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop* 2006; 39:51-5.
88. Alexander B, Carvalho RL, Mccallum H, Pereira MH. Role of the Domestic Chicken (*Gallus gallus*) in the Epidemiology of Urban Visceral *Leishmaniasis* in Brazil. *Emerg Inf Dis* 2002; 8:1480 –85.
89. Araújo JC, Rebêlo JMM, Carvalho ML, Barros VLL. Composição dos flebotômíneos (Diptera, Psychodidae) do Município da Raposa- MA, Brasil. Área endêmica de leishmanioses. *Entomol. Vect.* 2000; 7:33-47.
90. Carvalho ML, Rebêlo JMM, Araújo J, Barros, VLL. Aspectos ecológicos dos flebotômíneos (Díptera, Psychodidae) do Município de São José de Ribamar, MA, Brasil. Área endêmica de leishmanioses. *Entomol Vect* 2000; 7:19-32.

91. Forattini OP, Rabello EX, Galati EAB. Novos encontros de flebotomíneos no estado de São Paulo, Brasil, com especial referência à *Lutzomyia longipalpis*. Rev Saude Publica 1976; 10:125-28.
92. Souza CM, Pessanha JE, Barata RA, Michalsky EM, Costa DC, Dias ES. Study on Phlebotomine sand fly (Diptera: Psychodidae) fauna in Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2004; 99:795-803.
93. Teodoro U, Kühl JB, Santos DR, Santos ES. Impacto de alterações ambientais na ecologia de flebotomíneos no sul do Brasil. Cad Saude Publica 1999; 15:901-06.
94. Teodoro U, Silveira TGV, Santos DR, Santos ES, Santos AR, Oliveira O, et al. Frequência da fauna de flebotomíneos no domicílio e em abrigos de animais domésticos no peridomicílio, nos Municípios de Cianorte e Doutor Camargo- Estado do Paraná- Brasil. Rev PatolTrop 2001; 30:209-23.
95. Cruz MFR, Galati EAB, CFR. Aspectos ecológicos da fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae) em área endêmica de leishmaniose tegumentar americana, sob influência de complexo hidrelétrico no rio Paranapanema, Estado do Paraná, Brasil. Rev Soc Bras Med Trop 2010; 45: 430- 436
96. Machado TO, Bragança MAL, Carvalho ML, Andrade- Filho JD, Species diversity of sandflies (Diptera: Psychodidae) during different seasons and in different environments in the district of Taquaruçú, state of Tocantins, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2012; 107:955-59.
97. Aguiar GM, Vilela ML, Lima RB. Ecology of the sandflies of Itaguaí, na area of cutaneous *leishmaniasis* in the state of Rio de Janeiro. Food preferences (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). Mem Inst Oswaldo Cruz 1987; 82:583-4.
98. . Missawa NA, Lorosa ES, Dias ES. Preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) em área de transmissão de leishmaniose visceral em Mato Grosso. Rev. da Soc. Bras Med Trop 2008; 41:365-8.
99. Morrison AC, Ferro C, Morales A, Tesh RB, Wilson ML. Dispersal of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral *leishmaniasis* in Colombia. J Med Entomol 1993; 30:427-35.
100. Cruz MRF, Galati EAB, Cruz CFR. Ecological aspects of the sandfly fauna (Diptera, Psychodidae) in an American cutaneous *leishmaniasis* endemic area under the influence of hydroelectric plants in Paranapanema river, State of Paraná, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 2012; 45:430- 436.
101. Carvalho MSL, Bredt A, Maneghin ERS, Oliveira C. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em áreas de ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Distrito Federal, Brasil, 2006 a 2008. Epidemiol. Serv Saude 2010; 19:227-237.
102. Carvalho MSL, Bredt A, Maneghin ERS, Oliveira C. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em áreas de ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Distrito Federal, Brasil, 2006 a 2008. Epidemiol. Serv. Saude 2010; 19:227-37.

103. Miranda JC, Reis E, Schriefer A, Gonçalves M, Reis MG, Carvalho L, Fernandes O, Barral- Netto M, et al. Frequency of Infection of *Lutzomyia* Phlebotomines with *Leishmania braziliensis* in a Brazilian Endemic Area as Assessed by Pinpoint Capture and Polymerase Chain Reaction. Mem Inst Oswaldo Cruz 2002; 97:185-8.
104. Oliveira- Pereira YN, Rabêlo JMM, Moraes JLP, Pereira SRF. Diagnóstico molecular da taxa de infecção natural de flebotomíneos (Psychodidae, *Lutzomyia*) por *Leishmania* sp na Amazônia maranhense. Rev Soc Bras Med Trop.2006; 39:540-43.
105. Missawa NA, Michalsky EM, Fortes- Dias CL, Dias ES. *Lutzomyia longipalpis* naturally infected by *Leishmania* (*L.*) *chagasi* in Várzea Grande, Mato Grosso State, Brazil, an area of intense transmission of visceral leishmaniasis. Cad Saude Publica 2010; 26:2414-19.
106. Carvalho MSL, Bredt A, Maneghin ERS, Oliveira C. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em áreas de ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Distrito Federal, Brasil, 2006 a 2008. Epidemiol Serv Saude 2010; 19:227-37.
107. Pita- Pereira D, Cardoso MAB, Alves CR, Brazil RP, Britto 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 Trop 2008; 107:66–9.
108. Pita- Pereira D, Alves CR, Souza MB, Brazil RP, Bertho AL, Barbosa AF, et al. 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. Trans. Royal Soc. of Trop. Med. and Hyg. 2005; 99:905–13.
109. Dávila AMR, Momen H. Internal-transcribed-spacer (ITS) sequences used to explore phylogenetic relationships within *Leishmania*. An Med Trop Parasitol 2000; 94:651- 54.
110. Marfurt J, Nasereddin A, Niederwieser I, Jaffe CL, Beck, Hans-Peter FI. Identification and differentiation of *Leishmania* species in clinical samples by pcr amplification of the miniexon sequence and subsequent restriction fragment length polymorphism analysis. J Clin Microbiol 2003; 41:3147–53.
111. Soares MRA, Carvalho CC, Silva LA, Lima MSCS, Barral A MP, Rebêlo JMM, et al. Análise molecular da infecção natural de *Lutzomyia longipalpis* em área endêmica de leishmaniose visceral no Brasil. Cad Saude Publica 2010; 26:2409-13.
112. Secretaria de Saúde do Estado de Mato Grosso do Sul Relatório de notificações de leishmaniose visceral canina, Governo do Estado de Mato Grosso do Sul, Campo Grande 2014.



#### 4.2 Artigo 2: Contribuição dos Índices de Sensoriamento Remoto na caracterização dos ambientes de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae)

Helen Rezende de Figueiredo<sup>(1)</sup>; Anny Keli Aparecida Alves Cândido<sup>(2)</sup>; César Claudio Cáceres Encina<sup>(2)</sup>; Everton Falcão de Oliveira<sup>(2)</sup>, Jaíza Santos Motta<sup>(2)</sup>, Jucelei de Oliveira Infran<sup>(3)</sup>; Aline Etelvina Casaril<sup>(1,3)</sup>; Elisa Teruya Oshiro<sup>(3)</sup>; Antonio Conceição Paranhos Filho<sup>(2)</sup>; Alessandra Gutierrez de Oliveira<sup>(1, 3)</sup>

(1)Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias, Faculdade de Medicina Dr Hélio Mandetta, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

(2)Laboratório de Geoprocessamento para Aplicações Ambientais, Faculdade de Engenharia e Arquitetura, Urbanismo e Geografia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

(3)Laboratório de Parasitologia Humana, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Cidade Universitária s/n.79070-900, Campo Grande, MS, Brasil.

#### RESUMO

Os flebotomíneos são vetores de *Leishmania* spp, responsáveis pelas leishmanioses, que são doenças infecciosas com alta prevalência no Brasil. A biologia e ecologia dos flebotomíneos podem sofrer influências do ambiente, bem como da interação com o ambiente e os hospedeiros vertebrados em um determinado ecótopo. Mato Grosso do Sul vem passando por um processo de urbanização que resulta em perda de vegetação nativa. Essas mudanças podem causar alterações na ocorrência de flebotomíneos e na epidemiologia das leishmanioses. Novas tecnologias estão sendo empregadas para elucidar as epidemiologias que necessitam de insetos para sua transmissão. Os índices de NDVI e NDWI tem permitido maiores esclarecimento no padrão de ocupação dos flebotomíneos, pois permitem analisar as condições ambientais e as mudanças devido as ações antrópicas no meio em que os flebotomíneos estão presentes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a fauna e aspectos do comportamento dos flebotomíneos no Município de Aquidauana, MS, Brasil, área endêmica para as



leishmanioses. Para a análise entomológica foram realizadas capturas quizenais de abril de 2012 a março de 2014, no intra e peridomicílio de residências com armadilhas automáticas luminosas das 18h às 6h. A vegetação da área urbana foi avaliada pelo Índice de Vegetação por Diferença Normalizada e Índice de Umidade por Diferença Normalizada. Um total de 3.179 espécimes foram coletados. A fauna identificada consistiu-se em: *Brumptomyia brumpti*, *Evandromyia aldafalcaoae*, *Ev. evandroi*, *Ev. lenti*, *Ev. orcyi*, *Ev. sallesi*, *Ev. termitophila*, *Ev. walkeri*, *Lutzomyia longipalpis* e *Psathyromyia bigeniculata*. A espécie mais abundante foi *Lutzomyia longipalpis* e esteve presente em todos os ecótopos. É possível observar como as mudanças no peridomicílio afetaram a densidade e distribuição das espécies ao longo das capturas. Além disso, os dados sugerem que as diferentes populações de flebotomíneos podem se adaptar de diferentes maneiras às condições ambientais.

Palavras chaves: Índices espectrais, alteração ambiental, Leishmaniose.

### ABSTRAT

Sandflies are vectors of *Leishmania* spp accountable for *leishmaniasis* that are infectious diseases with high prevalence in Brazil. The biology and ecology of sandflies it can be influenced by the environment, as well as interaction with the environment and vertebrate hosts in a particular breeding sites. Mato Grosso do Sul has been undergoing a process of urbanization which results in loss of native vegetation. These changes can cause changes in the occurrence of sandflies and *leishmaniasis* epidemiology. The objective of this study was to evaluate the fauna and aspects of the behavior of sandflies in the city of Aquidauana, MS, Brazil, an area endemic for *leishmaniasis*. For entomological analysis fortnightly catches were made from April 2012 to March 2014, the intra and peridomicile residences with automatic light traps from 18:00 to 6h00h. The vegetation of the urban area was evaluated by Difference Vegetation Index Normalized and Humidity Index Normalized Difference. A total of 3,179 specimens were collected. The fauna consisted of: *Brumptomyia brumpti*, *Evandromyia aldafalcaoae*, *Ev. evandroi*, *Ev. Lenti*, *Ev. orcyi*, *Ev. sallesi*, *Ev. termitophila*, *Ev. walkeri*, *Lutzomyia longipalpis* and *Psathyromyia bigeniculata*. The most abundant species was *Lutzomyia longipalpis* and was present in all ecotypes. You can see how changes in peridomicile affected the density and distribution of the species over the catch. Furthermore, the data

suggest that the different populations of sandflies can adapt differently to environmental conditions.

Key words: spectral indices, environmental change, *Leishmaniasis*.

## INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças endêmicas, sendo a leishmaniose visceral (LV) presente em 19 Estados e a Leishmaniose tegumentar (LT) disseminada em todo o território brasileiro, ainda continuam em expansão para diversos municípios no Brasil (BRASIL, 2013; 2014). Em Mato Grosso do Sul (MS) a LV expandiu, provavelmente, com a construção do gasoduto a partir de 1998, apresentando casos notificados nos municípios de acordo com o avanço das instalações e podendo estar relacionada à migração de pessoas e animais das áreas endêmicas para não endêmicas (ANTONIALLI *et al.* 2007).

As leishmanioses estão associadas à interação do vetor com diversos fatores determinantes, como: desequilíbrio ecológico produzido pela ação do homem nos nichos naturais da doença, variações sazonais e susceptibilidade da população (DOURADO *et al.* 1989; SALOMÓN *et al.* 2015). Mudanças ambientais são difíceis de serem percebidas e com isso a expansão do vetor, por vezes, torna-se imperceptível, deixando a população à surtos da doença.

Sabe-se que os flebotomíneos necessitam de açúcares de plantas para se alimentar e somente as fêmeas realizam a hematofagia necessária para maturação dos ovos. Estes são depositados no solo rico em matéria orgânica. Além disso, para o desenvolvimento das formas imaturas as condições do meio devem ser favoráveis, como umidade local elevada, vegetação, locais protegidos de vento e de animais como fonte alimentar para as fêmeas (BRAZIL; BRAZIL, 2003; Lainson; Rangel, 2003). Peridomicílios com a presença desses fatores fornecem microambientes ideais para o encontro desses insetos (COSTA *et al.* 2013; FERNÁNDEZ *et al.* 2013; FORATTINI 1954; OLIVEIRA *et al.* 2012; QUEIROZ *et al.* 2012; SANTINI *et al.* 2010; TEODORO *et al.* 2010).

Várias estratégias de controle têm sido utilizadas pelo sistema de saúde pública sem grande sucesso, com isso o comportamento e a ecologia dos vetores tem sido estudado utilizando-se diversos métodos para tentar elucidar a cadeia epidemiológica. O sensoriamento remoto é uma dessas ferramentas, que possibilita a avaliação das mudanças ambientais e pode auxiliar no desenvolvimento de

medidas de controle de insetos vetores (CRONER, BROOME, 1996; HUGH-JONES, 1989; THOMSON, CONNOR, 2000) e está sendo amplamente utilizado em estudos de flebotomíneos e leishmanioses (OLIVEIRA *et al.* 2006; SANTOS; MONTEIRO; SILVA, 2013; SALOMÓN; QUINTANA, 2011; WERNECK; MAGUIRE, 2002; ZEILHOFER *et al.* 2008).

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar os ambientes da área urbana do Município de Aquidauana, MS e associar as mudanças da fitofisionomia.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### *Área e local de estudo*

A sede do Município de Aquidauana está localizada nas coordenadas 20° 28' 15"S e 55° 47' 13"W, a 139 km de Campo Grande, capital do estado. Situa-se na porção oeste do Estado de Mato Grosso do Sul. Segundo o censo 2014 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2014), a população do município é de 45.614 habitantes. Insere-se entre os domínios vegetacionais do Cerrado e do Pantanal, região em que se inicia a planície pantaneira sul mato-grossense. Apresenta características geomorfológicas do Planalto de Maracajú e da Depressão Aquidauana/Bela Vista, que delimitam seu território. A área urbana do município é banhada pelo rio Aquidauana e pelos córregos João Dias e Guanandy (FERNANDES; ANUNCIAÇÃO, 2012).

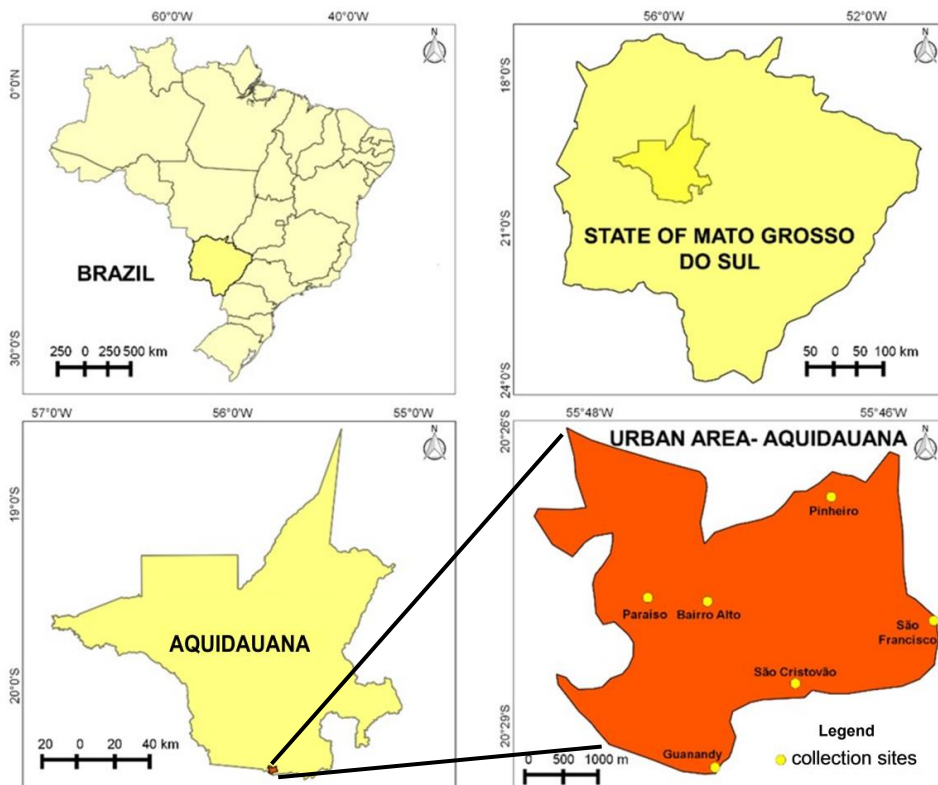
O clima é tropical com duas estações definidas, chuvosa no verão (novembro a abril) e seca no inverno (maio a outubro), sendo o mês de julho o mais seco. As precipitações variam de 750 a 1.800 mm anuais. Na estação seca os índices pluviométricos médios são inferiores a 50 mm (ZARONI *et al.* 2011).

A área de estudo está sobre aluviões quaternários assentados sobre a Formação Aquidauana, datada do período Carbonífero Superior, e compreende arenitos com granulometria variável, de fina a grosseira (SCHIAVO *et al.* 2010; SOUZA *et al.* 2015). Os solos de maior ocorrência na região são podzol hidromórfico, plintossolo álico, distrófico e eutrófico e latossolo vermelho escuro (SILVA *et al.* 1996).

Para a realização do trabalho, foram selecionados seis bairros e em cada um deles foi escolhida uma residência na qual foram instaladas duas armadilhas

luminosas, uma no peridomicílio e outra no intradomicílio. O critério de seleção de bairros foi baseado nos relatórios de notificações de casos de leishmaniose visceral e/ou tegumentar (humana e/ou canina), bem como pelo registro de abrigos de animais domésticos tais como canis, galinheiros e chiqueiros. Os bairros selecionados de acordo com a maior ocorrência foram: Bairro Alto, Pinheiro, São Francisco, São Cristovão, Guanandy e Paraíso (Figura 1).

**Figura 1.** Área de estudo e respectivos pontos de coleta no Município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil, 2014.



As residências apresentavam árvores frutíferas no quintal, bem como em casas vizinhas, além da presença de aves domésticas e cães. O Bairro Guanandy se destacou pela heterogeneidade no peridomicílio, apresentando desde remanescentes de mata ciliar até a presença de pocilga. Os bairros Paraíso e Pinheiro são margeados pelos córregos João Dias (que dista cerca de 120 m do ponto de coleta do Paraíso e 500m do Pinheiro) e o córrego Guanandy, que delimitam os pontos do São Francisco (cerca de 40m da residência), São Cristovão (aproximadamente 200m) e Guanandy (o córrego situa-se no peridomicílio). Todos esses bairros se encontram na periferia da cidade, com exceção do Bairro Alto, que

se situa em região mais urbanizada, a cerca de 180m do Parque Lagoa Comprida, local de lazer da população com a presença de áreas verdes.

### *Captura dos flebotomíneos*

As coletas foram realizadas com armadilhas luminosas tipo Falcão modificadas, no período de abril de 2012 a março de 2014, das 18h às 06h, duas vezes ao mês, quinzenalmente, no intra e peridomicílio das residências. Os flebotomíneos foram identificados seguindo a classificação de Galati (2014) e a abreviação do gênero de Marcondes (2007).

### *Caracterização dos ambientes de coleta*

Foram utilizadas imagens *Landsat 5 TM* (de 22/09/2011 - INPE, 2011) e *Landsat 8 OLI* (27/09/2013 - USGS, 2013), de órbita-ponto 225/074.

Foram escolhidas imagens do período de seca, pois apresenta maior contraste entre as fitofisionomias (PARANHOS FILHO, 2000) e menor percentual de nuvens. Antes de ser utilizada, a imagem do satélite *Landsat 5* foi georreferenciada com base na imagem *Landsat 8*. Posteriormente as imagens L5 e L8 passaram por correção atmosférica. Nesse trabalho adotou-se o *datum* WGS84, zona 21 sul e o processamento foi realizado no software QGIS Versão 8.1 (QGIS DEVELOPMENT TEAM, 2015).

Para as variáveis ambientais e cálculo da cobertura vegetal de cada ponto de coleta, foi utilizado o *Normalized Difference Vegetation Index* (NDVI), utilizado para caracterizar a fitofisionomia predominante em cada local de coleta, assim o valor médio do NDVI expressa a fitofisionomia e o desvio padrão de seus valores a heterogeneidade do ambiente.

Para o cálculo de NDVI (Rouse *et al.* 1973) foram utilizadas a reflectância da vegetação nas bandas do vermelho (bandas 4 TM e 3 OLI) e infravermelho próximo (bandas 5 TM e 4 OLI):

$$NDVI = (NIR - R) / (NIR + R)$$

Em que *NIR* é a energia refletida no infravermelho próximo e *R* é a energia refletida da região do vermelho.

Para caracterizar a umidade nos ambientes de coleta foi utilizado o *Normalized Difference Water Index* (NDWI), que permite ainda estimar a impermeabilização das áreas, avaliando o grau de antropização.

O NDWI foi gerado a partir das bandas infravermelho médio (bandas 6 TM e 5 OLI) e infravermelho próximo (bandas 5 OLI e 4 TM). Esse índice foi gerado de acordo com Gao (1996):

$$\text{NDWI} = (\text{NIR} - \text{SWIR}) / (\text{NIR} + \text{SWIR})$$

Onde *SWIR* é a energia refletida no infravermelho médio.

O NDWI detecta a presença de umidade na vegetação e assim como o NDVI os valores variam de -1 a 1. Quando os valores de reflectância na faixa espectral do infravermelho médio são altas, os valores do Índice são negativos indicando ausência de umidade na cobertura vegetal. Por outro lado, valores baixos de reflectância na faixa espectral do infravermelho médio indicam que o teor de água da vegetação é alto, uma vez que a água absorve a radiação nessa faixa espectral. Como resultado o NDWI apresenta valores positivos.

Para os seis pontos de coleta das residências, foram gerados *buffers* da área central da casa, com distâncias de 60m (pontual), 500m (região do entorno próximo) e 1000m (bairro/região), para caracterizar a fitofisionomia dos pontos de coleta do Município de Aquidauana/MS.

Esses *buffers* serviram de base para definir e caracterizar os ambientes de cada ponto de coleta. As correlações entre os flebotomíneos e o ambiente foram realizadas de acordo com os valores máximos, médios, mínimos e o desvio-padrão das amostras geradas a partir dos índices.

Para o cálculo da área ocupada pelas fitofisionomias, o índice de vegetação (NDVI) foi reclassificado utilizando os intervalos da Tabela 1 e posteriormente vetorizado. De acordo com a falsa cor foram classificados em área de mata no verde escuro, cerrado com verde médio, área de gramínea (vegetação rasteira, inclui áreas de pastagem) na cor verde claro, ambiente antropizado que inclui solo exposto e impermeável, na cor marrom e corpo hídrico em azul. Os intervalos de classificação realizados pelos cálculos do NDVI estão na tabela 1.

O grau de associação entre as variáveis ambientais (NDVI e NDWI) e a frequência absoluta (número total) por ano de *Lu. longipalpis* foi avaliado pelo coeficiente de correlação de Spearman. Considerou-se o valor de  $p \leq 0,05$  para

demonstrar a significância estatística. O software R versão 3.2.0 (R CORE TEAM, 2014) foi utilizado para esta análise.

**Tabela 1.** Classificação das áreas segundo os cálculos do NDVI e seus respectivos intervalos.

Classificação	Intervalos
Água	-1,00 — 0,0
Área Antrópica	0,01 — 0,3
Vegetação Rasteira	0,31 — 0,5
Cerrado	0,51 — 0,6
Mata	0,61 — 1,0

### *Aspectos éticos*

Foi concedida a licença permanente de coleta e transporte de material zoológico sob o número 25592-1, no nome da Professora Dr.<sup>a</sup> Alessandra Gutierrez de Oliveira, através do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (Sisbio/IBAMA).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Após 24 meses de estudo foram coletados 3.179 espécimes de flebotomíneos, 2.210 no primeiro ano e 969 no segundo (Tabela 2).

Com relação aos flebotomíneos coletados em cada ponto, pode-se notar diferenças quanto ao número de exemplares e às espécies presentes em cada local ao longo do trabalho (Tabela 2), demonstrando a heterogeneidade de cada habitat e a influência das mudanças em nível de microambiente (Figura 2).

Foram coletadas dez espécies de flebotomíneos (Tabela 2). A espécie *Lutzomyia longipalpis* representou 93,02% do total, seguida de *Evandromyia walkeri* (4,25%) e *Evandromyia aldafalcaoae* (0,98%). As demais espécies somam 1,76%.

**Tabela 2.** Distribuição das espécies de flebotomíneos de acordo com pontos de coleta capturados através da armadilha Falcão no Município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil, nos períodos de abril de 2012 a março de 2013 (ano 1) e abril de 2013 a março de 2014 (ano 2).

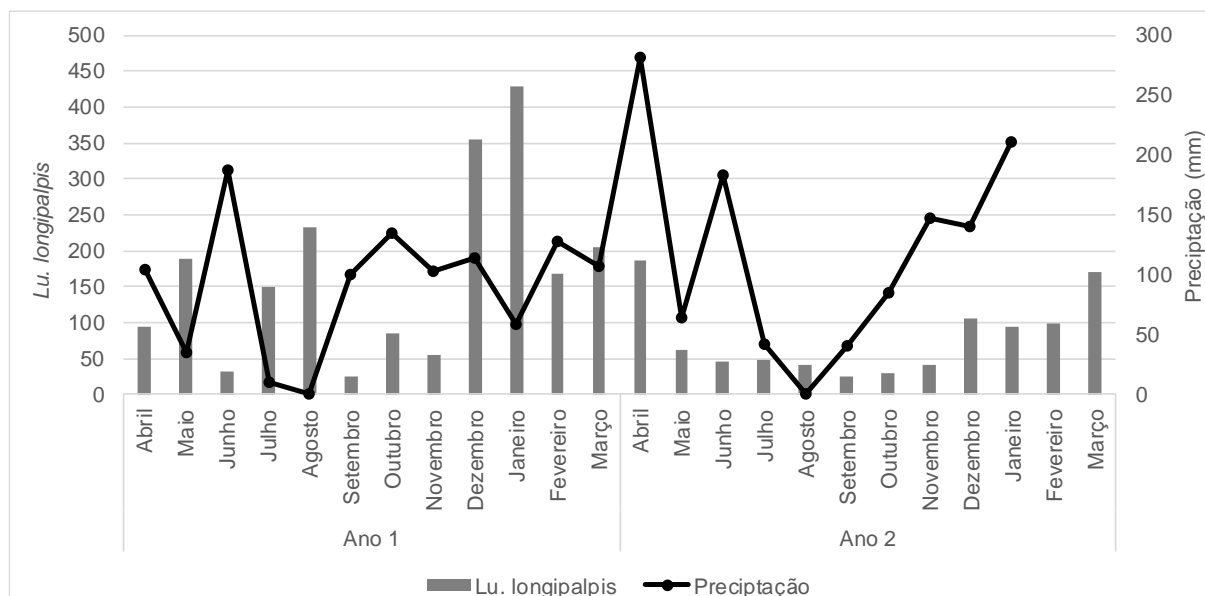
Espécies	Ano 1							Ano 2							
	Bairro Alto	Guanandy	Paraíso	Pinheiro	São Cristovão	São Francisco	Total	Bairro Alto	Guanandy	Paraíso	Pinheiro	São Cristovão	São Francisco	Total	
<i>Br. brumpti</i>	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ev. aldafalcaoae</i>	1	1	2	14	2	-	20	-	-	-	7	3	1	11	
<i>Ev. evandroi</i>	1	8	2	1	-	-	12	-	-	-	1	2	-	3	
<i>Ev. lenti</i>	-	2	1	-	-	-	3	-	-	-	1	-	-	1	
<i>Ev. orciy</i>	-	6	-	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Ev. sallesi</i>	-	11	-	-	-	-	11	-	2	-	-	1	-	3	
<i>Ev. termitophila</i>	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Ev. walkeri</i>	-	112	5	-	1	9	127	3	5	-	-	-	-	8	
<i>Lu. longipalpis</i>	109	652	40	781	429	5	2016	263	125	10	66	474	3	941	
<i>Pa. bigeniculata</i>	-	10	1	2	-	-	13	-	-	-	-	1	1	2	
Total	110	801	49	784	432	15	2210	266	132	10	75	481	5	969	

*Br.*: *Brumptomyia*; *Ev.*: *Evandromyia*; *Lu.*: *Lutzomyia*; *Pa.*: *Psathyromyia*.

*Lutzomyia longipalpis* foi observada em todos os pontos de coleta, inclusive em áreas com maior grau de antropização ou áreas com pouco acúmulo de material orgânico e em todos os meses da pesquisa (Figura 3). Vários trabalhos relatam a distribuição anual desse táxon em diferentes regiões do país, com redução da frequência em períodos de seca ou inverno (ALMEIDA *et al.* 2010; MACHADO *et al.* 2012; OLIVEIRA *et al.* 2008; OLIVEIRA *et al.* 2013; SILV *et al.* 2007; SILV *et al.* 2010; VILELA *et al.* 2011). O número elevado de capturas dessa espécie e sua presença em todos os meses do ano podem aumentar os riscos de um possível contato com o vetor e as chances da transmissão das leishmanioses para a população humana.

Figura 3. Distribuição mensal de *Lu. longipalpis* de acordo com a precipitação do Município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil, abril de 2012 a março de 2014.





No que se refere ao NDVI, em 2013 foi observada redução na biomassa vegetal quantificada pelas imagens *Landsat*, quando comparadas a 2011 (Tabela 3). Esta redução ocorreu em todos os *buffers* (60m, 500m e 1000m) de todos os ecótipos amostrados (tabela 3), indicando perda de fitomassa em toda a região.

No primeiro período do estudo, os bairros com valores de NDVI acima de 0,50 no raio de 60m apresentaram maior quantidade de espécies, dentre estes: Guanandy (n=8; NDVI= 0,55), Paraíso (n=6; NDVI= 0,51) e São Francisco (n=4; NDVI= 0,51). Em contrapartida, no Bairro Alto, com o menor do índice, NDVI 0,42 no raio de 60m, foram coletadas apenas três espécies. Com a redução da quantidade de vegetação no segundo período, o número de espécies e indivíduos diminuiu na maioria dos bairros (Tabela 3).

Outros trabalhos relatam também o encontro de maior variedade de espécies de flebotomíneos em ambientes com altos valores do NDVI, como no Município de Corumbá (MS), no trabalho de Casaril *et al.* (2014) relatando maior quantidade de espécies no bairro que apresentou elevado valor de NDVI. Este perfil foi semelhante ao observado por Andrade *et al.* (2014) em áreas próximas a remanescente de mata nativa em Ponta Porã. Há outros trabalhos que reforçam esse padrão de ocupação entre densidade de insetos e vegetação (OLIVEIRA *et al.* 2006; OLIVEIRA *et al.* 2012; FERNÁNDEZ *et al.* 2014). Essas áreas verdes podem estar proporcionando locais com condições favoráveis para criação e abrigo de vetores. Além disso, é sabido que adultos de flebotomíneos alimentam-se de açúcares de plantas

(CAMERON *et al.* 1995). Esse comportamento faz com que eles permaneçam próximos a locais ricos em vegetação.

Outra possibilidade para a variabilidade da distribuição desses insetos entre bairros estaria relacionada à sua distribuição focal, restringindo-os aos peridomicílios que apresenta condições favoráveis, tais como presença de animais, plantas e terreno sombreado (CAMARGO-NEVES *et al.* 2001)., Fernández *et al.* (2013) ressaltam a importância para medidas preventivas contra possíveis casos de leishmanioses nessas residências. Assim, possivelmente esses insetos estejam respondendo na escala do microambiente, com comportamento diferenciado dependendo das condições ambientais onde cada residência está inserida.

Não foram observadas correlações significativas entre ambas as variáveis ambientais (NDVI e NDWI) e as frequências absolutas anuais de *Lu. longipalpis*, que representaram 91.22 e 97.11% do total de espécimes coletados durante o primeiro e segundo ano, respectivamente. Esse fato pode ser explicado pelo encontro dessa espécie em todos os ambientes analisados, estabelecendo-se em vários nichos independentemente do grau de antropização da vegetação, e também por apresentarem hábito alimentar generalista (Referencia).

**Tabela 3.** Valores médios do NDVI e NDWI nos *buffers* de 60m, 500m e 100m de acordo com o ponto de coleta no Município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil, das imagens do mês setembro de 2011 (*Landsat 5*) e setembro de 2013 (*Landsat 8*).

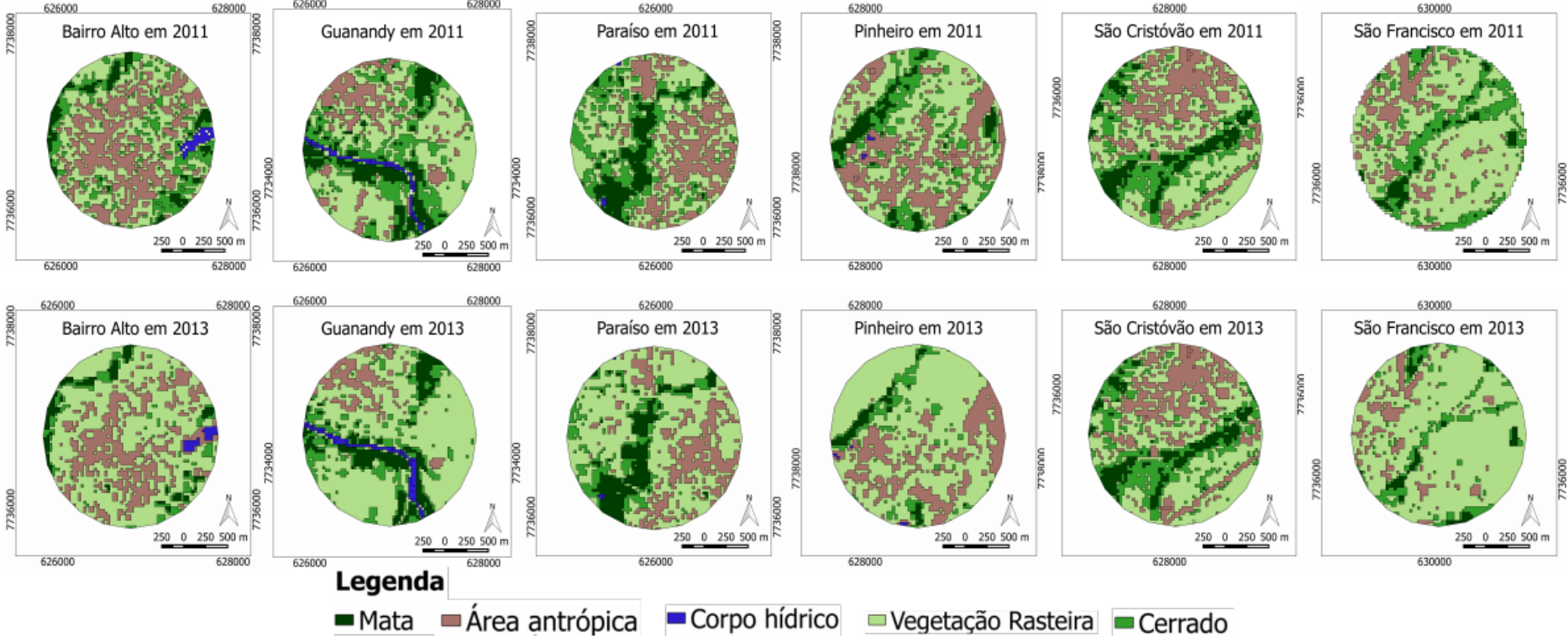
		Bairro Alto		Guanandy		Paraíso		Pinheiro		São Cristovão		São Francisco	
		2011	2013	2011	2013	2011	2013	2011	2013	2011	2013	2011	2013
60m	Média	0.4289	0.4000	0.5501	0.4248	0.5081	0.4562	0.4334	0.3505	0.4476	0.3442	0.5042	0.4162
NDVI	500m Média	0.4083	0.3186	0.5343	0.4432	0.5223	0.4318	0.4641	0.3812	0.4975	0.3907	0.4983	0.4011
	1000m Média	0.4369	0.3426	0.5035	0.4238	0.5152	0.4233	0.4573	0.3630	0.5110	0.4037	0.4893	0.3890
60m	Média	-0.0117	0.0314	0.0524	0.0388	0.0311	0.0613	-0.0186	-0.0036	-0.0104	-0.0298	0.0236	0.0328
NDWI	500m Média	-0.0216	-0.0111	0.0717	0.0994	0.0492	0.0602	-0.0123	-0.0074	0.0161	-0.0075	-0.0233	0.0127
	1000m Média	0.0001	0.0069	0.0112	0.0492	0.0403	0.0468	-0.0235	-0.0214	0.0270	0.0216	-0.0217	-0.0117
Nº indivíduos		110	266	801	132	49	10	784	75	432	481	15	5
Nº espécies		3	2	8	3	6	1	4	4	3	5	4	3
Lista das espécies		<i>Lu. longipalpis</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	<i>Lu. longipalpis</i>
		<i>Ev. aldafalcaoae</i>		<i>Ev. aldafalcaoae</i>		<i>Ev. aldafalcaoae</i>		<i>Ev. aldafalcaoae</i>	<i>Ev. aldafalcaoae</i>	<i>Ev. aldafalcaoae</i>	<i>Ev. aldafalcaoae</i>	<i>Ev. aldafalcaoae</i>	<i>Ev. aldafalcaoae</i>
			<i>E. walkeri</i>	<i>E. walkeri</i>	<i>E. walkeri</i>	<i>E. walkeri</i>				<i>Ev. walkeri</i>		<i>Ev. walkeri</i>	<i>Ev. walkeri</i>
				<i>Pa. bigeniculata</i>		<i>Pa. bigeniculata</i>		<i>Pa. bigeniculata</i>			<i>Pa. bigeniculata</i>		<i>Pa. bigeniculata</i>
			<i>Ev. evandroi</i>	<i>Ev. evandroi</i>		<i>Ev. evandroi</i>		<i>Ev. evandroi</i>	<i>Ev. evandroi</i>	<i>Ev. evandroi</i>			
		<i>Ev. lenti</i>		<i>Ev. lenti</i>		<i>Ev. lenti</i>			<i>Ev. lenti</i>				
				<i>Ev. sallesi</i>	<i>Ev. sallesi</i>						<i>Ev. sallesi</i>		
				<i>Ev. orcyi</i>									
												<i>Br. brumpti</i>	
												<i>Ev. termitophila</i>	

*Br.*: *Brumptomyia*; *Ev.*: *Evandromyia*; *Lu.*: *Lutzomyia*; *Pa.*: *Psathyromyia*.

A umidade, quantificada através do NDWI, foi maior em 2013 (Tabela 3). Nesse período foram registrados altos índices pluviométricos na região (1.477,60 mm), o que refletiu nos valores do NDWI, em contrapartida à densidade populacional de flebotomíneos que diminuiu.

Sabe-se, que apesar das formas imaturas de flebotomíneos necessitarem de umidade no solo, este, uma vez encharcado, pode prejudicar o desenvolvimento das larvas ou até mesmo matá-las (CASANOVA *et al.* 2013).

**Figura 3.** Área do *Buffer* de 1.000m de cada bairro do Município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil, em ambos os períodos (2011 e 2013).



A respeito das análises dos ecótopos em separado, o bairro Guanandy apresentou a maior quantidade de biomassa vegetal (*buffer* de 60m) no período de 2011 e no raio de 1000m foi caracterizado o local, que apresentou maior superfície caracterizada como mata e menor extensão de área antropizada (Tabela 4).

Ao analisar este ponto observamos que esta residência fica à margem do córrego Guanandy (Figura 3). Entretanto, este foi o bairro em que houve a maior redução de fitomassa no ano de 2013 em relação ao ano anterior, alterando inclusive, a classificação do tipo de vegetação (de cerrado para área de vegetação rasteira) e neste mesmo período houve baixo rendimento na coleta de flebotomíneos.

É importante salientar que neste ponto de coleta havia uma pocilga, o que garantia fonte alimentar para as fêmeas de flebotomíneos e acúmulo de material orgânico, podendo servir como possível abrigo e criadouro, como observado por Forattini (1953) que recolheu amostras do solo de chiqueiro e observou a presença de larvas desses insetos. Apesar das condições ideais para a manutenção de flebotomíneos, no segundo período ocorreu uma diminuição na densidade populacional, bem como redução da fitomassa, o que pode ter influenciado o ciclo de vida desses dípteros. Teodoro *et al.* (1999), ao estudarem a ação das alterações ambientais na dinâmica populacional, perceberam redução na quantidade de alados após redução da vegetação e limpeza do quintal. Outros autores sugerem que essas alterações no microambiente podem mudar a ecologia de insetos vetores de doenças (RUTLEDGE; ELLENWOOD, 1975; PATZ *et al.* 2000; PESSOA *et al.* 2007; TRAVI *et al.* 2002).

**Tabela 4.** Classes do NDVI por bairro no *buffer* de 1.000 metros, ilustrando as percentagens relativas às áreas encontradas.

Área (metros)	Mata (%)	Corpo hídrico (%)	Área antrópica (%)	Vegetação rasteira (%)	Cerrado (%)	Total (%)
Bairro Alto	7,65	2,53	25,26	39,49	25,06	100
Guanandy	16,65	1,92	9,75	23,88	47,80	100
Paraíso	15,44	0,14	19,3	33,16	31,96	100
Pinheiro	5,38	0,13	23,03	46,71	24,75	100
São Cristóvão	11,39	0,00	20,68	39,22	28,71	100
São Francisco	6,98	2,89	9,52	49,57	31,03	100

Além disso, neste mesmo período os moradores da residência do bairro Guanandy fizeram aplicação de produtos fenólicos (creolina) na limpeza da pocilga, o que pode ter interferido na quantidade de insetos no local da coleta no segundo período, repelindo-os ou até mesmo matando-os. Trabalhos anteriores demonstram que a utilização de produtos químicos contra carrapatos, pulgas e moscas têm efeito contra flebotomíneos, agindo tanto em formas imaturas quanto aladas (BARATA *et al.* 2011; INGENLOFF *et al.* 2013). Apesar desses produtos terem efeitos residuais de curto prazo, quando utilizados com frequência parecem auxiliar no controle de flebotomíneos no peridomicílio.

Este é o bairro onde foi coletada maior quantidade de espécies e maior número de exemplares de *Ev. walkeri*, com exceção apenas das espécies *Ev. termitophila* e *Br. brumpti* que não estiveram presentes (Tabela 2).

Isso pode ser explicado pelo grande percentual de áreas de mata e cerrado encontrados ao longo do Guanandy em relação a outros bairros. É possível que essas áreas verdes se encontrem em avançado estágio de sucessão ecológica, apresentando condições adequadas para o desenvolvimento de distintas espécies de flebotomíneos (AZEVEDO *et al.* 2011; NETO *et al.* 2012; PESSOA *et al.* 2007; SILVA *et al.* 2008). As áreas de mata apresentam maior riqueza de insetos entre eles os flebotomíneos como descritos na literatura (ANDRADE-FILHO *et al.* 2001; SILVA *et al.* 2008) e a redução implica em impactos tanto na variedade quanto no número de exemplares coletados (PESSOA *et al.* 2007; TRAVI *et al.* 2002).

A espécie *Evandromyia walkeri* foi coletada com maior representatividade no bairro Guanandy. Os maiores rendimentos dessa espécie foram observados no primeiro período e nos pontos com valores do NDVI acima de 0.51 (*buffer* de 60m). No segundo período apresentou declínio da quantidade dos indivíduos no Guanandy e São Francisco. Nos demais bairros essa espécie não foi coletada no segundo período, concomitante com a redução da vegetação, podendo indicar que essas espécies só existem em ambientes mais preservados e dependem diretamente da fitomassa local para sua sobrevivência, seja pela maior disponibilidade de açúcares das plantas, por seu abrigo ser em meio a vegetação ou que as formas imaturas necessitem de certo tipo de substrato presente em áreas de matas além da umidade presente na vegetação, que corresponde aos valores positivos do NDWI.

Em contrapartida, no Bairro Alto foram coletados três exemplares dessa espécie no segundo ano. Nesse período o NDWI apresentou maior quantidade de umidade na vegetação. Outro fator que pode ser importante para esse táxon é a umidade. Apesar do NDVI apresentar valor menor a 0,51, este ambiente não apresentou alteração expressiva do índice de fitomassa, mas a umidade na vegetação apresentou um aumento, o que pode ter contribuído para a ocorrência de *Ev. walkeri* nesse período, sugerindo que esta espécie seja mais sensível ao ressecamento.

Esta espécie pode ser um bioindicador para a qualidade do habitat. Segundo Markert, Breure e Zechmeister (2003), um bioindicador pode ser definido como um organismo (ou parte de um organismo ou uma comunidade de organismos), que contém informação sobre a qualidade do meio ambiente (ou uma parte do ambiente). Os principais métodos de monitoramento biológico abrangem o levantamento e avaliação de modificações na riqueza de espécies e índices de diversidade, a abundância de organismos resistentes, a perda de espécies sensíveis, entre outros (Barbour *et al.* 1999). Barrett *et al.* (1996) discutem a importância dos flebotomíneos como bioindicadores, sugerem que esses insetos por dependerem diretamente da fauna de vertebrados, podem promover informação sobre a conservação do ambiente, porém muitas informações sobre a ecologia estão sendo perdidas por muitos trabalhos relatarem somente listas das espécies presentes no local de coleta.

A espécie *Lu. longipalpis* foi bastante representativa no bairro Guanandy dentre os flebotomíneos coletados. Esse fato pode ser explicado pelo comportamento eclético que este flebotomíneo apresenta em relação ao hábito alimentar e à diversidade de ambientes, corroborando com outros trabalhos que relatam esse táxon em ambientes com presença de pocilgas (CARVALHO *et al.* 2010; CRUZ *et al.* 2012; FORATTINI, 1954; GALATI *et al.* 2003b; OLIVEIRA *et al.* 2006; TEODORO, KÜHL, SANCHES, 2011).

Pouco frequente, *Pa. bigeniculata* foi coletada apenas no primeiro período e encontrada em ambiente com maior quantidade de fitomassa, sendo o bairro Guanandy o local com maior número de indivíduos coletados. Esta espécie é descrita em ambiente de mata e cerrado, como observado por Andrade *et al.* (2009) que estudaram a fauna de flebotomíneos presente em Bonito (MS).



Outra espécie coletada foi *Ev. sallesi*, encontrada nos dois períodos no ecótopo do Guanandy. Segundo Carvalho, *et al.* (2009) esta espécie possui distribuição restrita, sendo encontrada apenas em alguns Estados brasileiros. Em Mato Grosso do Sul, foi relatada por Nunes *et al.* (2008) ocorrendo de modo esporádico e com baixa densidade no Município de Bonito.

A espécie *Ev. orcyi* foi coletada unicamente no bairro Guanandy, o que pode indicar que esta espécie está em processo de adaptação a áreas antropizadas. Esta espécie foi descrita recentemente por Oliveira *et al.* (2015) no Município de Selvíria (MS)..

A residência localizada na região do Paraíso apresentou o segundo maior valor tanto para o NDWI quanto para o NDVI nos dois períodos e em todas as escalas. É a área que possui o segundo maior percentual de cobertura vegetal com características de mata. A área peridomiciliar compõe-se de árvores frutíferas. Havia também poucas galinhas (n= 5) e patos (n=2), sendo que algumas galinhas permaneciam presas dentro de um cercado de tela. As demais aves permaneciam soltas e dormiam no limoeiro (local que foi instalada a armadilha). Notava-se ainda acúmulo de entulhos (madeira, restos de construção, materiais de casa em desuso). Esse bairro é margeado pelo córrego João Dias, que dista cerca de 120m do imóvel. Na quadra ao lado há um sítio com vegetação rasteira utilizada para pastagem. E nas casas vizinhas visualizam-se inúmeras árvores. Pode-se verificar que animais domésticos como cães e gatos dormiam dentro da moradia. Entretanto, o número de flebotomíneos coletado no intradomicílio foi reduzido.

Segundo Gontijo e Melo (2004), a compreensão das interações entre as alterações do ambiente urbano e os vetores flebotomíneos é um requisito para o desenvolvimento de ações adequadas de estratégias de prevenção e controle.

Apesar desse ecótopo apresentar as condições para o estabelecimento de flebotomíneos, alguns fatores podem ter influenciado negativamente nesses insetos, como matéria orgânica reduzida e a pouca quantidade de aves. Outro fator que pode ter contribuído são os tipos de árvores no local. Nesse bairro, assim como no São Francisco (que apresentou baixo rendimento no número de indivíduos), as galinhas se alojavam no limoeiro. Ready *et al.* (1986) verificaram que algumas espécies de flebotomíneos apresentaram preferência por árvores com copas grandes.

No bairro Pinheiro, o habitat exibiu o menor índice de umidade em todas as escalas em ambos os períodos, e o segundo menor valor de NDVI no contexto pontual (60m). A caracterização dos ambientes mostrou maior percentagem de vegetação rasteira e menor em extensão de mata. Este bairro apresenta em seu entorno áreas ainda não construídas. Em relação ao peridomicílio, possui apenas uma árvore no quintal (limoeiro) e animais domésticos como cães e galinhas. As aves ficavam presas dentro de um galinheiro feito de madeira, que foi desativado em janeiro de 2013, restando apenas duas aves, que se alojavam na árvore do lote vizinho.

O rendimento dos flebotomíneos nesse bairro foi maior no primeiro período do estudo (abril de 2012 a março de 2013), decrescendo após a retirada do galinheiro.

Vários trabalhos relatam a importância dos galinheiros como atrativos para esses insetos, proporcionando fonte de alimento e acúmulo de matéria orgânica (ALEXANDER *et al.* 2002; CASANOVA 2001). Além disso, o galinheiro fechado pode produzir microhabitats protegidos, ou seja, mesmo que os índices de umidade e vegetação na área não sejam favoráveis, o galinheiro pode manter a umidade local e a segurança necessária ao desenvolvimento das formas imaturas (SILVA *et al.* 2012). Com a retirada do abrigo, bem como da fonte alimentar, os flebotomíneos adultos podem ter migrado dessa área em busca de locais com condições adequadas à sua sobrevivência. A redução gradativa dos adultos ao longo do período pode, possivelmente, ser devido à presença de ovos e formas imaturas que se encontravam antes da retirada do galinheiro. Em condições laboratoriais, o ciclo de vida desses insetos pode variar entre 30 e 70 dias (ALENCAR, *et al.* 2007; BRAZIL; BRAZIL, 2003; FORATTINI, 1973; XIMENES, *et al.* 2011).

A espécie mais frequente nesse ecótopo do bairro Pinheiro foi *Lu. longipalpis*. Apesar da redução no segundo período, apresentou a maior quantidade de exemplares coletados (n=859). A segunda espécie mais abundante foi *Ev. aldafalcaoae*. Essa espécie também foi coletada nos ecótopos do Bairro Alto e São Francisco, porém apenas um exemplar em cada habitat.

No segundo período, houve uma redução do número de exemplares coletados no bairro Pinheiro, provavelmente devido à retirada do galinheiro. Esta espécie foi descrita na Vila Trindade, o que pode sugerir que as condições ambientais possam ser semelhantes e propiciam o encontro dessa espécie. Podemos observar no *buffer* de 1.000m (bairro Pinheiro), que a maior área da

fitofisionomia se apresenta como vegetação rasteira e apresentou baixa umidade na vegetação; os valores negativos representam umidade em solo exposto/áreas abertas. Cada espécie apresenta um ecossistema próprio o que favorece sua sobrevivência e menor competição interespecífica (RICKLESF, 2003; DÍAZ *et al.* 2005).

Outra espécie encontrada nesse habitat foi a *Pa. bigeniculata*, coletada no período em que havia o galinheiro, bem como os exemplares de *Ev. evandroi*.

O valor de NDVI foi o menor no raio de 60m no ano de 2013 para o bairro São Cristovão. Esse ponto foi o único que demonstrou redução do índice de umidade de 2011 para 2013 em todos os *buffers*. Em relação à caracterização geral, apresentou mais áreas de pastagem e cerrado. A vegetação do peridomicílio continha copas grandes que sombreavam quase a totalidade do lote. As aves, a princípio, eram confinadas em pequenas gaiolas, próximas ao canil. Após o mês de novembro os moradores delimitaram parte do lote com tela e confinaram as aves neste local, aumentando o número de galinhas. Não foi detectada limpeza nesta área, o que resultou em acúmulo de material orgânico ao longo do período.

Nesse bairro, o córrego Guanandy está presente a cerca de 210m da residência. Foi o ecótopo que apresentou o segundo maior rendimento de *Lu. longipalpis* em ambos os períodos desse estudo. Logo após a implementação do galinheiro houve um incremento no número de flebotomíneos, porém ao longo do período o número de insetos manteve-se semelhante ao do ano anterior.

Apesar da redução de ambos, NDVI e NDWI no ano de 2013, a maior quantidade de flebotomíneos nesse período, possivelmente deve-se ao aumento da oferta de alimentos, à falta de limpeza do terreno, aliada às sombras das árvores que, provavelmente, mantiveram a umidade local proporcionando um ambiente estável para a procriação e desenvolvimento dos indivíduos.

Embora o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento proíba a criação de galinhas em ambiente urbano, esta prática ainda é comum no município. Em nosso estudo observamos que as aves domésticas presentes nos peridomicílio induz maior quantidade de flebotomíneos. Não há um consenso sobre o papel desses animais na cadeia epidemiológica das leishmanioses. Alguns autores relatam que as galinhas, além de serem atrativas aos flebotomíneos, também podem proporcionar ambiente favorável para a reprodução, pelo acúmulo de seus

dejetos (ALEXANDRE, *et al.* 2002; LAINSON, RANGEL, 2005; ARAÚJO-PEREIRA, *et al.* 2014). Por outro lado, a criação de aves no peridomicílio poderia servir como barreira zooprofilática, uma vez que elas não se infectam com *Leishmania*, evitando a entrada das fêmeas de flebotomíneos nas casas em busca de alimento (COSTA, 2011; MARCONDES; ROSSI, 2013).

No ponto de coleta no bairro São Francisco ocorreu alteração na classificação da vegetação em 2013, devido à perda de fitomassa no raio de 60m, que passou de cerrado para área de vegetação rasteira. No lote do imóvel havia poucas galinhas (n=3) que se alojavam à noite em uma árvore, onde a armadilha era instalada. Também apresentava algumas árvores frutíferas que faziam pouca sombra no quintal, os raios solares atingiam a maior parte do terreno e ainda não foi observado acúmulo de material orgânico. Nos fundos da residência havia um sítio onde o córrego Guanandy estava presente, além do local fornecer áreas de pastagem para vacas e cavalos. Os moradores relatavam a presença de animais, como gambás e lobinhos.

O baixo rendimento nas coletas de flebotomíneos, principalmente de *Lu. longipalpis*, pode estar relacionado com a preferência desses insetos por lugares com maior disponibilidade de fonte alimentar para formas adultas, tais como animais domésticos. Forattini (1954) e Santini *et al.* (2012) constataram que, locais com umidade relativa do ar elevada, sombreados e ricos em material orgânico apresentam maior abundância de flebotomíneos e podem ser sítios reprodutivos. Coletas realizadas em áreas de mata e ambientes urbanizados demonstram maior predileção de flebotomíneos por áreas antropizadas com a presença de animais domésticos, vegetação e acúmulo de matéria em decomposição do que em ambientes naturais (MACHADO *et al.* 2012; QUEIROZ *et al.* 2013), o que sugere adaptação a ambientes urbanos.

Assim, a menor quantidade de flebotomíneos encontrada nessa região pode ter sido influenciada não só pelo peridomicílio, mas também pelo seu entorno, que apresentou acentuado grau de antropização.

Quanto às espécies, foi o único bairro que apresentou as espécies *Br. brumpti* e *Ev. termitophila*, no primeiro período da pesquisa. A espécie *Br. brumpti* foi relatada por Andrade *et al.* (2009) em ambientes fechados e em áreas adjacentes às casas, especialmente nas bordas e no interior de áreas arborizadas. Foi relatada por

Nunes *et al.* (2008) ocupando diferentes ecótopos, como no interior de uma mata de preservação, pocilga e também no peridomicílio. Essa espécie, assim como *Ev. termitophila*, pertence ao grupo que tem preferência alimentar por tatus (Dasipodídeos) (MARTINS, *et al.* 1964; AGUIAR; MEDEIROS; 2003).

No Bairro Alto foram observados os menores índices de fitomassa, porém no raio de 60m a redução de biomassa foi mais discreta. Esse ambiente exibiu a maior superfície com característica antropizada. É o bairro que está localizado na parte mais urbanizada da cidade. Em relação ao NDWI, pode-se observar aumento da umidade em todos os *buffers* (60m, 500m e 1000m) em 2013 comparado a imagem de 2011, principalmente no que se refere a escala pontual (raio de 60m) onde houve um aumento de - 0,012 (2011) para + 0,040 (2013). Verificou-se aumento significativo na densidade de *Lu. longipalpis* no segundo ano, algo que diferiu dos demais bairros. As outras espécies presentes foram *Ev. aldafalcaoae*, *Ev. evandroi*, *Ev. lenti* e *Ev. walkeri* o que sugere que a ocorrência destas espécies pode estar relacionada com o índice de umidade no microambiente.

O local da instalação da armadilha luminosa no Bairro Alto era em uma jabuticabeira onde as aves passavam a noite. Ao lado havia uma mangueira, um canil e um tanque de lavar roupa em que a água constantemente escorria ao solo umedecendo a área, além das folhas e frutos caídos. Mais ao fundo continha bananeira e outros tipos de vegetação, além de entulhos em que alguns patos faziam ninhos. As residências vizinhas também apresentavam algumas árvores nos quintais.

A elevação da umidade na vegetação no ecótopo do Bairro Alto no raio de 60m pode ter contribuído para o aumento do número de indivíduos. A umidade é importante para a sobrevivência tanto dos adultos, uma vez que são sensíveis ao ressecamento, quanto formas imaturas, beneficiando o desenvolvimento da larva (AGUIAR *et al.* 1985; ALEXANDER *et al.* 1992; AZEVEDO *et al.* 1993; BASIMIKE *et al.* 1991; COMER; BROWN, 1993; GOMES *et al.* 1980; MEMMOTT 1991).

## CONCLUSÕES

Por meio do sensoriamento remoto foi possível caracterizar as áreas com maior ocorrência de flebotomíneos utilizando o NDVI e o NDWI. Pode-se verificar que o maior número de indivíduos, bem como a variedade de espécies, ocorreu em

ambientes com valores elevados de fitomassa e umidade na vegetação. A redução da fitomassa pode ter influenciado a densidade e a distribuição desses insetos. Esse padrão foi observado em escala de microambiente, ou seja, em nível de peridomicílio. A variação ambiental influenciou no padrão de ocupação dos flebotomíneos de um período para outro, sugerindo que o monitoramento das condições ambientais utilizando técnicas mais apuradas e modernas possam orientar os programas de controle, delimitando as áreas urbanas mais propensas ao encontro destes insetos.

### Referências

AGUIAR, G. M; MEDEIROS, W. M 2003. **Distribuição regional e habitats das espécies de flebotomíneos do Brasil**. In EF Rangel, R Lainson (eds.), *Flebotomíneos do Brasil*, Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 207-255.

AGUIAR, G. M; VILELA, M. L.; SCHUBACK, P; SOUCASAU, T; AZEVEDO, A. C. R. Aspectos da ecologia dos flebotomos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro. IV. Frequência mensal em armadilhas luminosas (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 80, n. 4, p. 465-482, 1985.

ALENCAR, R. B. Emergência de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em chão de floresta de terra firme na Amazônia Central do Brasil: Uso de um modelo modificado de armadilha de emergência. **Acta Amazon**, v. 37, p. 287-292, 2007.

ALEXANDER, B; CARVALHO, R. L; MCCALLUM, H; PEREIRA, M. H. Role of the Domestic Chicken (*Gallus gallus*) in the Epidemiology of Urban Visceral *Leishmaniasis* in Brazil. **Emergent Infect Disease**; v.8, p.1480 –85, 2002

ALEXANDER, B; FERRO, C., YOUNG, D. G; MORALES, A; TESH, R. B. Ecology of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a focus of *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* in Northern Colombia. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, n. p. 387-395, 1992.

ANDRADE A. R. O, DORVAL M. E. M. C, ANDRADE S. M. O, MARQUES A, LIMA-JR, M. S. C, SILV, B. A. K, ANDREOTTI, R: First report of natural infection of phlebotomines for *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* captured in Ponta Porã, on the border between Brazil and Paraguay. **Asian Pac Journal Tropical Disease**, v. 1, p. 253–258, 2011.

ANDRADE, A. R. O. D., NUNES, V. L. B., GALATI, E. A. B., ARRUDA, C. C. P. D., SANTOS, M. F. D. C., ROCCA, M. E. G., AQUINO, R. B. Epidemiological study on *leishmaniasis* in an area of environmental tourism and ecotourism, State of Mato Grosso do Sul, 2006-2007. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 5, p. 488-493, 2009.

ANTONIALLI S. A. C, TORRES T. G, PARANHOS-FILHO A. C, TOLEZANO J. E: Spatial analysis of American Visceral *Leishmaniasis* in Mato Grosso do Sul State, Central Brazil. **Journal Infectology**, v. 54, p. 509–514, 2007

APARICIO, C., BITENCOURT, M. D. Modelagem espacial de zonas de risco da leishmaniose tegumentar americana. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 4, p. 511-516, 2004.

ARAUJO-PEREIRA T, FUZARI A. A, ANDRADE FILHO J. D, PITA-PEREIRA D, BRITTO C, BRAZIL R. P. Sand fly fauna (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in na área of *leishmaniasis* transmission in the municipality of Rio Branco, state of Acre, Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 3, n. 7, p. 2-5, 2014.

AZEVEDO, A. C., LUZ, S. L. B., VILELA, M. L., & RANGEL, E. F. Studies on the sandfly fauna of Samuel ecological station, Porto Velho municipality, Rondônia state, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 88, n. 4, p. 509-512, 1993.

AZEVEDO, P. C. B.; LOPES G. N.; FONTELES R. S.; VASCONCELOS G. C.; MORAES J. L. P.; REBÊLO J. M. M. The effect of fragmentation on phlebotomine communities (Diptera: Psychodidae) in areas of ombrophilous forest in São Luís, state of Maranhão, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 40, n. 2, p. 271-277, 2011.

BARATA, R. A., URSINE, R. L., NUNES F. P., MORAIS, D. H., ARAÚJO, H. S. Synanthropy of mosquitoes and sand flies near the Aimorés hydroelectric power plant, Brazil. **Journal of Vector Ecology**. v. 37, n. 2., p. 397-401, 2012.

BARBOUR, M.T.; GERRITSEN, J.; SNYDER, B.D. STRIBLING, J.B. 1999. Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish, 2<sup>a</sup> ed. EPA 841-B-99-002. U.S. Environmental Protection Agency; Office of Water; Washington, D.C.

BARRETT T.V, FREITAS R.A, ALBUQUERQUE M.I.C, HURTADO GUERRERO J.C. Report on a collection of *Lutzomyia* sand flies (Diptera: Psychodidae) from the Middle Solimões (Amazonas, Brazil). **Memória do Instituto Oswaldo Cruz** v. 91, p. 27-35, 1996.

BARRETT T.V, FREITAS R.A, NAIFF M.F, NAIFF R.D 1991. As leishmânias e seus transmissores em relação à saúde na Amazônia. In AL Val, R Figliuolo, E Feldberg, Bases Científicas para Estratégias de Preservação e Desenvolvimento da Amazônia: Fatos e Perspectivas. Inpa, Manaus, v. 1, p. 105-117.

BASIMIKE, M., MUTINGA, M. & KUMAR, R. Distribution of sandflies (Diptera: Psychodidae) in three vegetation habitats in the Marigat Area, Baringo District, Kenya. **Journal of Medical Entomology**, v. 28, p. 330-333, 1991.

BO-CAI GAO. NDWI A Normalized Difference Water Index for remote sensing of vegetation liquid water from space. **Remote Sensing of Environment**, v 58, p. 257-266, 1996

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual da Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRAZIL, R. P.; BRAZIL, B. G. **Biologia de flebotomíneos neotropicais**. In: Rangel E. F; Lainson R. (Org.). Flebotomíneos do Brasil. 2. ed. Rio de Janeiro: Fiocruz. 2003. p. 257-274.

BRAZIL, R. P.; BRAZIL, B. G. **Bionomia**. In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. (org.). Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2003. 368 p. 257-274.

CAMARGO-NEVES, V.L.F.; KATZ, G.; RODAS, L.A.C.; POLETO, D.W.; LAGE, L.C.; SPÍNOLA, R.M.F.; CRUZ, O. G. Utilização de ferramentas de análise espacial na vigilância epidemiológica de leishmaniose visceral americana - Araçatuba, São Paulo, Brasil, 1998-1999. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.17, n.5, p.1263-1267, 2001.

CAMERON, M. M.; PESSOA, F. A.; VASCONCELOS, A. W., WARD, R. D. Sugar meal sources for the phlebotomine sandflies *Lutzomyia longipalpis* in Ceará State, Brazil. **Medicine and Veterinary Entomology**, v. 9, p. 263-272, 1995.

CARVALHO, G. M., BRAZIL, R. P., FALCÃO, A. L., ANDRADE FILHO, J. D. Distribuição geográfica do complexo *cortezzi* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) no Brasil. **Neotrop Entomol**, v. 38, n. 6, p. 876-9, 2009.

CASANOVA C, ANDRIGHETT, M. T. M, SAMPAIO S. M. P, MARCORIS M. L. G, COLLA-JACCQUES F. E, PRADO A. P. Larval breeding sites of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in visceral *leishmaniasis* endemic urban areas in Southeastern Brazil. **PLoS Negl Tropical Disease**, v. 7, issue 9, e2443, p. 1-9, 2013.

CASANOVA, C. A Soil Emergence Trap for Collections of Phlebotomine Sand Flies. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 2, p. 273-275, 2001.

CASARIL, A. E, MANACO, N. Z. N, OLIVEIRA, E. F., EGUCHI, G. U, PARANHOS-FILHO, A. C, PERIRA, L. E., OSHIRO, E. T., GALATI, E. A. B., MATEUS, N. L. F., OLIVEIRA, A. G. Spatiotemporal analysis of sandfly fauna (Diptera: Psychodidae) in an endemic area of visceral *leishmaniasis* at Pantanal, central South America. **Parasit Vectrs**. v. 7, p. 1-12, 2014

CECCATO, 2002. Designing a spectral index to estimate vegetation water content from remote sensing data: Part 1 Theoretical approach. **Remote Sensing of Environment**, v 82, p. 188–197.

COMER, J. A., BROWN, J. Use of hollow trees as diurnal resting shelter by *Lutzomyia shannoni* (Diptera: Psychodidae) on Ossabaw Island, Georgia. **Environmental entomology**, v. 22, n. 3, p. 613-617, 1993.

COSTA, P. C., DANTAS-TORRES, F, SILV, F. J., GUIMARÃES, V. C. F. V., GAUDÊNCIO, K., BRANDÃO-FILHO, S. P. Ecology of *Lutzomyia longipalpis* in an



area of visceral *leishmaniasis* transmission in north-eastern Brazil. **Acta Tropica**, v. 126, p. 99–102, 2013.

COSTA, P. L. (2011). **Comportamento da fauna de flebotomíneos, com ênfase em *Lutzomyia longipalpis*, em área endêmica para leishmaniose visceral no município de Passira**, Agreste de Pernambuco (Doctoral dissertation, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães).

CRONER, C., BROOME, F.R. **Geographic Information Systems (GIS): New Perspectives in Understanding human health and environmental relationships**. Statistics in medicine. v. 15, p. 1961-1977, 1996.

DÍAZ, S., TILMAN, D., FARGIONE, J., CHAPIN III, F.S., DIRZO, R., KITZBERGER, T., GEMMILL, B., ZOBEL, M., VILÀ, M., MITCHELL, C., WILBY, A., DAILY, G.C., GALETTI, M., LAURANCE, W.F., PRETTY, J., NAYLOR, R., POWER, A., AND HARVELL, D. (2005) **Biodiversity regulation of ecosystem services**. In R. Hassan, R. Scholes, and N. Ash (Eds.), *Ecosystems and human well-being: Current state and trends* (pp. 297-329). Washington D.C.: Island Press.

DOURADO, M. I. C., NORONHA, C. V., ALCANTARA, N., ICHIHARA, M. Y. I., LOUREIRO, S. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana e suas relações com a lavoura e o garimpo, em localidade do estado da bahia (Brasil). **Revista de Saúde Pública de São Paulo**, v.23, n. 1, p. 2-8, 1989.

FERNÁNDEZ, M. S. SANTINI, M. S., CAVIA, R., SANDOVAL, A. H., PÉREZ, A. A., ACARDI, S., SALOMÓN, O. D. Spatial and temporal changes in *Lutzomyia longipalpis* abundance, a *Leishmania infantum* vector in an urban área in northeastern Argentina. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro v. 108, n. 7, p. 817-824, 2013.

FERNÁNDEZ, M. S., SANTINI, M. S., CAVIA, R., SANDOVAL, A.E., ADRIANA PÉREZ, A., ACARDI, S., SALOMÓN, O. D. Spatial and temporal changes in *Lutzomyia longipalpis* abundance, a *Leishmania infantum* vector in an urban área in northeastern Argentina. . **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro. v. 108, n. 7, p. 817-824, 2013.

FOLHES, M. T. (2005). Uma aplicação da banda termal do TM/*Landsat-5* no gerenciamento dos recursos hídricos. In Anais XII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto. INPE, Goiânia, p. 3009-3016.

FORATTINI, O. P. Algumas observações sobre a biologia de Flebótomos (Diptero, Psychodidae) em região da bacia do Rio Paraná (Brasil). **Arquivo da Faculdade de Higiene e Saúde Pública de São Paulo**, v. 8, n. 1, 1954.

FORATTINI, O. P. Nota sobre criadouros naturais de flebótomos em dependências peridomiciliares, no Estado de São Paulo. **Arquivos da Faculdade de Higiene de São Paulo**, v. 7, p. 157-165, 1953.

FORATTINI, O.P. **Entomologia Médica**. São Paulo: Edgard Blücher. v. 4, p. 658, 1973.

GOMES, A. C, RABELLO, E. X., SANTOS J. L. F., GALATI, E. A. B. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. 1. Estudo experimental da frequência de flebotomíneos em ecótopos artificiais, com referência especial a *Ps. intermedius*. **Revista de Saúde Pública**, v. 14, p. 540-556, 1980.

GONTIJO, C. M. F., MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista brasileira de epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 338-49, 2004.

HUGH-JONES, M. Applications of Remote Sensing to the identification of the Habitats of Parasites and Disease Vectors. **Parasitology Today**. v.5, n.8, p. 244-252, 1989.

INGENLOFF K., GARLAPATI R., POCHÉ D., SINGH MI., REMMERS J. L., POCHÉ R. M. Feedthrough insecticides for the control of the sand fly *Phlebotomus argentipes*. **Medice Veterinary Entomological**, v. 27, n. 1, p. 10–18, 2013.

JACKSON. Vegetation water content mapping using *Landsat* data derived normalized difference water index for corn and soybeans. **Remote Sensing of Environment**, v. 92, p. 475–482, 2004.

LAINSON R, RANGEL E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral *leishmaniasis*, with particular reference to Brazil - A Review. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 811-827, 2005.

MACHADO, T. O., BRAGANÇA, M. A. L., CARVALHO, M. L., ANDRADE FILHO, J. D. Species diversity of sandflies (Diptera: Psychodidae) during different seasons and in different environments in the district of Taquaruçú, state of Tocantins, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 7, p. 955-959, 2012.

MARCONDES, M.; ROSSI, C.N. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 50, n. 5, p. 341-352, 2013.

MARKERT, B.A. BREURE, A.M. & ZECHMEISTER. H.G. (2003). **Bioindicators & Biomonitoring**; Principles, concepts and applications. Elsevier, Amsterdam etc., 997 pp.

MELO, E. T; SALES, M. C. L; OLIVEIRA, J. G. B. Aplicação do índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI) para análise da degradação ambiental da microbacia hidrográfica do riacho dos cavalos. **Crateúsce. Rae ga** v. 23, p. 520-533, 2011.

MEMMOTT, J. Sandfly distribution and abundance in a tropical rain forest. **Medical and veterinary entomology**, v. 5, n. 4, p. 403-411. 1991.

NETO, J. L. G., BAIAMA, J. M., FREITAS, R. A., PASSOS, M. A. B. Fauna flebotomínica (Diptera: Psychodidae) em floresta preservada e alterada do Município de Caroebe, Estado de Roraima, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 3, n. 2, p. 41-46, 2012.

NUNES, V. L. B., GALATI, E. A. B., CARDOZO, C., ROCCA, M. E. G., ANDRADE, A. R. O. D., SANTOS, M. F. D. C., ROSA, D. D. Estudo de flebotomíneos (Diptera,

Psychodidae) em área urbana do município de Bonito, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 52, n. 3, p. 446-51, 2008.

OLIVEIRA AG, GALATI EAB, FERNANDES CE, DORVAL MEC, BRAZIL RP. Ecological aspects of Phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in endemic area of visceral *leishmaniasis*, Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Journal of Medicine Entomology**, v. 49, p. 43-50, 2012a

OLIVEIRA, A. G, GALATI, E. A. B, FERNANDES, C. E, DORVAL, M. E. C, BRAZIL, R. P. Ecological aspects of Phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in endemic area of visceral *leishmaniasis*, Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Journal Medicine Entomology**, v. 49, p. 43-50, 2012b.

OLIVEIRA, A. G; GALATI, E. A. B; FERNANDES, C. E; DORVAL, M. E. C; BRAZIL, R. P. 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**, v. 105, p. 55-61, 2008.

OLIVEIRA, E. F; FERNANDES, C. E. S; SILVA, E. A; BRAZIL, R. P; OLIVEIRA, A. G. Climatic factors and population density of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) in an urban endemic area of visceral *leishmaniasis* in midwest Brazil. **Journal Vector Ecology**, v. 2, p. 224-28, 2013.

OLIVEIRA, E. F; SILVA, E. A; FERNANDES, C. E. S; PARANHOS FILHO, A. C; GAMARRA, R. M; RIBEIRO, A. A; BRAZIL, R. P; OLIVEIRA, A. G. Biotic factors and occurrence of *Lutzomyia longipalpis* in endemic área of visceral *leishmaniasis*, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v 107,n. 3, p.396-401, 2012.

OLIVEIRA- PEREIRA, Y. N; RABÊLO, J. M. M; MORAES, J. L. P; PEREIRA, S. R. F. Diagnóstico molecular da taxa de infecção natural de flebotomíneos (Psychodidae, *Lutzomyia*) por *Leishmania* sp na Amazônia maranhense. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, p. 540-43, 2006.

OLIVEIRA, A. G; SANGUINETTE, C. C; DE ALMEIDA, P. S; ANDRADE FILHO, J. D. Description of *Evandromyia* (*Aldamyia*) *orcyi*, a new phlebotomine species (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) from the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Parasites & vectors**, v. 8, n. 1, p. 233, 2015.

OLIVEIRA, C. D. L., DIEZ- ROUX, A. CÉSAR, C. C., PROIETTI, F. A. A case- control study of microenviromental risk factors of urban visceral *leishmaniasis* in a large city in Brazil, 1999-2000. **Pan American Journal Health**, v. 20, n. 6, 369-376, 2006.

PATZ, J. A., GRACZYK, T. K., GELLER, N., VITTOR, A. Y. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. Int **Journal Parasitology**, v. 30, p. 1395-1405, 2000.

PENHA, T. A., DOS SANTOS, A. C. G., REBÊLO, J. M. M., MORAES, J. L. P.. Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em área endêmica de leishmaniose visceral canina na região metropolitana de São Luís–MA, Brasil. **Biotemas**, v. 26, n. 2, p. 121-127, 2013.

PESSOA, F.A.C, MEDEIROS, J. F, BARRETT, T. V. Effects of timber harvest on phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a production forest: abundance of species on tree trunks and prevalence of trypanosomatids. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 5, p. 593-9, 2007.

PONZONI, F. J; SHIMABUKURO, Y. E. (2007). **Sensoriamento Remoto no Estudo da Vegetação**. 2da edição. INPE. Editora Parêntese. São José dos Campos – SP.

QUEIROZ M. F. M, VARJÃO J. R, MORAES S. C, SALCEDO G. E. Analysis of sandflies (Diptera: Psychodidae) in Barra do Garças, State of Mato Grosso, Brazil, and the influence of environmental variables on the vector density of *Lutzomyia longipalpis*(Lutz & Neiva, 1912). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, p. 313-317, 2013.

R. DEVELOPMENT CORE TEAM. (2008). R: A language and environment for statistical computing and graphics, version 3.2.0: R Foundation for Statistical Computing. Software livre. Disponível em: <<http://www.r-project.org/>>. Acesso em 12 Jan. 2015

READY, P.D.; ARIAS, J. R.; FREITAS, R. A. A pilot study to control *Lutzomyia umbratilis* (Diptera: Psychodidae), the major vector of *Leishmania braziliensis guyanensis*, in a peri-urban rainforest of Manaus, Amazonas state, Brazil. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 80, n. 1, p. 27-36, 1985.

RICKLEFS, R. E. A **Economia da Natureza**. 5 Ed. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003, p 133-165.

ROUSE, J. W. Monitoring vegetation systems in the Great Plains with ERTS. In: proceedings of the third erts symposium, SP-351 Goddard Space Flight Center, 1973, Washington: NASA, p. 309–317. 1973.

RUTLEDGE, L. C, ELLENWOOD, D. A. Production of phlebotomine sandflies on the open forest floor in Panama: phytologic and edaphic relations. **Environ Entomol**, v. 4, p. 83-89, 1975.

SALOMÓN O. D, QUINTANA M. G. *Leishmaniasis y ambiente: uso de sensores remotos y sistemas de información geográfica*. In J Basualdo, R Cacchione, R Durlach, P Martino, A Seijo (eds.), Temas de zoonosis V, Asociación Argentina de Zoonosis, Buenos Aires, p. 175-188, 2011.

SALOMÓN, O. D., FELICIANGELI, M. D., QUINTANA, M. G., AFONSO, M. M. S., RANGEL E. F. *Lutzomyia longipalpis* urbanisation and control. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro. v. 110, n. 7, p. 831-846, 2015.

SANTINI, M. S., FERNÁNDEZ, M. S., PÉREZ, A. A., SANDOVAL, A. E., SALOMÓN, O. D. *Lutzomyia longipalpis* abundance in the city of Posadas, northeastern Argentina: variations at different spatial scales. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, p. 767–771, 2012.

SANTINI, M. S., SALOMÓN, O. D., ACARDI, S., SANDOVAL, A. E., TARTAGLINO, L. *Lutzomyia longipalpis* behavior and control at an urban visceral *leishmaniasis*

focus in argentina. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 52, n. 4, p. 187-191, 2010.

SILV, A. M., CAMARGO, N. J., SANTOS, D. R., MASSAFERA, R., FERREIRA, A. C., POSTAI, G., CRISTÓVÃO, E. C., KONOLSAISEN, J. F., BISELTO-JR, A., PERINAZO, R., TEODORO, U., GALATI, E. A. B. Diversidade, Distribuição e Abundância de Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Paraná. **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 2, p. 209- 225, 2008.

SILV, F. S., DE CARVALHO, L. P., CARDOZO, F. P., MORAES, J. L., & REBÊLO, J. M. Sand flies (Diptera: Psychodidae) in a cerrado area of the Maranhão state, Brazil. **Neotropical entomology**, v. 39, n. 6, p. 1032-1038, 2010.

SILVA, R. E. A., ANDREOTTI, R., HONER, M. R. Comportamento de *Lutzomyia longipalpis*, vetor principal da leishmaniose visceral americana, em Campo Grande, Estado do Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, p. 420-425, 2007.

TEODORO U, KÜHL J. B, SANTOS D. R, SANTOS E. S. Impacto de alterações ambientais na ecologia de flebotomíneos no sul do Brasil. **Caderno Saúde Pública**, v. 15, p. 901-906, 1999.

TEODORO, U., SANTOS, D. R., SILVA, A. M., MASSAFERA, R., IMAZU, L. E. MONTEIRO, W.M., NEITZKE-ABREU, H. E. Fauna de flebotomíneos em municípios do norte pioneiro do estado do paraná, **Brasil. Revista de patologia tropical**. v. 39, n. 4, p. 322-330, 2010.

THOMSON, M.C.; CONNOR, S.J.; MILLIGAN, P.J.M.; FLASSE, S.P. Mapping malaria risk in Africa: what can satellite data contribute? **Parasitology Today**. v.13, n.8, p. 313-318, 1997.

TRAVI, L. B., ADLER, G. H., LOZANO, M., CADENA, H., MONTOYA-LERMA, J. Impact of Habitat Degradation on Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) of Tropical Dry Forests in Northern Colombia. **Journal. Medicine Entomology** v. 39, n. 3, p. 451-456, 2002.

VILELA, M. L., AZEVEDO, C. G., CARVALHO, B. M., RANGEL, E. F. Phlebotomine Fauna (Diptera: Psychodidae) and putative vectors of *leishmaniasis* in impacted area by hydroelectric plant, state of Tocantins, Brazil. **PloS one**, v. 6, n. 12, p. 27721, 2011.

WERNECK., G. L., MAGUIRE, J. H. Spatial modeling using mixed models: an ecologic study of visceral *leishmaniasis* in Teresina, Piauí State, Brazil. **Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro**. v. 18, n. 3, p. 633-637, 2002.

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

ZEILHOFER P, KUMMER O. P, SANTOS E. S, RIBEIRO A. L. M, MISSAWA N. A. Spatial modelling of *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *whitmani* s.l. (Antunes & Coutinho, 1939) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) habitat suitability in the state of Mato Grosso, Brazil. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 653-660, 2008.

### **4.3 Artigo 3: Análise espacial de casos de leishmaniose tegumentar e visceral em área endêmica, Mato Grosso do Sul, Brasil, 2012 a 2014**

Helen Rezende de Figueiredo<sup>(1)</sup>, César Claudio Cáceres Encina<sup>(2)</sup>; Anny Keli Aparecida Alves Cândido<sup>(2)</sup>; Aduino Rodrigues<sup>(4)</sup>; Antonio Conceição Paranhos Filho<sup>(2)</sup>; Alessandra Gutierrez de Oliveira<sup>(1, 3)</sup>

(1)Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias, Faculdade de Medicina Dr Hélio Mandetta, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

(2)Laboratório de Geoprocessamento para Aplicações Ambientais, Faculdade de Engenharia, Arquitetura, Urbanismo e Geografia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

(3)Laboratório de Parasitologia Humana, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Cidade Universitária s/n.79070-900, Campo Grande, MS, Brasil.

(4)Centro de Controle de Vetores do Município de Aquidauana.

#### **RESUMO**

As leishmanioses estão presentes em 88 países, sendo consideradas doenças negligenciadas. São endêmicas em várias regiões do Brasil e apresentam-se em franca expansão. Em Mato Grosso do Sul o primeiro relato de leishmaniose visceral foi no Município de Corumbá e posteriormente foi sendo relatada nos outros municípios. Atualmente a leishmaniose visceral está presente em 58 município e a leishmaniose tegumentar em 69 dos 79 municípios do Estado. O objetivo deste trabalho foi analisar espacialmente as regiões em que tiveram casos notificados de leishmanioses no Município de Aquidauana e confrontar com a característica da fitofisionomia dos locais em que ocorreram os casos, comparando com o padrão de ocupação dos flebotomíneos coletados na área urbana do Município. Para isso foram realizadas coletas no intra e peridomicílio de seis residências da área urbana com armadilha luminosa Falcão das 18:00 as 06:00 horas, quinzenalmente, no período de abril de 2012 a março de 2014. Os casos de leishmaniose registrados foram espacializados e através da técnica de sensoriamento remoto foi calculado o índice de NDVI para a caracterização de cada local. Nos dois anos de estudo foram

confirmados 11 casos de LV e um de leishmaniose tegumentar na área urbana. Na análise espacial, verificou-se regiões com diversos casos. A região com maior número de flebotomíneos coletados não apresentou casos da enfermidade. Os valores médios do NDVI nos raios de 60m e 500m foram semelhantes em todos os locais com casos da doença. Na análise da fitofisionomia no raio de 500m, observou-se que a maior parte dos casos foram em áreas que apresentavam fragmentos de matas. Com a técnica de geoprocessamento, pode-se traçar o perfil epidemiológico em toda área urbana de Aquidauana.

Palavras chaves: Leishmanioses, sensoriamento remoto, flebotomíneos.

### **ABSTRAT**

*Leishmaniasis* is present in 88 countries, including Brazil. It is considered a neglected disease. They are endemic in several regions of Brazil and are expanding the country. In Mato Grosso do Sul was the first report in the Municipality of Corumbá and was subsequently reported in other municipalities. Currently visceral *leishmaniasis* is present in 58 municipalities and cutaneous *leishmaniasis* in 69 of the 79 municipalities. The aim of this study was to analyze the regions that have been confirmed cases of *leishmaniasis* in the municipality of Aquidauana and characterize the physiognomy of the places that have occurred in the cases comparing to the pattern of occupation of sand flies collected in the urban area of the municipality. For this collection were made in intra and peridomicile six homes in the urban area with light trap Falcon 18:00 06:00 hours, every two weeks, from April 2012 to March 2014. The reported cases of *leishmaniasis* were analyzed spatially and through remote sensing technique was calculated NDVI index for the characterization of each site. In the two years of study were confirmed 11 cases of VL and one of LT in the urban area. Spatial analysis of cases found areas with many cases. The region with the highest number of collected sandflies showed no cases of the disease. The average values of NDVI in the 60m and 500m rays were similar in all site with cases. The analysis of phytophysiology in 500m radius observed that most cases occurred in locations that were forest fragments. With the GIS technique can trace the epidemiological profile throughout the urban area of Aquidauana.

Key words: *Leishmaniasis*, remote sensing, sandflies.

### **INTRODUÇÃO**



As leishmanioses representam importante problema de saúde pública, principalmente a forma visceral (LV), que tem sido importante causa de morte no Brasil. Essas enfermidades são transmitidas por insetos vetores, os flebotomíneos, e estão relacionadas às mudanças ambientais causadas principalmente pela ação antrópica no seu habitat, podendo interferir na fonte alimentar e abrigo desses insetos (BARCELLOS *et al*, 2009).

O primeiro relato da LV no Brasil foi em 1913, no distrito de Porto Esperança, Município de Corumbá, Estado de Mato Grosso do Sul (MIGONE, 1913). Após esse relato outros casos foram observados no país. A doença está em franca expansão desde a década de 1980 e está associada ao fluxo migratório para áreas urbanas, juntamente do crescimento desordenado das cidades, o que tem propiciado áreas de risco de infecção.

Sua expansão vem sendo relacionada com características ecológicas que causam alterações nos nichos dos flebotomíneos, tais como desmatamento, agricultura e pecuária. Restam pequenas áreas de preservação com trechos de cobertura vegetal conservada, com maior chance de exposição do indivíduo ao vetor neste ambiente restrito. Com a adaptação dos vetores à áreas urbanas, eleva-se ainda mais o risco de casos dessas enfermidades, surgindo surtos ou transformando-se em áreas endêmicas.

No Mato Grosso do Sul, a expansão da LV foi associada à implantação do gasoduto, em consequência do desmatamento para a instalação das tubulações, contato dos trabalhadores com o vetor, introdução de cães e fluxo de pessoas das áreas em construção para as cidades. O surgimento dos casos de LV no Estado coincide com a rota de desenvolvimento do gasoduto (leste para oeste) e sua rápida expansão sugere que a expansão da doença é devida ao fluxo de trabalhadores (ANTONIALLI *et al*. 2007).

No Município de Aquidauana os primeiros casos foram notificados em 1998, em seis pacientes. Desde então foram relatados surtos da doença no município e vem sendo considerado área de transmissão intensa para essa enfermidade (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2016). Em 2012 foram 10 casos e dois óbitos de LV. Em relação à leishmaniose tegumentar (LT), entre o ano de 2007 e 2011, foram reportados 26 casos (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2014).

O objetivo do presente estudo foi realizar análise espacial e a caracterização ambiental das regiões com casos de leishmaniose visceral e tegumentar no período de abril de 2012 a março de 2014 no Município de Aquidauana com o número de flebotomíneos coletados.

## **METODOLOGIA**

### *Área e local de estudo*

A sede do Município de Aquidauana está localizada nas coordenadas 20° 28' 15"S e 55° 47' 13"W, a 139 km de Campo Grande, capital do Estado. Situa-se na porção centro-oeste do Estado de Mato Grosso do Sul. Segundo o censo 2010 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2014), a população do município é de 45.614 habitantes e a densidade demográfica é 2,69 (CENSO, 2010)

A fonte de renda da população do município é principalmente a prestação de serviços, seguida pela agropecuária. A agricultura é baseada na criação de bovinos e ovinos e plantação temporária de milho. O produto de extração vegetal que apresenta maior representatividade é o carvão vegetal. Segundo o censo 2010- o total de homens presente no município corresponde a 22. 851, sendo que o percentual de homens acima de 16 anos que exercem atividade na agricultura é de 26,4%, em serviços (administração, saúde, educação) envolve 51,6%. O número de mulheres é 22. 573, dessas a percentual que ocupam atividades de serviço é maior com 83,3% e as que ocupam serviços relacionados à agricultura são 12,6%. A renda total *per capita* dos domicílios da área urbana é de 674,07 reais, apresentando o Índice de Desenvolvimento Humano Municipal (IDHM) de 0,688 (IBGE, 2014).

Fisiograficamente o Município de Aquidauana insere-se na transição dos domínios vegetacionais do Cerrado e do Pantanal, região em que se inicia a planície pantaneira sul mato-grossense. Apresenta características geomorfológicas do Planalto de Maracajú e da Depressão Aquidauana/Bela Vista que delimitam seu território. A área urbana do município é banhada pelo rio Aquidauana e pelos córregos João Dias e Guanandy (FERNANDES; ANUNCIAÇÃO, 2012).

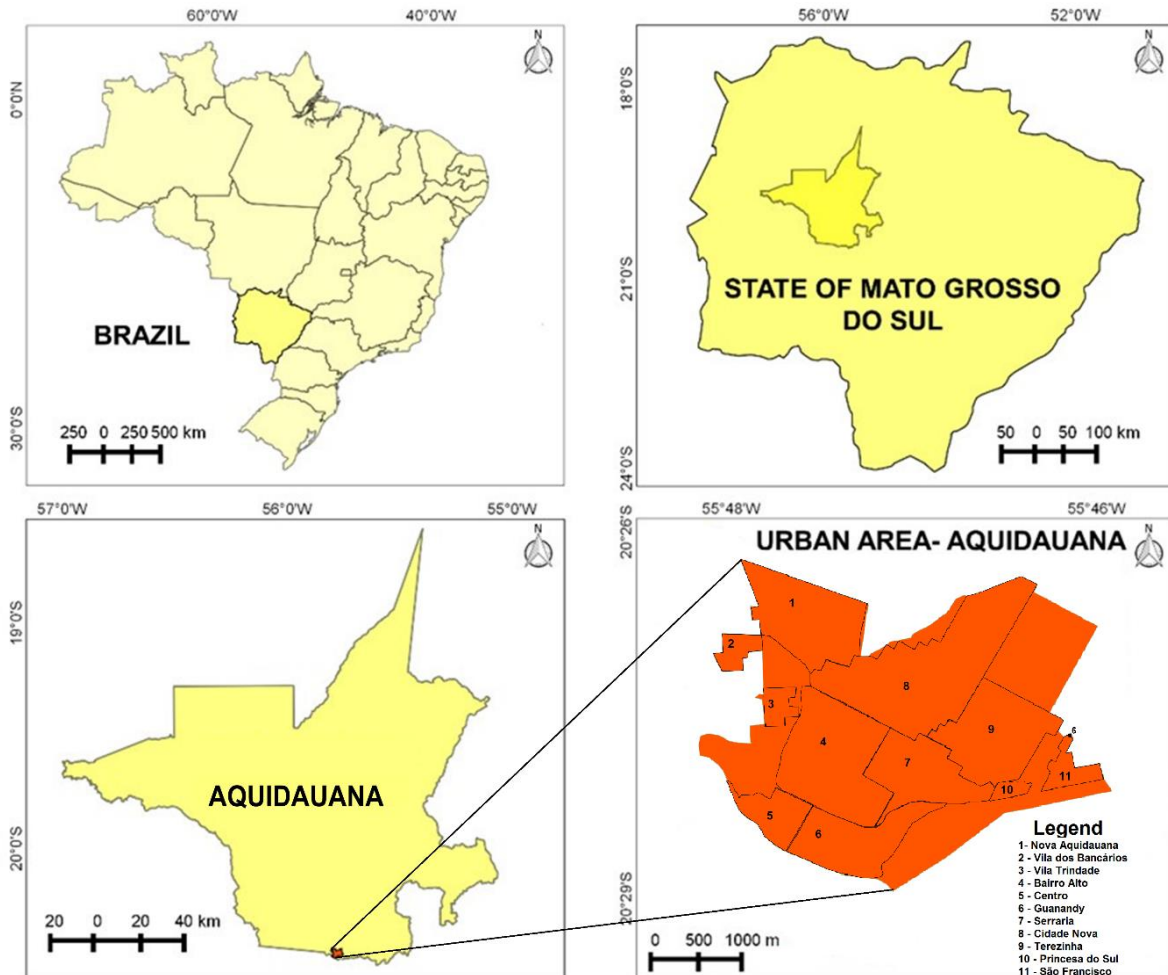
O clima é tropical com duas estações definidas, chuvosa no verão (novembro a abril) e seca no inverno (maio a outubro), sendo o mês de julho o mais seco. As precipitações variam de 750 a 1.800 mm anuais. Na estação seca entre os meses

de maio a setembro, os índices pluviométricos médios são inferiores a 50 mm (ZARONI *et al.* 2011).

A área de estudo está em um contexto de aluviões quaternários assentados sobre a Formação Aquidauana, datada do período Carbonífero Superior e compreende arenitos com granulometria variável, de fina a grosseira (SCHIAVO *et al.* 2010; SOUZA *et al.* 2015). Os solos de maior ocorrência na região são podzol hidromórfico, plintossolo álico, distrófico e eutrófico e latossolo vermelho escuro (SILVA *et al.* 1996).

Para a realização deste trabalho foram selecionadas cinco das 11 regiões e em cada uma delas foram escolhidas residências nas quais foram instaladas duas armadilhas luminosas, uma no peridomicílio e outra no intradomicílio. O critério de seleção das regiões foi baseado nos relatórios de notificações de casos de leishmaniose visceral ou tegumentar (humana), bem como pelo registro de abrigos de animais domésticos tais como canis, galinheiros e chiqueiros. Os pontos selecionados de acordo com a maior incidência foram: Bairro Alto, Cidade Nova, Guanandy, São Francisco e Serraria. (Figura 1).

**Figura 1.** Área de estudo e respectivos pontos de coleta no Município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil, 2014.



### *Captura dos flebotomíneos*

As coletas foram realizadas armadilhas luminosas tipo Falcão modificadas, no período de abril de 2012 a março de 2014, das 18h às 06h, duas vezes ao mês, quinzenalmente, no intra e peridomicílio das residências nos seis pontos a partir de um trabalho prévio, que observou uma grande quantidade de flebotomíneos e diversidade de espécies (FIGUEIREDO *et al.* 2016).

### *Dados de leishmanioses*

Os casos notificados e confirmados para leishmaniose visceral e tegumentar foram obtidos através da Secretária de Saúde do Município de Aquidauana, por meio do Sistema de Informações de Agravos de Notificações (SINAN). As informações são referentes ao intervalo de abril de 2012 a março de 2014, que correspondem ao período de coleta de flebotomíneos na área urbana de Aquidauana (FIGUEIREDO *et al.* 2016). Também foram obtidos os endereços, data do registro e idade dos pacientes. Com essas informações os endereços registrados no SINAN foram espacializados no Google Earth (GOOGLE, 2016). Posteriormente os mesmos foram exportados para o formato *shapefile* no Qgis. Além dos pontos referentes aos casos de leishmaniose, também foram selecionados pontos aleatórios pelo *software* Qgis Versão 8.1 (QGIS DEVELOPMENT TEAM, 2015) em quatro regiões que não apresentaram casos confirmados.

#### *Caracterização dos dados*

A imagem utilizada para a caracterização ambiental dos pontos de coleta foi a *Landsat 8*, sensor OLI, com órbita-ponto 225/074 de 27 de setembro de 2013 (USGS, 2013). Essa imagem foi projetada para o hemisfério sul e não necessitou de correção geométrica, o sistema de projeção utilizado foi UTM com *datum* WGS84, zona 21 sul. As análises foram realizadas no *software* QGIS Versão 8.1 (QGIS DEVELOPMENT TEAM, 2015).

#### *Caracterização dos ambientes*

Foi escolhida imagem do período de seca, pois é a estação que apresenta maior contraste entre as fitofisionomias (PARANHOS FILHO, 2000), além de menor percentual de nuvens.

Para a análise das variáveis ambientais e cálculo da cobertura vegetal de cada ponto, foi empregado o *Normalized Difference Vegetation Index* (NDVI), o valor médio do NDVI foi utilizado para caracterizar a fitofisionomia predominante em cada local de coleta e o desvio padrão de seus valores a heterogeneidade do ambiente.

Para o cálculo de NDVI (ROUSE *et al.* 1973), foram utilizadas a refletância da vegetação nas bandas do vermelho e infravermelho próximo.

$NDVI = (NIR - R) / (NIR + R)$ , onde:

NIR é a energia refletida no infravermelho próximo e R é a energia refletida da região do vermelho.

Os valores de NDVI variam de -1 a +1, onde os valores próximos a 1 representam maior densidade de cobertura vegetal. A água apresenta valores negativos próximos a -1 e a vegetação esparsa e rala (vegetação rasteira) representam valores positivos, porém, não muito elevados (MELO, 2011).

Para cada área com registro de caso de leishmaniose foram gerados *buffers*, com distâncias de 60m (pontual) e 500m (região do entorno próximo) para caracterizar a fitofisionomia dos pontos de ocorrência da doença no Município de Aquidauana/MS. Além dessas regiões, as que não apresentaram confirmação de casos de leishmaniose também foram selecionados pontos aleatórios no raio de 60m através do *software* Qgis e para o raio de 500m realizou-se o cálculo do NDVI em toda a extensão da região.

Esses *buffers* serviram de base para definir e caracterizar os ambientes de cada ponto de coleta com base em seus valores de NDVI. As correlações entre os flebotomíneos e o ambiente foram realizadas de acordo com os valores máximos, médios, mínimos e o desvio-padrão das amostras geradas a partir do índice.

Para o cálculo da área ocupada pelas fitofisionomias, o índice de vegetação (NDVI) foi reclassificado e posteriormente vetorizado. As fitofisionomias definidas receberam diferentes cores para facilitar as análises, a área de mata é verde escura, cerrado verde claro, vegetação rasteira, inclui áreas de pastagem) cor amarela, ambiente antropizado que inclui solo exposto e impermeável, cor vermelho e corpo hídrico em azul.

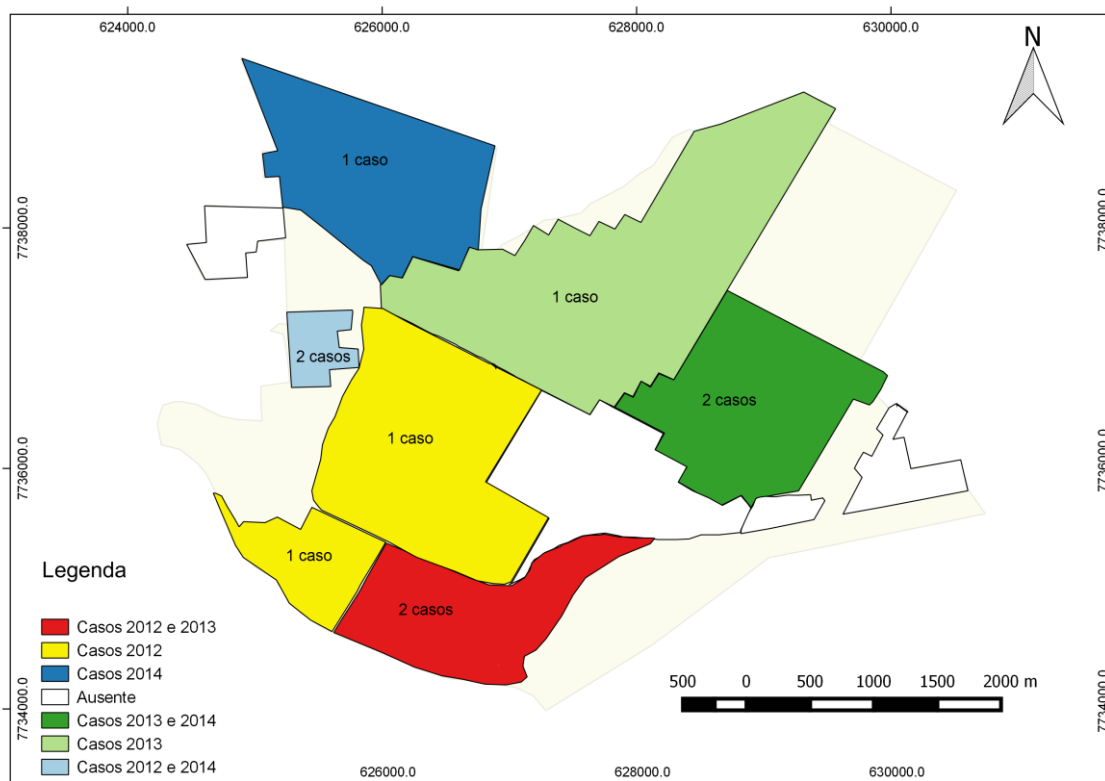
## RESULTADOS

Durante os 24 meses de coleta de flebotomíneos foram notificados 17 casos de leishmanioses visceral e tegumentar, no Município de Aquidauana. Desses, 14 casos foram confirmados de LV e três ocorreram em área rural. Foram registrados pela Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso do Sul dois óbitos no ano de 2012 e um em 2013 de pacientes com LV. Houve um maior número de registros de casos em área urbana no ano de 2012 em comparação a 2013 e 2014.

Em relação à leishmaniose tegumentar, foi confirmado um caso em 2012 em área urbana e dois em 2013 em zona rural, foi relatado óbito de um paciente que estava em tratamento.

As regiões da área urbana e o período que ocorreram as notificações estão na figura 2.

**Figura 2.** Regiões com casos de leishmaniose visceral no Município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.



O valor médio do NDVI foi calculado para cada área em que houve registro de caso e os seus valores apresentaram-se próximos entre si, tanto para o *buffer* de 60m quanto de 500m (Tabela 1). Entretanto, a região do Guanandy apresentou maior quantidade de fitomassa no raio de 60m (caso 8) dentre as demais áreas. O contrário ocorreu para a região do Centro que apresentou o valor médio de NDVI mais baixo. Também foi calculado o NDVI nos bairros em que não houve registro de casos de leishmanioses, para comparar os valores de fitomassa com os bairros que ocorreram registro de casos, mas não foi observada nenhuma diferença aparente.

Apesar dos valores médios do NDVI não representarem valores característicos de vegetação densa, na figura 3, que representa os *buffers* de 500m pôde-se verificar a presença de pequenos fragmentos de matas, representada pela cor verde escuro (NDVI próximos a 1,00).

**Tabela 1.** Valores médios do NDVI nos *buffers* de 60m e 500m de acordo com os casos de leishmanioses presentes na área urbanizada do Município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil, imagem do mês de setembro de 2013 (*Landsat 8*).

Buffer	Valores	Nova Aquidauana		Vila Trindade		Bairro Alto	Centro	Guanandy		Cidade Nova		Stª Terezinha		Bancários	Serraria	Princesa	São Francisco	
		Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6	Caso 7	Caso 8	Caso 9	Caso 10	Caso 11	Caso 12	A1	A2	A3	A4	
		LT	LV	LV	LV	LV	LV	LV	LV	LV	LV	LV	LV					
NDVI	60m	Média	0.30	0.27	0.34	0.32	0.23	0.19	0.31	0.50	0.36	0.37	0.35	0.33	0.50	0.37	0.24	0.45
		D.P.	0.03	0.03	0.03	0.007	0.05	0.03	0.06	0.00	0.02	0.03	0.01	0.03	0.02	0.05	0.01	0.04
NDVI	500m	Média	0.33	0.30	0.44	0.48	0.31	0.38	0.35	0.39	0.39	0.35	0.34	0.33	0.40	0.38	0.37	0.37
		D.P.	0.07	0.07	0.11	0.12	0.08	0.18	0.16	0.17	0.10	0.09	0.07	0.09	0.09	0.11	0.07	0.06
Nº de <i>Lu. longipalpis</i>						422			777		847				903		8	

A: ausência de casos de leishmanioses.



**Figura 3.** Área do *buffer* de 500m dos registros de casos de leishmaniose visceral e tegumentar presentes na área urbanizada do Município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil, imagem do mês de setembro de 2013 (*Landsat 8*) e dezembro/12 (n=233), janeiro/13 (n=260) e março/13 (n=103).

O índice de fitomassa foi calculado para essa região nas áreas das residências em que foram registrados os casos de LV e o maior valor do índice foi registrado no ponto do caso oito (NDVI=0,50) no raio de 60 metros, o que equivale a área da residência.

Em outras regiões com casos confirmados de leishmanioses e não foram feitas coletas de flebotomíneos. Também foram registrados casos de LT e LV em áreas rurais. As datas das notificações estão na tabela 2.

**Tabela 2.** Casos de leishmaniose tegumentar e visceral nas regiões que não houve coleta de flebotomíneos, Município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul, abril de 2012 a março de 2014.

Tipo	Bairro	mês	Ano
LT	Nova Aquidauana	Maio	2012
LV	Centro	Agosto	2012
LV	Zona Rural	Setembro	2012
LV	Aldeia indígena	Fevereiro	2013
LV	Zé Taubino	Março	2013
LV	Zona Rural	Abril	2013
LT	Zona Rural	Abril	2013
LT	Zona Rural	Dezembro	2013

## Discussão

Os 14 casos de LV em Aquidauana foram registrados tanto em área urbana quanto rural, entretanto sua maior prevalência foi no meio urbanizado, corroborando com diversos autores, como RIBEIRO *et al.* (2014) em Barro do Graças- MT, COSTA *et al.* (1990), CARVALHO *et al.* (2014) em Terezina- Piauí, MARZOCHI *et al.* (1985) no Rio de Janeiro- RJ e BEVILACQUA *et al.* (2007) em Belo Horizonte- MG, o que sugere que esta parasitose está mais estabelecida em zonas urbanas.

O entendimento da epidemiologia colabora para o surgimento de medidas preventivas diligentes para cada região do município que possa apresentar maiores possibilidades de ocorrência das leishmanioses. Com auxílio das geotecnologias é

possível a detecção de ambientes com maior risco para aparecimentos de novos casos das doenças.

Os primeiros relatos de leishmanioses no Brasil estavam associados a áreas de mata e a trabalhadores rurais com o processo de urbanização e a falta de infraestrutura adequada nas cidades para suportar o êxodo rural, as pessoas se instalaram nas periferias das cidades, o que levou à maior incidência de casos em meios urbanos. Além disso, outro fator que pode ter contribuído para esse fato é a adaptação dos flebotomíneos nesses ambientes antrópicos (GOMES *et al.* 1989; OLIVEIRA *et al.* 2000). A espécie *Lu. longipalpis*, principal vetor de agentes da LV, é relatada com ampla distribuição pelo Brasil em meio urbano, além de apresentar hábito eclético e alto grau de antropofilia.

A LT foi registrada apenas em três casos, com dois em área rural e um na área urbana. Essa doença é descrita como uma zoonose, caracterizando-se como silvestre, em que o homem é acometido acidentalmente. A expansão da agropecuária ainda favorece o aparecimento de casos em zonas rurais, entretanto esse padrão pode se modificar principalmente pela organização espacial da população nos municípios, associados com áreas verdes, desequilíbrio ecológico e falta de saneamento, atingindo população menos favorecida (NEGRÃO; FERREIRA, 2014).

Na área urbana de Aquidauana, segundo o censo de demográfico (IBGE, 2015) da população na faixa etária acima de 65 anos (3.708 pessoas) e de crianças de zero a quatro anos de (3.438 pessoas) são próximos. O fato que pode explicar a maior incidência de casos nos idosos no Município de Aquidauana é a maior exposição ao vetor, por possuírem maior tempo realizando atividades em locais com maior proximidade com o inseto, no município é comum as pessoas pernamecer no peridomicílio ou na beira do rio.

O Ministério da Saúde tem investido na busca de novos conhecimentos e alternativas para o controle desta endemia. É necessário investir em táticas integradas de intervenção de acordo com os diferentes cenários de transmissão, de preferência, visando as áreas de maior risco. Os principais focos da são a avaliação da eficácia de estratégias de controle de vetores e reservatórios, bem como em novas tecnologias que possam contribuir para a implementação de medidas de vigilância e controle da LV no país (Referencia).

Na análise espacial dos casos nas diversas regiões do Município de Aquidauana, observaram-se áreas com casos em diversos anos, pois possivelmente a população dessas áreas encontra-se em maior risco de contrair a infecção. Vários são os fatores que podem influenciar a ocorrência nessas regiões, como observado nas áreas de coletas onde foi constatada a presença do vetor em número considerável, presença de animais no peridomicílio, áreas verdes no raio de 500m, densidade demográfica, além das condições socioeconômicas.

Aparício e Bitencourt (2004) observaram que na maioria dos casos de LT, as residências estavam num raio de 200m dos fragmentos de matas no Município de Itapira, SP. Outros autores também relatam maior risco de infecção em áreas próximas a remanescente de matas em áreas urbanas (ALMEIDA *et al.* 2014; MIRANDA; MASSA; MARQUES, 1996; SILVA; GURGEL, 2009). Trabalhos que relatam que a regiões com maior quantidade de fitomassa houve também maior quantidade de flebotomíneos coletados (FIGUEIREDO *et al.*, 2016).

A capacidade de dispersão dos flebotomíneos relatada em área urbana foi de 241 metros em um trabalho de Município de Campo Grande, MS (OLIVEIRA, 2011). DYE; DAVIS; LAINSON, (1991) relataram que a maior distância percorrida foi de 700m. Ainda que exista poucos estudos sobre a dispersão de flebotomíneos, evidência que esses insetos tem a capacidade de percorrer longas distâncias. Os fragmentos de matas no entorno das residências podem funcionar como possíveis locais de criadouro para esses insetos. A maioria dos casos ocorreu em áreas que apresentaram fragmentos de mata. Assim, as análises paisagísticas apresentadas no presente trabalho confirmam a utilidade do sensoriamento remoto e do geoprocessamento aplicados à epidemiologia, pois possibilitaram o estudo do problema epidemiológico em uma grande área. Permitiram ainda obter dados relacionados ao perfil de transmissão da enfermidade, mesmo em pontos sem coleta de flebotomíneos.

### Referências

ALMEIDA, A. S; WERNECK, G. L; RESENDES, A. P. Costa. Classificação orientada a objeto de imagens de sensoriamento remoto em estudos epidemiológicos sobre leishmaniose visceral em área urbana. **Caderno Saúde Pública**, v. 30, n. 8, p. 1639-1653, 2014.

- ANTONIALLI, S. A. C; TORRES, T. G; PARANHOS- FILHO, A. C; TOLEZANO, J. E. Spatial analysis of American Visceral *Leishmaniasis* in Mato Grosso do Sul State, Central Brazil. **The Journal of infection**, v. 54, n. 5, p. 509- 514, 2006.
- ARRUDA, S. S; COELHO, M. M; LIMA, R. C. M. Leishmaniose visceral americana (LV): uma zoonose em expansão. **Ensaios e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v.17, n.4, p. 49-58, 2013.
- BARCELLOS, C; MONTEIRO, A. M. V; CARVOLÁN, C; GURGEL, H. C; CARVALHO, M. S; ARTAXO, P; HACON, S; RAGONI, V. Mudanças climáticas e ambientais e as doenças infecciosas: cenários e incertezas para o Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, n. 18, v. 3, p. 285- 304, 2009.
- BEVILACQUA, P. D.; PAIXAO, H. H.; MODENA, C. M. CASTRO, M. C. P. S. Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte. **Arquivo de brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n.1, p. 1- 8, 2001.
- BOTELHO, A. C. A; NATAL, D. Primeira descrição epidemiológica da leishmaniose visceral em Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul, **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 5, p. 503-508, 2009.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
- CARVALHO, B. M; DIAS, C. M. G; RANGEL, E. F. Phlebotomine sand flies (Diptera, Psychodidae) from Rio de Janeiro State, Brazil: Species distribution and potential vectors of *leishmaniasis*. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 58, n1, p. 77- 87, 2-14.
- CAVALCANTE, I. J. M; VALE, M. R. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral (calazar) no Ceará no período de 2007 a 2011. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 17, n. 4, p. 911-924, 2014.
- COSTA, C. H; PEREIRA, H. F; RAÚJO, M. V. Epidemia de leishmaniose visceral no Estado do Piauí, Brasil, 1980-1986. **Revista de Saúde Pública de São Paulo**, v. 24, n. 5, 361- 362, 1990.
- FERNANDES, E. F. L; ANUNCIAÇÃO, V. S. Impactos de eventos climáticos extremos e seus reflexos na cidade de Aquidauana-MS. **REVISTA GEONORTE, EDIÇÃO ESPECIAL**, v. 1, n. 4, p. 707- 720, 2012.

- FOLHES, M. T. (2005). Uma aplicação da banda termal do TM/*Landsat-5* no gerenciamento dos recursos hídricos. In Anais XII **Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**. INPE, Goiânia, p. 3009-3016.
- GALATI, E. A. B. 2014 Bioecologia e identificação de Phlebotominae. Acessado em: [http://www.fsp.usp.br/egalati/ApostilaPhlebotominae\\_2014\\_vol\\_I.pdf](http://www.fsp.usp.br/egalati/ApostilaPhlebotominae_2014_vol_I.pdf), Dezembro 2014.
- GOMES, A. C.; BARATA, J. M. S.; ROCHA, E.; SILV, E. O.; GALATI, E. A. B. Aspecto ecológico da leishmaniose tegumentar americana. 6. Fauna flebotomínea antropófila de matas residuais situadas na região centro-nordeste do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 31, n. 1, p. :32-39, 1989.
- GOOGLE EARTH, 2016. Município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil. Coordenadas: 20°28'00.91"S, 55°47'14.09"O.
- IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Cidades, Mato Grosso do Sul, Aquidauana**. Acessado em 28 de janeiro de 2014. Disponível:<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=500110&search=mato-grosso-do-sul|aquidauana>.
- MAIA-ELKHOURY, A. N. S. WANESKA A. A.; SOUSA-GOMES M. L.; SENA J. MARTINS; LUNA E. Visceral *leishmaniasis* in Brazil: trends and challenges. **Caderno de Saúde Pública**, R J, v. 24, n. 12, p. 2941-2947, 2008.
- MARCONDES, C. B. 2007. A proposal of generic and subgeneric abbreviations for phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the world. **Entomological News**, 118: 351-356.
- MARZOCHI, M. C. A.; SOBROZA, P. C.; TOLEDO, MARZOCHI, K. B. F.; TRAMONTANA, N. C.; RANGEL- FILHO, F. B. Leishmaniose visceral na cidade do Rio de Janeiro – Brasil. **Caderno de Saúde Pública, RJ**, v. 1, n. 1, p. 5- 17, 1985.
- MELO, E. T.; SALES, M. C. L.; OLIVEIRA, J. G. B. (2011). Aplicação do índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI) para análise da degradação ambiental da microbacia hidrográfica do riacho dos cavalos, Crateús-ce. **Raega - O Espaço Geográfico em Análise**, [S.l.], v. 23, nov. 2011. ISSN 2177-2738. Disponível em: <<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs/index.php/raega/article/view/24919>>. Acesso em: 11 mar. 2015.

MIGONE, L. E. Un caso de Kalazar a Assuncion (Paraguay). **Bulletin de la Société Pathologie Exotique**, v. 6, p. 118-120, 1913.

MIRANDA, C; MASSA, J. L; MARQUES, C. C. A. Análise da ocorrência de leishmaniose tegumentar americana através de imagem obtida por sensoriamento remoto orbital em localidade urbana da região Sudeste do Brasil. **Revista Saúde Pública**, v. 30, n. 5, p. 433-7, 1996.

NEGRÃO, G. N; FERREIRA, M. E. M. C. Considerações sobre a leishmaniose tegumentar americana e sua expansão no território brasileiro. **Maringá**, v. 6, n. 1, p. 147- 168, 2014.

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, n. 6, p. 654-655, 2000.

OLIVEIRA, L. S; NETO, R. V. D; BRAGA, P. E. T. Perfil epidemiológico dos casos de leishmaniose visceral em Sobral, Ceará no período de 2001 a 2010. **SANARE-Revista de Políticas Públicas**, v. 12, n. 1, 2013.

PARANHOS FILHO, A. C. Análise Geo-Ambiental Multitemporal: **O estudo de Caso da Região de Coxim e Bacia do Taquarizinho**. 2000. 213p. Tese (Doutorado). Curso de Pós-Graduação em Geologia, Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2000.

PONZONI F. J; SHIMABUKURO Y. E. (2007). **Sensoriamento Remoto no Estudo da Vegetação**. 2da edição. INPE. Editora Parêntese. São José dos Campos – SP.

R. DEVELOPMENT CORE TEAM. (2008). R: A language and environment for statistical computing and graphics, version 3.2.0: R Foundation for Statistical Computing. Software livre. Disponível em: <<http://www.r-project.org/>>. Acesso em 12 Jan. 2015.

RIBIRO, J. O. G; ROEWER, S. P; NASCIMENTO, M. V. M. Prevalência de leishmaniose tegumentar americana no Município de Barra do Garças-MT. **Revista eletrônica interdisciplinar**, v. 1, n. 11, p. 71- 76, 2014.

ROUSE, J. W. **Monitoring vegetation systems in the Great Plains with ERTS**. In: proceedings of the third erts symposium, SP-351 Goddard Space Flight Center, 1973, Washington: NASA, p. 309–317. 1973.

SCHIAVO, J. A; PEREIRA, M. G; MIRANDA, L. P. M; DIAS- NETO, A. H; FONTANA, A. Caracterização e classificação de solos desenvolvidos de arenitos da formação

Aquidauana-MS. **Revista Brasileira De Ciência Do Solo**, v. 34, n. 3, p. 881-889, 2010.

SINAN -SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE- SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO. Município de Aquidauana, MS. Informação pessoal, enviada por e-mail em novembro de 2014.

SILVA, A. E. P; GURGEL, H. C. Leishmaniose tegumentar americana e suas relações sócio ambientais no município de Ubatuba-SP. **Revista Franco Brasileira de Geografia**, v. 13, p. 1-45, 2011.

SILVA, J. S. V; ROMERO, H. R; MARISCO, N. **Uso da terra no município de aquidauana em 1990- Pantanal**, III. EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal (Corumbá, MS). IV. Título. V. Série.

SOUZA, P. A; PERINOTTO, J. A. J; FÉLIX, C. M; ARAÚJO, B. C. Biostratigraphy and paleoecology of an unusual palynological record from the Aquidauana Formation, Late Pennsylvanian of Paraná Basin. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 2, p. 611- 622, 2015.

ZARONI, M. J; AMARAL, F. C. S; SILVA, E. F; COELHO, M. R; CARVALHO-JR, W; BHERING, S. B; CHAGAS, C. S; PEREIRA, N. R; GONÇALVES, A. O; DART, R. O; AGLIO, M. L. D; LOPES, C. H. L; TAKAGI, J. S; SÁ- EARP, C. G. **Zoneamento Agroecológico do Município de Aquidauana – MS**, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Solos, Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011.

## DISCUSSÃO

Os estudos relacionados a fauna de flebotomíneos, ao habitat e o padrão de ocupação dos flebotomíneos ainda são de importância no aspecto da epidemiologia das leishmanioses como mecanismos de compreensão da dinâmica da transmissão dessas doenças quando se considera o planejamento, prevenção e controle.

A fauna do município de Aquidauana apresentou-se rica com dez espécies de flebotomíneos e 9.338 exemplares capturados, após 24 meses de estudo, contribuindo para o conhecimento da fauna do Estado de Mato Grosso do Sul. Os estudos de fauna de flebotomíneos no estado iniciou-se no Município de Corumbá com oito espécies relatadas, sendo duas espécies- tipo (GALATI *et al.*, 1985; 1989). Posteriormente no Município de Corginho foi encontrado 26 espécies (Galati *et al.*, 1996). Na capital do Estado, Campo Grande, foi observado uma variedade de 28 espécies em área urbana, com o relato da espécie *Lutzomyia longipalpis* (OLIVEIRA *et al.*, 2001; 2003). Em outros municípios também foi observado uma diversidade de espécies, como em Bela Vista com 18 espécies (DORVAL *et al.*, 2009), Três Lagoas com 14 (OLIVEIRA *et al.*, 2010), 26 espécies em Rio Verde de Mato Grosso (Almeida *et al.*, 2013), entre outros (Galati *et al.* 2001; Almeida *et al.* 2010; Casaril *et al.* 2014; Oliveira *et al.* 2015). Com a descrição recente de uma nova espécie, *Evandromyia orcyi*, capturada em Selvíria (Oliveira *et al.*, 2015) demonstra que no Estado necessita ainda de mais investigações para o conhecimento faunístico de flebotomíneos, além disso existem regiões em que ainda não foram exploradas.

Neste trabalho optou-se por dois tipos de capturas com a finalidade de aumentar a representatividade de fauna local e o número de fêmeas para a investigação de protozoários do gênero *Leishmania*. Dessa forma utilizou armadilha luminosa do tipo Falcão modificada e aspiração mecânica e foi observado diferenças entre o número de exemplares e a variedade de espécies capturadas.

Dentre as formas de captura a armadilha luminosa demonstrou ser mais eficiente diante da variedade de espécies capturadas do que a aspiração automática, embora esta tenha apresentado maior número de exemplares capturados. O melhor desempenho da armadilha luminosa já foi referido por outros autores (FLORES *et al.*, 2006; CABRERA *et al.*, 2009; GALATI *et al.*, 2010; GALATI; NUNES; CRISTALDO, 2013; CASAGRANDE *et al.*, 2014), assim sugere-se que esta técnica de captura é mais eficiente do ponto de vista qualitativo e quantitativo em



relação ao número de espécies capturadas. Em contrapartida no estudo realizado por Casagrande e colaboradores (2014) não foi observado o mesmo resultado, podendo ser pelo número reduzido de coletas, apenas duas. No entanto, a armadilha luminosa demonstrou não ser um método seletivo, já que os insetos são atraídos pela luz, tornando qualquer outro método concomitante um complemento.

Dentre as espécies capturadas no presente estudo destacam-se *Lu. longipalpis*, *Ev. walkeri* e *Ev. aldafalcaoae*, as mais representativas. Das quais, a primeira apresentou o maior número de indivíduos capturados.

A espécie que apresenta relevância na área médica, *Lu. longipalpis* foi relatada no Estado a primórdio no município de Corguinho em 1996 (GALATI *et al.*, 1996) e está amplamente distribuída. Segundo Almeida e colaboradores (2013) está presente em 37 municípios, salvo o Município de Corumbá conhecido por conter a espécie *Lutzomyia cruzi*, considerada o vetor da LV na região (SILVA *et al.*, 1998). Embora a leishmaniose visceral tenha sido descrita a primeira vez em 1913, esta permaneceu restrita a dois municípios até 1998 quando foi reportado os primeiros casos nos Municípios de Aquidauana e Anastácio. Com crescente número de casos, Aquidauana foi considerada área de transmissão intensa para a LV e até o presente estudo se enquadra nesta classificação.

*Lutzomyia longipalpis* é encontrada em densidade elevada em áreas degradadas e em menores quantidades em locais preservados, condizente com perfil de ocorrência no município de Aquidauana, alta prevalência em área urbana, demonstrando sua capacidade de adaptação em vários ambientes, clima e os diferentes tipos de vegetação, apresentando padrão de urbanização conhecido por vários autores (DIAS, *et al.*, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2006; CARVALHO, *et al.*, 2010).

A sua importância epidemiológica também já é bem conhecida por se tratar do vetor da LV em vários estados brasileiros. Com o crescimento urbanos houve expansão na transmissão da doença deixando de ter um caráter rural e tornando periurbana e urbana. Com relato de capturas de *Lu. longipalpis* dentro dos domicílios em várias estados que apresentavam incidência da doença, sugerindo a correlação positiva entre o número de casos e a ocorrência do vetor. A plasticidade desse flebotominio encontrado se alimentando em uma ampla variedade de animais como aves, canídeos, caprinos, didelfídeos, equídeos, felídeos, humanos, ovinos e roedores, favorecendo a sua adaptação ao meio antropizado. Em Aquidauana foi

encontrado em alta prevalência nos anexos das residências que continham animais domésticos, principalmente aqueles com maior quantidade. A coincidência da distribuição espacial com os focos da doença.

Em relação a segunda espécie mais capturada, *Ev. walkeri*, foi encontrada principalmente no anexo da residência com pocilga, contrariamente dos achados por outros autores que a descreveram em galinheiros (MORALLES; CARRASQUILLA; RODRIGUEZ, 1984; VÁSQUEZ-TRUJILLO *et al.*, 2008; PEREIRA JUNIOR *et al.*, 2015). Neste estudo também foi capturada em locais com presença de aves, todavia em menor quantidade. É descrita no interior de residências, além disso já foi encontrada picando o homem (SANDOVAL *et al.* 2006, CORTES; FERNADES, 2008; PINHEIRO *et al.* 2013), o que pode indicar um comportamento antropofílico. Apesar de não ter relatos sobre seu papel na epidemiologia das leishmanioses já houve confirmação da infecção natural nessa espécie (NIEVES *et al.*, 2014). Por apresentar poucas informações na literatura sobre essa espécie, há necessidade de maiores esclarecimentos, principalmente se apresenta relacionada a cadeia de transmissão dos protozoários de *Leishmania*.

*Evandromyia aldafalcaoae* esteve presente em todos os ambientes amostrados, abrigos de animais com aves, cães e pocilgas. O primeiro registro dessa espécie foi de um macho encontrado em um galinheiro do Município de Aquidauana, sendo este a localidade-tipo da espécie (SANTOS; ANDRADE FILHO; HONER, 2001). Já a fêmea foi descrita no Pantanal Sul Matogrossense (BRAGA- MIRANDA; GALATI, 2005), também já foi capturada em Corumbá (CASARIL *et al.*, 2014) e em Bonito foi encontrado no intradomicílio (DORVAL *et al.*, 2009). Sua distribuição consistia nas zonas do Pantanal e Cerrado, restrita ao estado de Mato Grosso do Sul, entretanto foi registrada no Chaco Argentino (SZELAG *et al.*, 2016).

Foi capturado um número expressivo de macho em relação a fêmeas, a espécie que contribuiu para esse resultado foi principalmente *Lu. longipalpis*, apresentando a razão 8,07:1 na armadilha luminosa e 5,1:1 na aspiração manual. Esse achado foi relatado em outros trabalhos realizados no Estado, Nunes *et al.*, (2008) no município de Bonito com razão de 5,7. Em Campo Grande a razão foi de 2,95 (OLIVEIRA, *et al.*, 2012).

Alguns autores atribuem esse comportamento ao fato dos machos liberarem feromônios para atrair as fêmeas, chamado de *lekking* (JONES; QUINNELL, 2002,

QUINNELL; DYE, 1994). Neste local as fêmeas realizam o repasto sanguíneo, além da cópula, ingurgitadas tornam-se mais pesadas dificultando o vôo e recorrem para abrigos com menor luminosidade, conseqüentemente a armadilha luminosa é menos atrativa para estas (DYE; DAVIES, 1991).

A relação macho/fêmea na captura através de aspiração mecânica foi menor, fato que pode ser explicado pela forma que é feita a captura, diretamente sem necessidade de atração para armadilha, conseqüentemente as fêmeas que estão realizando o repasto ou em repouso serão também capturadas. Outros autores observaram

Para as variantes do peri e intradomicílio, não houve diferença estatisticamente significativa. Entretanto, o maior número de flebotomíneos e diversidade de fauna foi obtido no peridomicílio. Estudos reportam que o maior rendimento nesse ambiente ocorra, provavelmente, pela presença de animais. Alguns autores sugerem que algumas espécies como *Lu. longipalpis* tenham preferência por locais com presença de animais domésticos ou de criação a ambientes naturais (CRUZ; GALATI; CRUZ, 2013; MACHADO *et al.* 2013).

Em relação aos bairros em que foram realizadas as capturas, o bairro que apresentou maior variedade de espécies (oito do total de dez) e um número expressivo de flebotomíneos foi o Guanandy. A espécie *Lu. longipalpis* apresentou predominante dentre as demais, por essa razão o valor dos índices de *Pielou* e de *Shannon* ficaram em terceiro lugar comparado com os outros ecótopos, o que foi observado também em outros estudos no Estado (OLIVEIRA *et al.* 2006; NUNES *et al.* 2008). Em contrapartida, o ambiente que apresentou o maior valor para ambos os índices, *Pielou* e *Shannon*, foi o bairro que apresentou menor número de exemplares coletados, o bairro São Francisco, uma vez que não houve uma espécie que se sobrepôs dentre as demais.

O bairro situado na região mais urbanizada do município, o Bairro Alto, apresentou baixos valores dos índices, por apresentar maior áreas construídas com ruas, avenidas e casas, portanto apresenta pouca área verde e solo mais impermeáveis. Essa tendência também foi observada no trabalho realizado por Oliveira *et al.* (2006), onde a área central do Município de Campo Grande demonstrou baixo valor dos mesmos. Essas áreas com menor índice de biomassa pode dificultar o estabelecimento de algumas espécies de flebotomíneos, por outro

lado favorecer a espécie mais adaptada a esses ambientes. Podendo observado essa relação quando foi calculou o índice de vegetação (*Normalized Difference Vegetation Index* - NDVI).

Assim, para melhor conhecimento dos habitats de cada ponto de coleta realizou-se a caracterização da fitofisionomia destes locais através da ferramenta de geoprocessamento e de suas técnicas mais apuradas, NDVI e *Normalized Difference Water Index* (NDWI).

Nesse contexto, o índice de fitomassa mostrou a redução desta no segundo período (2013) quando comparada ao ano de 2011, ocorrendo em todos os *buffers* (60m, 500m e 1000m) e em todos os ecótopos amostrados. No primeiro período (2011) os valores do NDVI apresentaram-se mais elevados. Nesse ano pode-se observar que nos ambientes que apresentaram o valor do índice acima de 0,50, como nos bairros: Guanandy (NDVI= 0,55), Paraíso (NDVI=0,51) e São Francisco (NDVI=0,51), foram coletadas maior variedade de espécies. Essa tendência já foi relatada em outros estudos como no Município de Corumbá por Casaril *et al.*, (2014) e em Ponta Porã, Andrade *et al.*, (2013) que relataram maior diversidade de espécie em locais adjacentes a fragmentos de matas. Essa relação pode ser pelas condições favoráveis que esses habitats apresentam como locais de criação ou refúgio, o que faz esses insetos permanecerem próximos a essas áreas.

A umidade, calculada pelo NDWI, foi maior no segundo período. Este fato pode ter sido o reflexo do alto índice pluviométrico ocorrido nesse ano (1.477,60 mm). Por outro lado, houve uma redução no número de flebotomíneos coletados.

Sabe-se que apesar das formas imaturas de flebotomíneos necessitarem de umidade no solo, o alagamento do solo impede o desenvolvimento dos estágios imaturos de flebotomíneos. (CASANOVA *et al.* 2013; MESTRE *et al.* 2011).

Para análise dos índices em cada bairro, o ecótopo que se destacou foi o Guanandy. Na caracterização da fitofisionomia no raio de 1000m apresentou maior superfície quantificada como mata e a menor extensão de área antropizada.

Outro fato nesse ecótopo foi a redução de fitomassa no ano de 2013 em relação ao ano de 2011, alterando inclusive, a classificação do tipo de vegetação (de cerrado para área de vegetação rasteira) e neste mesmo período também houve baixo rendimento na coleta de flebotomíneos.

Além disso, em 2013 os moradores fizeram limpeza do quintal com produto fenólico (creolina), o que também pode ter influenciado na redução da quantidade de

flebotomíneos. Estudos sobre aplicação de produtos veterinários no combate de pulgas, carrapatos e moscas tem efeito também contra os flebotomíneos, agindo tanto nas formas imaturas como nos adultos (BARATA *et al.* 2011; INGENLOFF *et al.* 2013). Esses produtos quando utilizados com frequência parecem auxiliar no controle de flebotomíneos no peridomicílio.

O bairro Guanandy é o único a apresentar uma pocilga no peridomicílio, segundo Forattini (1053) estes locais são favoráveis a servir de criadouro, além da fonte alimentar para as fêmeas apresentam acúmulo de matéria orgânica.

Em relação as espécies coletadas, foram coletadas oito das dez espécies encontrada. Esse fato pode ser explicado pelo maior valor de fitomassa, além da presença da mata ciliar ao longo do bairro. A mais abundante foi *Lu. longipalpis*. Esta espécie é citada na literatura por apresentar hábitos ecléticos, ser encontrada em vários ambientes, inclusive áreas antropizadas (OLIVEIRA, *et al.*, 2000; DIAS, *et al.*, 2003; QUEIROZ, *et al.*, 2003; RÊGO, *et al.*, 2014). Outra espécie encontrada com maior representatividade no bairro Guanandy foi *Ev. walkeri*. Sua maior frequência foi nos ecótopos com maior presença de fitomassa no primeiro período quando os valores de NDVI estavam mais elevados. A presença dessa espécie pode estar relacionada com a presença de vegetação, proporcionado recursos e condições necessárias para a sobrevivência e estabelecimento, sendo um potencial bioindicador, como também foi proposto no trabalho de Pereira Junior (2014).

O bairro que apresentou o segundo maior valor do NDVI e a segunda maior extensão caracterizada como mata foi o Paraíso. Nesse bairro é margeado pelo córrego João Dias e apresenta fragmentos de matas. Foi coletada seis espécies, representando o segundo ecótopo em variedade de espécie, juntamente com o São Francisco. Entretanto houve baixo rendimento nos números de indivíduo coletados. Apesar desse local apresentar condições favoráveis para o estabelecimento dos flebotomíneos outros fatores podem ter influenciado. Não foi observado acúmulo de matéria orgânica no peridomicílio e a árvore na qual as galinhas passavam a noite era um limoeiro. Alguns autores relatam a preferência de algumas espécies de flebotomíneos por árvores de portes grandes (Ready *et al.* 1986; DIAS- LIMA, CASTÉLLON; SHERLOK, 2002) e que não se adaptam as vegetações exóticas (WALSH *et al.*, 1993; READY *et al.*, 1983). Árvores de copas grandes produzem

maior quantidade de material orgânico e apresentam maior umidade, condições necessárias para o estabelecimento dos flebotomíneos.

No ponto de coleta do bairro São Francisco também foi observado valores altos para o NDVI, entretendo no segundo período houve mudança na classificação da fitofisionomia no raio de 60m devido à perda de fitomassa, passou de cerrado para área de vegetação rasteira. Embora os valores do NDVI pareçam favoráveis para a presença dos flebotomíneos, o bairro São Francisco apresentou baixo rendimento na coleta. Isso pode ser explicado pelo fato que o peridomicílio não apresentava acúmulo de material orgânico, além da pouca quantidade de sombra, os raios solares penetravam a superfície na maior parte do quintal. Sabe-se que tanto os adultos quanto as formas imaturas são sensíveis ao ressecamento (AGUIAR *et al.* 1985; ALEXANDER *et al.* 1992; AZEVEDO *et al.* 1993; BASIMIKE *et al.* 1991; COMER; BROWN, 1993; GOMES *et al.* 1980; MEMMOTT 1991). O que pode prejudicar o estabelecimento dos flebotomíneos nesse local.

O bairro que apresentou elevado rendimento na coleta de flebotomíneos foi o São Cristovão, apesar dos valores dos índices apresentaram-se baixos. No peridomicílio observou a presença de árvores com copas grandes, elevada quantidade de material orgânico e galinhas no local. No segundo período, os moradores aumentaram a quantidade de galinhas e houve um aumento no rendimento de flebotomíneos no mesmo período. Embora houve redução da fitomassa no segundo ano, a maior oferta de alimento e a crescente quantidade de matéria orgânica no local, possivelmente favoreceu a sobrevivência tanto dos adultos bem como das larvas, que se alimentam de material em decomposição no solo (YOUNG; DUNCAN,.1994).

O ecótopo Pinheiro apresentou o segundo menor valor para o NDVI, todavia apresentou o maior rendimento de flebotomíneos dentre todos os locais de coleta. No peridomicílio havia um galinheiro fechado, o qual foi retirado pelos moradores no início de 2013. O número de flebotomíneos coletados apresentou uma redução gradativa ao longo do segundo período, possivelmente, a presença de ovos e formas imaturas que se encontravam antes da retirada do galinheiro. Trabalhos sugerem que os galinheiros possam atrair os flebotomíneos por apresentarem locais com abrigo, fonte de alimento e criadouros (ALEXANDER *et al.* 2002; CASANOVA 2001).

O ambiente que apresentou o menor valor do NDVI foi o Bairro Alto, mas a redução da fitomassa foi menor comparada com os outros habitats. Esse foi o ambiente que exibiu maior área caracterizada como antropizada, o que está de acordo por estar localizado na região mais urbanizada do município. Para o cálculo do NDWI notou-se um aumento na umidade no segundo período.

Em relação aos flebotomíneos coletados nesse ponto, houve um aumento do número de indivíduos no segundo ano. Esse fato pode ter sido conduzido pela elevação da umidade local, demonstrada pelo NDWI. A baixa umidade pode prejudicar o desenvolvimento das formas imaturas que podem entrar em diapausa até que o ambiente esteja favorável (TESH, 1988). Somando a isto, o local de coleta apresentava galinhas, muito frutas no solo e sombra, favorecendo a sobrevivência e o desenvolvimento das larvas.

De modo geral, a redução de fitomassa e o microambiente (raio de 60m) nos pontos de coleta influenciaram o padrão de ocupação dos flebotomíneos. Segundo CAMARGO-NEVES *et al.*, (2001) a variabilidade da distribuição desses insetos entre bairros estaria relacionada à sua distribuição focal, restringindo-os aos peridomicílios que apresentem condições favoráveis, tais como presença de animais, plantas e terreno sombreado. Inclusive Fernández *et al.* (2013), ressaltam a importância para medidas preventivas contra possíveis casos de leishmanioses nessas residências.

Assim, podemos observar que possivelmente esses insetos devem estar respondendo em escala de microambiente, com comportamento diferenciado dependendo das condições ambientais onde cada residência está inserida.

Por esse fato, verificou-se os casos de leishmaniose humana que ocorreram durante o período de coleta de flebotomíneos. Foram obtidas informações dos endereços dos pacientes para análise espacialmente e para classificação da fitofisionomia de cada local que foi confirmado casos da doença.

Dos 14 casos que foram confirmados, desses, 12 casos ocorreram em área urbana. Essa tendência de urbanização dos casos vem sendo relacionada com o êxodo rural ocorrido nos anos 1980, juntamente com a falta de infraestrutura das cidades para assentar essa população. Bem como, o crescimento das cidades invadido os habitats naturais dos flebotomíneos, expondo a população a esses vetores, o que ajudou na expansão da doença para ambientes urbanos

(BEVILACQUA *et al*, 2007; CARVALHO *et al*. 2014; COSTA *et al*, 1990; MARZOCHI *et al*.1985; NEGRÃO; FERREIRA, 2014; RIBEIRO *et al*, 2014).

A maioria dos pacientes foram diagnosticados com LV, sendo apenas três casos de LT. Soares *et al*, (2011) justificou a maior ocorrência de LV no Piauí pelo fato da fauna de flebotomíneos ter uma quantidade significativa da espécie *Lu. Longipalpis*, vetor da LV. Em nossos estudos também foi observado o predomínio da espécie *Lu. longipalpis*.

Em relação a caracterização da fitofisionomia dos locais em que foram confirmados casos de leishmaniose, a maioria dos casos ocorrem em áreas com a presença de fragmentos de matas. Em um estudo que se comparou a moradia de pessoas com a infecção e sadias, foi observado que no grupo dos pacientes com leishmaniose a maioria apresentaram suas casas próximas a mata (FOLLADOR *et al*. 1999). Além disso, outros trabalhos relatam essa relação entre casos de leishmaniose com os fragmentos de mata no entorno das residências dos pacientes (ALMEIDA *et al*. 2014; MIRANDA; MASSA; MARQUES, 1996; SILVA; GUNGERL, 2009).

A necessidade para a compreensão do comportamento dos flebotomíneos diante da sua interação com o meio, principalmente urbano, a fim de interceder na expansão das leishmanioses precisa de mais estudos relacionados microhabitat ao dos flebotomíneos.



## 5. CONCLUSÕES

Na área urbana do Município de Aquidauana foram identificadas dez (*Brumptomyia brumpti*, *Evandromyia aldafalcaoae*, *Evandromyia evandroi*, *Evandromyia lenti*, *Evandromyia orcyi*, *Evandromyia sallesi*, *Evandromyia termitophila*, *Evandromyia walker*, *Lutzomyia longipalpis*, *Psathyromyia bigeniculata*) e sete (*Ev. aldafalcaoae*, *Ev. evandroi*, *Ev. sallesi*, *Ev. walkeri*, *Lu. longipalpis*, *Pa. bigeniculata* and *Ev. orcyi*) espécies de flebotomíneos através da armadilha luminosa Falcão e aspiração ativa, respectivamente.

A espécie mais abundante foi *Lutzomyia longipalpis* nas duas formas de captura. A razão macho/fêmea foi de 6,97 através da armadilha luminosa e de 4,9 por aspiração ativa.

O peridomicílio apresentou o maior rendimento.

A aspiração ativa foi mais eficaz na coleta de flebotomíneos. A pocilga foi o ambiente que apresentou maior variedade de flebotomíneos e densidade de flebotomíneos.

Não foi detectado o DNA de *Leishmania* spp. nas fêmeas submetidas à análise.

A redução de fitomassa pode ter influenciado a densidade e a distribuição desses insetos.

As análises paisagísticas apresentadas confirmam a utilidade do sensoriamento remoto e a do geoprocessamento aplicados à epidemiologia.

**REFERENCIAS**

ALMEIDA, A. B. P. F.; P, R. F.; PIMENTEL, M. F. A.; DAHROUG, M. A. A.; TURBINO, N. C. M. R.; SOUZA, V. R. F. Inquérito soroepidemiológico de leishmaniose canina em áreas endêmicas de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 2, p. 156-159, 2009.

ALMEIDA, P. S.; NASCIMENTO, J. C.; FERREIRA, A. D.; MINZÃO, L. D.; PORTES, F.; MIRANDA, A. M.; FACCENDA, O.; ANDRADE-FILHO, J. D. Espécies de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) coletadas em ambiente urbano em municípios com transmissão de Leishmaniose Visceral do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, n. 2, p. 304–310, 2010.

ALVES, C. F. Determinação do perfil de citocinas e quantificação da carga parasitária em cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* (Cunha & Chagas, 1937) com e sem expressão clínica da leishmaniose visceral. 2008.206 f. (Doutorado em Ciências em Protozoologia) - Universidade Federal de Minas Gerais/UFMG, Belo Horizonte, 2008.

AMBROISE-THOMAS, P. Emerging parasite zoonoses: the role of host–parasite relationship. **International journal for parasitology**, v. 30, n. 12, p. 1361-1367, 2000.

ANDRADE, A. R. O.; NUNES, V. L. B.; GALATI, E. A. B.; ARRUDA, C. C. P.; SANTOS, M. F. C.; ROCCA, E. G.; AQUINO, R. B. Estudo epidemiológico das leishmanioses em área de turismo ambiental e ecoturismo, Estado de Mato Grosso do Sul, 2006-2007. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 5, p. 488-493, 2009.

AQUIDAUANA. Prefeitura Municipal de Aquidauana. Dados gerais de Aquidauana. Disponível em: [http://www.aquidauana.ms.gov.br/cidade\\_dados.php](http://www.aquidauana.ms.gov.br/cidade_dados.php). Acessado: 10 de fevereiro de 2012.

BASANO, S. A.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose Tegumentar americana: história, epidemiologia e perspectiva de controle. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 328-337. 2004.

BASANO, S. A.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose Tegumentar americana: história, epidemiologia e perspectiva de controle. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 328-337, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual da Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

BRAZIL, R. P.; BRAZIL, B. G. Biologia de flebotomíneos neotropicais. In: Rangel E. F; Lainson R. (Org.). Flebotomíneos do Brasil. 2. ed. Rio de Janeiro: Fiocruz. 2003. p. 257-274.

BRAZIL, R. P; RODRIGUES, A. A. F; ANDRADE FILHO, J. D. Sand fly vectors of *Leishmania* in the Americas-a mini review. **Entomology, Ornithology & Herpetology: Current Research**, v. 4, p. 1-4, 2015.

CABRERA, M. A. A. Ciclo enzoótico de transmissão da *Leishmania (leishmania) chagasi* (cunha & chagas,1937) no ecótopo peridoméstico em barra de guaratiba, rio de janeiro - RJ:. 1999.90 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Instituto da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1999.

LV*Leishmaniainfantumleishmania*CARVALHO; M. R, VALENÇA; H. F, SILVA; F. J, PITA-PEREIRA, D; ARAÚJO-PEREIRA T; BRITTO, C; BRAZIL, R. P; BRANDÃO-FILHO S. P. Natural *Leishmania infantum* infection in *Migonemyia migonei* (França, 1920) (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil. **Acta Trop**, v.116, p.108-10, 2010.

COMER, J. A.; TESH, R. B. Phlebotomine sand flies as vectors of vesiculoviruses: a review. **Parassitologia**, v. 33, p. 143-150, 1991.

COSTA, J. M. L. Epidemiologia das Leishmanioses no Brasil. **Gazeta médica da Bahia**, v. 75, n. 1, p. 3-17, 2005.

1. COSTA, J. M. L; SALDANHA, A. C. R; NASCIENTO, D; SAMPAIO, G; CARNEIRO, F; LISBOA, E; SILVA, L. M; BARRAL, A. Modalidades clínicas, diagnóstico e abordagem terapêutica da leishmaniose tegumentar no Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, n. 79, supl. 3, 2009.

COUTINHO, J. F. V. Estudo clínico-laboratorial e histopatológico de cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi* com diferentes graus de manifestações físicas. 2005.102 f. Dissertação (Mestrado em bioquímica) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2005.

DESJEUX, P. Global Control and *Leishmania* HIV Co-infection. **Clinics in Dermatology**, v.17, n. 3, p.317-325, 1999.

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

DIAS, C. A. Estudos das alterações clínico-laboratoriais e histopatológicas renais em cães com leishmaniose visceral naturalmente infectados no Distrito Federal. Dissertação (mestrado) em Saúde Animal pela Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Brasília, dezembro de 2008.

DORVAL, M. E. M. C.; OSHIRO, E. T.; CUPOLLILLO, E.; CASTRO, A. C. C.; ALVEZ, T. P. Ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Estado de Mato Grosso do Sul associada à infecção por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 1, p.43-46, 2006.

*Leishmania* *Leishmania* DOURADO, Z. F.; SILV, H. D.; SILVEIRA-LACERDA, E. P.; GARCÍA-ZARPATA, M. T. A. Panorama histórico do diagnóstico laboratorial da leishmaniose visceral até o surgimento dos testes imunocromatográficos (rK39). **Revista de Patologia Tropical**, v. 36, n. 3, p. 205-214, 2007.

EL TAI, N. O. O., O. F; EL FARI, M; EL FARI, M; PRESBER, W. H; SCHONIAN, G. Genetic heterogeneity of ribosomal internal transcribed spacer (its) in clinical samples of *Leishmania donovani* spotted on filter paper as revealed by single-strand conformation polymorphisms (sscp) and sequencing. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 94, n. 5, p. 575-579, 2000.

FISHER, R.A., CORBET, A.S. & WILLIAMS, C.B. 1943. The relation between the number of species and the number of individuals in a random sample of an animal population. **Journal of Animal Ecology**, v. 12, n. 1, p. 42-58.

FORATTINI, O. P. Sobre os reservatórios naturais da leishmaniose tegumentar Americana. **Revista Instituto Medicina Tropical de São Paulo**, v. 2, n. 4, p. 195-203, jul.-ago. 1960.

GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L. B.; DORVAL, M. E. C.; OSHIRO, E. T.; CRISTALDO, G.; ESPÍNDOLA, M. A.; ROCHA, H. C.; GARCIA, W. B. Estudo dos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae), em área de leishmaniose tegumentar, no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 30, n. 2, p. 115-128, dez.1996.

GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L. B.; REGO-JR, F. A.; OSHIRO, E. T.; CHANG, M. R. Estudo de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, **Brasil. Revista de Saúde Pública**. v. 31, n. 4, p. 378-390, jan.1997.

GALATI, E. A. B; NUNES, V. L; BOGGIANI, P. C; DORVAL, M. E. C; CRISTALDO, G; ROCHA, H. C. D; OSHIRO, E. T; GONÇALVES-DE-ANDRADE, R. M; NAUFEL, G. Phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in caves of the Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 47, n. 2, p. 283-296, 2003.

GARNHAM, P. C. C. The leishmaniasis, with special reference to the role animal reservoirs. *American Zoologist*, v. 5, n. 1, p. 141-151, 1965.

GASPAR, L. P. et. al. Morphological changes in the kidney of dogs with visceral leishmaniasis. *Agrárias / Patologia Animal Unidade: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Jaboticabal. RESUMOS do XXI Congresso de Iniciação Científica da UNESP (CIC). São José do Rio Preto, 3 a 7 de novembro de 2009. Disponível em: [http://prope.unesp.br/xxi\\_cic/premiado.htm](http://prope.unesp.br/xxi_cic/premiado.htm). Acessado em: 10 de abril de 2010.*

GOMES-NETO, C. M. B. Pesquisa sobre o envolvimento do marsupial *Didelphis albiventris* Lund, 1840 (*Didelphimorphia*, *Didelphidae*) e de cães domiciliados no ciclo de transmissão da leishmaniose visceral no município de Camaçari, localidade de Barra do Pojuca, Bahia. 2006.79 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) - Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2006.

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

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Visceral leishmaniasis in Brazil: current status, challenges and prospect. **Revista Brasileira Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 338-349, nov. 2004.

*leishmania* GRIMALDI, G.; TESH, R. B. Leishmaniasis of the New World: current concepts and implications for future research. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 6, n. 3, p. 230-250, 1993.

*Leishmania* GUERRA, J. A. O.; BARROS, M. L. B.; FÉ, N. F.; GUERRA, M. V. F.; CASTELLON, E.; PAES, M. G.; SHERLOCK, I. A. Leishmaniose visceral entre índios no Estado de Roraima, Brasil. Aspectos clinicoepidemiológicos de casos observados no período de 1989 a 1993. **Revista da Sociedade de Medicina Tropical**, v. 37, n.4, p.305-311, 2004.

GUIMARÃES, L. H; MACHADO, P. R. L; LESSA, H. A; LESSA, M., D'OLIVEIRA, A; CARVALHO, E. M. Aspectos clínicos da leishmaniose tegumentar. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 74, n. 1, 2008.

HOARE, C. A, WALLACE, F. C. Developmental stages of trypanosomatid flagellates: **A new terminology**. **Nature**, v.212, p. 1358-1996, 1966.

HUMBERG, R. M. P. *Leishmania* sp. em animais silvestres de cativeiro e de vida livre. 1977.62 f. Dissertação (Mestrado apresentada Programa em Doenças Infecciosas e Parasitárias) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 1977.

KILLICK-KENDRICK, R. The life-cycle of *Leishmania* in the sandfly with special reference to the form infective to the vertebrate host. **Annales de Parasitologie humaine et comparée**, v. 65, p. 37-42, 1989.

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. dez. 2005.

*Lutzomyia longipalpis leishmania* LAINSON, Ralph. Espécies neotropicais de *Leishmania*: uma breve revisão histórica sobre sua descoberta, ecologia e taxonomia. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 2, p. 13-32, 2010.

*Leishmania* MARQUES, M. I. L. M. Leishmaniose canina. 2008.150 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2008.

Mato Grosso do Sul. Secretaria do Estado de Saúde. SINAN/MS. Casos de leishmaniose visceral americana, Mato Grosso do Sul, 1999-2010, 2011. Disponível em:

<[http://www.saude.ms.gov.br/index.php?templat=vis&site=116&id\\_comp=634&id\\_reg=5409&volTr=lista&site\\_reg=116&id\\_comp\\_orig=634](http://www.saude.ms.gov.br/index.php?templat=vis&site=116&id_comp=634&id_reg=5409&volTr=lista&site_reg=116&id_comp_orig=634)>. Acesso em: 12 maio 2011a.

Mato Grosso do Sul. Secretaria do Estado de Saúde. SINAN/MS. Casos de leishmaniose tegumentar americana, Mato Grosso do Sul, 1999-2010, 2011. Disponível em: [http://www.saude.ms.gov.br/index.php?templat=list&voLTr=home&id\\_comp=635](http://www.saude.ms.gov.br/index.php?templat=list&voLTr=home&id_comp=635). Acessado em: junho de 2011b.

MESTRE, G. L. C; RIBEIRO, A. L. M; MIYAZAKI, R. D; RODRIGUES, J. S. V; ALMEIDA, A. D. B. P. F; SOUSA, V. R. F; MISSAWA, N. A. Phlebotomine sand flies and canine infection in areas of human visceral leishmaniasis, Cuiabá, Mato Grosso. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 3, p. 228-234, 2011.

MIGONE, L. E. Un caso de Kalazar a Assuncion (Paraguay). **Bulletin de la Société Pathologie Exotique**, v. 6, p. 118-120, 1913.

MOLYNEUX, D. H. Vector-borne parasitic diseases: an overview of recent changes International. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 6, p. 927-934, jun. 1998.

MONTOYA-LERMA, J; CADENA, H; OVIEDO, M; READY, P. D; BARAZARTE, R; TRAVI, B. L; LANE, R. P. Comparative vectorial efficiency of *Lutzomyia evansi* and *L. longipalpis* for transmitting *Leishmania chagasi*. **Acta tropica**, v. 85, n. 1, p. 19-29, 2003.

NADIM, A; FAGHIH, M. The epidemiology of cutaneous leishmaniasis in the Isfahan province of Iran: I. The reservoir II. The human disease. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 62, n. 4, p. 534-542, 1968.

OLIVEIRA, A. G.; ANDRADE-FILHO, J. D.; FALCÃO, A. L.; BRAZIL, R. P. A New Sand Fly, *Lutzomyia campograndensis* sp. n. (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) from the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 3, p. 325-329. abr. 2001.

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

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, n. 6, p. 654-655, jan.2000.

OLIVEIRA, A. G.; GALATI, E. A. B.; FERNANDES, C. E.; DORVAL, M. E. C.; BRAZIL, R. P. 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. **ActaTropica**, v. 105, n. 1, p. 55-61, jan. 2008.

OLIVEIRA, A. L. L.; PANIAGO, A. M. M.; DORVAL, M. E. C.; OSHIRO, E. T.; LEAL, C. R.; SANCHES, M.; CUNHA, R. V.; BÓIA, M. N. Foco emergente de leishmaniose visceral em Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 5, p. 446-450, set.-out. 2006.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (WHO). Contém informações institucionais, técnicas, notícias, projetos, publicações e serviços. Disponível em: <[http://www.who.int/leishmaniasis/en\\_](http://www.who.int/leishmaniasis/en_)>. Acesso em: dezembro 2010.

PATZ, J. A.; GRACZYK, T. K.; GELLER, N.; VITTOR, A. Y. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12-13, p. 1395-1405, nov. 2000.

PESSOA, F. A. C; MEDEIROS, J. F; BARRETT, T. V. Effects of timber harvest on phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a production forest: abundance of species on tree trunks and prevalence of trypanosomatids. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 5, p. 593-599, 2007.

PONDÉ, R; MANGABEIRA FILHO, O; JANSEN, G. Alguns dados sobre a leishmaniose visceral americana e doença de Chagas no Nordeste Brasileiro (Relatório de uma excursão realizada nos Estados do Ceará, Pernambuco e Baía). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 37, n. 3, p. 333-352, 1942.

RANGEL, E. F. Flebótomos transmissores da *Leishmania (L.) infantum chagasi* nas Américas e técnicas disponíveis de captura para a vigilância entomológica. In: Organización Panamericana de la Salud. Informe final de la reunion de expertos OPS/OMS sobre sis em las Américas. Rio de Janeiro: PANAFTOSA, 2006. p. 83-84.

ROSS, R. Note on the bodies recently described by Leishman and Donovan. **British Medical Journal**, v. 2, n. 2237, p. 1261, 1903.

ROSYPAL, A. C.; ZAJAC, A. M.; LINDSAY, D. S. Canine visceral sis and its emergence in the United States. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 33, n. 4, p. 921-37, jul. 2003.

SABROSA, P. Epidemiologia das leishmanioses. Disponível em: <http://www.fiocruz.br>. Acessado em: 29 de novembro de 2006.

SÁ-LUIZ, E. M. E. Profilaxia da leishmaniose visceral. 2006. 79 f. Monografia (Especialização em Gestão da Qualidade de Alimentos e Vigilância Sanitária) - Universidade UNIDERP/INBBRAPE, Campo Grande, 2006.

SHIMABUKURO, P. H. F. Chave de identificação ilustrada dos Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do Estado de São Paulo. 2007.121 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Saúde Pública/USP, São Paulo, 2007.

SHIMABUKURO, P. H. F. Chave de identificação ilustrada dos Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do Estado de São Paulo. 2007.121 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Saúde Pública/USP, São Paulo, 2007.

SILV, E. A. Dinâmica da população de *Lutzomyia longipalpis* em Campo Grande, Mato Grosso do Sul. 2007. 49 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal em) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul/UFMS, Campo Grande, 2007.

SILV, E. A.; ANDREOTTI, R.; HONER, M. R. Comportamento de *Lutzomyia longipalpis*, vetor principal da leishmaniose visceral americana, em Campo Grande,

Estado do Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 4, p. 420-425, jul.-ago. 2007

SOARES, M. R. A. et al. Canine visceral *leishmaniasis* in Teresina, Brazil: Relationship between clinical features and infectivity for sand flies. **Acta Tropica**, Amsterdam, v. 117, p. 6- 9, 2011.

TESH, R. B. The genus Phlebovirus and its vectors. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 33, p. 169–181, 1988.

TRAORE-LAMIZANA, Moumouni et al, Arbovirus surveillance from 1990 to 1995 in the Barkedji area (Ferlo) of Senegal, a possible natural focus of Rift Valley fever virus. **Journal of medical entomology**, v. 38, n. 4, p. 480-492, 2001.

TRAVI, B. L; VÉLEZ, I. D; BRUTUS, L; SEGURA, I; JARAMILLO, C; MONTOYA, J. *Lutzomyia evansi*, an alternative vector of *Leishmania chagasi* in a Colombian focus of visceral sis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, n. 84, v. 5, p. 676-677, 1990.

TURCO, S. J; DESCOTEAUX, A. The lipophosphoglycan of *Leishmania* parasites. **Annual Reviews in Microbiology**, v. 46, n. 1, p. 65-92, 1992.

VEZENAT, J. A; BARRETO, A. C; CUBA, C. C; MARSDEN, P. D. Características epidemiológicas da leishmaniose tegumentar americana em uma região endêmica do Estado da Bahia: fauna flebotomínica. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, n. 3, p. 293-301, 1986.

WALTERS, L. L; MODI, G. B; CHAPLIN, G. L; TESH, R. B. Ultrastructural development of *Leishmania chagasi* in its vector, *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 41, n. 3, p. 295-317, 1989.

XIMENES, M. F. F. M.; SOUZA, M. F.; CASTELLÓN, E. C. Density of sand flies (Diptera: Psychodidae) in domestic and wild animal shelters in an area of visceral leishmaniasis in the State of Rio Grande do Norte, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 4, p. 427-432, jul.-ago. 1999

XU, Fangling et al, Phylogenetic relationships among sandfly fever group viruses (Phlebovirus: Bunyaviridae) based on the small genome segment. **Journal of general virology**, v. 88, n. 8, p. 2312-2319, 2007.

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