

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS E
PARASITÁRIAS

JUCELEI DE OLIVEIRA MOURA INFRAN

**MONITORAMENTO DE FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE), PRÉ E
PÓS ENCOLEIRAMENTO CANINO EM ÁREAS ENDÊMICAS DE LEISHMANIOSE
VISCERAL, BRASIL**

CAMPO GRANDE

2025

JUCELEI DE OLIVEIRA MOURA INFRAN

**MONITORAMENTO DE FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE), PRÉ E
PÓS ENCOLEIRAMENTO CANINO EM ÁREAS ENDÊMICAS DE LEISHMANIOSE
VISCERAL, BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina Dr. Hélio Mandetta da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como pré-requisito obrigatório para obtenção do título de Doutor em Doenças Infecciosas e Parasitárias, sob orientação da Prof. Dra. Alessandra Gutierrez de Oliveira.

CAMPO GRANDE, MS

2025



Ata de Defesa de Tese
Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias
Doutorado

Aos vinte e oito dias do mês de março do ano de dois mil e vinte e cinco, às oito horas, na Sala de videoconferência do INISA, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos membros: Alessandra Gutierrez de Oliveira (UFMS), Andréia Fernandes Brilhante (UFAC) e Eunice Aparecida Bianchi Galati (USP), sob a presidência do primeiro, para julgar o trabalho da aluna: **JUCELEI DE OLIVEIRA MOURA INFRAN**, CPF ***.589.801-**, do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias, Curso de Doutorado, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, apresentado sob o título "**MONITORAMENTO DE FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE), PRÉ E PÓS ENCOLEIRAMENTO CANINO EM ÁREAS ENDÊMICAS DE LEISHMANIOSE VISCERAL, BRASIL**" e orientação de Alessandra Gutierrez de Oliveira. A presidente da Banca Examinadora declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros. A seguir, concedeu a palavra à aluna que expôs sua Tese. Terminada a exposição, os senhores membros da Banca Examinadora iniciaram as arguições. Terminadas as arguições, a presidente da Banca Examinadora fez suas considerações. A seguir, a Banca Examinadora reuniu-se para avaliação, e após, emitiu parecer expresso conforme segue:

EXAMINADOR

ASSINATURA

Dra. Alessandra Gutierrez de Oliveira (Interno)

Dra. Alda Maria Teixeira Ferreira (Interno) (Suplente)

Dra. Andréia Fernandes Brilhante (Externo)

Dra. Eunice Aparecida Bianchi Galati (Externo)

Dra. SUELLEM PETILIM GOMES (Interno) (Suplente)

Documento assinado digitalmente
ANDRÉIA FERNANDES BRILHANTE
Data: 31/03/2025 16:12:46-0300
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

Documento assinado digitalmente
EUNICE APARECIDA BIANCHI GALATI
Data: 31/03/2025 13:37:10-0300
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

RESULTADO FINAL:

Aprovação

Aprovação com revisão

Reprovação

OBSERVAÇÕES:

**A doutoranda apresentou a tese no tempo previsto, e após a apresentação foi arguida pelas duas
membros titulares da banca.**

Nada mais havendo a ser tratado, a Presidente declarou a sessão encerrada e agradeceu a todos pela presença.

Assinaturas:

Documento assinado digitalmente
ALESSANDRA GUTIERREZ DE OLIVEIRA
Data: 31/03/2025 11:09:08-0300
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

Presidente da Banca Examinadora

Documento assinado digitalmente
JUCELEI DE OLIVEIRA MOURA INFRAN
Data: 31/03/2025 21:23:10-0300
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

Aluna

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela minha vida, por me permitir ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo da realização deste trabalho e por ter me colocado perto de pessoas incríveis.

Ao meu esposo, meu amor e meu maior incentivador de toda minha carreira acadêmica, à minha filha Ana, que com seu sorriso e carinho, me encorajava a prosseguir. Gratidão por compreender a minha ausência enquanto eu me dedicava à realização deste trabalho.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Alessandra Gutierrez de Oliveira, por ter acreditado em mim, por ser essa mulher forte e determinada, aprendi e aprendo muito. Com certeza sua orientação foi para a vida, nunca esquecerei.

Às professoras. Carla Cardozo Pinto de Arruda e Eliane Piranda, de fato sou abençoada por conviver com elas; Mulheres inteligentes e humanas. Amo muito!

Às minhas amigas de laboratório Aline Casaril e Natália Alves, sempre junto a mim. Recebi apoio técnico, emocional e acadêmico. Nossas conversas, terapias do café, risadas...sem palavras meninas, vocês são muito importantes para mim.

Ao meu amigo Wagner, que a muito tempo vem caminhando comigo, muito obrigada pelo apoio.

Aos meus meninos Matheus, Pedro, Mayene, Giovana, Mariana, Mariana Sakamoto, Lay, Vinícius, Elisene, Maria Clara, Giulia, que sempre estiveram ao meu lado, ajudando a contar todos aqueles flebs, pela amizade incondicional e pelo apoio e demonstrado ao longo de todo o período de tempo em que me dediquei a este trabalho. Sem vocês esse projeto seria impossível de ser concluído.

Ao Centro de Controle de Vetores de Endemias Vetoriais do município, lugar onde muitos fiz amigos.

À Coordenadoria de Controle de Vetores do Estado, meus amigos sempre dispostos em me atender, foi muito bom ter essa parceria

À todos os meus professores da Graduação e Pós-Graduação por compartilhar conhecimento e contribuir para o crescimento humano. Quem compartilha conhecimento semeia sabedoria!

RESUMO

As leishmanioses são doenças causadas por protozoários do gênero *Leishmania*, que se manifestam por três formas clínicas. A forma mais grave da doença é a Leishmaniose visceral (LV). O protozoário *Leishmania (Leishmania) infantum* é o agente causal da LV, cuja a infecção se dá principalmente através da picada de fêmeas de flebotomíneos de *Lutzomyia longipalpis* e ou *Lu. cruzi* no Brasil. Este estudo teve como objetivo realizar o monitoramento entomológico da fauna flebotomínea, avaliando sua composição antes e após o uso de coleiras impregnadas com deltametrina em cães, nas áreas urbanas de três municípios endêmicos para leishmaniose visceral (LV) no Brasil: Campo Grande (MS), São Luís (MA) e Caxias (MA). De acordo com o Ministério da Saúde, essas cidades são classificadas como áreas de transmissão intensa, muito intensa e alta para LV, respectivamente. Foram realizadas coletas mensais, durante três noites consecutivas, com armadilhas luminosas do tipo CDC em 20 pontos de cada município. As armadilhas foram instaladas às 16:00h e retiradas às 07:00h, no intra e peridomicílio. Os flebotomíneos foram triados, montados e identificados de acordo com Galati (2023). Em Campo Grande, as capturas ocorreram entre julho de 2021 a agosto de 2023. Além disso, buscou-se detectar infecção natural por *Leishmania* dos flebotomíneos por meio de análises moleculares. Na ocasião foram identificados 8.984 espécimes (6.199 machos e 2.785 fêmeas) com 63,9% coletados no intra e 36,1% no peridomicílio, sendo *Lu. longipalpis*, a espécie mais abundante (99,59%). O encoleiramento nesta cidade ocorreu entre agosto de 2022 e março de 2023. Em São Luís (MA) as coletas aconteceram entre agosto de 2021 e agosto de 2023 e foram capturados 4.522 insetos (3.230 machos e 1.292 fêmeas), com 14,7% coletados no intra e 85,3% no peridomicílio, *Lu. longipalpis* foi a espécie dominante (98,14%). Em Caxias (MA), as coletas ocorreram entre agosto de 2021 e junho de 2023, onde foram capturadas 119.978 espécimes (85.055 machos e 34.923 fêmeas), com 7,02% no intra e 92,98% no peridomicílio. O percentual de *Lu. longipalpis* foi de 45,9% do total de espécimes coletadas neste município. O encoleiramento dos cães ocorreu em fevereiro de 2022, agosto de 2022 e março de 2023 tanto em Caxias como em São Luís. Outras espécies de importância médica também foram registradas: *Nyssomyia whitmani* (espécie mais abundante em Caxias) e *Bichromomyia flaviscutellata*, ambas vetoras de agentes causais da leishmaniose cutânea. O uso das coleiras impregnadas com deltametrina a 4% em cães demonstrou ser uma ferramenta eficiente na redução da fauna flebotomínica. Os resultados desta pesquisa demonstraram um impacto imediato após a intervenção, reduzindo abruptamente e de forma significativa a dinâmica populacional de *Lu. longipalpis*, resultado importante para implementação de estratégias de controle entomológico e redução de casos da doença. Foram detectadas fêmeas de *Lu. longipalpis* com DNA de *Leishmania*, antes e após a intervenção, demonstrando que a circulação do parasita persiste, mesmo em menor quantidade. Sugerindo-se que é necessária a associação do uso das coleiras com outras medidas de manejo ambiental para o controle das leishmanioses.

Palavras-chave: Flebotomíneo. Leishmaniose visceral. Deltametrina. Controle vetorial.

ABSTRACT

Leishmaniasis are diseases caused by protozoa of the genus *Leishmania*, which manifest in three clinical forms. The most severe form of the disease is visceral leishmaniasis (VL). The protozoan *Leishmania (Leishmania) infantum* is the causative agent of VL, with infection occurring mainly through the bite of female sandflies of *Lutzomyia longipalpis* and/or *Lu. cruzi* in Brazil. This study aimed to carry out entomological monitoring of sandfly fauna, evaluating its composition before and after the use of collars impregnated with deltamethrin on dogs, in urban areas of three municipalities endemic for visceral leishmaniasis (VL) in Brazil: Campo Grande (MS), São Luís (MA) and Caxias (MA). According to the Ministry of Health, these cities are classified as intense, very intense, and high VL transmission areas, respectively. Furthermore, we sought to detect natural infection by *Leishmania* and investigate the eating habits of sandflies through molecular analyses. Monthly collections were carried out during three consecutive nights, with CDC-type light traps at 20 points in each municipality. The traps were installed at 4:00 p.m. and removed at 7:00 a.m., inside and outside the home. The sandflies were screened, assembled, and identified according to Galati (2023). In Campo Grande, captures took place between July 2021 and August 2023. At the time, 8,984 specimens were identified (6,199 males and 2,785 females) with 63.9% collected indoors and 36.1% outside the home, with *Lu. longipalpis*, the most abundant species (99.59%). Collaring in this city began in August 2022. In São Luís (MA), collections took place between August 2021 and August 2023. With respect to this city, 4,522 insects were captured (3,230 males and 1,292 females), with 14.7% collected indoors and 85.3% outside the home. *Lu. longipalpis* was the dominant species (98.14%). The collection period in Caxias (MA) took place between August 2021 and June 2023, where 119,978 specimens were captured (85,055 males and 34,923 females), with 7.02% indoors and 92.98% outside the home. The percentage of *Lu. longipalpis* accounted for 45.9% of the total species collected in this municipality. The dogs were collared in February 2022 in both Caxias and São Luís. Other medically important species were also recorded: *Nyssomyia whitmani* (the most abundant species in Caxias) and *Bichromomyia flaviscutellata*, both vectors of the causative agents of cutaneous leishmaniasis. The use of collars impregnated with 4% deltamethrin on dogs proved to be an effective tool in reducing the sandfly fauna. The results of this study demonstrated an immediate impact following the intervention, with a sharp and significant decline in the population dynamics of *Lutzomyia longipalpis* — a key finding for the implementation of entomological control strategies and reduction of disease cases. *Lutzomyia longipalpis* females carrying *Leishmania* DNA were detected both before and after the intervention, indicating that parasite circulation persists, even at lower levels. This suggests that the use of insecticide-impregnated collars should be combined with other environmental management measures to effectively control leishmaniasis.

Keywords: Sandfly. Visceral Leishmaniasis. Deltamethrin. Vector control.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 As leishmanioses: aspectos gerais	12
2.2 Leishmaniose cutânea (LC)	13
2.3 Leishmaniose Visceral (LV)	15
2.4 Agentes causais das leishmanioses	17
2.5 Reservatórios de <i>Leishmania</i> spp. e o papel do cão doméstico na epidemiologia da leishmaniose visceral no Brasil	20
3. FLEBOTOMÍNEOS: ASPECTOS GERAIS	21
3.1 <i>Lutzomyia longipalpis</i> , principal vetor de <i>Leishmania</i> (L.) <i>infantum</i> no Brasil.	27
3.2 Flebotomíneos: sistemática e taxonomia	28
4. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE <i>Leishmania</i> spp. EM FLEBOTOMÍNEOS	30
5. MEDIDAS DE CONTROLE DA LEISHMANIOSE VISCERAL NO BRASIL	32
5.1 O efeito da deltametrina nos flebotomíneos	33
6. JUSTIFICATIVA	35
7. OBJETIVOS	37
7.1 Objetivo Geral	37
7.2 Objetivos específicos	37
8. METODOLOGIA	38
8.1 Áreas de estudo	38
8.2 Locais de coleta	43
8.3 Caracterização ambiental	44
8.4 Identificação dos espécimes	46
8.4.1 Identificação de machos e fêmeas de <i>Lutzomyia longipalpis</i>	47
8.5 Desenho amostral	50
8.6 Os procedimentos específicos para a implementação do uso de coleiras impregnadas com deltametrina 4% em cães	51
8.7. Detecção de DNA de <i>Leishmania</i> spp. em <i>Lutzomyia longipalpis</i> por análise molecular	51
9. ANÁLISE ESTATÍSTICA	54
11. RESULTADOS	56
11.1. Manuscrito 1	56
Abundância de <i>Lutzomyia longipalpis</i> (Diptera: Psychodidae) em estudo de intervenção do uso de coleiras caninas com deltametrina a 4% em Campo Grande, MS, Brasil, 2021-2023	56
11.1.2 Introdução	60
11.1.3 Material e Métodos	61
11.1.4 Resultados	67
11.1.5 Discussão	75
11.1.6 Conclusões	81

11.1.7 Referências	82
11.2 Manuscrito 2	90
Impacto das coleiras impregnadas com deltametrina a 4% na população de <i>Lutzomyia longipalpis</i> (Diptera: Psychodidae), em área de transmissão muito intensa, Brasil, 2021-2023	90
Resumo	91
11.2.1 Introdução	93
11.2.2 Material e métodos	94
11.2.3 Discussão	107
11.2.4 Conclusões	112
11.2.5 Referências	113
11.3 Manuscrito 3	121
Monitoramento entomológico de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) em duas regiões distintas na cidade de Caxias, área de alta transmissão para leishmaniose visceral, estado do Maranhão, Brasil	121
Resumo	122
11.3.2 Material e métodos	125
9.3.3 Resultados e discussão	127
11.3.4 Conclusões	141
11.3.5 Referências	142
12. CONCLUSÕES	149
13. REFERÊNCIAS	152

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença vetorial, causada pelo protozoário do gênero *Leishmania* Ross 1903. O agente etiológico da LV nas Américas é a espécie *Leishmania (Leishmania) infantum*, que é transmitida aos hospedeiros vertebrados por meio da picada do flebotomíneo fêmea infectada (DESJEUX, 2004; LAINSON e RANGEL, 2005; WHO, 2023). Os flebotomíneos são insetos pequenos de 2 a 3 mm, apresentam dimorfismo sexual, pernas longas, asas lanceoladas, intensa cerdasidade e são popularmente conhecidos como mosquito palha. *Lutzomyia longipalpis* é a espécie vetora comprovada nas Américas, e está amplamente distribuída no Brasil e completamente adaptada ao ambiente urbano (BRAZIL; BRAZIL, 2003; GALATI, 2003b).

A dificuldade com relação ao tratamento e diagnóstico, a letalidade da doença, os ambientes favoráveis ao desenvolvimento do vetor, o grande número de casos humanos e caninos, sendo o cão o principal reservatório urbano de *Le. infantum*, fazem dessa morbidade um sério problema de saúde pública no Brasil (ALVAR et al., 2012; BRASIL, 2023).

Considerando a gravidade dessa parasitose, medidas de controle têm sido implementadas, dentre elas, as coleiras caninas impregnadas com deltametrina 4% (deltamethrin-impregnated dog collars – DMC). Desde 2007, o Ministério da Saúde do Brasil recomenda o uso das DMC como medida individual para o controle da leishmaniose visceral em cães. Em 2010, por intermédio da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), foram destinados R\$5 milhões para financiar um estudo que avaliou a efetividade das coleiras impregnadas com inseticida (BRASIL, 2021).

Essas coleiras, ao entrarem em contato com a pele do cão, liberam gradualmente o princípio ativo, repelindo os vetores da doença. Essa ação ajuda a interromper o ciclo de transmissão do parasita, reduzindo o risco de infecção em outros animais e seres humanos. Por ser um produto com liberação contínua de inseticida, recomenda-se a substituição da coleira a cada seis meses (BRASIL, 2021).

Em estudos realizados em ambientes controlados em cidades como Montes Claros e Governador Valadares, em Minas Gerais, e em Araguaína, no estado do Tocantins, áreas endêmicas para LV, os resultados indicaram que o uso das DMCs,

foi uma estratégia adicional eficaz, reduzindo tanto o número de casos de LV quanto a abundância de *Lu. longipalpis* (COURA-VITAL et al., 2018; WERNECK et al., 2024). Outro estudo realizado no Irã, revelou que o uso das DMCs proporcionou uma redução de 50% nos casos de LV em crianças (COURTENAY et al., 2019). Esses achados sugerem um efeito positivo na prevenção das leishmanioses (SILVA et al., 2018).

Porém, a utilização dessas coleiras impregnadas com inseticidas insere-se em um contexto desafiador, especialmente em sua aplicação em larga escala em ambientes não controlados, o que pode comprometer sua efetividade. Entre os principais desafios estão: a cobertura insuficiente, uma vez que a distribuição frequentemente não alcança todos os cães em áreas endêmicas, reduzindo o impacto esperado na transmissão da doença; as perdas acidentais das coleiras; e a falta de comprometimento por alguns tutores, que pode prejudicar a continuidade e eficácia do uso.

Um projeto multicêntrico intitulado “*Avaliação da implementação do uso de coleiras caninas impregnadas com inseticidas, em municípios com prioridade para controle da leishmaniose visceral humana e canina no Brasil*” foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a efetividade das coleiras inseticidas na redução da infecção nas populações humana, canina e vetora. Além disso, buscou-se investigar a adesão da população local a essa medida de controle em cidades com taxas de infecção alta, intensa e muito intensa para a leishmaniose visceral (LV). Neste estudo, foi avaliado especificamente o impacto do uso das coleiras em cães sobre a fauna de flebotômíneos em três municípios brasileiros endêmicos, com diferentes níveis de transmissão da LV.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 As leishmanioses: aspectos gerais

As leishmanioses são antropozoonoses que podem acometer o homem, animais domésticos e silvestres. A transmissão ocorre através de picada de fêmeas de flebotômíneos, popularmente conhecidos como mosquito palha, que transmitem o agente infeccioso ao realizar o repasto sanguíneo. Esses agentes são protozoários

do gênero *Leishmania* e, de acordo com a espécie, a parasitose podem apresentar três formas clínicas: a leishmaniose visceral (LV), forma mais grave da doença que ataca as vísceras; a leishmaniose cutânea (LC), que promove lesões indolores de fundo seroso e bordas elevadas, e a leishmaniose cutânea mucosa (LCM), que é a forma desfigurante da doença e manifesta-se com a destruição das mucosas do nariz, garganta e da boca, promovendo sérios problemas de cunho social. As complicações da doença estão relacionadas à espécie do agente envolvido e ao sistema imunológico do indivíduo infectado (COSTA, 2005; DESJEUX, 2004; LAINSON, 1996).

As condições socioeconômicas desfavoráveis e a dificuldade ao diagnóstico e tratamento têm contribuído para os altos índices de morbidade e mortalidade dos indivíduos infectados. A ação antrópica, como o desmatamento, tem promovido alterações climáticas e ambientais importantes, favorecendo o aumento da população dos vetores, ampliando o contato com esses dípteros (DESJEUX, 2004; GONTIJO, MELO, 2004).

A migração humana para áreas endêmicas e a entrada cada vez mais constante ao ambiente silvestre em virtude de trabalho, moradia e lazer vêm mudando o perfil dessas doenças, promovendo uma adaptação de agentes etiológicos e vetores aos ambientes peridomiciliares e intradomiciliares, consolidando o ciclo urbano de algumas espécies de *Leishmania*, que se apresentavam primariamente com ciclo epidemiológico silvestre (DESJEUX, 2004; GONTIJO; MELO 2004).

As leishmanioses são classificadas como um grave problema de saúde pública e são endêmicas em 99 países, sendo 89 para LC, 80 para LV e 71 para as duas formas clínicas. Atualmente, estão entre as 10 doenças tropicais mais negligenciadas, com 12 milhões de pessoas infectadas no mundo. O Brasil está entre os países com maior número de casos notificados tanto para LC quanto LV (OPAS/OMS, 2022, 2020).

2.2 Leishmaniose cutânea (LC)

O agente causal envolvido na infecção de LC promove as diversas manifestações clínicas da doença, como lesões ulcerosas indolores, múltiplas ou únicas. Além disso, o parasita pode se disseminar e causar inflamações severas na

região nasofaríngea, causando perfuração do palato mole, septo nasal, lábios e outros. As espécies de *Leishmania* envolvidas na infecção determinam uma doença estigmatizante aos portadores da infecção, de ampla e franca expansão, logo um grave problema em saúde pública (AL-KAMEL, 2017; LAINSON, 2010).

Acredita-se que a LC é uma doença antiga, devido a registros de casos datados do século XVIII, que relatam sua presença na Síria, local onde essa enfermidade foi denominada botão de Aleppo e no Irã como botão de Biskra (ALTAMIRANO-ENCISO *et al.*, 2003).

James H. Wright de Baltimore, em 1903, na cidade de Boston, observou o protozoário em tecidos de lesões de uma menina armênia (ALTAMIRANO-ENCISO *et al.*, 2003; JACOBSON, 2003).

Em 1921, Sergent e colaboradores conseguiram reproduzir o Botão do Oriente *in vivo*, inoculando em hamster de laboratório, macerado de *Phlebotomus papatasi*, comprovando que a *Leishmania tropica* era transmitida por flebotomíneos (ALTAMIRANO-ENCISO *et al.*, 2003).

A teoria sobre a origem da LC na América Latina mais aceita é baseada no encontro de peças cerâmicas (os huacos) oriundas do Equador, Peru e Bolívia. Tais peças configuraram faces com lesões semelhantes às da leishmaniose mucocutânea, porém existe uma discussão em torno dessas cerâmicas, as tais poderiam ser confundidas com *lepra*, *lúpus*, *sífilis* ou simplesmente mutilações faciais. Entretanto, documentos étnicos históricos do século XVI sobre a colonização ibérica, como os descritos por Pedro Pizarro, cronista e conquistador espanhol, que participou de vários eventos de conquistas no Peru, relatou deformidades na face dos nativos, descritas como *doença dos narizes*, reforçando a teoria da origem da doença nos países andinos, além de que até hoje essas localidades são reconhecidas como áreas endêmicas para LC (LAINSON, 2010; ALTAMIRANO-ENCISO *et al.*, 2003; VALE & FURTADO, 2005).

No Brasil, os mais antigos relatos sobre a origem dessa morbidade são de referências vagas e incertas. No final do século XIX, em 1895, Moreira fez o estudo clínico do *Botão da Bahia* e o associa ao *Botão do Oriente* (ALTAMIRANO-ENCISO *et al.*, 2003). Em 1909, Lindenberg identificou o parasito, pela primeira vez no Brasil, em lesões na época denominadas úlceras de Bauru em indivíduos que trabalhavam na construção da estrada de ferro Noroeste, no Estado de São Paulo (FURUSAWA; BORGES, 2014). Logo após essa descoberta, acreditava-se que o parasito deveria

ser identificado como *Leishmania tropica*, porém em 1911, Gaspar Viana denominou o agente causal de *Leishmania braziliensis*. Em 1922, Aragão associou o flebotomíneo à transmissão do agente de LC no Brasil e Forattini (1958) identificou em áreas de floresta em São Paulo, roedores silvestres parasitados (BRASIL, 2013; VALE; FURTADO, 2005).

A leishmaniose cutânea tem distribuição mundial e é endêmica em 89 países, difundidos em quatro continentes (Europa, África, Ásia e Américas). Em 2021, um total de 51 países notificaram à Organização Mundial de Saúde cerca de 222.000 novos casos autóctones.

Dentre os nove países com maior número de casos de LC no mundo, três estão no continente sul-americano, sendo estes o Brasil, a Colômbia e o Peru (OPAS/OMS 2022). Nos últimos 20 anos foram registrados em média 52.645 casos. Em 2021, foram notificados 37.786 casos de leishmaniose cutânea, dos quais 22,5% ocorreram em áreas de fronteira (OPAS/OMS, 2023).

No Brasil, são registradas em média, cerca de 21.000 casos/ano, com coeficiente de incidência de 8,6 casos/100.000 habitantes nos últimos 5 anos. A região Norte apresenta o maior coeficiente (46,4 casos/100.000 habitantes), seguida das regiões Centro-Oeste (17,2 casos/10.000 habitantes) e Nordeste (8 casos/100.000 habitantes) (PAHO, 2023).

No estado de Mato Grosso do Sul (MS) 86 casos foram notificados em 2022 evidenciando um aumento de casos quando comparado ao ano anterior. Entretanto, diante de análises dos últimos seis anos, houve uma estabilização dessa morbidade no estado (BRASIL, 2022), em Campo Grande, capital do MS, foram registrados 167 casos de LC entre 2017 a 2022 (Ministério da Saúde/SVSA - Sistema de Informação de Agravos de MINISTÉRIO DA SAÚDE; DATASUS, 2022).

No Estado do Maranhão no mesmo período (2017-2022) 8.181 casos foram registrados. São Luís, capital do estado, apresentou 228 casos e Caxias na mesma unidade federal, 84 casos (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE; DATASUS, 2022).

2.3 Leishmaniose Visceral (LV)

A Leishmaniose visceral (LV) é uma doença de países tropicais e subtropicais. Trata-se de uma doença sistêmica, de caráter crônico que se não tratada pode ser

letal. Seu agente acomete células do sistema monocítico fagocitário (SMF), os macrófagos, e também órgãos internos, principalmente o baço e fígado, promovendo a hepatoesplenomegalia. Outros sintomas podem ser associados a esta morbidade: febre irregular prolongada; anemia; indisposição; palidez da pele e ou das mucosas; falta de apetite e perda de peso (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

Segundo a Organização Mundial da Saúde, quatro países concentram 68% dos casos de leishmaniose visceral no âmbito mundial: Índia, Sudão, Brasil e Quênia. Nas Américas, a leishmaniose visceral foi registrada em 13 países (Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicarágua, Paraguai, Uruguai e Venezuela), porém 93% dos casos ocorreram no Brasil. A média nos últimos cinco anos foi cerca de 2.850 casos com letalidade média de 8,2% (OPAS/OMS, 2022; WHO 2023).

Estudos realizados por DOS SANTOS MARQUES *et al.*, (2017) e CARRANZA-TAMAYO, WERNECK & ROMERO (2016) sugerem que muitos indivíduos infectados pelo agente de LV no Brasil sejam assintomáticos, logo a gravidade da doença está relacionada a fatores intrínsecos ao hospedeiro. Fatores como desnutrição, principalmente em crianças e idosos, pessoas imunossuprimidas, devido a infecção viral (ex. HIV), transplantados, que podem ativar infecções ocultas meses após a cirurgia por conta do uso de medicamentos que diminuem a infecção do sistema imunológico. Todos esses fatores podem acelerar a progressão, a gravidade e a expressão da doença (ALVAR *et al.* 2008, VAN GRIENSVEN, *et al.* 2014; RABELLO; OROSINI; DISCH, 2013).

Os primeiros relatos dessa morbidade ocorreram na Índia em 1885. Em 1903, o inglês William Boog Leishman, observou formas parasitárias do protozoário em biópsia de fígado de um soldado inglês, morto pela doença “febre dum-dum”. No mesmo ano, Charles Donovan também observou as formas parasitárias em biópsia de baço humano e constatou que se assemelhavam às formas intracelulares do parasita das tripanossomíases. Assim, para homenagear seus descobridores, foi criado o termo *Leishmania donovani* por Ronald Ross (ALTAMIRANO-ENCISO, *et al.*, 2003).

As primeiras suspeitas de LV no Brasil foram realizadas por Carlos Chagas nos anos de 1911 e 1912, na região Norte do Brasil. Quando ao percorrer o rio Amazonas percebeu a hepatoesplenomegalia em indivíduos que não apresentavam infecção por *Plasmodium* spp e outros parasitos do sangue (CHAGAS, 1936).

Em 1913, foi descrito o primeiro caso clínico nas Américas. Um indivíduo italiano de 47 anos foi internado em Assunção-Paraguai, com suspeita de LV. No histórico do paciente, estava o relato de que trabalhou na construção da ferrovia São Paulo-Corumbá, Brasil, onde provavelmente foi infectado em Porto Esperança, em Corumbá (MIGONE, 1913; LAINSON, 2010). Em 1934, Penna confirmou muitos casos da doença em território brasileiro, demonstrando que se tratava de casos autóctones e não casos importados do mediterrâneo (CHAGAS, 1936)

No Brasil, entre 2017 e 2022, foram confirmados 15.398 casos de leishmaniose visceral (LV), com a maior incidência na região Nordeste (7.265 casos), seguida pelo Norte (2.792 casos), Sudeste (2.393 casos) e Centro-Oeste (711 casos) (BRASIL, Ministério da Saúde, 2022). No Estado de Mato Grosso do Sul (MS), segundo o Boletim Epidemiológico de LV, foram registrados 553 casos no mesmo período, com uma taxa de transmissão de 74,67% em Campo Grande, capital do estado, considerada uma área de transmissão intensa para LV pelo Ministério da Saúde (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO DE LEISHMANIOSE VISCERAL, 2022/MS; TABNET-DATASUS 2023). No Maranhão, foram notificados 2.880 casos, sendo 68% em São Luís, a capital, e 2,88% em Caxias (TABNET-DATASUS 2022).

2.4 Agentes causais das leishmanioses

Os agentes causais das leishmanioses são protozoários do gênero *Leishmania* Ross (2003), pertencentes à ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae. Este protozoário apresenta duas formas evolutivas principais: amastigota (Figura 1) e promastigota (Figura 2). Ambas as formas apresentam núcleo e cinetoplasto. A forma amastigota é arredondada e habita as células do sistema fagocítico mononuclear do hospedeiro vertebrado, enquanto que a promastigota é alongada com um flagelo livre e cinetoplasto na porção anterior do corpo do protozoário e se desenvolve no tubo digestório do intestino do inseto vetor, o flebotomíneo fêmea (KILLICK-KENDRICK, 1990; PIMENTA; SECUNDINO; BLANCO, 2003).

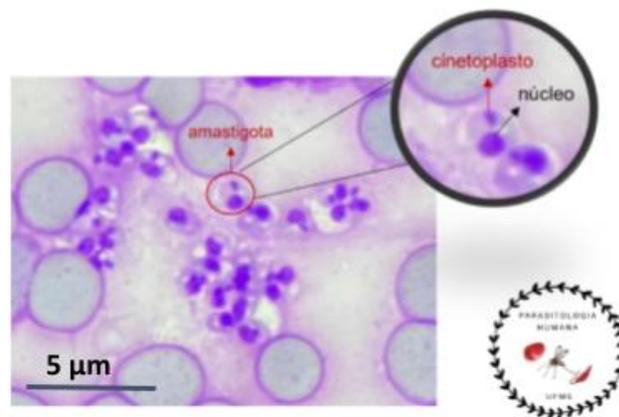


Figura 1. Forma amastigota do gênero *Leishmania* sp. Com morfologia arredondada, presença de núcleo e cinetoplasto. Observada em M.O (100x). Material: sangue medular, hospedeiro vertebrado. Fonte: Laboratório de Parasitologia Humana – UFMS

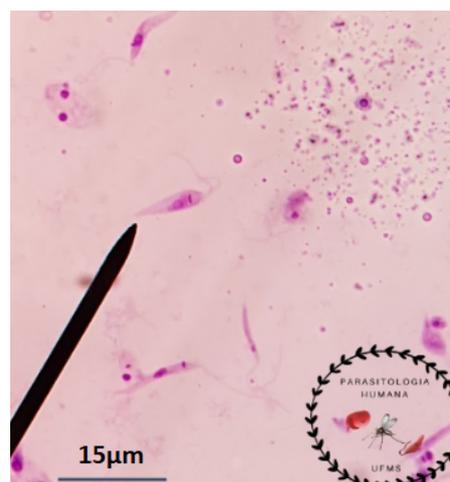


Figura 2. Forma promastigota do gênero *Leishmania* sp., observada em M.O (100x). Forma móvel alongada. Presença de flagelo, cinetoplasto e núcleo. Material : meio de cultura. Fonte: Laboratório de Parasitologia Humana - UFMS

Ao realizar o repasto sanguíneo em um reservatório vertebrado, a fêmea de flebotomíneo ingere as formas amastigotas de *Leishmania* spp., estas evoluem para formas promastigotas no intestino do inseto. Dependendo do local de seu desenvolvimento podem ser classificadas em dois distintos subgêneros: *Leishmania* e *Viannia*. Sendo que o primeiro se desenvolve no intestino anterior e médio e o segundo na parte final do tubo digestório do flebotomíneo (LAINSON; SHAW, 2005).

As espécies de *Leishmania* responsáveis pelas formas dermatrópicas da doença na Europa, Norte da África, Norte do Himaláia e grande parte da Arábia e da

Ásia são: *Leishmania (Leishmania) aethiopica* (Bray, Ashford & Bray, 1973), *Leishmania (Leishmania) major* (Yakimoff & Schokor, 1914) e *Leishmania (Leishmania) tropica* (Wright, 1903) (BRASIL, 2017).

No Brasil, oito espécies de *Leishmania* são descritas: A espécie *Le. (V.) braziliensis* tem ampla distribuição no Brasil e nas Américas e está geralmente associada à presença de animais domésticos (GONTIJO; CARVALHO, 2003; LAINSON; SHAW 1987). *Leishmania (L.) amazonensis* (Lainson & Shaw, 1972) pode determinar a forma clássica de LC e também a forma anérgica (LCD). Tem prevalência no Sul, Centro-Oeste, Região Amazônica e no Nordeste e está relacionada a roedores (ratos silvestres) e marsupiais (gambá) (GONTIJO; CARVALHO, 2003; SHAW; LAINSON 1975).

Na região amazônica, a espécie *Le. (V.) guyanensis* (Floch, 1954) causa sobretudo a LC, tem distribuição no Amazonas, Pará, Sul do rio Amazonas, Roraima e Acre (ARAÚJO-PEREIRA et al. 2018; BRILHANTE et al. 2022; DA SILVA et al. 2006; DE ÁVILA et al. 2018; GUERRA et al. 2011; TELES et al., 2015) Os reservatórios silvestres envolvidos no ciclo são marsupiais e edentados (tatu). (GONTIJO; CARVALHO, 2003; LAINSON; SHAW, 1987). Também a espécie *Le (V.) lainsoni* (Silveira, Shaw, Braga & Ishikawa, 1987) ocorre somente à região amazônica, abrangendo o Acre, até o Pará e é agente de LC. O animal silvestre suspeito é um roedor de médio porte, popularmente conhecido como paca (BRILHANTE, et al., 2022; SHAW; LAINSON, 1975). Recentemente *Le. utingensis*, foi identificada impaciente indígena no estado de Roraima (ALMEIDA et al., 2020).

Leishmania (V.) naiffi (Lainson & Shaw, 1989) determina a LC de evolução benigna, ocorre nos Estados de Amazonas e Pará e tem com reservatório silvestre um mamífero edentado, o tatu (GONTIJO; CARVALHO, 2003; SHAW, 1999).

Leishmania (V.) lindenbergi (Silveira, Ishikawa, Souza & Lainson, 2002), segundo o boletim de leishmaniose tegumentar no Brasil, só foi encontrada parasitando humanos no estado do Pará, não foi observada infecções em animais silvestres (BRASIL, 2017).

Leishmania (V.) shawi (Braga, Souza, Povia & Ishikawa, 1989), determina casos esporádicos de LC no Pará e no Amazonas (ARAÚJO-PEREIRA et al.,2020). Os reservatórios naturais são macacos, preguiças e procionídeos (quatis) (SHAW; LAINSON, 1975; GONTIJO; CARVALHO, 2003; AL-KAMEL, 2017).

As espécies de *Leishmania* que determinam a leishmaniose visceral são *Leishmania donovani* e *Leishmania infantum*. Sendo que ambas ocorrem na África, Europa e Ásia. *Leishmania (Leishmania) chagasi*= *Leishmania (Leishmania) infantum* nas Américas. Estudos moleculares sugerem que *L. chagasi* e *L. infantum* sejam a mesma espécie, permitindo a mesma denominação de *L. infantum* (syn *chagasi*) para o agente etiológico nas Américas (MARCONDES; VASCONCELLOS, 2019 ; PIGOTT *et al.*, 2014).

Leishmania (Leishmania) infantum encontra-se em quase todo território brasileiro principalmente nos municípios com crescente urbanização e alto índice de pobreza, tendo o cão doméstico como principal reservatório urbano (ALVAR *et al.*, 2012; GONTIJO; CARVALHO, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2017a e 2017b; SHAW; LAINSON, 1975).

2.5 Reservatórios de *Leishmania* spp. e o papel do cão doméstico na epidemiologia da leishmaniose visceral no Brasil

A incidência de leishmaniose visceral humana (LVH) está associada a fatores como saneamento precário, desmatamento e a presença de reservatórios urbanos, especialmente o cão doméstico infectado (COSTA *et al.*, 2019).

- O cão doméstico (*Canis lupus familiaris*), considerado o principal reservatório urbano de *Leishmania infantum*, desempenha um papel crucial na manutenção da doença. Estudos epidemiológicos indicam que regiões com alta prevalência de leishmaniose visceral canina (LVC) apresentam maior risco de infecção humana, ressaltando a importância de medidas integradas de controle (DANTAS-TORRES, 2022; ROSA *et al.*, 2020).

Após a infecção da pele, em cães susceptíveis, ocorre a disseminação do parasita por todo o corpo, levando ao desenvolvimento dos sintomas. Inicialmente, os parasitos permanecem no local da picada infectiva, mas posteriormente infectam as vísceras e se distribuem pela derme. A alopecia decorrente da infecção expõe grandes áreas da pele intensamente parasitadas, além de que os cães positivos podem permanecer assintomáticos por longos períodos (BRASIL, 2006; QUINNELL; COURTENAY, 2009; MARZOCHI *et al.*, 1985). Além da proximidade com o homem, estes motivos fazem do cão doméstico um potencial reservatório e

fonte de infecção para os flebotomíneos, consolidando sua grande importância em saúde pública (GAVGANI *et al.*, 2002; REITHINGER *et al.*, 2002).

- Canídeos silvestres, dentre estes, *Cerdocyon thous*, conhecido popularmente como cachorro do mato ou lobinho, é considerado o principal reservatório silvestre de *Le. (L.) infantum*, no Brasil. FERREIRA *et al.*, 2013; LAINSON; RANGEL, 2005; MELLO *et al.*, 1989; SOUZA *et al.*, 2010).
- Hospedeiros vertebrados da ordem Rodentia podem atuar como reservatórios naturais de *Le. amazonensis* e *Le. braziliensis*, agentes pela leishmaniose cutânea (LC) e leishmaniose mucocutânea (LMC) (BRANDÃO FILHO *et al.*, 1994; FORATTINI *et al.*, 1973; LAINSON; SHAW, 1987; LAINSON *et al.*, 1981; SILVEIRA *et al.*, 1991). Marsupiais (*Didelphis* spp.), principalmente os gambás. Esses animais são “famosos” por serem reservatórios de várias espécies de *Leishmania* e por sua capacidade de circularem entre o ambiente urbano e silvestre (GUERRA *et al.*, 2007; MONTEIRO, S. R. D., 2010). A espécie *Tamandua tetradactyla* e outros, são reservatórios naturais de *Leishmania*, contribuem para a manutenção do parasita em ecossistemas florestais (GUERRA *et al.*, 2006).

Diante da gravidade das leishmanioses, o conhecimento dos reservatórios silvestres e urbanos faz-se necessário, porque a ciência e a compreensão da epidemiologia dessas morbidades ajudam na implementação de medidas de prevenção e controle das leishmanioses.

3. FLEBOTOMÍNEOS: ASPECTOS GERAIS

Os flebotomíneos são artrópodes pertencentes à classe Insecta, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae e vários gêneros (BRAZIL; BRAZIL, 2003; GALATI, 2003b).

Esses insetos são vetores de patógenos a humanos e animais, como protozoários do gênero *Leishmania*, agentes causais de leishmanioses, bactérias do gênero *Bartonella*, que determinam a Doença de Carión, e arbovírus pertencentes aos gêneros *Vesiculovirus* (*Rhabdoviridae*), *Orbivirus* (*Reoviridae*) e *Phlebovirus* (*Bunyaviridae*), os quais proporcionam sintomas análogos aos da influenza. Além disso, suas picadas podem desencadear reações alérgicas (FORATTINI, 1973b; SHERLOCK, 2003; SHAW *et al.*, 2003).

Apresentam corpo pequeno (2 a 4 mm), asas lanceoladas, intensa cerdosidade ao longo do corpo, coloração que vai desde o castanho claro ao escuro, pernas longas e delgadas, tórax arqueado, antenas que apresentam 14 flagelômeros e palpos com cinco palpômeros, sendo estas duas últimas estruturas importantes na identificação taxonômica (FORATTINI, 1973; GALATI, 2018; YOUNG; DUNCAN, 1994).

Dependendo de sua localização geográfica, são conhecidos popularmente como tatuquira, mosquito palha, flebótomo, birigui, corcundinha entre outros nomes (FORATTINI, 1973).

Com metamorfose completa, holometábolos, as fêmeas ovipositam seus ovos em solo rico em matéria orgânica (local ideal para o desenvolvimento das larvas), tais ovos variam de 300 a 500µm, são elípticos e de coloração esbranquiçada e logo após a postura, em duas horas, tornam-se escurecidos (BRAZIL; BRAZIL, 2003; MAROLI *et al.* 2013).

As larvas eclodem em média de sete a oito dias, são terrestres e se nutrem de matéria orgânica em decomposição. Em ambiente silvestre, podem ser encontradas em solos contendo folhas, troncos, cascas de árvores, frutos, fezes e tocas de animais ou outros locais que possuam umidade e sombreamento adequados ao seu desenvolvimento. Em ambiente antropizado, podem ser observadas em pocilgas, galinheiros e canis. Apresentam coloração esbranquiçada, cabeça escura e esclerotizada, aspecto vermiforme e corpo segmentado, sendo que o último segmento possui cerdas caudais que são estruturas para fixação e locomoção e que dependendo da fase, podem apresentar uma, duas ou três cerdas. São ativas e se deslocam com facilidade, dificultando o encontro em seus criadouros naturais. Quando estão próximas de evoluir para o próximo estágio de pupa, as larvas liberam seu conteúdo intestinal e ficam aderidas ao substrato, permanecendo ali até a eclosão do adulto alado (BRAZIL; BRAZIL, 2003; DEANE; DEANE, 1957; KILLICK-KENDRICK, 1999b; MAROLI *et al.*, 2013; SHERLOCK, 2003; VOLF, VOLFOVA, 2011).

As pupas permanecem fixas a um substrato (folhas secas, rochas, troncos apodrecidos), não se alimentam e apresentam somente movimentos de extensão e flexão. Sua coloração é branco-amarelada, tornando-se cada vez mais escura, à medida que se aproxima a liberação do alado, que ocorre entre sete e dez dias

(YOUNG; DUNCAN, 1994; FORATTINI, 1973; KILLICK-KENDRICK, 1999; RIBEIRO *et al.*, 2015).

Os flebotomíneos apresentam dimorfismo sexual (FIGURA 3). Os machos possuem no final do abdome uma genitália com apêndices articulados e bem desenvolvidos. Após 24h, assim que o alado emerge, a genitália do macho sofre uma rotação de 180°, levando as estruturas da genitália a ficarem em posição definitiva. Por esta razão que os machos emergem primeiro que as fêmeas por necessitarem de um período maior para maturidade sexual (BRAZIL; BRAZIL, 2003; FORATTINI, 1973b).

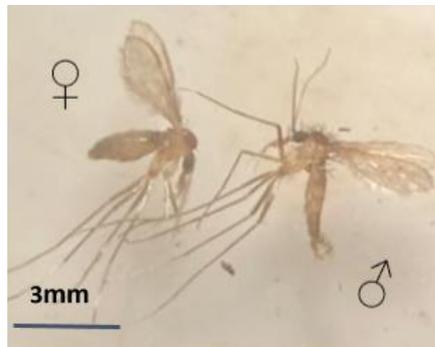


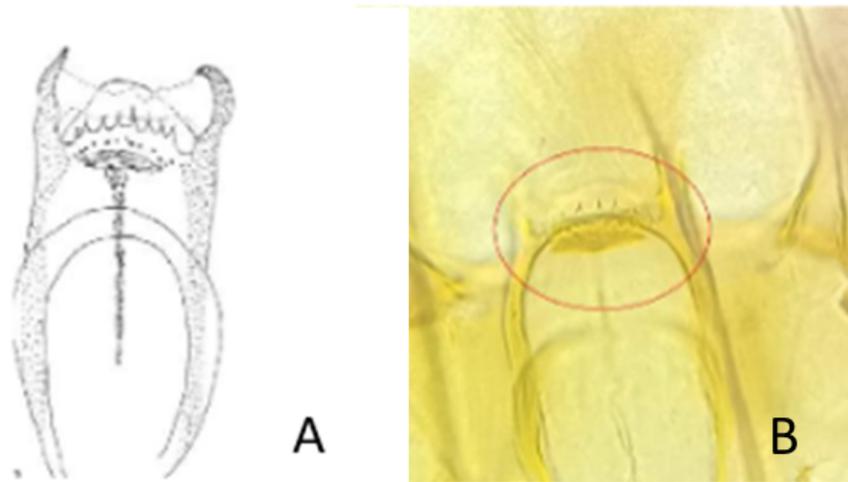
Figura 3. Espécimes de flebotomíneos. Fêmea (esquerda) e macho (direita) observados em Lupa (20x). Fonte: arquivo pessoal.

As fêmeas possuem a porção final do abdome arredondada, contendo no seu interior um par de espermatecas (Figura 4). Ambas as estruturas reprodutivas de machos e fêmeas são relevantes para a identificação taxonômica (FORATTINI, 1973b; GALATI, 2003b).



Figura 4. Porção final do abdome de flebotomíneo fêmea, clarificada e montada em lâmina. Observação em M.O., (40x). Espécie *Evandromyia evandroi*. Identificação de acordo com a morfologia da espermateca. Fonte: arquivo pessoal.

Ambos os sexos necessitam de açúcares em sua dieta (carboidratos), provenientes de seiva vegetal e secreções de insetos afídeos (Hemiptera: Sternorrhyncha). Porém as fêmeas necessitam também de sangue em sua dieta para o desenvolvimento ovariano e para produção de ovos. No entanto, há relatos na literatura do encontro de machos com sangue no tubo digestivo (DA SILVA; GRÜNEWALD, 1999). O aparelho bucal é do tipo sugador-purgativo que dilacera a parede dos capilares sanguíneos, gerando hemorragia subcutânea, formando o que se chama de “lago sanguíneo” e dessa forma as fêmeas se alimentam, mesmo tendo as peças bucais consideradas pequenas (0,2 a 0,4 mm de comprimento). O caráter hematofágico conferiu às fêmeas, cibário bem mais desenvolvido do que os machos. O cibário é uma estrutura composta de placas semelhantes a dentes, localizada em uma cavidade na cabeça (**FIGURA 5**) e é também uma estrutura importante para a identificação taxonômica (BRAZIL; BRAZIL, 2003; GALATI, 2003a; KILLICK-KENDRICK, 1999).



Figuras 5A e 5B - Cibário de fêmea de *Lu. longipalpis*. Desenho esquemático (A) e (B) cibário clarificado e montado em lâmina, observado em M.O., objetiva de 40x em microscópio óptico. Fonte: (A) Shimabukuro et al., 2011; (B) arquivo pessoal

O repasto sanguíneo das fêmeas é realizado em grande número de animais, tais como, mamíferos, aves e inclusive peilotérmicos (GALATI *et al.*, 2006; MORRISON; FERRO; TESH, 1993; TANURE *et al.*, 2015), e a quantidade de sangue ingerido é diretamente proporcional ao número de ovos produzidos (READY, 1979).

É possível que os adultos se utilizem do microambiente onde se desenvolveram para repouso e refúgio durante o dia, não se afastando muito de seus criadouros naturais. Segundo estudos realizados com captura, marcação-soltura e recaptura, esses dípteros podem se deslocar em média de 178 a 200 m de distância do seu ponto de soltura, não ultrapassando 250 m na sua maioria. Outra hipótese é que provavelmente esses insetos possuem uma memória olfativa e espacial, fazendo com que retornem aos seus criadouros (FREITAS *et al.*, 2009; GUERRA SILVA *et al.*, 2013, OLIVEIRA *et al.*, 2013).

A especificidade alimentar dos insetos adultos influencia diretamente sua dispersão ambiental e espécies mais especializadas apresentam maior dependência do habitat (GALATI *et al.*, 2006; MORRISON; FERRO; TESH, 1993; NGUMBI *et al.*, 1992).

O período de maior atividade desses insetos é geralmente crepuscular matutino, crepuscular vespertino e noturno. Nestes horários as fêmeas realizam o repasto sanguíneo em seus hospedeiros sanguíneos, ficando em abrigos nos outros horários do dia. Porém, é possível observar uma mudança nesse comportamento,

pois algumas espécies de ambiente de mata, cavernas e grutas são ativas também no período diurno (CRUZ; CRUZ; GALATI., 2013; GALATI *et al.*, 2003a; GALATI *et al.*, 2006; MASSAFERA *et al.*, 2005; REBÊLO, 2001).

Primariamente, os insetos adultos são capturados dentro de matas em locais com muita umidade, pouca luminosidade e movimentação de ar, como fendas de pedra, oco de árvores e grutas. Lembrando que esses dípteros tendem a não se afastar muito dos seus criadouros ou locais de abrigo, utilizando esses microambientes para repouso e proteção durante o dia (CASANOVA; NATAL, 2005; MORRISON *et al.*, 1993a; OLIVEIRA *et al.*, 2013). Entretanto, devido à ação antrópica, o hábitat desses insetos tem sido modificado e reduzido, aproximando-os cada vez mais dos peridomicílios, tanto em áreas rurais quanto urbanas (FREITAS *et al.*, 2009; GALATI *et al.*, 2003; 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2013; XIMENES *et al.*, 2007). Com relação ao acasalamento dos flebotomíneos, existem poucos estudos relacionados ao tema. O que se sabe é decorrente de pesquisas realizadas com duas espécies: *Lutzomyia cruzi* e *Lutzomyia longipalpis*. Os machos, atraídos por caïromônios eliminados pelo hospedeiro vertebrado, liberam feromônios para atrair as fêmeas. Esta atividade é denominada de “lekking” (JONES; HAMILTON, 1998; KELLY; DYE, 1997), que associada a vibrações e movimentação de suas asas, e produzem um som, os *lovesongs*. Fêmeas e machos são atraídos ao local para o repasto sanguíneos e para se acasalar (SOUZA *et al.*, 2017; VIGODER *et al.*, 2010).

No mundo são descritas cerca de 1060 espécies de flebotomíneos, sendo aproximadamente 30 vetoriais de *Leishmania* spp. No Brasil foram registradas 216 espécies (GALATI; RODRIGUES 2023, SHIMABUKURO ANDRADE; GALATI, 2017), sendo seis espécies envolvidas na transmissão do agente de LC: *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939), *Nyssomyia intermedia* (Neiva Pinto, 1926), *Nyssomyia umbratilis* (Ward & Fraiha, 1977), *Psychodopygus wellcomei* (Fraiha, Shaw & Lainson, 1971), *Bichromomyia flaviscutellata* (Mangabeira, 1942), *Trichophoromyia ubiquitousalis* (Mangabeira, 1942) e duas na transmissão do agente de LV: *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) e *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1958) (BRASIL, 2017; GONTIJO, CARVALHO, 2003; LAINSON, 2010).

Medidas de prevenção e controle devem ser implementadas no contexto de saúde única, sobretudo para o controle do vetor e dos reservatórios, proteção individual e manejo ambiental. O estudo do hábito alimentar de flebotomíneos é de grande importância para a compreensão da epidemiologia e controle de doenças

transmitidas por esses vetores, principalmente em áreas de transmissão intensa e muito intensa como Campo Grande – MS e São Luís – MA, respectivamente.

3.1 *Lutzomyia longipalpis*, principal vetor de *Leishmania (L.) infantum* no Brasil.

A principal espécie vetora de *Le. (L.) infantum* no Brasil (BRAZIL; RODRIGUES; ANDRADE-FILHO, 2015; OLIVEIRA; FALCÃO; BRAZIL, 2000; RANGEL; VILELA, 2008), foi registrada por Lutz & Neiva em 1912, que descreveram a espécie, a partir de espécimes coletados em áreas urbanas e rurais do Rio de Janeiro. Mais tarde, em 1934, no estado de Sergipe, Evandro Chagas não apenas descreveu o primeiro caso clínico de leishmaniose visceral (LV) *in vivo*, como foi registrou a presença de *Lu. longipalpis* no intra e peridomicílio da residência do paciente. No mesmo ano, pesquisas realizadas por Henrique Penna em áreas rurais do Nordeste Brasileiro (Abaetetuba e Moju), descobriu casos da doença tanto em humanos como em cães. Penna também observou a espécie em áreas próximas às residências e também dentro delas, sendo considerada desde então a espécie vetora suspeita do patógeno de LV nesse período (CHAGAS *et al.*, 1936). Somente em 1977, Lainson e colaboradores confirmaram que *Lu. longipalpis* era de fato vetor de *Le. infantum* no Brasil (LAINSON; WARD; SHAW, 1977).

Inicialmente considerada uma espécie silvestre, *Lu. longipalpis* teve seu comportamento alterado ao longo do tempo, principalmente em decorrência da ação antrópica (RANGEL; VILELA, 2008). Hoje, é uma espécie comprovadamente competente para transmitir o patógeno de LV. De acordo com Killick-Kendrick (1990) e Ready (2013), a competência vetorial de uma espécie é avaliada por meio de diversos aspectos:

- Capacidade do inseto se infectar, através do repasto sanguíneo, com a mesma espécie de *Leishmania* que acometem humanos e outros hospedeiros (demonstrando uma forte associação ecológica entre eles).
- Presença da forma promastigota (36 horas após o repasto sanguíneo) no intestino médio anterior e na válvula estomodeal da fêmea de flebotômíneo.
- Habilidade de transmitir o patógeno.

- Comprovação por meio de estudos retrospectivos e modelos matemáticos que a presença da espécie de flebotomíneo estudada é importante para a manutenção e transmissão do agente etiológico.

Entretanto, o surgimento de casos de leishmaniose visceral (LV) em áreas onde não havia registro da presença de *Lu. longipalpis* levou pesquisadores a suspeitarem da participação de outras espécies na cadeia de transmissão da doença. Em Mato Grosso do Sul, por exemplo, *Lutzomyia cruzi* e *Lu. forattinii* foram apontadas como possíveis vetores em regiões como Corumbá e a Serra da Bodoquena (GALATI et al., 1985; GALATI et al., 1997; OLIVEIRA, 2017b; DE PITA PEREIRA et al., 2008). No sul, sudeste e no estado de Pernambuco, *Migonemyia migonei* também tem sido associada à transmissão (DE CARVALHO et al., 2010; KONO et al., 2023). Ainda na região sudeste, destacam-se *Pintomyia fischeri* (GALVIS et al., 2021) e *Nyssomyia intermedia* (CASANOVA et al., 2022) como espécies com potencial envolvimento na epidemiologia da LV.

No Mato Grosso do Sul, essa espécie foi registrada nos 49 dos 79 municípios do MS, segundo Barrios *et al.*, em 2020. Os primeiros relatos dessa espécie na capital Campo Grande, ocorreram entre 2003 e 2006, por Oliveira e colaboradores. Na primeira ocasião, foram registradas 28 espécies. Três anos depois, no segundo estudo, *Lu. longipalpis* foi a espécie mais frequente, com um percentual de 92% do total de espécies. O estado do Maranhão apresenta uma grande diversidade de espécies. Rebêlo e colaboradores (2010) registraram 91 espécies no Maranhão. A espécie *Lu. longipalpis* ocorre em 43 dos 79 municípios desse estado. Em São Luís (MA), foram notificadas 32 espécies por Rebêlo et al., 1999, sendo *Lu. longipalpis* a espécie mais abundante. Já no município de Caxias (MA), Silva et al (1999) registraram 20 espécies na área urbana, sendo *Lu. longipalpis* a espécie mais frequente.

3.2 Flebotomíneos: sistemática e taxonomia

De acordo com fósseis encontrados em âmbar datados do Período Mioceno (20 a 30 milhões de anos atrás), os flebotomíneos já habitavam a Terra nesse período (POINAR, 2008). No entanto, evidências filogenéticas e moleculares indicam que sua origem é ainda mais antiga, remontando ao final do Período Carbonífero ou início do Permiano, entre 250 e 300 milhões de anos atrás (READY, 2013). Graças

às variações morfológicas e adaptativas desenvolvidas ao longo das eras, esses insetos foram bem-sucedidos na ocupação de diversos ambientes (ANDRADE-FILHO; GALATI; BRAZIL, 2009; LEWIS, 1982).

Esses insetos foram descritos e desenhados pela primeira vez em 1691 pelo naturalista italiano *Philippo Bonanni*, sendo denominados de *Culex minimus* e em 1786, a espécie foi designada *Bibio papatasi* por Scopoli. Em 1840 foi designado o gênero *Flebotomus* por Rondani, com a espécie-tipo *Flebotomus papatasi* e em 1846 corrigiu-se a grafia de *Flebotomus* para *Phlebotomus* (GALATI, 2003b; LEWIS *et al.*, 1977). A classificação taxonômica desses insetos tem sido dinâmica, principalmente após a comprovada importância vetorial na transmissão de *Leishmania* spp. na década de 40.

Em 1907, foram descritas as primeiras espécies das Américas: *Flebotomus vexator* e *Flebotomus cruciatus*, sendo a primeira coletada em Maryland, Estados Unidos e a segunda em Alta Vera Paz, Guatemala. Lutz e Neiva, relataram as três primeiras espécies no Brasil, em 1912: *Phlebotomus squamiventris*, *Ph. longipalpis* e *Ph. intermedius* (GALATI, 2003a, 2003b).

Em 1948, os flebotomíneos foram separados por Theodor em quatro gêneros: *Phlebotomus* e *Sergentomyia* para a região Paleártica e *Brumptomyia* e *Lutzomyia* na região Neotropical. Porém, logo após esta classificação, os gêneros *Warileya* e *Hertigia* além de outros subgêneros, foram propostos para o continente americano e atualmente, são adotados pela maioria dos estudiosos de flebotomíneos (YOUNG; DUNCAN, 1994). Forattini, em 1973, após realizar novos estudos, comprovou que o gênero *Lutzomyia* apresentava algumas estruturas morfológicas distintas, então foi proposta uma nova taxonomia com os gêneros *Pintomyia*, *Psychodopygus*, *Viannamyia* e *Pressatia*.

Em 1976, Abonnenc e Leger adotaram a categoria de família para os flebotomíneos e dividiram Phlebotomidae em três subfamílias: Phlebotominae, Lutzomyiinae e Hertigiinae. Artemiev (1991) dividiu Phlebotominae em duas tribos: Idiophlebotomini e Phlebotomini, a primeira é subdividida em duas subtribos: Idiophlebotomini, com cinco gêneros (*Idiophlebotomus*, *Spelaeophlebotomus*, *Phlebotomites*, *Phlebotomiella* e *Chinius*) e uma subtribo Hertigiina, com dois gêneros (*Warileya* e *Hertigia*) para a América. A tribo Phlebotomini, foi subdividida em cinco subtribos, três para o Velho Mundo (Phlebotomina, Spelaeomyiina, Sergentomyiina), uma para a região Australiana (Australophlebotomina) e uma para

as Américas (Brumptomyiina). Brumptomyiina foi dividida em 10 gêneros (*Brumptomyia*, *Isolutzomyia*, *Psychodopygus*, *Nyssomyia*, *Trichophoromyia*, *Psathyromyia*, *Viannamyia*, *Pintomyia*, *Lutzomyia* e *Micropygomyia*).

Em 1994, Young e Duncan publicaram uma chave de identificação para os flebotomíneos com ênfase ao gênero *Lutzomyia*, das Américas Central e do Sul e para as Ilhas Caribenhas, na qual foram agrupadas novamente todas as espécies em um único gênero, *Lutzomyia*, e adotaram os gêneros *Coromyia*, *Psathyromyia*, *Sciopemyia*, *Aldamyia*, *Barretomyia*, *Blancasmyia*, *Castromyia*, *Coquilletimyia*, *Dampfomyia*, *Evandromyia*, *Forattiniella*, *Helcocyrtomyia*, *Lutzomyia*, *Micropigomyia*, *Migonemyia*, *Pifanomyia*, *Pintomyia*, *Sauromyia*, *Silvamyia*, *Tricholateraleis* e *Xiphomyia*. A morfologia das espermatecas e cibário das fêmeas, genitália dos machos, os ascóides das antenas e o tamanho dos segmentos anteníferos e das suturas interoculares foram as estruturas observadas para se determinar essa classificação.

No Brasil, Galati propôs em 1995 uma nova classificação, baseada em uma abordagem filogenética, com ênfase para as espécies americanas, com duas tribos: Hertigiini e Phlebotomini. A primeira com duas subtribos Hertigiina (Américas) e a Idiophlebotomina (Velho Mundo e região Australiana). Phlebotomini foi dividida em seis subtribos: Phlebotomina, Australophlebotomina, Brumptomyiina, Sergeantomyiina, Lutzomyiina e Psychodopygina. Em 2003, foi publicada no livro "Flebotomíneos do Brasil" a chave de identificação dos táxons das Américas (GALATI, 2003b).

4. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE *Leishmania* spp. EM FLEBOTOMÍNEOS

Os fatores de compreensão na dinâmica de transmissão das leishmanioses envolve identificar qual a espécie de *Leishmania* sp. circulante, quais os sinais e sintomas da doença e quais os vetores e reservatórios envolvidos na epidemiologia. Todos estes fundamentos são importantes para o controle da parasitose em uma região (GONTIJO; MELO, 2004).

Uma das mais importantes ferramentas utilizadas para esta compreensão é a detecção do DNA de *Leishmania*, realizada através da técnica denominada PCR (*Polymerase Chain Reaction*). A reação em cadeia da polimerase (PCR) tem como objetivo amplificar segmentos específicos do DNA de *Leishmania* sp. e, assim,

identificar a espécie do agente patológico da amostra em questão (ZAHA A. *et al.*, 2000).

O primeiro estudo que utilizou a técnica de PCR foi publicado em 1985 por Kary Mullis e colaboradores. Este estudo permitiu amplificar segmentos específicos de DNA, facilitando avanços significativos em várias áreas da biologia molecular, incluindo o diagnóstico de doenças, pesquisa genética e taxonomia. Este trabalho recebeu o Prêmio Nobel de Química em 1993. No Brasil, no ano de 1994, Drs. Carlos Médicis Morel, Wim Degraeve e Patrick Winckler foram os pioneiros no estabelecimento das linhas de pesquisa em bioquímica e biologia molecular no Instituto Oswaldo Cruz. Esses pesquisadores desempenharam papéis centrais na concepção e organização do evento, que resultou na criação da Tritryp Genome Network, uma rede colaborativa internacional voltada para o sequenciamento genômico de *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania* spp. e *Trypanosoma brucei*. A visão estratégica e a capacidade de articulação científica estabeleceram as bases para uma nova era no estudo de doenças tropicais negligenciadas (FIOCRUZ, 2017).

O método tradicional clássico de detecção de *Leishmania* em flebotomíneos é através da dissecação do intestino do inseto. Essa técnica além de ser laboriosa, exige experiência e habilidade técnica e não possibilita a identificação da espécie do parasita (PEREZ *et al.* 2007; SILVA; GOMES, 2001). É importante também destacar que a distribuição da *Leishmania* ao longo do tubo digestório do vetor pode variar conforme a espécie, dificultando ainda mais o encontro do protozoário no flebótomo. Além disso, flebotomíneos podem albergar outros protozoários flagelados que, em certos estágios, são indistinguíveis das promastigotas de *Leishmania*, o que pode levar a diagnósticos microscópicos incorretos (TESH, MODI, 1984; RODRIGUEZ *et al.* 1994; LAINSON, 2010).

A técnica da PCR (*Polymerase Chain Reaction*) oferece maior sensibilidade (FU, PERONA-WRIGHT & BARKER, 1998), rapidez no processamento de uma grande quantidade de amostras, eficácia de detecção do agente independente da localização e da quantidade do parasito no trato digestório do inseto. Além disso, permite que os flebotomíneos possam ser manipulados sem que os métodos de conservação do inseto interfiram nos resultados da análise, podendo ser mantidos *in natura*, imersos em álcool ou por congelamento (PAIVA *et al.* 2007).

A detecção de *Leishmania* por PCR pode ser feita a partir de diferentes alvos genéticos, dependendo da espécie, da sensibilidade desejada e do tipo de amostra

analisada. Os principais alvos utilizados são: kDNA (DNA do cinetoplasto) (Ampuero et al., 2009), citocromo b (Kato et al., 2005), gene da HSP70 (Proteína de choque térmico 70) (FRAGA et al., 2010), o gene de glucose 6 fosfato (CASTILHO et al., 2003), gene 7SL RNA (ZELAZNY et al., 2005) e ITS1 (espaçador transcrito interno 1) (SCHONIAN et al., 2003). Dentre esses, os mais utilizados para o diagnóstico da espécie são kDNA e ITS1 devido à alta sensibilidade. A PCR para ITS1 permite a identificação de praticamente todas as espécies de *Leishmania* após a digestão do produto de PCR pela enzima de restrição HaeIII.

5. MEDIDAS DE CONTROLE DA LEISHMANIOSE VISCERAL NO BRASIL

O tratamento da leishmaniose visceral (LV) é demorado e dispendioso. Uma das soluções mais baratas e práticas que o tratamento, é a interrupção do ciclo de *Leishmania*, por meio do controle do vetor, interrompendo os elos entre o protozoário, o inseto, o homem e o cão doméstico (ALEXANDER; MAROLI, 2003).

Os cães são comuns no peridomicílio, local onde ocorre a maioria das infecções do patógeno de LV (QUINNELL; COURTENAY, 2009). Estes animais apresentam grande importância em saúde pública, por apresentarem uma infecção de longa duração e elevada prevalência. Em muitos casos os laços de afetividade desses animais e o homem são extremamente fortes sendo considerados membros da família.

Desde a implementação do Programa Brasileiro de Vigilância do Controle da Leishmaniose Visceral (PVCLV) em 1963, as estratégias de controle têm sido:

- Notificação obrigatória, diagnóstico e tratamento oportuno de casos humanos.
- Controle de vetores com inseticidas residuais. Atualmente, os inseticidas utilizados para o controle de flebotomíneos em áreas endêmicas de leishmanioses pertencem principalmente às classes de piretróides sintéticos. Estes inseticidas ao serem borrifados deixam uma camada de cristais que são absorvidos pelas cutículas das patas e atingem o interior do corpo do inseto. É importante salientar que o uso de inseticida deve ser uma medida complementar e não um método único de controle para insetos de interesse em saúde pública (BRASIL, 2017; BRASIL, 2006).

- Eutanásia de cães soropositivos e parasitológicos positivos. Esta medida tem gerado intensos debates e tem sido bastante controversa sobre a eficiência como estratégia de controle (ROMERO; BOELAERT, 2010; VAZ et al., 2020; FRANÇA-SILVA et al., 2023).

As dúvidas sobre a efetividade desse processo tem feito com que novas estratégias de controle fossem implementadas no Brasil, tais como:

- Tratamento de cães infectados.
- Uso insecticidas tópicos sintéticos (dimetil phthalate, indalone e etil hexanediol) ou naturais (óleos cinamomo, citronela, cânfora, cravo, folhas de louro, etc) (BROWN et al., 1997; ROZENDAAL, 1997).
- Vacinas: as vacinas contra leishmaniose visceral canina fabricadas e comercializadas no Brasil (Leishmune®, Leishvacin e Leish-Tec®) foram suspensas pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (Mapa) (BRASIL, 2023).
- Uso de coleiras caninas impregnadas com deltametrina 4%, as DMC (deltamethrin-impregnated dog collars), sendo esta estratégia a única recomendada pela Organização Mundial de Saúde - OMS (FERROGLIO et al, 2008; MAROLI et al., 2001; WERNECK et al., 2014; WERNECK et al., 2024).

5.1 O efeito da deltametrina nos flebotomíneos

A deltametrina é um inseticida piretróide sintético do tipo II, produzido a partir de derivados sintéticos das piretrinas, ésteres tóxicos isolados das flores das espécies de *Chrysanthemum cinerariaefolium* e espécies relacionadas (PALMQUIST; SALATAS; FAIRBROTHER., 2012; NASUTI et al. 2003). Os piretróides sintéticos distribuem-se pela pele do cão através das secreções dérmicas. Como a deltametrina é neurotóxica, ela atua no sistema nervoso central do inseto, especificamente nos receptores das sinapses neurais, causando a despolarização contínua da membrana. Desta forma, as informações transmitidas durante as sinapses se tornam contínuas nos canais de sódio, determinando a morte do inseto por excitação. Esta ação repelente e inseticida reduz o contato com o cão por até oito meses (DAVID et al., 2001; FERROGLIO et al., 2008; PAULIN et al., 2018).

Na Itália e no Irã, o uso das DMC tem demonstrado resultados positivos. Em estudos em áreas endêmicas de LV na Itália houve uma redução na infecção de

cães por *Leishmania infantum* (MAROLI et al., 2001) e no Irã o estudo evidenciou uma redução populacional de flebotomíneos, o que poderia levar a uma redução significativa, de cerca de 40%, no número de casos (GAVGANI et al., 2002).

No Brasil, alguns estudos avaliaram a efetividade de uso das DMCs em áreas de transmissão intensa de LV. Em Montes Claros (MG) e Fortaleza (CE), SILVA e colaboradores (2018), avaliaram o efeito do encoleiramento canino na redução do vetor, durante 30 meses. O resultado foi uma diminuição na população de flebotomíneos coletados, de 15% e 60% respectivamente nessas cidades.

Em 2004 na cidade de Andradina, no Estado de São Paulo (SP), Camargo-Neves observou uma redução na incidência de casos humanos e caninos da doença, após a implementação do uso de coleiras impregnadas com deltametrina. Coura-Vital e colaboradores (2018), após um ano de observação, revelaram que esse método de intervenção aplicado em larga escala poderia promover ótimos resultados a médio e longo prazo, podendo reduzir a infecção de LV canina em Governador Valadares, Minas Gerais.

Outro estudo realizado em Enéas-SP, constatou por meio de modelagem matemática, que o uso de coleiras reduziu as chances dos cães aumentarem o título de anticorpos em 50%, demonstrando que essa medida foi bem mais eficiente que a eutanásia nos cães praticadas nessa cidade (REITHINGER et al. 2004).

Sevá e colaboradores (2016) também através de modelos matemáticos, demonstraram que o uso das DMCs apresentou melhor resultado na redução das taxas de infecção canina e humana quando comparado à vacinação e à eutanásia canina.

Um estudo realizado em sete municípios de 4 Estados brasileiros (Teresina no Piauí; Fortaleza, Canindé, Maracanaú e Eusébio no estado do Ceará; Araguaína em Tocantins e Montes Claros em Minas Gerais) também avaliou o impacto do encoleiramento canino, em relação à infecção dos cães, a incidência dos casos humanos e a densidade dos flebotomíneos. Mais tarde outros seis municípios foram incorporados ao estudo (Mossoró no Rio Grande do Norte; Três Lagoas no Mato Grosso do Sul, Gurupi e Porto Nacional no Tocantins, Rondonópolis no Mato Grosso e Caxias no Maranhão). O resultado foi que o uso das DMCs foi fator importante no controle da leishmaniose visceral canina (WERNECK et al., 2017).

Diante da gravidade, letalidade, alta prevalência e o tratamento longo e oneroso dessa morbidade, o conhecimento das estratégias de controle é muito

importante para barrar o avanço da leishmaniose visceral. Pesquisas envolvendo a efetividade do uso das coleiras impregnadas com deltametrina 4% são necessárias e os resultados têm demonstrado a efetividade desse método. Porém são necessários mais estudos abrangentes em âmbito nacional a fim de avaliar seu impacto na incidência de casos humanos, caninos e na densidade dos vetores (BRASIL, 2021).

6. JUSTIFICATIVA

A presente pesquisa integra o projeto multicêntrico intitulado “Avaliação da implementação do uso das coleiras impregnadas com inseticida em cães em municípios prioritários para o controle da leishmaniose visceral humana e canina no Brasil”. Este estudo foi aprovado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e financiado pelo Ministério da Saúde. O projeto contemplou sete municípios com alta, intensa ou muito intensa transmissão de leishmaniose visceral, dos quais nossa pesquisa incluiu três: Campo Grande (MS), São Luís (MA) e Caxias (MA).

A justificativa para este estudo consiste na necessidade de controle da leishmaniose visceral (LV), uma doença grave transmitida por flebotomíneos, tendo *Lutzomyia longipalpis* como seu principal vetor no Brasil e o cão doméstico, principal reservatório urbano de *Leishmania infantum*, agente causal da LV.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), essa morbidade é um sério problema de saúde pública no país. O Brasil apresentou em 2019, 97% da média anual de casos registrados nas Américas.

Medidas de controle têm sido aplicadas desde 1963, com a implementação do Programa Brasileiro de Vigilância do Controle da Leishmaniose Visceral (PVCLV). Desde então, algumas intervenções de controle como o uso de inseticidas residuais e a eutanásia de cães, tem gerado controvérsias, principalmente essa última. Por sua vez, o uso de coleiras impregnadas com deltametrina (DMC) nesses animais, tem sido uma medida de controle bastante utilizada e faz-se necessário o levantamento de dados sobre seu uso.

Este estudo é importante pois fornecerá dados que trarão conhecimento sobre a eficiência e efeito das DMCs em âmbito nacional, sobre a fauna flebotomínica, além de relacionar essas informações com a incidência de casos

humanos nos municípios endêmicos para LV, dando suporte para o uso efetivo dessa medida de controle nos municípios endêmicos para leishmaniose visceral humana e canina no Brasil.

7. OBJETIVOS

7.1 Objetivo Geral

Avaliar o possível efeito do uso em cães, das coleiras impregnadas com deltametrina, na fauna de flebotomíneos em municípios endêmicos para leishmaniose visceral humana e canina no Brasil.

7.2 Objetivos específicos

- Investigar a fauna flebotomínea da área em estudo, quanto à presença de vetores de *Leishmania* spp.
- Detectar a presença de DNA de *Leishmania* em *Lutzomyia longipalpis* coletados nas áreas de estudo.
- Estimar o impacto na densidade populacional de flebotomíneos, após a implementação das coleiras impregnadas com deltametrina 4% em cães das áreas de estudo.

8. METODOLOGIA

8.1 Áreas de estudo

O presente estudo está inserido em um projeto multicêntrico intitulado “Avaliação da implementação do uso de coleiras impregnadas com inseticida em cães em municípios prioritários para o controle da leishmaniose visceral humana e canina no Brasil”, que foi aprovado pelo CNPQ em 2019 e financiado pelo Ministério da Saúde Pública. Sete cidades fazem parte deste projeto multicêntrico, todas com taxas de infecção alta, intensa e muito intensa. São elas: Campo Grande em Mato Grosso do Sul (MS); Montes Claros em Minas Gerais (MG); Timon, Caxias e São Luís no Maranhão (MA); Fortaleza e Caucaia no Estado do Ceará (CE). Vale salientar que segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019 a 2021; OPAS, 2020) é considerada área de transmissão alta a que apresentou nos últimos 3 anos a média de de 7 a 13 casos, transmissão intensa de 14 a 21 e de transmissão muito intensa de 22 a 40 casos de LV.

Os critérios para a elegibilidade dos municípios foram:

- Apresentar taxa de transmissão de LV humana alta, intensa ou muito intensa de acordo com o índice composto (média de casos e média da incidência dos últimos 3 anos) (OPAS, 2019);
- Ter infraestrutura física e recursos humanos para implementar o programa de intervenção populacional baseado no uso de coleiras impregnadas com deltametrina 4% em cães;
- Ter capacidade para realização de monitoramento entomológico, inquérito canino, bem como, encoleiramento dos cães conforme orientações do fabricante, com apoio da equipe do estudo;
- Concordância do gestor municipal de saúde em participar do estudo;
- Ser de acesso relativamente fácil (com distância de no máximo 150km de uma capital, por via rodoviária ou fluvial) e/ou que sejam atendidos pelas principais empresas aéreas do país com voos diretos de Brasília/DF, Rio de Janeiro/RJ, São Paulo/SP ou Belo Horizonte/MG. A escolha definitiva dos municípios incluídos neste projeto foi baseada nos resultados da avaliação dos critérios de elegibilidade, esse processo foi conduzido pelos principais

responsáveis pela implementação, como o Ministério da Saúde, a OPAS, estados e municípios, contando, com o suporte técnico de consultores e da equipe do projeto.

Nosso estudo foi desenvolvido em três cidades: Campo Grande (MS), Caxias e São Luís no MA, que apresentam respectivamente taxas de infecção intensa, alta e muito intensa (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019 a 2021). Com o advento da pandemia de Covid-19, as capturas começaram em julho de 2021 em Campo Grande, MS, enquanto que em Caxias e São Luís-MA em agosto do mesmo ano.

Durante 24 meses foram coletados flebotômicos abrangendo um período pré e pós a implementação do uso de coleiras em cães, nas três cidades.

a) Campo Grande, MS

Campo Grande, capital de Mato Grosso do Sul (MS), está localizada na região Centro-Oeste do Brasil, no centro do Estado. Apresenta coordenadas geográficas entre 20°26'34" S e 54°38'47" W e altitude entre 500 e 675m (**Figura 6**). Sua extensão territorial é de 8.082,978 km² e sua população estimada é de 916.001 habitantes com densidade demográfica de 97,22 hab/km², de acordo com o último censo (PMCG/PLANURB, 2021; IBGE 2020).

O clima de Campo Grande apresenta-se entre o mesotérmico úmido, com temperatura média de 24°C (mínima de 15°C e máxima de 30°C) sem estiagem e o tropical úmido com verão chuvoso (outubro e abril) e inverno seco, com período de estiagem (junho, julho e agosto). A pluviosidade anual fica entre 1.200 a 1.750 mm (MOTTA et al., 2013; PMCG/PLANURB, 2021).

O município está inserido no Bioma Cerrado, porém diante do constante crescimento populacional, a disponibilidade de áreas potencialmente urbanizáveis e a dinâmica imobiliária, a paisagem da área urbana vem sofrendo alterações de forma rápida e significativa (PMCG/PLANURB, 2021; FERNANDES et. al., 2022).

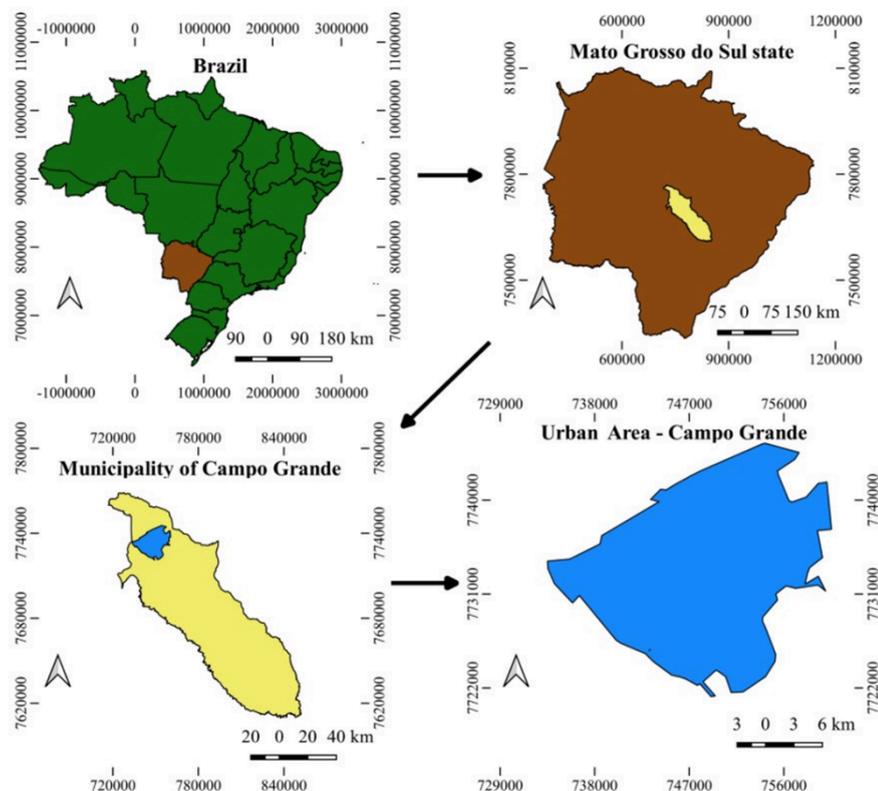


Figura 6. Localização geográfica da área de estudo. Brasil; Estado de Mato Grosso do Sul; Município de Campo Grande; Área urbana do município de Campo Grande (cedido por Lopes de Oliveira, 2024).

B) São Luís, MA

São Luís, a capital do Estado do Maranhão, possui uma área de 583,063 km² e está situada na ilha de São Luís, ao norte do Estado (**Figura 7**). O município apresenta uma população estimada de 1.115.932 habitantes e densidade demográfica de 1.215,69 hab/km². Suas coordenadas geográficas encontram-se entre 2° 31' 51" S e 44° 18' 24" W e 236 metros de altitude (IBGE, 2021).

O clima é tropical quente e úmido, com duas estações distintas, uma chuvosa (janeiro a junho) e outra seca (julho a dezembro) (INMET, 2023). A vegetação predominante é bastante diversificada e é caracterizada por formações de transição entre biomas, com destaque para a floresta estacional semidecidual, que reúne espécies típicas da Amazônia e do Cerrado, manguezais, em regiões costeiras, a vegetação de restinga.

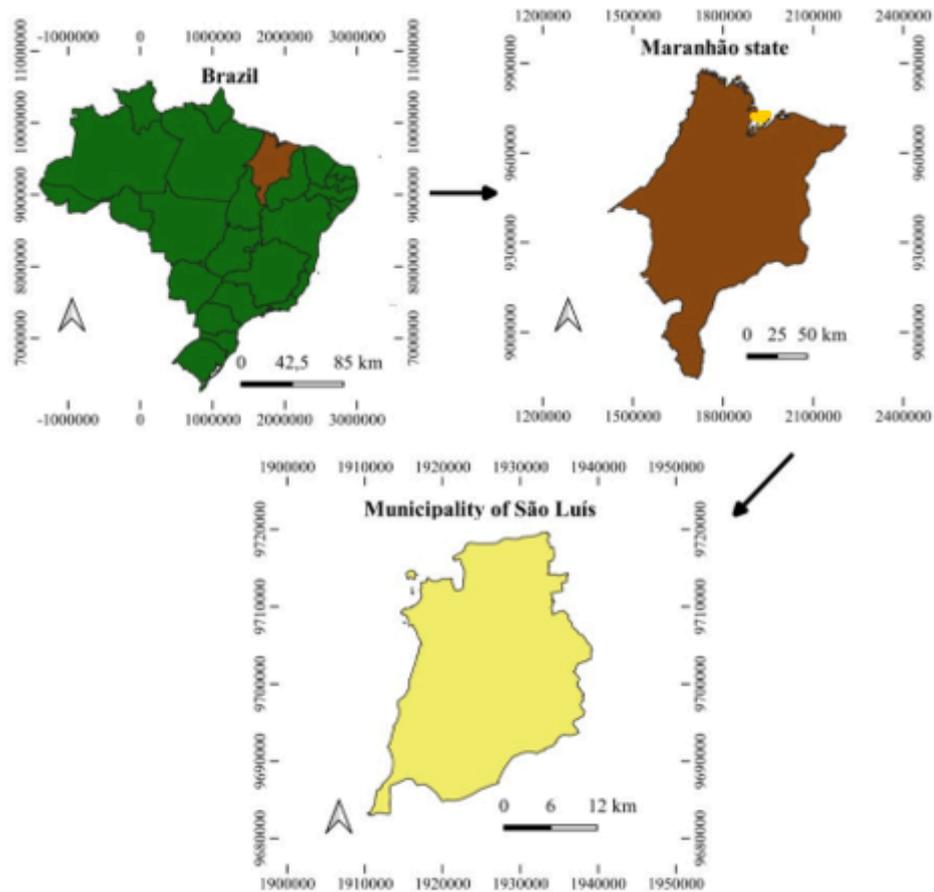


Figura 7. Localização geográfica da área de estudo. Brasil; estado do Maranhão; Área urbana do município de São Luís (cedido por Lopes de Oliveira, 2024).

C) Caxias, MA

O município de Caxias - MA, possui uma área de 5.201,927 km² e está localizado ao leste do Estado (**Figura 8**). O município apresenta uma população estimada de 166.159 habitantes e densidade demográfica de 30,12 hab/km². Suas coordenadas geográficas encontram-se entre latitude 4°51'32" S e a uma longitude 43°21'22" W, a 66 metros de altitude (IBGE, 2021).

Segundo a classificação de Köppen, o município apresenta um clima tropical (Aw) com um período chuvoso (janeiro a junho, com médias mensais superiores a 216,6mm) e outro seco (julho a dezembro, com precipitação pluviométrica entre 13 e 135,8mm). De setembro a novembro, período mais quente, a média é de 28,58 °C e em fevereiro, mês mais frio do ano, a média é de 25,91°C (NUGEO-Núcleo Geoambiental. Bacias hidrográficas e climatologia. 2016).

Este município apresenta cobertura vegetal de transição entre típica da zona dos cocais, sendo caracterizada como de transição entre a Floresta Amazônica e o Cerrado (GEPLAN-Gerência de planejamento e desenvolvimento econômico, 2002; PEREIRA; NUNES; SOUSA, 2022). A temperatura média varia entre 26,1°C, no período chuvoso, a 35,6°C, no período seco. A média anual de umidade relativa do ar é de 70%, a máxima ocorre nos meses de março e abril, com valor de 83%, enquanto no período seco o valor pode chegar a 57%. A precipitação média anual é de 1.454,6 mm (GEPLAN- Gerência de planejamento e desenvolvimento econômico. 2002). O setor econômico do município é movido por recursos que advém da administração pública, da indústria e da agropecuária.

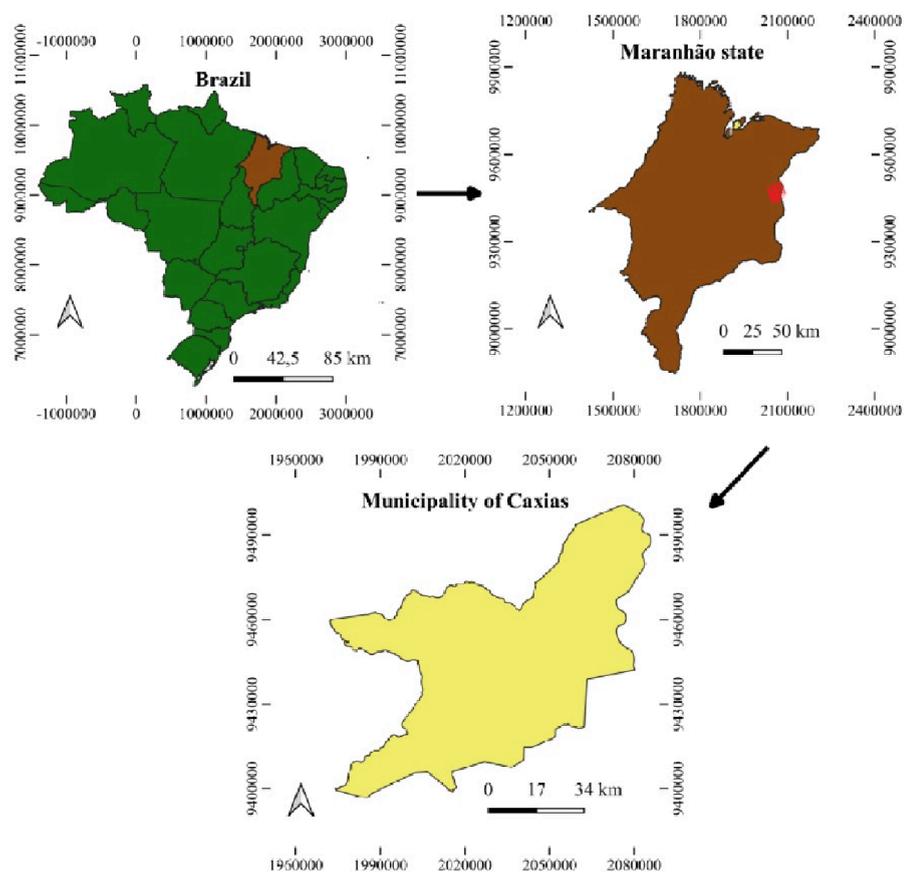


Figura 8 - Localização geográfica da área de estudo: município de Caxias, Maranhão, Brasil (cedido por Lopes de Oliveira, 2024).

8.2 Locais de coleta

Em cada cidade, foram selecionadas duas áreas (áreas de trabalho local - ATLS): área de tratamento, local onde foram implementadas as coleiras com deltamantina a 4% em cães e área controle, local onde não houve o encoleiramento. Essas áreas foram selecionadas de acordo com indicadores de vulnerabilidade social e ambiental (renda, alfabetização, coleta de lixo, abastecimento de água e esgotamento sanitário) e indicadores de risco de transmissão de LV (registro de casos humanos e prevalência de infecção canina por *Le. infantum*). A definição das ATLS envolveu todos os atores diretamente ligados na implementação (Ministério da Saúde, OPAS, secretarias dos estados e dos municípios), podendo contar com o apoio técnico de consultores e da equipe do projeto.

Em Campo Grande (MS), dois bairros foram selecionados: Alves Pereira (ATL controle) e Pioneiros (ATL tratamento), as coletas tiveram início em julho de 2021 e o primeiro encoleiramento ocorreu em agosto de 2022 e o segundo em março de 2023., cobrindo 116 cães encoleirados.

Na capital do estado do Maranhão, São Luís, ambas ATLS, controle e tratamento, foram selecionadas no bairro Cidade Olímpica, já em Caxias no mesmo estado, dois bairros foram selecionados: Bairro Pirajá (ATL controle) e Campo de Belém (ATL tratamento). O primeiro encoleiramento ocorreu em fevereiro de 2022, e os dois subsequentes, após seis meses: agosto de 2022 e fevereiro de 2023, com 87 animais encoleirados.

As coletas de flebotomíneos tiveram início em agosto de 2021 e término em agosto de 2023. Para tais coletas, armadilhas luminosas (CDC) foram instaladas durante três noites consecutivas no intradomicílio e peridomicílio (Figura 9), sendo 10 pontos em cada ATL, num total de 40 armadilhas em cada cidade (20 na área controle e 20 na área tratamento). As CDCs foram instaladas às 16h e retiradas às 7h do dia seguinte, em resumo são: 3 municípios x pontos x 2 (intra e intra) x 3 (noites consecutivas) x 25 (meses) = 9.120 observações (Figuras 10, 11 e 12).

As instalações das armadilhas nas três áreas urbanas contou com apoio pessoal e logístico das secretarias de saúde do estado e do município.



Figuras 9A e 9B - Armadilhas luminosas CDC instalada no intradomicílio (A) e peridomicílio (B). Fonte: arquivo pessoal, Campo Grande (MS), 2023.

8.3 Caracterização ambiental

Todos os pontos de coleta foram georreferenciados e caracterizados, observando a vegetação, cobertura do solo, presença e número de animais no peridomicílio e presença de iluminação elétrica no quintal. Os dados meteorológicos dos dias de captura do estudo foram obtidos no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).



Figura 10 - Pontos de coletas nos Bairros Alves Pereira, ATL controle (1 a 10) e ATL tratamento (11 a 20), de Julho de 2021 a Agosto de 2023, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. Google Earth, 2023.



Figura 11 - Ponto de coleta no Bairro Cidade Olímpica 1- ATL área controle (1 a 10) e no Bairro Cidade Olímpica 2- ATL área tratamento (11 a 20), de Agosto de 2021 a Agosto de 2023, São Luís, Maranhão, Brasil. Fonte Google Earth, 2023.

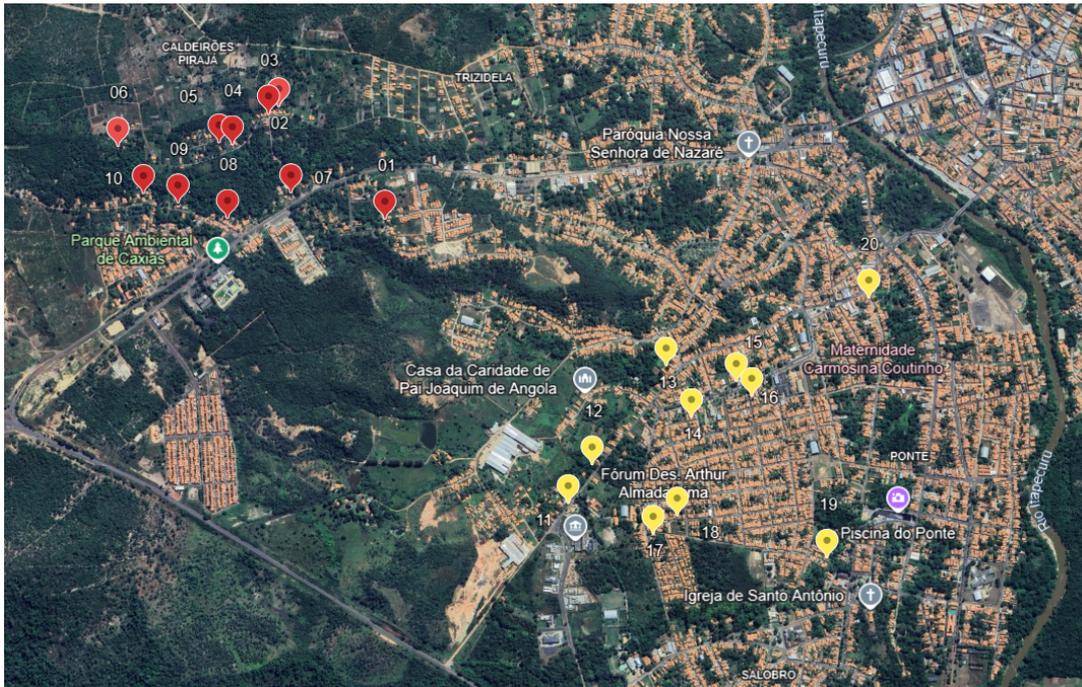


Figura 12 - Ponto de coleta na área periférica - borda da mata, ATL controle (1 ao 10) e área central ATL tratamento (11 ao 20), de Agosto de 2021, a Junho de 2023, Caxias, Maranhão, Brasil. Google Earth, 2023.

Vale salientar, que devido à natureza multicêntrica do projeto e à distância geográfica entre os municípios envolvidos, houve dificuldades na obtenção de alguns dados complementares, como imagens dos pontos de coleta, além de informações completas sobre o número de cães encoleirados, alterações dos pontos e número de animais no peridomicílio durante todo período da pesquisa. Algumas dessas informações estavam mais acessíveis em Campo Grande (MS), município onde a pesquisadora reside e pôde acompanhar presencialmente todas as etapas da coleta, contando com o apoio contínuo das secretarias do estado e do município.

8.4 Identificação dos espécimes

Os insetos foram coletados pelas Secretarias de Saúde de cada localidade e encaminhadas ao Laboratório de Parasitologia Humana da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) e, após eutanaziados com éter, foram triados por sexo e espécie. Em seguida, foram acondicionados em tubos de 1,5 ml com álcool isopropílico, devidamente identificados com as informações referentes à coleta (cidade de origem, ATL controle ou tratamento, intra ou peridomicílio e data da

coleta). Para identificação, os flebotomíneos foram clarificados e montados em lâmina de vidro de acordo com a técnica de Galati (2023). As fêmeas foram divididas em três ou duas partes (cabeça, tórax e abdome). As pernas, antena, palpos e asas cuidadosamente distendidos. A cabeça foi disposta em posição ventral, para melhor visualização do cibário e faringe. O abdômen cuidadosamente distendido para melhor observação das espermatecas em M.O.(Figura 16 B). Com relação aos machos, a cabeça foi montada com a parte dorsal voltada para cima e com os apêndices (palpos e antenas) distendidos. A genitália externa com seus apêndices cuidadosamente separados, para facilitar a observação de estruturas importantes para a identificação em M.O.(Figura 16 A). A identificação da espécie é de acordo com a chave de Galati (2023).

O registro do número de espécimes, espécies e sexo, distribuídos em diferentes pontos de coleta e datas, foram armazenados em um banco de dados organizados em uma planilha digital.

Por não envolver animais de laboratório ou seres humanos, o projeto não foi submetido ao comitê de ética em pesquisa. Entretanto, o grupo de estudo possui licença permanente para coleta emitida pelo IBAMA n. 25952-1.

8.4.1 Identificação de machos e fêmeas de *Lutzomyia longipalpis*

Os machos e fêmeas da espécie de *Lutzomyia longipalpis* apresentam características externas peculiares, no tórax e na cabeça, facilmente observadas em microscópio estereoscópio, tornando rápida a sua identificação. Alguns espécimes machos de *Lutzomyia longipalpis* apresentam sítios de liberação de feromônios localizados nos tergitos abdominais. Essas glândulas estão geralmente posicionadas no 3º tergito, mas em certos indivíduos também podem se estender até o 4º tergito, sendo visualmente identificadas por uma coloração esbranquiçada característica (Figura 13). As fêmeas dessa espécie possuem manchas escuras no tórax, como estão evidenciadas na figura 14 (CORNÉLIO *et al.*, 2020; GALATI; OVALLOS - comunicação pessoal, 2020). No caso de fêmeas de outras espécies, foi realizada uma técnica onde se observa somente a espermateca do inseto. O procedimento é feito com a ajuda de um estilete que é utilizado para realizar uma secção entre o oitavo e sétimo segmento do abdome, feito isso, uma gota de salina é adicionada sobre o pequeno fragmento, foi observado entre lâmina e lamínula em Microscópio

óptico em aumento de 400 vezes, sendo assim, observar a espermateca, identificar a espécie (**Figura 15**).

As fêmeas de *Lu. longipalpis*, identificadas pela triagem rápida, foram separadas da seguinte forma: fêmeas sem ovos e com ovos, separadas em *pools* de até 20 insetos. As fêmeas com sangue, foram individualizadas. Todas acondicionadas em tubos de 1,5 mL, contendo mais ou menos 0,5 mL de álcool isopropílico, devidamente identificadas, de acordo com a unidade amostral de cada mês.



Figura 13 - Macho de *Lutzomyia longipalpis*. Em evidência o abdome com sítios de liberação de feromônio no abdome. Fonte: arquivo pessoal



Figura 14 - Fêmea de *Lutzomyia longipalpis*, com manchas evidenciadas de pigmentação castanha no contorno do catepisterno e catepímero no tórax. Fonte: Leite, 2024

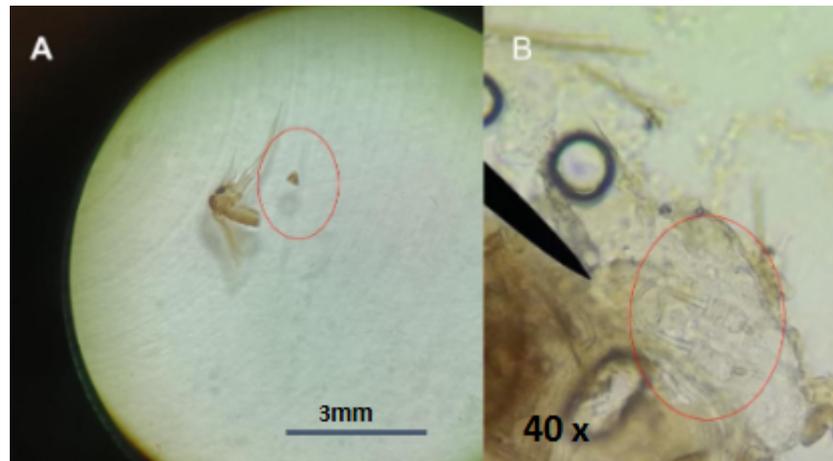


Figura 15 - Detalhe do corte transversal no abdome da fêmea de flebotomíneo, entre o oitavo e sétimo segmento (A). Aspecto da espermateca de *Lutzomyia longipalpis* (B), observada em M.O. aumento de 400 vezes. Fonte. Barbosa, 2023.



Figura 16 A - Orientação de montagem de flebotomíneo macho entre lâmina e lamínula, aumento de 100 vezes. Fonte. arquivo pessoal.

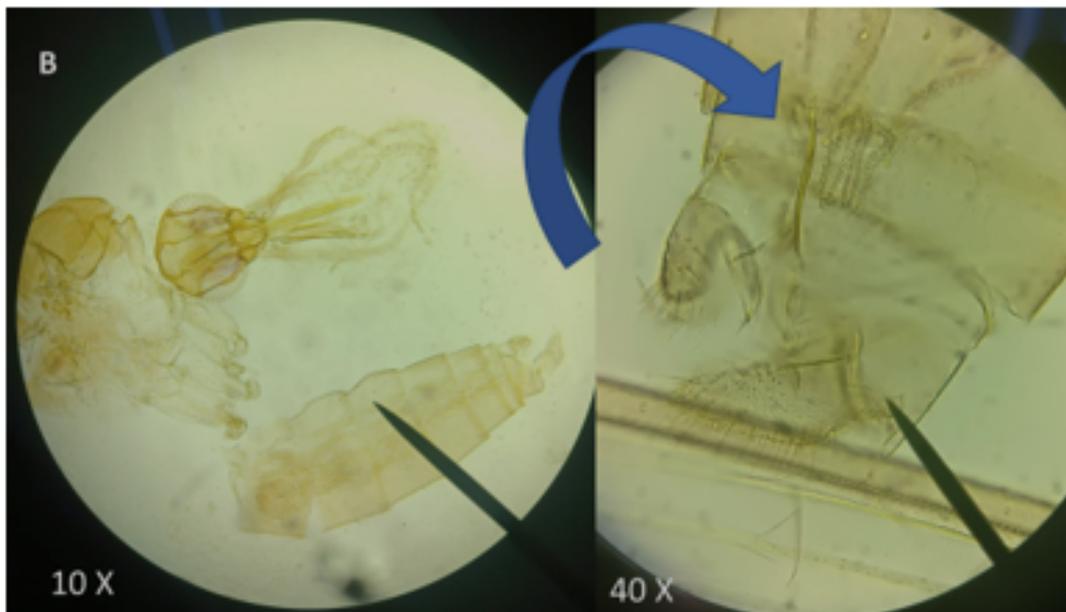
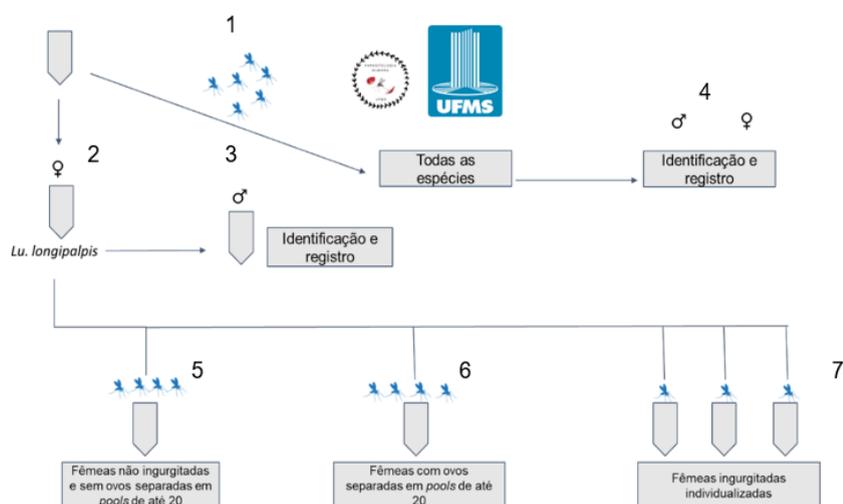


Figura 16B - Orientação de montagem de flebotomíneo fêmea entre lâmina e lamínula, aumento de 100 e 400 vezes (detalhe da espermateca - *Psychodopygus* sp.). Fonte. arquivo pessoal

8.5 Desenho amostral



1- insetos encaminhados a laboratório da UFMS; 2- identificação rápida das fêmeas de *Lu. longipalpis*; 3- identificação rápida dos machos de *Lu. Longipalpis*; 4- outras espécies, clarificados e montados em lâmina para identificação; 5- fêmeas não ingurgitadas e sem ovos separadas em *pools* de até 20 insetos; 6- fêmeas com ovos separadas em *pools* de até 20 insetos; 7- fêmeas ingurgitadas individualizadas.

8.6 Os procedimentos específicos para a implementação do uso de coleiras impregnadas com deltametrina 4% em cães

As ações que envolvem contato com a população dos municípios selecionados, estão diretamente ligadas ao corpo técnico das secretarias de saúde do município e do Estado.

Inicialmente, foi realizada uma visita aos proprietários das residências selecionadas para convidá-los a participar da pesquisa e esclarecer a metodologia e os objetivos do estudo. Também foi informado que os procedimentos não acarretariam custos financeiros nem oferecerem riscos à saúde aos moradores das residências ou de seus animais domésticos. Após esse esclarecimento, foi recolhida a autorização para o encoleiramento dos cães, procedimento que foi repetido a cada seis meses, conforme o período de validade das coleiras (DAVID et al., 2001). Além disso, foram registradas informações sobre o número de cães no domicílio, a presença de outros animais (gatos, galinhas, porcos, etc.) e a existência de anexos como canis, galinheiros e pocilgas. Outros aspectos observados incluíram problemas operacionais durante a implementação do estudo, como mudanças de residência,

dificuldades de acesso ao domicílio, falhas das armadilhas, perdas das coleiras caninas e variações no número de animais domésticos na residência.

8.7. Detecção de DNA de *Leishmania* spp. em *Lutzomyia longipalpis* por análise molecular

Os fatores de compreensão na dinâmica de transmissão das leishmanioses envolve identificar qual a espécie de *Leishmania* sp. circulante, quais os sinais e sintomas da doença e quais os vetores e reservatórios envolvidos na epidemiologia. Todos estes fundamentos são importantes para o controle da parasitose em uma região (GONTIJO; MELO, 2004).

Uma das mais importantes ferramentas utilizadas para esta compreensão é a detecção do DNA de *Leishmania*, realizada através da técnica denominada PCR (*Polymerase Chain Reaction*). A PCR tem como objetivo amplificar segmentos específicos do DNA de *Leishmania* sp. e, assim, detectar a presença do agente patológico da amostra em questão.

O primeiro estudo que utilizou a técnica de PCR foi publicado em 1985 por Kary Mullis e colaboradores. Este estudo permitiu amplificar segmentos específicos de DNA, facilitando avanços significativos em várias áreas da biologia molecular, incluindo o diagnóstico de doenças, pesquisa genética e taxonomia. Este trabalho recebeu o Prêmio Nobel de Química em 1993. No Brasil, no ano de 1994, Drs. Carlos Médicis Morel, Wim Degraeve e Patrick Winckler foram os pioneiros no estabelecimento das linhas de pesquisa em bioquímica e biologia molecular no Instituto Oswaldo Cruz. Esses pesquisadores desempenharam papéis centrais na concepção e organização do evento, que resultou na criação da Tritryp Genome Network, uma rede colaborativa internacional voltada para o sequenciamento genômico de *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania* spp. e *Trypanosoma brucei*. A visão estratégica e a capacidade de articulação científica estabeleceram as bases para uma nova era no estudo de doenças tropicais negligenciadas (FIOCRUZ, 2017).

O método tradicional clássico de detecção de *Leishmania* em flebotomíneos é através da dissecação do intestino do inseto. Essa técnica além de ser laboriosa, exige experiência e habilidade técnica e não possibilita a identificação da espécie do parasito (PEREZ *et al.* 2007; SILVA; GOMES, 2001). É importante também destacar

que a distribuição da *Leishmania* ao longo do tubo digestório do vetor pode variar conforme a espécie, dificultando ainda mais o encontro do protozoário no flebótomo. Além disso, flebotomíneos podem albergar outros protozoários flagelados que, em certos estágios, são indistinguíveis das promastigotas de *Leishmania*, o que pode levar a diagnósticos microscópicos incorretos (TESH, MODI, 1984; RODRIGUEZ et al. 1994; LAINSON, 2010).

A técnica da PCR (*Polymerase Chain Reaction*) oferece maior sensibilidade (FU, PERONA-WRIGHT & BARKER, 1998), rapidez no processamento de uma grande quantidade de amostras, eficácia de detecção do agente independente da localização e da quantidade do parasito no trato digestório do inseto. Além disso, permite que os flebotomíneos possam ser manipulados sem que os métodos de conservação do inseto interfiram nos resultados da análise, podendo ser mantidos *in natura*, imersos em álcool ou por congelamento (PAIVA et al. 2007).

A detecção de *Leishmania* por PCR pode ser feita a partir de diferentes alvos genéticos, dependendo da espécie, da sensibilidade desejada e do tipo de amostra analisada. Os principais alvos utilizados são: kDNA (DNA do cinetoplasto) (Ampuero et al., 2009), citocromo b (Kato et al., 2005), gene da HSP70 (Proteína de choque térmico 70) (Fraga et al., 2010), o gene de glucose 6 fosfato (Castilho et al., 2003), gene 7SL RNA (Zelazny et al., 2005) e ITS1 (espaçador transcrito interno 1) (Schonian et al., 2003). Dentre esses, os mais utilizados para o diagnóstico da espécie são kDNA e ITS1 devido à alta sensibilidade. A PCR para ITS1 permite a identificação de praticamente todas as espécies de *Leishmania* após a digestão do produto de PCR pela enzima de restrição HaeIII.

Outro fator importante é que as análises moleculares podem promover a identificação do hábito alimentar das fêmeas ingurgitadas de flebotomíneos e assim constatar quais animais podem ser os prováveis reservatórios e como os flebotomíneos se alimentam, especialmente em áreas urbanas, onde podem estar realizando o repasto sanguíneo tanto em ambientes peridomiciliares quanto intradomiciliares (BENNAI, et al., 2018; MAIA et al. 2015; DE ÁVILA et al., 2018).

A identificação da espécie do flebotomíneo, de *Leishmania* sp. circulante e do hábito alimentar das fêmeas fornecem informações epidemiológicas mais detalhadas, que permitem uma compreensão do ciclo epidemiológico da doença, auxiliando no desenvolvimento de medidas de saúde pública e prevenção e controle das

leishmanioses como a proteção dos reservatórios animais e a redução do contato entre os vetores e os humanos (DUTRA-REGO et al., 2024).

Para o procedimento técnico de PCR, as fêmeas não ingurgitadas de *Lutzomyia longipalpis* foram agrupadas em *pools* de até 20 espécimes. Todas as amostras foram acondicionadas considerando o ponto e a data de coleta. A extração de DNA foi realizada utilizando o protocolo modificado de BRUFORD et al (1998). Após a retirada do etanol 100%, onde as fêmeas estavam acondicionadas, adicionou-se 200 µL de Digsol Buffer e 20 µL de proteinase K (10mg/mL), as amostras foram homogeneizadas com auxílio de vortex e posteriormente foi acrescentado 400 µL de acetato de amônia (4M) e colocadas por 5 minutos em banho de gelo. A amostra foi então homogeneizada e centrifugada por 15 minutos a 14.000 RPM. O sobrenadante foi transferido para outro tubo e sobre ele foi adicionado 900 µL de etanol 100% gelado. O tubo foi homogeneizado e, novamente, centrifugado por 15 minutos a 14.000 RPM. O etanol absoluto foi descartado e ao *pellet* foi adicionado 900 µL de etanol 70%. A amostra foi centrifugada por 15 minutos a 14.000 RPM, descartando-se o etanol 70%. Após a amostra estar completamente seca, acrescentou-se 40 µL de Tris-EDTA e incubou-se a amostra por 30 minutos. O DNA então extraído foi acondicionado em freezer -20°C.

A presença de DNA de flebotomíneo foi confirmada pela amplificação por PCR da região IVS6 (gene constitutivo) como controle endógeno. O seguinte par de *primers* específicos para região IVS6 foi utilizado: 5Llcac 5' GTG GCC GAA CAT AAT GTT AG 3' e 3Llcac 5' CCA CGA ACA AGT TCA ACA TC 3' (LINS et al., 2002).

Para a detecção da presença de DNA de *Leishmania* spp., foi realizada uma amplificação tendo como alvo a região ITS e os seguintes oligonucleotídeos LITSR (5' CTG GAT CAT TTT CCG ATG 3') e L5.8S (5' TGA TAC CAC TTA TCG CAC TT 3'). As reações de PCR foram realizadas em volume final de 25 µL, contendo 5 µL de gDNA, 10µL de mastermix (QuatroG), 8 µL, de água ultrapura e 1 mL de cada primer (EL-TAI et al., 2000). A água ultrapura foi utilizada como controle negativo e o DNA (este obtido de uma cultura in vitro de *Leishmania infantum*) foi usado como controle positivo. Os parâmetros de ciclagem foram: 95°C por 3 minutos, seguidos de 35 ciclos de 95°C por 30 s, 53°C por 30 s e 72°C por 1 min, com pós-extensão a 72°C por 5 min.

Os *amplicons* foram visualizados por eletroforese com gel de agarose a 1,5% em 100 mL de tampão Tris-borato-ácido etilenodiamino tetraacético (TBE) corado

com GelRed™ (Biotium, EUA). A corrida eletroforética foi realizada em tampão TBE 1x. A visualização das bandas foi realizada utilizando luz ultravioleta com filtro de 300 nm.

9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística segue o esquema de mudanças progressivas BACIPS (Before-After Control-Impact Paired Series) (WAUCHOPE et al., 2021), conforme segue abaixo. O esquema BACIPS aplica modelos lineares para detectar e testar estatisticamente mudanças imediatas na média e/ou mudanças prolongadas nas tendências temporais após uma intervenção. Implementamos um Modelo Misto Generalizado Bayesiano com autocorrelação temporal para verificar o impacto do uso das coleira impregnadas com deltametrina a 4% em cães na abundância de *Lu longipalpis*, em duas áreas de trabalho (ATL controle e ATL tratamento) em Campo Grande (MS). As áreas controladas (ATL controle), foram delimitadas espacialmente contíguas à área de intervenção (ATL tratamento) e amostradas antes e depois do tempo de intervenção realizado exclusivamente na ATL tratamento. Testamos o efeito do antes e depois da intervenção (BA - *before/after*) e do controle e impacto (CI - *Control-Impact*) com o passar do tempo (*Time*), levando em consideração as amostras obtidas no intra e peridomicílio (LOCAL). Incluímos um termo autorregressivo markoviano de primeira ordem, agrupado por identidade do domicílio, para considerar a autocorrelação temporal esperada em uma série temporal. Como a contagem de flebotomíneos é, naturalmente, uma variável discreta quantitativa e observamos inflação de zeros, com a média acompanhando a variância, utilizamos uma distribuição binomial negativa zero-inflada. A variável TEMPO foi centrada em zero (primeira amostra após a intervenção), BA e CI foram codificados como uma variável booleana antes-depois ou impacto de controle como 0-1, respectivamente. LOCAL foi um fator com duas classes: intra e peridomicílio.

Fórmula:

$$Value \sim Time + BA + CI + (BA \times CI) + (BA \times Time) + (CI \times Time) + (BA \times CI \times Time) + ID$$

Value - número de flebotomíneos capturados

Time - tempo de estudo

BA - efeito antes e depois da intervenção

CI - controle e impacto com o passar do tempo

ID - efeito aleatório, variável que identifica unidades distintas

O modelo foi implementado utilizando o pacote brms no R, e utilizamos 4 cadeias com 4000 interações, descartando as primeiras 2000 (burn-in). Verificamos o ajuste do modelo analisando a mistura das cadeias, a homocedasticidade e a homogeneidade dos resíduos, além da autocorrelação temporal dos resíduos (minimiza a influência de fatores externos, como presença de animais, lixo e umidade).

Para diferenciar o nível de adaptação das principais espécies coletadas neste trabalho, foi calculado o índice de constância (IC) com o objetivo de avaliar a frequência de ocorrência da espécie estudada por ponto de coleta. É uma forma de aferir a capacidade de adaptação das espécies às diferentes condições ambientais.

O cálculo foi realizado utilizando a fórmula proposta por Dajoz (1983), considerando a proporção de coletas em que cada espécie foi registrada em relação ao total de coletas realizadas. As espécies foram classificadas como constantes ($IC > 50\%$), acessórias ($25\% < IC \leq 50\%$) ou acidentais ($IC \leq 25\%$), conforme a mesma referência citada.

Fórmula:

$$IC = (n \times 100) / N$$

n = número de coletas positivas da espécie diagnosticada (total de amostras mensais).

N = número total de coletas realizadas nesta pesquisa.

10. DADOS CLIMÁTICOS E AMBIENTAIS

Os dados climáticos referentes ao período de estudo foram extraídos do banco de dados do Centro de Monitoramento de Tempo, do Clima e dos Recursos Hídricos de Mato Grosso do Sul (CEMTEC) que é vinculado ao Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

11. RESULTADOS

11.1. Manuscrito 1

Abundância de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) em estudo de intervenção do uso de coleiras caninas com deltametrina a 4% em Campo Grande, MS, Brasil, 2021-2023

Autores: Infran O. M. Jucelei^{1,2}, Casaril E. Aline¹, Barbosa E. P. Matheus², Santos R.O. Luís Gustavo³, Fernandes S. Wagner⁴, Zaroni M. Mariana², Almeida Paulo⁵, Galati A. B. Eunice⁵, Galvis-Ovallos Fredy⁵, Werneck L. Guilherme⁷, Cruz P. Maria do Socorro⁸, Oliveira G. Alessandra^{1,2,6}*

Afiliações Institucionais:

¹ Institute of Biosciences Federal, University of Mato Grosso do Sul, Brazil.

² Graduate Program in Infectious and Parasitic Diseases, Faculty of Medicine, Federal University of Mato Grosso do Sul, Brazil.

³ Institute of Ecology, Federal University of Mato Grosso do Sul, Brazil.

⁴ University Hospital Maria Aparecida Pedrossian-Brazilian Hospital Services Company/Federal University of Mato Grosso do Sul - Brazil.

⁵ Health Secretary of Mato Grosso do Sul State, Brazil.

⁶ Epidemiology department, Faculty of Public Health, University of São Paulo, Brazil.

⁷ Institute of Public Health Studies, Federal University of Rio de Janeiro, Brazil.

⁸ Graduate Program of Applied Technologies to Animals of Regional Interest, Federal University of Piauí, Brazil.

E-mail autor correspondente: *alessandra.oliveira@ufms.br

Resumo

A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose causada pelo protozoário *Leishmania infantum*, que tem como principal reservatório urbano o cão doméstico. Esta doença acomete as vísceras e pode ser letal se não tratada. Sua gravidade está associada a grupos vulneráveis como crianças, idosos e pessoas imunocomprometidas. O principal vetor nas Américas é *Lutzomyia longipalpis*, que se encontra amplamente distribuído no Brasil. Uma das ferramentas mais utilizadas para controle é o uso de coleiras inseticidas em cães, porém existem poucos estudos que avaliem o impacto dessa intervenção na fauna flebotomínica. **Objetivo:** avaliar o impacto no uso das coleiras impregnadas com deltametrina a 4% em cães, na redução da população do vetor *Lu. longipalpis* (Diptera: Psychodidae) em Campo Grande (MS), município

classificado segundo o Ministério da Saúde, como área de transmissão intensa para leishmaniose visceral. **Material e métodos:** Os esforços de coleta foram realizados durante três noites consecutivas, de julho de 2021 a agosto de 2023, em duas áreas da cidade: 10 pontos na ATL controle, área onde os cães não foram encoleirados e 10 na ATL tratamento, local onde houve o encoleiramento. Armadilhas luminosas automáticas do tipo CDC foram instaladas no intra e peridomicílio em todos os pontos de coleta das áreas estudadas, instaladas às 16h00 e retiradas às 07h00. Para avaliar o possível impacto das coleiras com inseticida deltametrina 4% sobre a fauna de flebotomíneos, o teste estatístico utilizado foi o método BACIPS (Before-After Control-Impact Paired Series). **Resultados:** *Lu. longipalpis* foi coletada em todos os meses, num total de 1078 espécimes na área controle e 7870, na área de intervenção. Em ambas as áreas o maior número de espécies foi coletado no intradomicílio. Esses resultados provavelmente devem ser atribuídos à presença de cães domésticos, que pernoitavam próximo às armadilhas instaladas. Após a análises estatística, foi possível observar que as coleiras impregnadas com deltametrina 4% em cães domésticos reduziram a frequência de *Lu. longipalpis*, mostrando ser uma medida de controle dessa zoonose, interrompendo os elos em sua cadeia de transmissão.

Palavras-chave: *Lutzomyia longipalpis*, Flebotomíneos, Leishmaniose visceral, Brasil.

Abstract

Visceral leishmaniasis (VL) is a zoonosis caused by the protozoan *Leishmania infantum*, with the domestic dog as its main urban reservoir. This disease affects the internal organs and can be fatal if left untreated. Its severity is associated with vulnerable groups such as children, the elderly, and immunocompromised individuals. The primary vector of the causal agent in the Americas is *Lutzomyia longipalpis*, which is widely distributed in Brazil. One of the most commonly used tools is the application of insecticide-impregnated collars on dogs; however, there are few studies evaluating the impact of this intervention on the phlebotomine fauna. **Goal:** Our study aimed to quantify the fauna of *Lu. longipalpis* in the urban area of Campo Grande (MS), classified as an intense VL transmission area. **Material and**

Methods: Collection efforts were carried out over three consecutive nights, from July 2021 to August 2023, in two areas of the city: 10 sampling points in the ATL control area, where dogs were not collared, and 10 in the ATL treatment area, where collaring was implemented. Automatic CDC light traps were installed both indoors and in the peridomestic area at all sampling points in the studied areas, set up at 4:00 PM and removed at 7:00 AM. To evaluate the possible impact of collars with 4% deltamethrin insecticide on the sandfly fauna, the statistical test used was the BACIPS (Before-After Control-Impact Paired Series) method. **Results:** *Lutzomyia longipalpis* was captured in all months and sampling points in Campo Grande, with 8,948 specimens collected during the 26 months of collection. 1,078 specimens (72.64% males and 27.36% females) were captured in the control area and 7,870 specimens (68.62% males and 31.38% females) in the treatment area. In the intra-domestic and per-domestic context, in ATL control, 52.23% were recorded indoors and 47.77% outside the home. In the treatment area, 34.43% were captured outside the home and 65.57% inside the home. The highest number of sandflies in the intra-domicile was likely due to the presence of a domestic dog that slept near the trap, where we observed the highest concentration of these dipterans. The capacity to adjust to the anthropic environment is a determining factor in the prevalence of sandflies, particularly in areas characterised by the presence of disused materials, abundant organic matter (e.g. chicken coops, pigsties), and domestic dog populations. These environmental factors create a conducive setting for the proliferation of sandflies, which in turn serve as vectors for the transmission of pathogens to humans. After statistical analysis, the collars impregnated with 4% deltamethrin on domestic dogs showed a reduction in the incidence of sand flies, proving to be a useful tool in controlling this zoonosis by interrupting the links in its transmission chain.

Keywords: *Lutzomyia longipalpis*, Phlebotomine, Visceral leishmaniasis, Brazil

11.1.2 Introdução

Os flebotomíneos pertencem à classe Insecta, ordem Diptera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae (BRAZIL; BRAZIL, 2018; GALATI, 2003). Mais de 1.060 espécies já foram descritas em todo o mundo. Nas Américas são 550 e no Brasil já foram relatadas 216 espécies (GALATI; RODRIGUES, 2023; SHIMABUKURO; ANDRADE; GALATI, 2017).

Estes insetos apresentam importância médica por serem vetores de agentes de *Leishmania*. No Brasil, as fêmeas de *Lutzomyia longipalpis*, principal espécie vetora do agente da leishmaniose visceral (LV), transmitem o patógeno ao realizar o repasto sanguíneo em hospedeiros vertebrados. Esta espécie está presente em todas as regiões do Brasil e está completamente adaptada ao peridomicílio urbano

(ANDRADE-FILHO et al., 2017; GALATI et al., 2018; LAINSON; RANGEL, 2005). A leishmaniose visceral (LV) é causada pelo protozoário *Leishmania infantum*, tendo como principal reservatório urbano o cão doméstico (DOS SANTOS et al., 1998; LAINSON; RANGEL, 2005).

De 2018 a 2022, foram notificados nas Américas, uma média anual de 2.850 casos de LV, sendo 93% no Brasil (OPAS/OMS, 2022). Segundo o Ministério da Saúde, o município de Campo Grande, capital do estado de Mato Grosso do Sul (MS), região Centro-Oeste do Brasil, é considerada área de transmissão intensa para LV, com um índice composto de 3,24. Entre 2017 e 2022, foram notificados 370 casos da doença com 22 óbitos na capital do MS (BRASIL, 2023).

A proximidade do cão doméstico com o homem, aliada à total adaptação de *Lu. longipalpis* ao ambiente urbano, reforçam a necessidade de estratégias de controle eficazes. Diante desse cenário, o Ministério da Saúde, por meio do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVC-LV), implementou diversas medidas para reduzir o número de casos. Entre elas, destaca-se o uso de coleiras impregnadas com deltametrina a 4% em cães, que, quando associadas a outras estratégias recomendadas pelo programa, demonstraram redução no número de casos humanos e caninos da doença em áreas endêmicas para LV (COURA-VITAL, et al., 2018; REITHINGER et al., 2004; WERNECK et al., 2017).

Diante da gravidade da doença, do número de casos e óbitos registrados em Campo Grande (MS) e da escassez de estudos que avaliem o implicação dessa intervenção na população de *Lu. longipalpis* em áreas endêmicas, o objetivo deste estudo é caracterizar a composição faunística de flebotomíneos e avaliar a densidade populacional de *Lu. longipalpis*, pré e pós uso de coleiras impregnadas com deltametrina 4% e, em duas áreas distintas, bem como detectar a presença de DNA de *Leishmania* spp. em fêmeas de *Lu. longipalpis* coletadas no município de Campo Grande, estado de Mato Grosso do Sul, Brasil.

11.1.3 Material e Métodos

Áreas de Estudo

Município de Campo Grande, estado de Mato Grosso do Sul, Brasil

Campo Grande, capital do estado de Mato Grosso do Sul (MS), está inserida no bioma Cerrado, na região Centro-Oeste do Brasil (20°26'34" S e 54°38'47" W) (**Figura 1**) apresenta altitude entre 500 e 675m e extensão territorial de 8.082,978 km². A população do município é estimada em 916.001 habitantes com densidade demográfica de 97,22 hab/km² (IBGE, 2022; PMCG/PLANURB, 2021).

O clima é entre o mesotérmico úmido, com temperatura média de 24°C (mínima de 15°C e máxima de 30°C) sem estiagem, e o tropical úmido com verão chuvoso (outubro e abril) e inverno seco, com período de estiagem (junho, julho e agosto). A pluviosidade média anual fica entre 1.200 e 1.750 mm (DA MOTTA et al., 2013; PMCG/PLANURB, 2021).

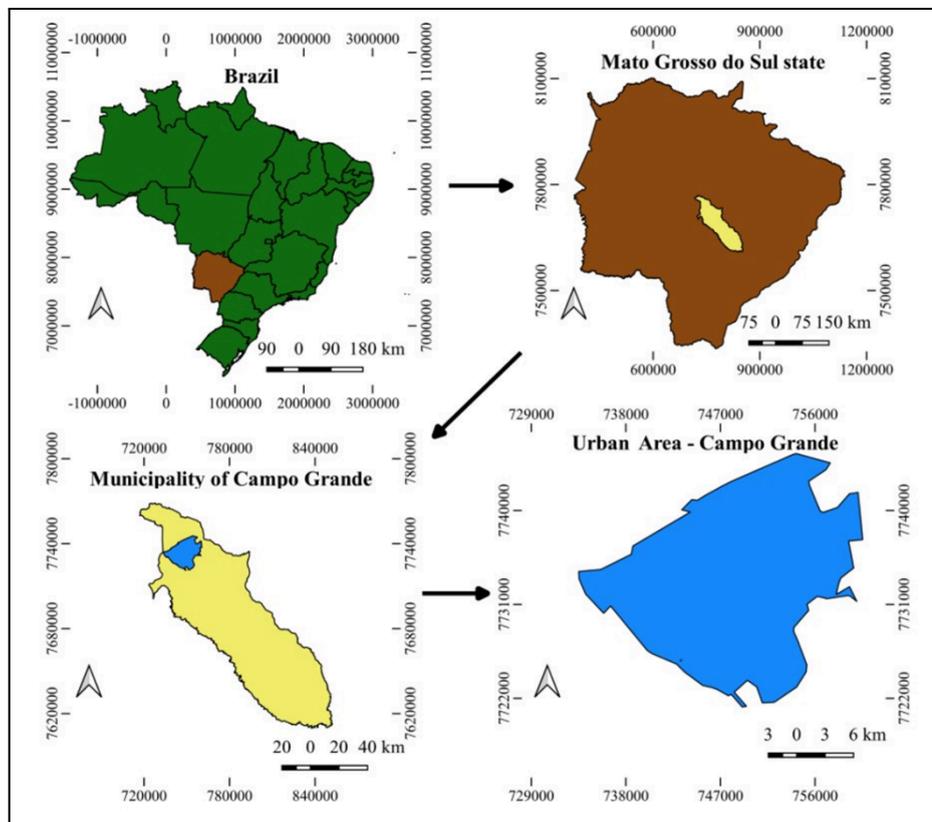


Figura 1 - Localização geográfica do estado de Mato Grosso do Sul, município de Campo Grande e área urbana, Brasil, 2024. Fonte: (Fonte: cedido por Samuel de Oliveira).

Os critérios observados para a seleção das duas ATLS (Área de trabalho local) foram os indicadores de vulnerabilidade social e ambiental (renda, alfabetização, coleta de lixo, abastecimento de água e esgotamento sanitário) e indicadores de risco de transmissão de LV (registro de casos humanos e prevalência

de infecção canina por *Le. infantum*) de acordo com o Ministério da Saúde, OPAS, estados e municípios.

Foram selecionados 20 pontos de captura, distribuídos entre dois bairros adjacentes: dez pontos no bairro Alves Pereira (pontos de 1 ao 10 - Vermelho) ATL controle e dez pontos no bairro Pioneiros (pontos 11 a 20 - Amarelo), ATL tratamento conforme demonstrado na Figura 2.



Figura 2 - Pontos de captura no Bairro Alves Pereira - ATL controle (1 ao 10 - Vermelho) e Bairro Pioneiros - ATL tratamento (11 ao 20 - Amarelo). Campo Grande (MS) de 2021 a 2023. Fonte: [Google Earth](#), 2024.

Os pontos de captura 1 a 10, localizados no bairro Alves Pereira foram definidos como ATL controle, em que os cães não foram encoleirados durante todo o período do estudo. Nas dez residências do bairro Pioneiros, correspondentes à ATL tratamento, os cães receberam coleiras impregnadas com deltametrina 4%, com o encoleiramento iniciado em agosto de 2022.

O bairro Pioneiros apresenta 16.417 habitantes e densidade demográfica de 62,41 hab/Km². Possui também infraestrutura como rede de água, coleta de lixo, com pavimentação asfáltica. Com uma população de 16.475 habitantes e uma densidade demográfica de 13,29 hab/km², o bairro Alves Pereira é predominantemente residencial e apresenta infraestrutura urbana, incluindo

cobertura asfáltica em várias áreas, coleta de lixo regular e acesso à rede de água encanada (SEBRAE, 2020).

Coleta e identificação de flebotomíneos

As coletas ocorreram entre julho de 2021 e agosto de 2023, utilizando armadilhas luminosas automáticas do tipo (CDC), que foram instaladas durante três noites consecutivas por mês, no intra e peridomicílio, no período das 16:00h às 7:00h [10 pontos x (2 armadilhas - intra e peri) x 3 noites x 26 meses x 16 horas] totalizando 24.960 horas de esforço amostral por ATL.

Inicialmente, foi realizada a triagem rápida de *Lutzomyia longipalpis* utilizando microscópio estereoscópico, com base em características morfológicas facilmente reconhecíveis: nos machos, tamanho do último palpômero, formato da cabeça, manchas claras nos tergitos e morfologia da genitália; nas fêmeas, presença de manchas escuras no catepisterno e no catepímero (GALATI, 2023). As demais espécies, ou aqueles espécimes em que não foi possível a identificação imediata, foram eutanasiados com éter, acondicionados em tubos de 1,5 mL devidamente identificados com os dados da coleta (bairro, ambiente, ponto e data), clarificados, montados em lâminas e identificados segundo FORATTINI (1973) e GALATI (2023) e utilizando-se as abreviações dos gêneros conforme Marcondes (2007).

Análises moleculares

As fêmeas não ingurgitadas de *Lu. longipalpis* foram agrupadas em *pools* de até 20 espécimes. Todas as amostras foram acondicionadas considerando o ponto e a data de coleta. A extração de DNA foi realizada utilizando o protocolo modificado de BRUFORD et al (1998). Após a retirada do etanol 100%, onde as fêmeas estavam acondicionadas, adicionou-se 200 µL de Digsol Buffer e 20 µL de proteinase K (10mg/mL), as amostras foram homogeneizadas com auxílio de vortex e posteriormente foi acrescentado 400 µL de acetato de amônia (4M) e colocadas por 5 minutos em banho de gelo. A amostra foi então homogeneizada e centrifugada por 15 minutos a 14.000 RPM. O sobrenadante foi transferido para outro tubo e sobre ele foi adicionado 900 µL de etanol 100% gelado. O tubo foi homogeneizado e, novamente, centrifugado por 15 minutos a 14.000 RPM. O etanol absoluto foi

descartado e ao *pellet* foi adicionado 900 µL de etanol 70%. A amostra foi centrifugada por 15 minutos a 14.000 RPM, descartando-se o etanol 70%. Após a amostra estar completamente seca, acrescentou-se 40 µL de Tris-EDTA e incubou-se a amostra por 30 minutos. O DNA então extraído foi acondicionado em freezer -20°C.

A presença de DNA de flebotomíneo foi confirmada pela amplificação por PCR da região IVS6 (gene constitutivo) como controle endógeno. O seguinte par de *primers* específicos para região IVS6 foi utilizado: 5Llcac 5' GTG GCC GAA CAT AAT GTT AG 3' e 3Llcac 5' CCA CGA ACA AGT TCA ACA TC 3' (LINS et al., 2002).

Para a detecção da presença de DNA de *Leishmania* spp., foi realizada uma amplificação tendo como alvo a região ITS e os seguintes oligonucleotídeos LITSR (5' CTG GAT CAT TTT CCG ATG 3') e L5.8S (5' TGA TAC CAC TTA TCG CAC TT 3'). As reações de PCR foram realizadas em volume final de 25 µL, contendo 5 µL de gDNA, 10µL de mastermix (QuatroG), 8 µL, de água ultrapura e 1 mL de cada primer (EL-TAI et al., 2000). A água ultrapura foi utilizada como controle negativo e o DNA (este obtido de uma cultura in vitro de *Leishmania infantum*) foi usado como controle positivo. Os parâmetros de ciclagem foram: 95°C por 3 minutos, seguidos de 35 ciclos de 95°C por 30 s, 53°C por 30 s e 72°C por 1 min, com pós-extensão a 72°C por 5 min.

Os *amplicons* foram visualizados por eletroforese com gel de agarose a 1,5% em 100 mL de tampão Tris-borato-ácido etilenodiamino tetraacético (TBE) corado com GelRed™ (Biotium, EUA). A corrida eletroforética foi realizada em tampão TBE 1x. A visualização das bandas foi realizada utilizando luz ultravioleta com filtro de 300 nm.

Análise estatística

A análise estatística segue o esquema de mudanças progressivas BACIPS (Before-After Control-Impact Paired Series) (WAUCHOPE et al., 2021), conforme segue abaixo. O esquema BACIPS aplica modelos lineares para detectar e testar estatisticamente mudanças imediatas na média e/ou mudanças prolongadas nas tendências temporais após uma intervenção. Implementamos um Modelo Misto Generalizado Bayesiano com autocorrelação temporal para verificar o impacto do uso das coleira impregnadas com deltametrina a 4% em cães na abundância de *Lu*

longipalpis, em duas áreas de trabalho (ATL controle e ATL tratamento) em Campo Grande (MS). As áreas controladas (ATL controle), foram delimitadas espacialmente contíguas à área de intervenção (ATL tratamento) e amostradas antes e depois do tempo de intervenção realizado exclusivamente na ATL tratamento. Testamos o efeito do antes e depois da intervenção (BA - *before/after*) e do controle e impacto (CI - *Control-Impact*) com o passar do tempo (*Time*), levando em consideração as amostras obtidas no intra e peridomicílio (LOCAL). Incluímos um termo autorregressivo markoviano de primeira ordem, agrupado por identidade do domicílio, para considerar a autocorrelação temporal esperada em uma série temporal. Como a contagem de flebotomíneos é, naturalmente, uma variável discreta quantitativa e observamos inflação de zeros, com a média acompanhando a variância, utilizamos uma distribuição binomial negativa zero-inflada. A variável TEMPO foi centrada em zero (primeira amostra após a intervenção), BA e CI foram codificados como uma variável booleana antes-depois ou impacto de controle como 0-1, respectivamente. LOCAL foi um fator com duas classes: intra e peridomicílio.

Fórmula:

$$Value \sim Time + BA + CI + (BA \times CI) + (BA \times Time) + (CI \times Time) + (BA \times CI \times Time) + ID$$

Value - número de flebotomíneos capturados

Time - tempo de estudo

BA - efeito antes e depois da intervenção

CI - controle e impacto com o passar do tempo

ID - efeito aleatório, variável que identifica unidades distintas

O modelo foi implementado utilizando o pacote brms no R, e utilizamos 4 cadeias com 4000 interações, descartando as primeiras 2000 (burn-in). Verificamos o ajuste do modelo analisando a mistura das cadeias, a homocedasticidade e a homogeneidade dos resíduos, além da autocorrelação temporal dos resíduos (minimiza a influência de fatores externos, como presença de animais, lixo e umidade).

Para diferenciar o nível de adaptação das principais espécies coletadas neste trabalho, foi calculado o índice de constância (IC) com o objetivo de avaliar a frequência de ocorrência da espécie estudada por ponto de coleta. É uma forma de aferir a capacidade de adaptação das espécies às diferentes condições ambientais.

O cálculo foi realizado utilizando a fórmula proposta por Dajoz (1983), considerando a proporção de coletas em que cada espécie foi registrada em relação ao total de coletas realizadas. As espécies foram classificadas como constantes ($IC > 50\%$), acessórias ($25\% < IC \leq 50\%$) ou acidentais ($IC \leq 25\%$), conforme a mesma referência citada.

Fórmula:

$$IC = (n \times 100) / N$$

n = número de coletas positivas da espécie diagnosticada (total de amostras mensais).

N = número total de coletas realizadas nesta pesquisa.

Dados climáticos e ambientais

Os dados climáticos referentes ao período de estudo foram extraídos do banco de dados do Centro de Monitoramento de Tempo, do Clima e dos Recursos Hídricos de Mato Grosso do Sul (CEMTEC) que é vinculado ao Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

Aspectos éticos

O grupo de estudo possui Licença Permanente para Coleta de Material Zoológico, emitida pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis em nome de Alessandra Gutierrez de Oliveira (IBAMA: SISBio 25592-2). Os estudos de campo foram realizados em propriedades privadas, cujos proprietários autorizaram a realização do estudo nas respectivas áreas intra e peridomiciliares. Além disso, a pesquisa não envolveu nenhuma espécie ameaçada ou protegida.

11.1.4 Resultados

Foram realizadas 3.120 capturas, o que resultou em um total de 8.984 flebotomíneos coletados nos dois bairros de Campo Grande, distribuídos em seis espécies e seis indivíduos da série *Cortelezzii* (**Tabela 1**).

No bairro Alves Pereira (ATL controle) foram capturados 1.082 espécimes, pertencentes às espécies: *Brumptomyia brumpti* (Larrouse, 1920), *Evandromyia*

corumbaensis (Galati *et al.*, 1989), *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) e *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939).

No Bairro Pioneiros (ATL tratamento) as espécies foram *Brumptomyia brumpti* (LARROUSSE, 1920), *Br. avellari* (Costa Lima & Antunes, 1932), *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912), *Psathyromyia hermanlenti* (Martins, Silva & Falcão, 1970) e alguns exemplares pertencentes a série *Cortelezzii*, totalizando 7.902 flebotomíneos (Tabela 1).

Tabela 1 – Espécies de flebotomíneos coletados com armadilha luminosa CDC, por sexo e ecótopos, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, julho/2021 a agosto/2023.

Espécies	ATL controle				Subtotal	ATL tratamento				Subtotal	Total	%
	Intra		Peri			Intra		Peri				
	M	F	M	F		M	F	M	F			
<i>Br. avellari</i>	-	-	-	-	-	3	-	3	-	6	6	0,06
<i>Br. brumpti</i>	1	-	-	-	1	-	-	1	-	1	2	0,02
<i>Ev. corumbaensis</i>	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	1	0,01
Série <i>Cortelezzii</i>	-	-	-	-	-	-	4	1	2	7	7	0,07
<i>Pa. hermanlenti</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	0,01
<i>Lu. longipalpis</i>	421	142	362	153	1.078	3.305	1.851	2.096	618	7.870	8.948	99,59
<i>Ny. whitmani</i>	-	-	1	1	2	-	11	4	2	17	19	0,24
Total	422	142	363	155	1.082	3.308	1.866	2.105	623	7.902	8.984	100

Br.: *Brumptomyia*; *Ev.*: *Evandromyia*; *Lu.*: *Lutzomyia*; *Ny.*: *Nyssomyia*; *Pa.*: *Psathyromyia*
M - Macho; F - Fêmea

A espécie mais abundante e presente em todos os pontos de ambos os bairros foi *Lu. longipalpis*, totalizando 99,59% dos flebotomíneos capturados. Na ATL controle e tratamento, a maior quantidade de insetos foi capturada no intradomicílio, e houve predomínio de machos, com 72,55% na ATL controle e 68,50% na ATL tratamento (Tabela 1).

Na Tabela 2, estão plotados *Lu. longipalpis* nas ATL controle (pontos 1 ao 10) e ATL tratamento (pontos 11 ao 20). Os dados incluem número de fêmeas (F) e machos (M) capturados; o total de flebotomíneos por ponto de captura; a porcentagem (%) que cada ponto representa em relação ao total geral de

flebotomíneos capturados; o número de capturas positivas para *Lu. longipalpis* e o índice de constância (%). De acordo com a classificação de Dajoz (1983), as espécies foram categorizadas com base nos valores do índice de constância (IC). Espécies com IC superior a 50% são classificadas como constantes; aquelas com IC entre 25% e 50% são consideradas acessórias; e as que apresentam IC igual ou inferior a 25% são classificadas como acidentais.

A maior quantidade de *Lu. longipalpis* registrada na ATL controle, foi no ponto 9, com 412 espécimes, enquanto o ponto 10 apresentou a menor captura, com apenas 12 insetos. O índice de constância nesta ATL variou entre 23,07% e 92,30% (Tabela 2).

Na ATL Tratamento, a maior quantidade da espécie ocorreu no ponto 19, com 4.797 indivíduos. Outros pontos em destaque foram o ponto 13 (1.063 espécimes) e o ponto 14 (397 espécimes). O índice de constância no ponto 19 foi o mais alto (100%), refletindo a alta recorrência de capturas positivas (Tabela 2).

Tabela 2. Frequência absoluta e relativa e índice de constância de *Lutzomyia longipalpis* capturados nas ATLs controle e tratamento, distribuídos por ponto de coleta, macho e fêmea, no município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, julho/2021 a agosto/2023.

ATLs	Pontos	F	M	Total	%	Capturas positivas	Índice de constância (%)
Controle	1	36	111	147	1,65	16	61,53
Controle	2	13	14	27	0,3	13	50
Controle	3	14	12	26	0,29	10	38,46
Controle	4	5	36	41	0,46	13	50
Controle	5	57	150	207	2,31	23	88,46
Controle	6	35	97	132	1,48	20	76,92
Controle	7	27	30	57	0,63	14	53,84
Controle	8	10	7	17	0,18	7	26,92
Controle	9	92	320	412	4,6	24	92,30
Controle	10	6	6	12	0,13	6	23,07
Tratamento	11	69	119	188	2,1	24	92,3
Tratamento	12	63	109	172	1,95	24	92,3
Tratamento	13	140	923	1063	11,9	25	96,15
Tratamento	14	82	315	397	4,43	25	96,15
Tratamento	15	11	49	60	0,67	9	34,61
Tratamento	16	26	72	98	1,09	22	84,61
Tratamento	17	204	514	718	8,02	25	96,15
Tratamento	18	35	99	134	1,5	20	76,92

ATLs	Pontos	F	M	Total	%	Capturas positivas	Índice de constância (%)
Controle	1	36	111	147	1,65	16	61,53
Controle	2	13	14	27	0,3	13	50
Controle	3	14	12	26	0,29	10	38,46
Tratamento	19	1778	3019	4797	53,6	26	100
Tratamento	20	61	182	243	2,71	19	73,07
Total		2764	6184	8948	100	365	

Em todos os pontos de coleta, foram notificadas características ambientais, número de animais domésticos e presença ou ausência de iluminação noturna nos quintais de cada ponto de coleta, com o propósito de identificar possíveis associações desses índices na frequência de *Lu. longipalpis* (Tabela 3).

Tabela 3. Coordenadas e descrição dos pontos de coleta, frequência absoluta de *Lutzomyia longipalpis* pré e pós encoleiramento, distribuídos por pontos da ATL controle e tratamento, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, julho/2021 a agosto/2023.

ATLs	Pontos	Coordenadas Geográficas	Total	Pré encoleiramento	Pós encoleiramento	Cães	Galinhas	Gatos	outros animais	Árvores frutíferas sim/não	Mata no entorno sim/não	Iluminação no quintal sim/não
Controle	1	20°32'15"S 54°37'03"W	147	82	65	3	6 a 10	2 a 5	-	sim	sim	sim
Controle	2	20°32'15"S 54°37'10"W	27	18	9	1	>20	-	-	sim	sim	sim
Controle	3	20°31'59"S 54°36'51"W	26	6	20	3	5	3	-	sim	não	sim
Controle	4	20°31'50"S 54°36'20"W	41	19	22	1	-	-	-	não	não	sim
Controle	5	20°31'35"S 54°36'09"W	207	123	84	5	-	-	-	sim	não	sim
Controle	6	20°31'22"S 54°36'11"W	132	76	56	1	-	-	-	sim	não	sim
Controle	7	20°31'36"S 54°36'26"W	57	19	38	5	-	-	-	sim	sim	sim
Controle	8	20°31'27"S 54°36'35"W	17	5	12	2	-	-	-	sim	não	sim
Controle	9	20°31'27"S 54°36'18"W	412	235	177	1	-	-	-	sim	não	sim
Controle	10	20°31'07"S 54°36'18"W	12	5	7	2	15 a 20	2 a 5	-	sim	sim	sim
Tratamento	11	20°30'38"S 54°36'24"W	188	119	69	3	-	1	-	sim	não	sim
Tratamento	12	20°30'57"S 54°36'53"W	172	90	82	2	-	-	-	não	não	sim
Tratamento	13	20°31'08"S 54°36'30"W	1063	535	528	3	6 a 15	-	-	sim	sim	não
Tratamento	14	20°30'22"S 54°36'23"W	397	161	236	3	-	2 a 5	-	sim	não	não
Tratamento	15	20°30'23"S 54°36'34"W	60	47	13	1	-	2 a 5	-	sim	sim	não
Tratamento	16	20°31'19"S 54°36'49"W	98	66	32	2	1 a 5	-	-	não	não	não
Tratamento	17	20°31'46"S 54°37'10"W	718	520	198	3	6 a 10	-	6	sim	sim	não
Tratamento	18	20°31'04"S 54°37'03"W	134	82	52	1	6 a 10	1	-	sim	não	não
Tratamento	19	20°31'04"S 54°37'14"W	4797	3732	1.065	3	6 a 10	1	-	sim	não	não
Tratamento	20	20°31'37"S 54°37'21"W	243	169	74	2	1 a 5	-	-	sim	não	não
Total			8.948	6.109	2.839							

Em relação à distribuição de *Lu. longipalpis* foi calculada a média total considerando os dados registrados nos 26 meses de pesquisa, nas três noites de coleta e nos 10 pontos de captura nas duas ATLS. Na ATL controle, os maiores índices foram registrados entre novembro a março com um pico em julho. Na ATL tratamento, os maiores picos foram observados também entre novembro a março e um pico pouco acentuado em agosto (Figuras 4 e 5).

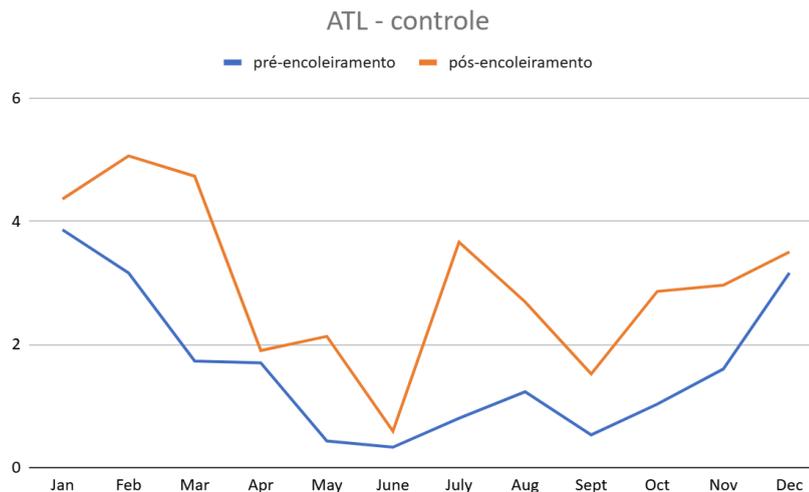


Figura 4. Média de *Lutzomyia longipalpis*, nas três noites de coleta e nos 10 pontos distribuídos nos meses do ano, na ATL controle, antes do encoleiramento e pós encoleiramento, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

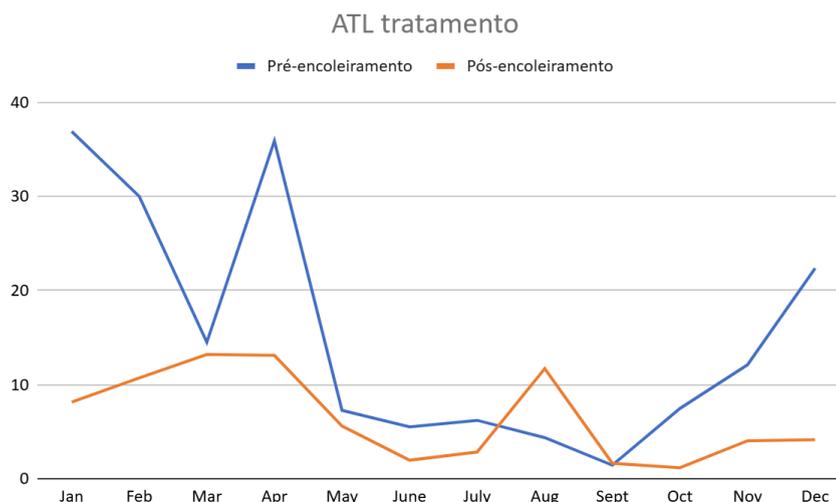
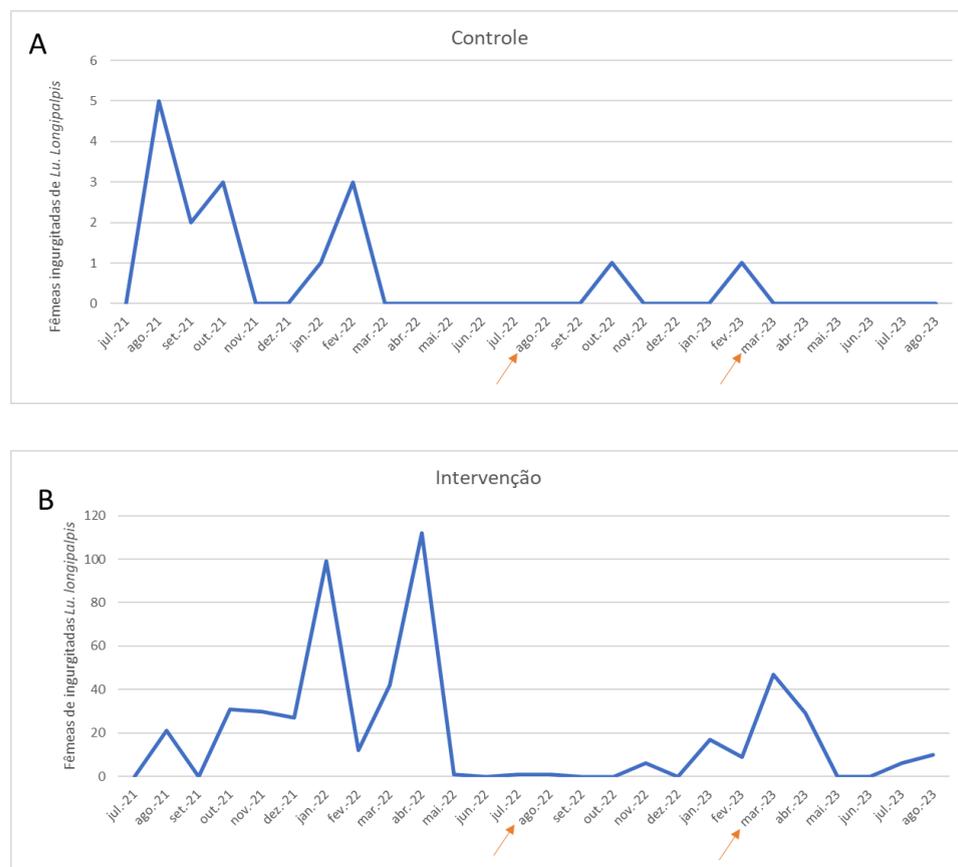


Figura 5. Média de *Lutzomyia longipalpis*, nas três noites de coleta e nos 10 pontos, distribuídos nos meses do ano, na ATL tratamento, antes do encoleiramento e pós encoleiramento, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Analisando o número de fêmeas ingurgitadas, observa-se que, nos meses anteriores ao primeiro encoleiramento, realizado em agosto de 2022, tanto na área de intervenção quanto na de controle, ocorrem picos, especialmente entre janeiro e março. O segundo encoleiramento foi realizado em março de 2023 e, apesar do pico sazonal esperado nesse período, o número de fêmeas ingurgitadas foi menor em comparação a março de 2022 em ambas as áreas (Figuras 6A e 6B).



Figuras 6A e 6B. Variação do número de fêmeas ingurgitadas de *Lutzomyia longipalpis* ao longo do tempo, comparando áreas controle (A) e de intervenção (B) entre julho de 2021 a 2023 em Campo Grande (MS), Brasil.

Em Campo Grande (MS) nos meses que antecedem a intervenção com o uso de coleiras em cães na área de tratamento, *Lu. longipalpis* apresentou um padrão gregário ao longo do tempo, com dois picos muito expressivos em janeiro e abril (Figura 7).

Após o encoleiramento, houve uma redução imediata e significativa no número de *Lu. longipalpis* na área tratada. Nos meses seguintes, os valores

permaneceram mais estáveis, porém com uma tendência gradual de aumento. Isso indica que a intervenção teve um efeito imediato e sustentado por algum tempo, mas reforça a necessidade de monitoramento contínuo devido à leve recuperação da população ao longo do tempo (Figura 7).

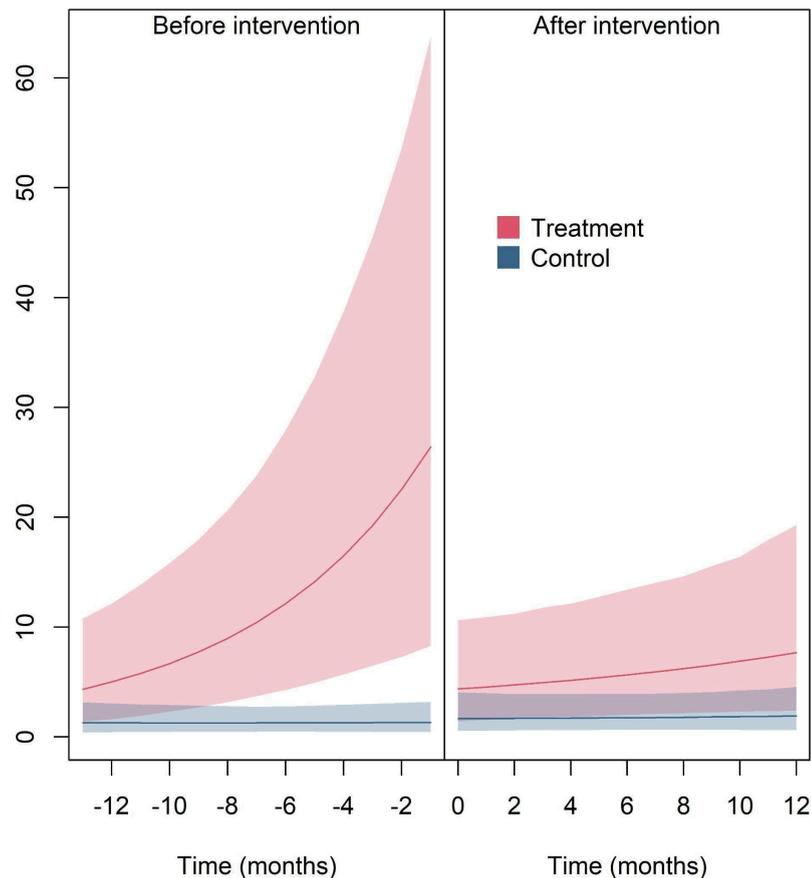


Figura 7. *Lutzomyia longipalpis*, nas áreas controle (em azul) e tratamento (vermelho), nos períodos pré e pós encoleiramento. Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Para detecção de DNA de *Leishmania*, 1.995 fêmeas de *Lu. longipalpis* foram analisadas em 267 *pools* e 222 indivíduos. Foram positivas 13 amostras, sendo uma procedente da ATL controle e 12 da ATL tratamento (Tabela 4).

Tabela 4. Número de fêmeas testadas, positivas e taxa de infecção estimada segundo ATL.

ATL		Fêmeas testadas (n)	Positivos (n)	% Taxa de infecção estimada	
Campo Grande	Controle	total	241	1	0.4
		individual	71	1	1.4
		<i>pool</i>	170	0	0
	Tratamento	total	1,754	12	0.7
		individual	151	11	7.3
		<i>pool</i>	1,603	1	0.1

Em Campo Grande (MS), das 151 fêmeas analisadas na ATL tratamento, onze amostras individuais testaram positivo por PCR. Três dessas amostras foram identificadas em agosto e outubro de 2021. As outras oito fêmeas positivas foram coletadas nos meses seguintes ao encoleiramento, entre novembro de 2022 e agosto de 2023, e estavam distribuídas nos pontos 1, 4, 6 (duas amostras), 7, 8, 9 e 10.

11.1.5 Discussão

Lutzomyia longipalpis foi a espécie mais prevalente em Campo Grande com um percentual de 99,59%. Segundo o Ministério da Saúde, a capital do MS apresenta taxas de transmissão intensa. O cálculo da taxa de infecção em humanos é realizado por meio do Índice Composto (IC), que corresponde à razão entre a média de casos em um período de dois ou três anos. Os valores do índice composto para a taxa de infecção intensa varia de 3,66 a 8,09 por 100.000 habitantes. Campo Grande apresenta um IC de 7,14 (BRASIL, 2023).

No Brasil, *Lutzomyia longipalpis* destaca-se como o principal vetor de *Leishmania infantum*, agente etiológico da leishmaniose visceral (LAINSON; RANGEL, 2005). Em Mato Grosso do Sul, essa espécie encontra-se amplamente distribuída, tendo sido registrada em 43 dos 79 municípios (BARRIOS *et al.*, 2020).

O primeiro estudo de fauna em Campo Grande foi conduzido entre 1999 e 2000, quando foram identificadas 28 espécies com destaque para *Evandromyia termitophila*, espécie mais abundante no período (OLIVEIRA *et al.*, 2003). Entre 2003 a 2005, uma nova pesquisa relatou a presença de 20 espécies, com 92% de *Lu. longipalpis* coletados na área urbana do município (OLIVEIRA *et al.*, 2006). Entre 2017 e 2019, observou-se uma redução expressiva na diversidade de espécies na área urbana, sendo relatada apenas a presença de quatro espécies, e novamente, com predomínio de *Lu. longipalpis* (FERNANDES *et al.*, 2021). Outro estudo realizado na área urbana e rural de Campo Grande, na ocasião foram registradas seis espécies, com predomínio de *Pintomyia christenseni* e *Evandromyia lenti* na área rural e *Lu. longipalpis* na área urbana. Este resultado demonstra a capacidade de adaptação dessa espécie em ambientes mais antropizados (BORGES, 2020), comportamento que pode estar relacionado ao crescimento acelerado de Campo Grande. A capital de Mato Grosso do Sul tem atraído imigrantes de diversas regiões do estado e do país em busca de novas oportunidades, resultando em um aumento populacional expressivo de aproximadamente 25,6% nos últimos vinte anos, segundo o IBGE. Esse crescimento, aliado à disponibilidade de áreas potencialmente urbanizáveis e à intensa dinâmica imobiliária, tem provocado rápidas e significativas transformações na paisagem urbana (CPMCG/PLANURB, 2021),

criando condições favoráveis para a adaptação e dispersão de espécies sinantrópicas.

Essa antropização exerce uma influência negativa na diversidade de espécies, favorecendo a colonização apenas por aquelas que são capazes de se adaptar às mudanças ambientais (FERNANDES *et al.*, 2021; MARINHO *et al.*, 2008). Nesse contexto, *Lu. longipalpis* obteve uma vantagem competitiva em relação às demais espécies, dado seu ajuste eficaz a ambientes urbanos, como previamente observado em outros trabalhos realizados (FERNANDES *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.* 2003; 2006; 2012 a,b).

Embora com poucos espécimes coletados, *Nyssomyia whitmani*, outra espécie de relevância médica, foi identificada neste estudo. Esta espécie, atua como vetor de *Leishmania braziliensis*, *Leishmania guyanensis* e *Leishmania shawi*, agentes de leishmaniose cutânea. No Mato Grosso do Sul, essa espécie já foi identificada em 43 dos 79 municípios de Campo Grande - MS (Barrios *et al.*, 2020)

A disponibilidade de alimento, locais de abrigo e repouso para esses dípteros estão diretamente relacionados com a abundância de insetos coletados. Na ATL controle os pontos nove e cinco, foram os que apresentaram maior constância e positividade, ou seja, maior frequência de flebotomíneos nas coletas e maior número de representantes da espécie (Tabela 2). O ponto 9 apresentou características distintas das usualmente observadas em locais com grande densidade de espécimes (RANGEL; LAINSON, 2003) e contava com a presença de apenas um cão. Porém o ambiente no entorno da residência era favorável ao desenvolvimento desses insetos. Outro fator a ser considerado é a capacidade de voo desses dípteros, em média de 178 a 200 m de distância, não ultrapassando 250 m na sua maioria (FREITAS *et al.*, 2009; GUERRA SILVA *et al.*, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2013). Segundo estudos realizados, os flebotomíneos buscam por fontes alimentares e abrigos próximos aos seus criadouros (CASANOVA; NATAL, 2005; MORRISON *et al.*, 1993; OLIVEIRA *et al.*, 2013), esta hipótese pode justificar a presença desses dípteros capturados neste ambiente.

O ambiente intradomiciliar neste ponto (9) era uma área fechada com alguns materiais em desuso, com iluminação noturna, pouca movimentação de ar e, provavelmente com umidade constante, em decorrência de ser utilizado como espaço de lavanderia da residência. A presença do cão, que usava este local para pernoitar, pode ter favorecido o maior número de espécimes coletados no

intradomicílio. A proximidade do intradomicílio com os possíveis criadouros dos flebotomíneos constitui um fator de risco para os moradores em relação à infecção por *Leishmania* sp., principalmente porque Campo Grande é área de transmissão intensa para leishmaniose visceral (MATO GROSSO DO SUL, 2024).

O ponto cinco, ATL tratamento, registrou a segunda maior constância e positividade de *Lu. longipalpis*. No local, foram identificadas características típicas de áreas com alta densidade desse inseto, incluindo a disponibilidade de fontes de alimento, criadouros adequados e abrigos. Isso se traduz na presença de animais domésticos (cinco cães) e iluminação noturna, além de árvores frutíferas, baixa incidência de luz solar, solo não pavimentado, presença de matéria orgânica e materiais em desuso no quintal.

Um destaque para o ponto 10, ATL controle, que apesar de possuir características típicas que favorecem a presença de flebotomíneos, apresentou o menor número desses dípteros registrados nas duas ATLs. Neste ponto foi observada uma vasta área com solo sem pavimentação, porém limpo, com pouca matéria orgânica. O terreno aparentemente de solo compactado, em grande parte exposto à incidência de luz solar e à movimentação de ar, pelo fato de ser aberto e estar situado próximo a uma mata ciliar. As características pontuais deste local, podem ser desfavoráveis a biologia dos flebotomíneos que apresentam porte pequeno e delicado e um tegumento sensível a dissecação, logo sugere-se que esses dípteros prefiram estar dentro da mata ciliar, onde encontram umidade, temperatura e fonte alimentar (BRAZIL; BRAZIL, 2018; COSTA et al., 2018). As características deste ponto não são atrativas para a oviposição das fêmeas e desenvolvimento das larvas (OLIVEIRA et al., 2012). Killick--Kendrick (1999) acredita que esses dípteros não realizam a oviposição de forma aleatória e sim em locais que favoreçam o desenvolvimento das larvas, locais mais úmidos, com pouca movimentação de ar e baixa incidência de luz (KILLICK-KENDRICK, 1977).

Na ATL tratamento, o ponto 19 destacou-se por apresentar a maior constância e positividade. Nesse ecótono, foram registradas características típicas favoráveis à presença desses insetos (Tabela 3). De forma semelhante ao ponto 9 (ATL controle), a maior quantidade de insetos foi capturada no intradomicílio, uma área pequena, parcialmente fechada, com acúmulo de materiais em desuso e onde os cães permaneciam durante a noite.

Com o segundo maior número de *Lu. longipalpis* registrado na ATL tratamento, o ponto 13 também apresentou características usuais de locais onde são encontrados esses insetos. Foi destaque neste ponto o peridomicílio, por apresentar grande quantidade de aves, suínos, que se encontravam confinados em uma grande área cercada, com presença de árvores frutíferas que proporcionam sombreamento, umidade, muita matéria orgânica e uma mata no entorno.

O maior número de machos coletados, tanto no intradomicílio quanto no peridomicílio (OLIVEIRA et al., 2000; DA SILVA et al., 2015; PENHA et al., 2013), pode estar associado ao fenômeno conhecido como *Lekking*, o qual é observado em espécies que produzem o feromônio 9-metil-germacrene-B, encontrado em outras espécies de flebotomíneos, inclusive em *Lu. longipalpis* (ARRIVALGA; FELICIANGELI, 2001; BRAZIL; HAMILTON, 2002; SERRANO et al., 2016). Durante esse evento, os machos de flebotomíneos, atraídos pelos caíromônios liberados pelos hospedeiros vertebrados, liberam feromônios sexuais que atraem tanto as fêmeas para a cópula quanto mais machos, resultando em uma predominância de machos tanto no intra quanto no peridomicílio (JONES; HAMILTON, 1998; KELLY; DYE, 1997). Outra possível explicação seria que fêmeas após se alimentarem, procuram abrigos escuros e úmidos para digerir o sangue e consequente maturação dos folículos ovarianos (ANDRADE-FILHO, et al., 2008).

Fatores climáticos como pluviosidade, umidade e temperatura podem influenciar a ocorrência de flebotomíneos. Estudos relataram aumento na proporção de *Lu. longipalpis* nos meses mais chuvosos, indicando que a umidade é favorável à abundância desses dípteros (SALOMON et al., 2002; BARATA et al., 2004; XIMENES et al., 2006). Porém altos níveis de precipitação, comprometem o crescimento da população desses insetos.

As médias mensais de *Lu. longipalpis* ao longo dos dois anos, pré e pós encolerimento nas ATLs (Figuras 4 e 5) demonstram que na ATL controle, o padrão se repete em praticamente todos os meses.

Nos meses mais chuvosos (outubro a março), observa-se um aumento na população de flebotomíneos, enquanto nos meses mais secos (abril a setembro), essa população tende a diminuir, indicando uma forte associação com períodos mais úmidos. Apesar de julho e agosto serem meses tipicamente secos, ocorreu um acréscimo no número de *Lu. longipalpis*, conforme evidenciado na Figura 4. Já em

setembro, observa-se o término do período crítico de seca, seguido pela elevação da umidade em outubro. O aumento da população dessa espécie em Campo Grande (MS), provavelmente está relacionado ao incremento na precipitação registrado em agosto de 2023 (INMET, 2023). Observando a figura 5, em abril de 2023, Campo Grande (MS) registrou 141,4 mm de chuva na estação automática do Instituto Nacional de Meteorologia (Inmet), um valor 58% acima da Normal Climatológica de 1981-2010 (89,4 mm), o que pode ter contribuído para o pico de flebotomíneos. Esses fatores criam condições favoráveis para a presença e proliferação dessa espécie (MARINHO *et al.*, 2008; REBÊLO, 2001).

As figuras 6A e 6B demonstram uma redução no número de fêmeas ingurgitadas quando comparados os períodos pré e pós encoleiramento. Considerando que *Lu. longipalpis* apresenta caráter antroportunista, e total adaptação ao ambiente peridoméstico onde o cão, principal reservatório urbano de *Le. infantum*, permanece, possibilita a circulação do parasito entre os hospedeiros (QUINNELL; COURTENAY, 2009; MARZOCHI *et al.*, 1985), sendo assim o uso das coleiras impregnadas com deltametrina a 4%, é uma importante ferramenta de controle das leishmanioses. A deltametrina tem ação repelente e inseticida, este piretróide sintético do tipo II, é produzido a partir de derivados sintéticos das piretrinas, ésteres tóxicos isolados das flores das espécies de *Chrysanthemum cinerariaefolium* e espécies relacionadas (PALMQUIST; SALATAS; FAIRBROTHER., 2012; NASUTI *et al.* 2003), distribuem-se pela pele e pêlos do cão, criando uma barreira química, impedindo a aproximação do inseto. Mesmo se for realizado o repasto sanguíneo, a ação neurotóxica da deltametrina promove a morte do flebotomíneo. Esta ação repelente e inseticida reduz o contato com o cão por até oito meses (DAVID *et al.*, 2001; FERROGLIO *et al.*, 2008; PAULIN *et al.*, 2018). Para avaliar o impacto do uso das coleiras na população de *Lu. longipalpis*, em Campo Grande (MS), o método utilizado foi o BACIPS (*Before-After Control-Impact Paired Series*). Este método combina a comparação entre períodos (antes e depois) e locais (controle e tratamento) e reduz os erros de análise decorrentes de diferenças entre as áreas, devido às mudanças ecológicas, intervenções humanas ou naturais, permitindo detectar o efeito real do encoleiramento na fauna flebotomínica. O método BACIPS já foi utilizado com sucesso em pesquisas sobre impacto ambiental e sanitário, com resultados estatisticamente sólidos (SMITH, 2002; UNDERWOOD, 1994; WAUCHOPE *et al.*, 2021).

Os resultados neste estudo indicam que, antes do encoleiramento, a população de *Lu. longipalpis* na área tratada apresentava uma tendência de crescimento. No entanto, após o encoleiramento, houve uma redução significativa na abundância desse vetor (Gráfico 6). Essa redução pode ser atribuída ao efeito inseticida das coleiras impregnadas, que criam uma barreira química ao redor dos cães e reduzem a sobrevivência e a reprodução dos flebotomíneos na ATL tratamento.

A estabilidade na área-controle reforça que a redução observada não foi causada por variações ambientais naturais, como mudanças sazonais ou climáticas. Isso fortalece o resultado de que o encoleiramento foi a causa direta da redução da população dos flebotomíneos.

Estudos anteriores em outras regiões endêmicas para LV no Brasil, já demonstraram a eficácia das coleiras inseticidas, no número de casos humanos e caninos da doença e na redução da frequência de *Lu. longipalpis*. E além disso essa estratégia tem se mostrado mais eficiente do que a eutanásia de cães no controle da doença (COURA-VITAL, et al., 2018; REITHINGER et al., 2004; SILVA et al., 2018; WERNECK et al., 2017, 2024).

A detecção de DNA de *Leishmania* spp. evidencia a circulação do parasito nas áreas estudadas, com maior prevalência na ATL tratamento (12 amostras positivas) em comparação à ATL controle (1 amostra positiva). Esses resultados sugerem que, embora o encoleiramento possa influenciar na redução da densidade de flebotomíneos ou na transmissão do parasito, a presença de insetos infectados na área tratada sugere a necessidade de associação do uso das coleiras a outras medidas de controle como o uso de inseticidas, a eliminação de criadouros e a conscientização da população sobre práticas de manejo ambiental, que em conjunto podem potencializar a eficácia do controle de flebotomíneos e a prevenção da transmissão do parasita.

11.1.6 Conclusões

Em Campo Grande (MS), a LV é um constante problema de saúde pública. Ao longo dos anos, houve redução na diversidade de espécies, sendo *Lu. longipalpis* a espécie melhor adaptada às mudanças ambientais ocasionadas pela urbanização. Neste estudo, foram observadas características particulares de cada ponto de coleta em Campo Grande - MS. Além disso, as análises demonstraram que o uso de coleiras impregnadas com deltametrina 4% foi eficaz na redução da frequência de *Lu. longipalpis*, mostrando ser uma ferramenta útil no controle dessa zoonose. A detecção de DNA de *leishmania* na área tratada sugere a associação do uso das coleiras com outras medidas de manejo, para potencializar a prevenção e controle das leishmanioses.

11.1.7 Referências

ANDRADE-FILHO, J. D.; OLIVEIRA, R. C. de; FONSECA, A. R. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) Coletados com Armadilha Malaise no Centro-Oeste de Minas Gerais. **Neotropical Entomology**, v. 37, p. 104-106, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2008000100018>

ANDRADE-FILHO, J. D.; SCHOLTE, R. G. C.; AMARAL, A. L. G.; SHIMABUKURO, P. H. F., CARVALHO; O. D. S., & CALDEIRA, R. L. . Occurrence and probability maps of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia cruzi* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v 54, n 5, p.1430-1434. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jme/tjx094>

ANTUNES, P. C. A.; COUTINHO, J. O. Notas sobre flebotomos sul-americanos. II. Descrição de *Flebotomus whitmani* n. sp. e da armadura bucal de algumas espécies. **Bol Biológico IV**, p. 448-451, 1939.

ARRIVALGA, J.; FELICIANGELI, M. D.; *Lutzomyia pseudolongipalpis*: the first new species within the longipalpis (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) complex from La Rinconada, Curarigua, Lara state, Venezuela. **J Med Entomol**, v. 38, n. 6, p. 783-790, nov. 2001. Doi: 10.1603/0022-2585-38.6.783

BARATA, R. A; FRANÇA-SILVA, J. C.; COSTA, R. T da.; FORTES-DIAS, C. L.; SILVA, J. C. da; VIEIRA; P, PRATA A.; MICHALSKY E. M; DIAS E.S. Phlebotomines sand flies in Porteirinha, an endemic area of American visceral leishmaniasis in the State of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v. 99, n. 5, p. 481-487, ago. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762004000500004>

BARRIOS, S. P. G.; PEREIRA, L. E.; CASARIL, A. E.; INFRAN, J. O .M.; FERNANDES, W. S.; OSHIRO, E. T.; GALATI, E. A. B.; GRACIOLLI, G.; PARANHOS- FILHO, A. C.; OLIVEIRA, A. G. Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) and biomes in the state of Mato Grosso do Sul. **Journal of Medical Entomology**, [s.l.], v. 57, n. 6, p. 1882-1904 , 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa127>

BORGES, M. D. G. L. **Ritmo Nictemeral de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) no município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil**. 2020. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Biologia animal/PPG BA) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

BRASIL. Ministério da Saúde. DATA SUS. **Tabnet**. Brasília, DF: Ministério da Saúde 2023. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinannet/cnv/ltabr.def>. Acesso em: 01 nov. 2023

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. (2020). Estratificação de risco para BRAZIL, R. P.; HAMILTON, J. G. C. Isolation and identification of 9-methylgermacrene-B as the putative sex pheromone of *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) (Diptera:

Psychodidae), **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro. v. 97, n. 3, p. 435-436, abr. 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000300030>.

BRAZIL, R. P.; BRAZIL, B. G. Biologia de flebotomíneos neotropicais. In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, v.1, cap. 4, p. 257-274, 2018. ID: ens-15860

BRUFORD, M. W.; HANOTTE, O.; BROOKFIELD, J. F.Y.; BURKE, T. Multilocus and single-locus DNA fingerprinting. In: *Molecular Genetic Analysis of Populations: A Practical Approach*, 2nd edition, (ed. Hoelzel AR). 1998. pp. 287-336. IRL Press, Oxford, UK.

CASANOVA; NATAL, 2005; CASANOVA, C.; COSTA, A. I. P.; NATAL, D. Dispersal pattern of the sandfly *Lutzomyia neivai* (Diptera: Psychodidae) in cutaneous leishmaniasis endemic rural area northeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 100, n. 7, p. 719-724, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762005000700006>

CPMCG/PLANURB, Agência Municipal de Meio Ambiente e Planejamento Urbano. Prefeitura Municipal de Campo Grande, MS. Aspectos físicos e biológicos, cap. 2, 2021. Disponível em: <https://prefcgrepositorio.campogrande.ms.gov.br/wpcdn/uploads/sites/76/2022/03/perfilsocioeconomico2021-prefcg-1647974735.pdf>>. Acesso em 12 de agosto de 2022.

COSTA, S. M.; CORDEIRO, J. L. P. & RANGEL, E. F. (2018). Adequação ambiental para *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) e a ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Brasil. **Parasitas & Vetores**. v.11, p. 1-10, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2742-7>

COURA-VITAL, W.; LEAL, G.; MARQUES, L.; PINHEIRO, A.; CARNEIRO, M.; REIS, A. Effectiveness of deltamethrin-impregnated dog collars on the incidence of canine infection by *Leishmania infantum*: a large-scale intervention study in an endemic area in Brazil. **PLoS One**. v.13, p. e0208613, 2018. Doi: 10.1371/journal.pone.0208613.

DAVID, J. R.; STAMM, L. M.; BEZERRA, H. S.; SOUZA, R. N.; KILLICK-KENDRICK, R.; LIMA, J. W. O. Deltamethrin-impregnated dog collars have a potent anti-feeding and insecticidal effect on *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n.6, p. 839-847, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762001000600018>

DA MOTTA, P. E. F. da; PEREIRA, N.; CARVALHO FILHO, A. D.; GONÇALVES, A.; BHERING, S.; CARVALHO JUNIOR, W. D.; SOUZA, J. S. de. Levantamento de reconhecimento de baixa intensidade dos solos do Município de Campo Grande, MS. Rio de Janeiro: **Embrapa solos**, 2013. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/980321>.

DA SILVA, L. B.; DE AQUINO, D. M. C.; LEONARDO, F. S. GUIMARÃES E SILVA, A. S.; MELO, M. N.; REBÊLO, J. M. M.; PINHEIRO, V. C. S. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em focos urbanos de leishmaniose visceral no estado do Maranhão, Brasil. **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, Goiânia, v. 44, n. 2, p. 181-194, jun. 2015. Doi:[10.5216/rpt.v44i2.3664910.1234](https://doi.org/10.5216/rpt.v44i2.3664910.1234)

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, [s.l.], v. 27, n. 5, p. 305-318, set. 2004. c <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2004.03.004>

DOS SANTOS, S. O.; ARIAS, J.; RIBEIRO, A. A.; HOFFMANN, M. D. P.; FREITAS, R. A. D.; MALACCO, M. A. F. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American visceral leishmaniasis. **Medical and veterinary entomology**, [s.l.] v.12, n.3, p. 315-317, ago. 1998. [10.1046/j.1365-2915.1998.00104](https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.1998.00104).

EL TAI, N. O.; OSMAN, O. F.; EL FARI, M.; PRESBER, W. & SCHÖNIAN, G. Genetic heterogeneity of ribosomal internal transcribed spacer in clinical samples of *Leishmania donovani* spotted on filter paper as revealed by single-strand conformation polymorphisms and sequencing. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 94, n. 5, p. 575-579, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0035-9203\(00\)90093-2](https://doi.org/10.1016/S0035-9203(00)90093-2)

FERNANDES, W. S. **Distribuição Espaço-Temporal de Flebotomíneos e da Leishmaniose Visceral Em Área De Transmissão Intensa, Campo Grande, Ms, Brasil**, 2021. 121f. Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias/ PPG DIP) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

FERROGLIO, E.; POGGI, M.; TRISCIUOGLIO, A. "Evaluation of 65% permethrin spot-on and deltamethrin-impregnated collars for canine *Leishmania infantum* infection prevention. **Zoonoses and public health**, v. 55, n.3, p. 145-148. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2007.01092.x>

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

FREITAS, J. S.; REINHOLD-CASTRO, K. R.; CASANOVA, C.; SILVA, J. P.; PREVIDELLI, I.; TEODORO, U. Memória espacial e/ou olfativa em flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose tegumentar americana, sul do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s.l.], v. 42, n. 2, p. 151-155, mar./abr. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822009000200011>

GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L. B.; OSHIRO, E. T.; REGO JUNIOR, F. A. A new species of Phlebotominae, *Lutzomyia corumbaensis* sp. n. (Diptera, Psychodidae) of the *Lutzomyia cortelezzii* complex. **Revista Brasileira de Biologia**, [s.l.], v. 33 , n. 3/4, p. 465-475, 1989. ISSN 0085-5626. ISSN eletrônico 1806-9665.

GALATI, E. A. B. Morfologia e taxonomia: classificação de Phlebotominae. In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, cap. 2, p. 23-51, 2003.

GALATI, E. A. B. (2018). Phlebotominae (Diptera, Psychodidae): Classification, Morphology and Terminology of Adults and Identification of American Taxa. In: **Rangel, E., Shaw, J. (eds) Brazilian Sand Flies** . Springer, Cham, n., p. 9-212, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-75544-1_2

GALATI, E. A. B. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae): classificação, morfologia, terminologia, identificação de adultos. Bioecologia e identificação de Phlebotominae. Vol. I. **Departamento de Epidemiologia, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2023. Disponível em: <https://www.fsp.usp.br/uploads/2023/07/Nov>.

GALATI, E. A. B.; RODRIGUES, B. L. A. Review of Historical Phlebotominae Taxonomy (Diptera: Psychodidae) Departamento de Epidemiologia, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo (FSP/USP), São Paulo, SP, Brazil. **Neotropical Entomology**, [s.l.], v. 52, p. 539-559, mar. 2023. doi.org/10.1007/s13744-023-01030-8.

GALVIS OVALLOS F. Leishmaniose visceral americana: avaliação dos parâmetros da capacidade vetorial de *Lutzomyia longipalpis* em área urbana do município de Panorama, São Paulo, Brasil. 26/02/2016 123 f. **Doutorado em Saúde Pública. Instituição de Ensino: Universidade de São Paulo**, São Paulo Biblioteca Depositária: FSP/USP. <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/6/6132/tde-17032016-133512/>

GUERRA SILVA, N. M. M.; MELO, S. C. C. S.; MASSAFERA, R.; ROSSI, R. M.; SILVEIRA, T. G. V.; TEODORO, U. Dispersal and Memory of Sand Flies in an Endemic Area of Cutaneous Leishmaniasis, Southern Brazil. **Journal of Medical Entomology**, [s.l.], v. 50, n. 5, p. 986-993, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1603/ME1206>

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). IBGE, 2022, disponível em <https://atlasescolar.ibge.gov.br/brasil/3043-diversidade-ambiental/biomas.html>. Acesso em 22 agosto de 2024.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA DO BRASIL – INMET. Banco de dados meteorológicos. Campo Grande - MS. Disponível em <https://tempo.inmet.gov.br/TabelaEstacoes/A001>. Acesso em dez. de 2023.

JONES, T. M.; HAMILTON, J. G. C. A role for pheromones in mate choice in a lekking sandfly. **Animal behaviour**, v. 56, n.4, p. 891-898, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/anbe.1998.0857>

KELLY, D. W.; DYE, C. Pheromones, kairomones and the aggregation dynamics of the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. **Animal Behaviour**, v. 53, n. 4, p. 721-731, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/anbe.1996.0309>

KILLICK-KENDRICK, R.; LEANEY, A. J.; READY, P. D.; MOLYNEUX, D. H. Leishmania in phlebotomid sandflies-IV. The transmission of *Leishmania mexicana amazonensis* to hamsters by the bite of experimentally infected *Lutzomyia longipalpis*. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences**, v. 196, n. 1122, p.105-115, 1977. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rspb.1977.0032>

KILLICK-KENDRICK, R. A biologia e controle de flebotomíneos. **Clínicas em dermatologia**, v. 17, n. 3, p. 279-289, 1999.

LAINSON, R.; RANGEL, E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 8, p. 811-827, dez. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762005000800001>

LINS, R. M.; OLIVEIRA, S. G.; SOUZA, N. A.; DE QUEIROZ, R. G.; JUSTINIANO, S. C.; WARD, R. D.; KYRIACOU, C. P.; PEIXOTO, A. A. Molecular evolution of the cacophony IVS6 region in sandflies. **Insect Molecular Biology**, v. 11, n. 2, p. 117-22, 2002. doi: 10.1046/j.1365-2583.2002.00315.x. PMID: 11966876.

LUTZ, A.; NEIVA, A. Contribuição para o conhecimento das espécies do gênero *Phlebotomus* existentes no Brasil. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, [s.l.], v. 4, p. 84-95, 1912.

MATO GROSSO DO SUL, Centro de monitoramento do tempo e do clima do estado do Mato Grosso do Sul, **Banco de dados**, [s.l.], (2021). Disponível em <https://www.cemtec.ms.gov.br/bancodedados>. Acesso em jan. de 2024.

MARCONDES, C. B. 2007. A proposal of generic and subgeneric abbreviations for phlebotomine sandflies (Diptera: Phlebotominae) of the world. **Entomological News**, v.118, n. 4, p. 351-356, 2007. Disponível em: [https://doi.org/10.3157/0013-872X\(2007\)118\[351:APOGAS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.3157/0013-872X(2007)118[351:APOGAS]2.0.CO;2).

MARINHO, R. M.; FONTELES, R. S.; VASCONCELOS, C.; AZEVÊDO, P. C. B., MORAES, J. L. P. & REBÊLO, J. M. M. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em reservas florestais da área metropolitana de São Luís, Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 52, n. 1, p. 112-116, mar. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0085-56262008000100019>.

MARZOCHI, M. C. D. A.; SABROZA, P. C., TOLEDO; L. M. D., MARZOCHI; K. B. F., TRAMONTANO; N. C.; RANGEL FILHO, F. B. Leishmaniose visceral na cidade do Rio de Janeiro-Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 1, n.1, p. 5-17, 1985. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X1985000100002>

MORRISON, A. C., FERRO, C.; TESH, R. Host preference of sandfly *Lutzomyia longipalpis* at an endemic: focus of american visceral leishmaniasis in Colombia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 49, n. 1, p. 68-75, 1993.

doi 10.1093/jmedent/30.2.427. Disponível em:
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.1993.49.68>

NASUTI, C. et al. Different effects of type I and type II pyrethroids on erythrocyte plasma membrane properties and enzymatic activity in rats. **Toxicology**, v.191, n.2-3, p.233-244, 2003. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(03\)00207-5](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00207-5)

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**. [s.l.], v. 34, n. 6, p. 654-55, dez. 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0034-89102000000600014>

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**, [s.l.], v. 19, n. 4, p. 933-944, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2003000400016>

OLIVEIRA, A. G. D.; GALATI, E. A. B.; OLIVEIRA, O. D.; OLIVEIRA, G. R. D.; ESPINDOLA, I. A. C.; DORVAL, M. E. C.; BRAZIL, R. P. Abundance of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) and urban transmission of visceral leishmaniasis in Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n.8 , p. 869-874, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762006000800008>.

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 of Medical Entomology**, v. 49, n. 1, p. 43–50, jan. 2012a. Disponível em: <https://doi.org/10.1603/ME11082>.

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 area of visceral leishmaniasis, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, p. 396-401, 2012b. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762012000300015>.

OLIVEIRA, E. F.; SILVA, E. A.; CASARIL, A. E.; FERNANDES, C. E. S.; PARANHOS FILHO, A. C.; GAMARRA, R. M.; RIBEIRO A. A.; BRAZIL, R. P.; OLIVEIRA A. G. Behavioral aspects of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in urban area endemic for visceral leishmaniasis. **Journal of Medical Entomology**, [s.l.], v. 50, n. 2, p. 277-284, mar. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1603/ME12082>.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE – OPAS. **SisLeish - Sistema de Informação para Vigilância, Prevenção e Controle da Leishmaniose**. 2022. Disponível em: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/56832/OPASCDEV220021_por.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 27 de out. 2023.

PALMQUIST, K.; SALATAS, J.; FAIRBROTHER, A.. Pyrethroid insecticides: use, environmental fate, and ecotoxicology. In **Insecticides-advances in integrated pest management**, p. 251-278, 2012.

PAULIN, S., FRÉNAIS, R., THOMAS, E., & BALDWIN, P. M. Laboratory assessment of the anti-feeding effect for up to 12 months of a slow release deltamethrin collar (Scalibor®) against the sand fly *Phlebotomus perniciosus* in dogs. *Parasites & Vectors*, v. 11, n. 1, p. 529, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3094-z>

PENHA, T. A.; SANTOS, A. C. G.; REBÊLO, J. M. M.; MORAES, J. L. P.; GUERRA, R. M.. Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em área endêmica de leishmaniose visceral canina na região metropolitana de São Luís-MA, Brasil. **Revista Biotemas**, [s.l.], v. 26 , n. 2. p. 121-127, jun. 2013. Doi: [10.5007/2175-7925.2013v26n2p121](https://doi.org/10.5007/2175-7925.2013v26n2p121).

QUINNELL, R. J.; COURTENAY, O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. **Parasitology**, v. 136, n.14, p.1915-1934, 2009. Doi: <https://doi.org/10.1017/S0031182009991156>

RANGEL, E. F.; LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil**. In: RANGEL, Elizabeth F.; LAINSON, Ralph (Orgs.). *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003. p. 368-368.

REBÊLO, J. M. M. Frequência horária e sazonalidade de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) na Ilha de São Luís, Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.17, n.1, p. 221-22, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2001000100023>

REITHINGER, R.; COLEMAN, P. G., ALEXANDER, B., VIEIRA, E. P., ASSIS, G., & DAVIES, C. R. DA SILVA Are insecticide-impregnated dog collars a feasible alternative to dog culling as a strategy for controlling canine visceral leishmaniasis in Brazil?. **International Journal for Parasitology**, v. 34, n. 1, p. 55-62, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2003.09.006>.

SALOMÓN, O. D.; ROSSI, G. C.; SPINELLI, G. R. Ecological aspects of Phebotomine (Diptera, Psychodidae) in an endemic area of tegumentary leishmaniasis in the Northeastern Argentina, 1993-1998. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 2, p. 163-168, mar. 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000200003>.

SERRANO, A. K.; ROJAS, J. C.; CRUZ-LOPEZ, L. C.; MALO, E. A.; MIKERY, O. F.; CASTILLO, A. Presence of putative male-produced sex pheromone in *Lutzomyia cruciata* (Diptera: Psychodidae), vector of *Leishmania mexicana*. **Journal of Medical Entomology**, v. 53, n. 6, p.1261–1267, nov. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jme/tjw118>.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS-SEBRAE · 2020. Portal Sebrae. Acesso em ago. de 2023. Disponível em: https://sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/canais_adicionais

SHIMABUKURO, P. H. F.; ANDRADE, A. J.; GALATI, E. A. B. Checklist of American sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): genera, species, and their distribution. **ZooKeys**, v. 660, p. 67 - 106, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3897/zookeys.660.10508>.

SMITH, Eric P. Projeto BACI. **Enciclopédia de environmetria** , v. 1, p. 141-148, 2002. (ISBN 0471 899976)

SILVA, R. A. "Avaliação do comportamento de *Lutzomyia longipalpis* (Phlebotominae) em áreas de transmissão intensa submetidas à intervenção com coleiras impregnadas com deltametrina a 4% para controle de leishmaniose visceral. 2018. Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília. Disponível em: <http://repositorio.unb.br/handle/10482/33170>

UNDERWOOD, A. J. Além do BACI: projetos de amostragem que podem detectar distúrbios ambientais de forma confiável. **Ecological applications** , v. 4, n. 1, p. 3-15, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/1942110>

WAUCHOPE, H. S., AMANO, T., GELDMANN, J., JOHNSTON, A., SIMMONS, B. I., SUTHERLAND, W. J., & JONES, J. P. Evaluating impact using time-series data. **Trends in Ecology & Evolution**, v 36, n. 3, p. 196-205, 2021.

WERNECK G.L. Avaliação da efetividade do uso das coleiras impregnadas com inseticida para o controle da leishmaniose visceral. Relatório Técnico Final (mimeo), p. 15, 2017.

WERNECK, G. L.; FIGUEIREDO, F. B.; CRUZ, M. S. P. Impact of 4% Deltamethrin-Impregnated Dog Collars on the Incidence of Human Visceral Leishmaniasis: A Community Intervention Trial in Brazil. **Pathogens**. v.13, n. 2, p.135, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pathogens13020135>.

XIMENES M. D. E. F.; CASTELLON, E. G.; DE SOUZA M. D. E. F.; MENEZES, A. A.; QUEIROZ, J. W.; MACEDO E SILVA, V. P.; JERONIMO, S. M. Effect of abiotic factors on seasonal population dynamics of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in northeastern Brazil. **Journal of Medical Entomology**, [s.l.], v. 43, n. 5, p. 990-5. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jmedent/43.5.990>.

11.2 Manuscrito 2

Impacto das coleiras impregnadas com deltametrina a 4% na população de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae), em área de transmissão muito intensa, Brasil, 2021-2023

Autores: Infran O. M. Jucelei^{1, 2}, Casaril E. Aline¹, Barbosa E. P. Matheus², Fernandes S. Wagner³, Zaroni M. Mariana², Santos R.O. Luís Gustavo⁴, Silva P. M. Monique⁵, Galati A. B. Eunice⁶, Galvis-Ovallos Fredy⁶, Werneck L. Guilherme⁷, Cruz P. Maria do Socorro⁸, Oliveira G. Alessandra^{1,2,6 *}

Afiliações Institucionais:

¹ Institute of Biosciences Federal, University of Mato Grosso do Sul, Brazil.

² Graduate Program in Infectious and Parasitic Diseases, Faculty of Medicine, Federal University of Mato Grosso do Sul, Brazil.

³ University Hospital Maria Aparecida Pedrossian-Brazilian Hospital Services Company/Federal University of Mato Grosso do Sul - Brazil.

⁴ Institute of Ecology, Federal University of Mato Grosso do Sul, Brazil.

⁵ Health Secretary of Maranhão State, Brazil.

⁶ Epidemiology department, Faculty of Public Health, University of São Paulo, Brazil.

⁷ Institute of Public Health Studies, Federal University of Rio de Janeiro, Brazil.

⁸ Graduate Program of Applied Technologies to Animals of Regional Interest, Federal University of Piauí, Brazil.

E-mail autor correspondente: *alessandra.oliveira@ufms.br

Resumo

A leishmaniose visceral (LV), é uma doença infecciosa grave causada pelo protozoário *Leishmania infantum* e pode ser transmitida pela picada de fêmeas de flebotomíneos infectadas. Nas Américas, *Lutzomyia longipalpis* é a principal espécie vetora e está amplamente distribuída no Brasil. A LV afeta humanos e cães, sendo estes últimos considerados os principais reservatórios urbanos do parasito. Uma das principais ferramentas de controle é o uso das coleiras caninas impregnadas com deltametrina. **Objetivo:** avaliar a eficiência das coleiras impregnadas com deltametrina a 4% na redução da população da espécie *Lu. longipalpis* (Diptera: Psychodidae) em São Luís no estado do Maranhão (MA), área de transmissão muito intensa para LV. **Material e métodos:** as coletas foram realizados em três noites consecutivas entre agosto de 2021 e agosto de 2023 em São Luís (MA) com armadilhas luminosas automáticas (tipo CDC) instaladas no intra e peridomicílio de 10 residências na ATL controle e 10 na ATL tratamento de 16:00h às 7:00h. Para avaliar o possível impacto das coleiras com inseticida deltametrina 4% sobre a fauna de flebotomíneos, o teste estatístico utilizado foi o método BACIPS (Before-After Control-Impact Paired Series). **Resultados:** foram coletados 4.522 espécimes (3.215 machos e 1.223 fêmeas), distribuídos em cinco espécies: *Bichromomyia flaviscutellata*, *Evandromyia evandroi*, *Lutzomyia longipalpis*, *Nyssomyia whitmani*, e *Sciopemyia sordellii*. *Lutzomyia longipalpis* foi registrada em todos os meses e em todos os pontos de coleta com percentual de 98,14% do total de espécimes. *Lu. longipalpis* é considerada a espécie de flebotomíneo mais adaptada a ambientes antrópicos no Brasil e em outras regiões endêmicas, sua capacidade de se adaptar a esses ambientes está relacionada com a abundância de matéria orgânica, galinheiros, chiqueiros e cães domésticos. Neste estudo, as análises estatísticas demonstraram que o uso de coleiras impregnadas com deltametrina 4% foi eficaz na redução da frequência de flebotomíneos, mostrando ser um ferramenta útil no controle dessa zoonose, interrompendo os elos em sua cadeia de transmissão.

Palavras chaves: *Lutzomyia longipalpis*, Flebotomíneo, Leishmaniose visceral, Brasil.

Abstract

Introduction: Visceral leishmaniasis (VL) is a severe infectious disease caused by the protozoan *Leishmania infantum* and can be transmitted through the bite of infected female sand flies. In the Americas, *Lutzomyia longipalpis* is the primary vector species and is widely distributed in Brazil. VL affects both humans and dogs, with the latter being considered the main urban reservoir of the parasite. One of the main control tools is the use of dog collars impregnated with deltamethrin. **Goal:** Our study aimed to quantify the fauna of *Lu. longipalpis* in the urban area of São Luís (MA), classified as very intense VL transmission areas. **Materials and method:** Collection efforts were conducted over three consecutive nights between August 2021 and August 2023 in São Luis (MA) with automatic light traps (CDC type) installed inside and outside the home of 10 residences in the control ATL and 10 in the treatment ATL from 4:00 pm to 7:00 am. To evaluate the possible impact of collars with 4% deltamethrin insecticide on the sandfly fauna, the statistical test used was the BACIPS (Before-After Control-Impact Paired Series) method. **Results:** a total of 4,522 specimen distributed among five species: *Bichromomyia flaviscutellata*, *Evandromyia evandroi*, *Lutzomyia longipalpis*, *Nyssomyia longipalpis*, and *Sciopemyia sordellii*. *Lutzomyia longipalpis* was recorded in all months and at all collection points, representing 98.14% of the total species (3,215 males and 1,223 females). This species is considered most adapted to anthropic environments in Brazil and other endemic regions. Its ability to thrive in these environments is related to the abundance of organic matter, chicken coops, pig pens, and domestic dogs. In this study, statistical analyses demonstrated that the use of 4% deltamethrin-impregnated collars was effective in reducing the frequency of sand flies, proving to be a useful tool in controlling this zoonosis by disrupting links in its transmission chain.

Keywords: *Lutzomyia longipalpis*, Phlebotomine, Visceral leishmaniasis, Brazil.

11.2.1 Introdução

A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose causada pelo protozoário *Leishmania infantum*, que tem como principal reservatório urbano o cão doméstico, A infecção ocorre através da picada de flebotomíneos fêmeas infectadas (DOS SANTOS *et al.*, 1998; LAINSON; RANGEL, 2005).

Os flebotomíneos pertencem à classe Insecta, ordem Diptera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae (BRAZIL; BRAZIL, 2018; GALATI, 2003). Mais de 1.060 espécies já foram descritas em todo o mundo. Nas Américas são 530 e no Brasil já foram relatadas 216 espécies (GALATI; RODRIGUES, 2023; SHIMABUKURO; ANDRADE; GALATI, 2017).

No Brasil, *Lutzomyia longipalpis* é a principal espécie vetora do agente causal da LV. É encontrada em todas as regiões do Brasil e completamente adaptada ao ambiente urbano (ANDRADE-FILHO *et al.*, 2017; LAINSON; RANGEL, 2005).

De 2018 a 2022, foram notificados nas Américas, uma média anual de 2.850 casos de LV, desses 93% no Brasil (OPAS/OMS, 2022).

Liderando em número de casos de 1999 a 2005, o Maranhão está entre os estados brasileiros apresentam alta endemicidade para LV, com destaque para os municípios de São Luís, São José de Ribamar, Paço do Lumiar e Raposa (CALDAS *et al.*, 2002; NASCIMENTO *et al.*, 2005). Segundo o Ministério da Saúde, São Luís (MA) é considerada área de transmissão muito intensa para LV e apresentou 2.960 casos com 236 óbitos entre 2017 e 2022 (BRASIL, 2020).

Uma das medidas de controle implementadas pelo Ministério da Saúde é o uso de coleiras impregnadas com deltametrina a 4% em cães. Alguns estudos indicam que o uso de coleiras caninas têm demonstrado eficácia na redução de infecção canina, com taxas variando entre 50% e 57% (COURA-VITAL *et al.*, 2018; LOPES *et al.*, 2018).

Diante da escassez de estudos sobre o impacto das coleiras inseticidas canina na população de *Lu. longipalpis*, do grande número de casos, da gravidade da doença, da total adaptação de *Lu. longipalpis* em áreas urbanas e da proximidade do cão doméstico com o homem, o objetivo deste trabalho é avaliar o impacto das coleiras impregnadas com deltametrina a 4% na redução da população da espécie *Lu. longipalpis* (Diptera: Psychodidae) em duas áreas urbanas distintas (tratamento e controle) em São Luís (MA).

11.2.2 Material e métodos

Área de estudo

Município de São Luís, estado do Maranhão

São Luís, a capital do estado do Maranhão (MA), está localizada na região Nordeste do Brasil ($2^{\circ} 31' 51''$ S e $44^{\circ} 18' 24''$ W) (**Figura 1**), com 236 metros de altitude e extensão territorial de 583,063 km². A população do município é estimada em 1.037.775 habitantes e a densidade demográfica é de 1.779,87 hab/km² (IBGE, 2022).

O clima é tropical quente e úmido, com duas estações distintas, uma chuvosa, janeiro a junho, e outra seca, julho a dezembro (INMET, 2023).

A capital maranhense está situada na ilha de São Luís, entre os biomas Amazônico e do Cerrado. A cobertura vegetal do município é um misto de floresta latifoliada, vegetação de dunas/restinga e manguezal (DOS SANTOS, 2019).

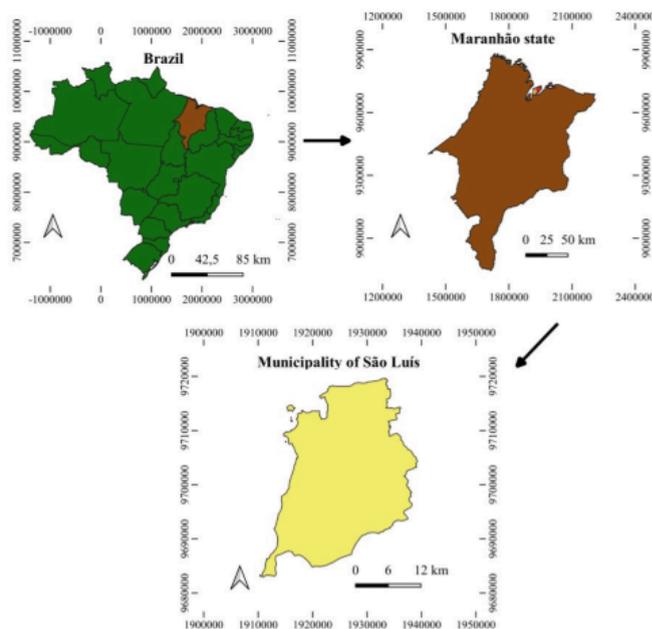


Figura 1 - Localização geográfica das áreas de estudo São Luís (MA), Brasil (Fonte: gentilmente cedido por Samuel de Oliveira).



Figura 2 - Pontos de coleta no Bairro Cidade Olímpica, ATL área controle (1 ao 10 - vermelho) e ATL área tratamento (11 ao 20 - amarelo), entre Agosto de 2021 a Agosto de 2023, São Luís, Maranhão, Brasil. [Google Earth, 2024](#).

O bairro Cidade Olímpica em São Luís-MA, apresenta uma população de 27.326 habitantes, é o segundo bairro mais populoso da capital maranhense (IBGE, 2022) e está localizado a leste da ilha de São Luís.

Com infraestrutura moderada, o bairro dispõe parcialmente de água tratada, coleta de lixo, esgoto e pavimentação asfáltica (INSTITUTO DE ÁGUA E SANEAMENTO, 2023; IPPC, 2006, 2022; SINFRA, 2024). Sua seleção seguiu critérios do Ministério da Saúde e das secretarias estadual e municipal, considerando o número de casos humanos e infecções caninas, além da vulnerabilidade social.

Coleta de flebotomíneos

Duas áreas de trabalho dentro do mesmo bairro foram selecionadas, 10 pontos na área de trabalho local de controle (ATL- Controle), onde os cães não receberam coleiras, e 10 na área de trabalho local de tratamento (ATL - tratamento), onde houve encoleiramento dos cães (Figura 2).

Os critérios para escolha dos pontos seguiram indicadores de vulnerabilidade ambiental e social (coleta de lixo, abastecimento de água e esgotamento sanitário, renda e alfabetização) e fatores de risco para transmissão de LV, segundo o Ministério da Saúde (registro de casos humanos e prevalência de leishmaniose visceral canina).

Entre agosto de 2021 e agosto de 2023, durante 25 meses, armadilhas luminosas automáticas do tipo CDC foram instaladas em três noites consecutivas, no período das 16h às 7h, no intra e peridomicílio das duas ATLS. Totalizando 24.000 horas de esforço amostral por ATL [10 pontos x (2 armadilhas - intra e peri) x 3 noites x 25 meses x 16 horas].

Os insetos foram triados por sexo e espécie, após serem eutanasiados com éter. Em seguida, foram acondicionados em tubos de 1,5 mL, devidamente identificados com as informações referentes à coleta (cidade de origem, intra ou peridomicílio e data de captura). Fêmeas e machos de *Lu. longipalpis* passaram por processo de triagem rápida, utilizando microscópio estereoscópico, onde foram observadas características morfológicas facilmente reconhecíveis: nos machos, tamanho do último palpômero, formato da cabeça, manchas claras nos tergitos e morfologia da genitália; nas fêmeas, presença de manchas escuras no catepisterno e no catepímero (GALATI, 2023). As demais espécies, ou aqueles espécimes em que não foi possível a identificação imediata, foram eutanasiados com éter, acondicionados em tubos de 1,5 mL devidamente identificados com os dados da coleta (bairro, ambiente, ponto e data), clarificados, montados em lâminas e identificados segundo FORATTINI (1973) e GALATI (2023) e utilizando-se as abreviações dos gêneros conforme Marcondes (2007).

Dados climáticos e ambientais

Os dados climáticos referentes ao período de estudo foram extraídos do banco de dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2023) e do WEATHERSPARK.

Análises moleculares

As fêmeas não ingurgitadas de *Lu. longipalpis* foram agrupadas em *pools* de até 20 espécimes. Todas as amostras foram acondicionadas considerando o ponto e a data de coleta

A extração de DNA foi realizada utilizando o protocolo modificado de Bruford *et al.* (1998). Após a retirada do álcool absoluto, onde as fêmeas estavam acondicionadas, adicionou-se 200 µL de Digsol Buffer e 20 µL de proteinase K (10mg/mL), as amostras foram incubadas por 12 horas a 55°C. Posteriormente, foi acrescentado 400 µL de acetato de amônia (4M) e incubadas por 5 minutos em banho de gelo. A amostra foi novamente vortexada e centrifugada por 15 minutos a 14.000 RPM. O sobrenadante foi transferido para outro tubo e sobre ele foi adicionado 900 µL de etanol 100% gelado. O tubo foi homogeneizado e centrifugado por 15 minutos a 14.000 RPM. O etanol absoluto foi descartado e ao *pellet* foi adicionado 900 µL de etanol 70%. A amostra foi centrifugada por 15 minutos a 14.000 RPM, descartando-se o etanol 70%. Após a amostra estar completamente seca, acrescentou-se 40 µL de Tris-EDTA e incubou-se a amostra por 30 minutos. O DNA então extraído foi acondicionado em freezer -20°C.

A integridade e pureza do DNA extraído foram avaliadas por PCR, usando a região IVS6 (gene da cacofonia constitutiva do flebotomíneo) como controle endógeno. O seguinte par de *primers* específicos para região IVS6 foi utilizado: 5Llcac 5' GTG GCC GAA CAT AAT GTT AG 3' e 3Llcac 5' CCA CGA ACA AGT TCA ACA TC 3' (LINS *et al.*, 2002).

Para a detecção da presença de DNA de *Leishmania* spp., foi realizada uma amplificação tendo como alvo a região ITS1 e os seguintes oligonucleotídeos LITSR (5' CTG GAT CAT TTT CCG ATG 3') e L5.8S (5' TGA TAC CAC TTA TCG CAC TT 3'). As reações de PCR foram realizadas em volume final de 25 µL, contendo 5 microlitros de gDNA, 10 microlitros de mastermix (QuatroG), 8 µL de água ultrapura

e 1 mL de cada primer (EL-TAI et al., 2000). A água e o DNA obtidos de uma cultura in vitro de *Leishmania infantum* foram usados como controles negativos e positivos, respectivamente. Os parâmetros de ciclagem foram: 95°C por 3 minutos, seguidos de 35 ciclos de 95°C por 30 s, 53°C por 30 s e 72°C por 1 min, com pós-extensão a 72°C por 5 min.

Os amplicons foram visualizados por eletroforese com gel de agarose a 1,5% em 100 mL de tampão Tris-borato-ácido etilenodiamino tetraacético (TBE) corado com GelRed™ (Biotium, EUA). A corrida eletroforética foi realizada a 100 V por 100 min em tampão TBE 1x. A visualização das bandas foi realizada utilizando luz ultravioleta com filtro de 300 nm.

Análise estatística

A análise estatística segue o esquema de mudanças progressivas BACIPS (Before-After Control-Impact Paired Series) (WAUCHOPE *et al.*, 2021), conforme segue abaixo. O esquema BACIPS aplica modelos lineares para detectar e testar estatisticamente mudanças imediatas na média e/ou mudanças prolongadas nas tendências temporais após uma intervenção. Implementamos um Modelo Misto Generalizado Bayesiano com autocorrelação temporal para verificar o impacto do uso das coleiras impregnadas com deltametrina a 4% em cães na abundância de *Lu longipalpis*, em duas áreas de trabalho (ATL controle e ATL tratamento) em São Luís (MA). As áreas controladas (ATL controle), foram delimitadas espacialmente contíguas à área de intervenção (ATL tratamento) e amostradas antes e depois do tempo de intervenção realizado exclusivamente na ATL tratamento. Testamos o efeito do antes e depois da intervenção (BA - *before/after*) e do controle e impacto (CI - *Control-Impact*) com o passar do tempo (*Time*), levando em consideração as amostras obtidas no intra e peridomicílio (LOCAL). Incluímos um termo autorregressivo markoviano de primeira ordem, agrupado por identidade do domicílio, para considerar a autocorrelação temporal esperada em uma série temporal. Como a contagem de flebotomíneos é, naturalmente, uma variável discreta quantitativa e observamos inflação de zeros, com a média acompanhando a variância, utilizamos uma distribuição binomial negativa zero-inflada. A variável TEMPO foi centrada em zero (primeira amostra após a intervenção), BA e CI foram

codificados como uma variável booleana antes-depois ou impacto de controle como 0-1, respectivamente. Local foi um fator com duas classes: intra e peridomicílio.

Fórmula:

$$Value \sim Time + BA + CI + (BA \times CI) + (BA \times Time) + (CI \times Time) + (BA \times CI \times Time) + ID$$

Value - número de flebotomíneos capturados

Time - tempo de estudo

BA - efeito antes e depois da intervenção

CI - controle e impacto com o passar do tempo

ID - efeito aleatório, variável que identifica unidades distintas

O modelo foi implementado utilizando o pacote **brms** no R, e utilizamos 4 cadeias com 4000 iterações, descartando as primeiras 2000 (burn-in). Verificamos o ajuste do modelo analisando a mistura das cadeias, a homocedasticidade e a homogeneidade dos resíduos, além da autocorrelação temporal dos resíduos (minimiza a influência de fatores externos, como presença de animais, lixo e umidade).

Para diferenciar o nível de adaptação das principais espécies coletadas neste trabalho, foi calculado o índice de constância (IC) com o objetivo de avaliar a frequência de ocorrência da espécie estudada por ponto de coleta. O cálculo foi realizado utilizando a fórmula proposta por Dajoz (1983), considerando a proporção de coletas em que *Lu. longipalpis* foi capturado (coletas positivas) em relação ao total de coletas realizadas. As espécies foram classificadas como constantes (IC > 50%), acessórias (25% < IC ≤ 50%) ou acidentais (IC ≤ 25%), conforme a mesma referência citada.

Fórmula:

$$IC = (n \times 100) / N$$

n = número de coletas positivas, onde a espécie foi diagnosticada (total de amostras mensais).

N = número total de coletas realizadas nesta pesquisa.

Para a distribuição de *Lu. longipalpis*, foi calculada a média total de cada mês (ao todo 25 meses), nas três noites de coleta e nos 10 pontos de captura por ATLS. .

$$\text{Média geral mensal} = \frac{\text{n}^\circ \text{ total de flebotomíneos por ponto}}{\text{n}^\circ \text{ total de flebotomíneos}}$$

$$\frac{3}{10}$$

Aspectos éticos

O grupo de estudo possui Licença Permanente para Coleta de Material Zoológico, emitida pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis em nome de Alessandra Gutierrez de Oliveira (IBAMA: SISBio 25592-2). Os estudos de campo foram realizados em propriedades privadas, cujos proprietários autorizaram a realização do estudo nas respectivas áreas intra e peridomiciliares. Além disso, a pesquisa não envolveu nenhuma espécie ameaçada ou protegida.

Resultados

Em São Luís foram efetuadas 3.000 capturas, e coletados 4.522 flebotomíneos, pertencentes às espécies: *Evandromyia evandroi* (Costa Lima & Antunes, 1936), *Bichromomyia flaviscutellata* (Mangabeira, 1942) *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912), *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) e *Sciopemyia sordellii* (Shannon & Del Ponte, 1927) (Tabela 1). A espécie mais abundante foi *Lutzomyia longipalpis*, totalizando 4.438 exemplares, com um percentual de 98,14% do total de espécies.

Tabela 1 – Espécies de flebotomíneos coletados com armadilha luminosa CDC, por sexo, intra e peridomicílio em São Luís, MA, de agosto de 2021 a agosto de 2023.

Espécies	intradomicílio			peridomicílio			Total	%
	M	F	subtotal	M	F	subtotal		
<i>Ev. evandroi</i>	1	2	3	1	1	2	5	0,11
<i>Bi. flaviscutellata</i>	-	-	-	-	1	1	1	0,02
<i>Lu. longipalpis</i>	429	214	643	2.786	1.009	3.795	4.438	98,14
<i>Ny. whitmani</i>	7	14	21	6	48	54	75	1,67
<i>Sc. sordellii</i>	-	1	1	-	2	2	3	0,06
Total	437	231	668	2.793	1.061	3.854	4.522	100

Br.: *Brumptomyia*; *Bi.*: *Bichromomyia*; *Ev.*: *Evandromyia*; *Lu.*: *Lutzomyia*; *Ny.*: *Nyssomyia*; *Sc.*: *Sciopemyia*
M - Macho F - Fêmea

Na Tabela 2, estão plotados o total de *Lu. longipalpis* capturados na ATL controle (pontos 1 ao 10) e ATL tratamento (pontos 11 ao 20). Os dados incluem número de fêmeas (F) e machos (M) capturados; o total por ponto de captura; a porcentagem (%) que cada ponto representa em relação ao total geral de flebotomíneos capturados; o número de capturas positivas (reduzindo aquelas em que flebotomíneos estavam ausentes) e o índice de constância (%), que indica a frequência relativa (%) das capturas positivas (presença de *Lu. longipalpis*) em relação ao total de coletas realizadas na pesquisa. *Lu. longipalpis* esteve presente em todos os pontos de coleta.

Os pontos sete e três registraram o maior número de insetos (com 873 e 712 respectivamente) e índices de constância, com percentuais de 96% e 92% respectivamente, o que indica que a espécie esteve presente no ponto sete em 24 coletas e que no ponto três em 23 dos 25 meses de pesquisa. Os pontos oito e seis foram os que registraram o menor número de representantes da espécie em São Luís com 0,6% e 0,9% respectivamente e índices de constância de 44% e 40% respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Número total, percentual e índice de constância de *Lutzomyia longipalpis* capturados nas ATLS, distribuídos por ponto de coleta, macho e fêmea, São Luís, Maranhão, Brasil, julho/2021 a agosto/2023.

ATLS	Coordenadas geográficas	Pontos	F	M	Total	%	Capturas Positivas	Índice de constância (%)
Controle	2°36'04"S 44°10'58"W	1	63	207	270	6,08	22	88
Controle	2°35'44"S 44°11'18"W	2	73	111	184	4,15	23	92
Controle	2°35'12"S 44°11'18"W	3	236	476	712	16	23	92
Controle	2°35'08"S 44°11'11"W	4	100	261	361	8,14	17	68
Controle	2°35'11"S 44°11'13"W	5	111	309	420	9,46	23	92
Controle	2°35'10"S 44°11'18"W	6	6	23	29	0,65	10	40
Controle	2°35'12"S 44°11'13"W	7	209	664	873	19,68	24	96
Controle	2°35'11"S 44°11'16"W	8	8	12	20	0,45	11	44
Controle	2°35'11"S 44°11'18"W	9	42	74	116	2,65	11	44
Controle	2°35'03"S 44°11'06"W	10	29	45	74	1,67	17	68
Tratamento	2°35'26"S 44°11'02"W	11	8	31	39	0,87	7	28
Tratamento	2°35'03"S 44°10'52"W	12	31	80	111	2,51	6	24
Tratamento	2°35'52"S 44°10'44"W	13	166	37	203	4,57	13	52
Tratamento	2°36'23"S 44°10'38"W	14	37	121	158	3,56	23	92
Tratamento	2°36'02"S 44°10'41"W	15	26	85	111	2,51	17	68
Tratamento	2°35'22"S 44°10'49"W	16	24	79	103	2,32	13	52
Tratamento	2°35'23"S 44°10'49"W	17	7	22	29	0,65	10	40
Tratamento	2°35'40"S 44°10'44"W	18	30	112	142	3,19	21	84
Tratamento	2°35'17"S 44°10'51"W	19	22	49	71	1,6	12	48
Tratamento	2°35'09"S 44°10'56"W	20	124	288	412	9,29	18	72
Total			1.352	3.086	4.438	100		

Na tabela 3 estão registrados o número de *Lu. longipalpis*, pré e pós encoleiramento, número dos animais domésticos de cada ponto e também a presença de iluminação elétrica noturna no quintal.

Tabelas 3. Total de *Lutzomyia longipalpis* pré e pós encoleiramento, número de animais e presença de iluminação no quintal por pontos de captura na ATL controle e ATL tratamento no bairro Cidade Olímpica, São Luís - MA, Brasil, 2021 a 2023.

ATLs	Pontos	Coordenadas Geográficas	Total	Pré encoleiramento	Pós encoleiramento	Cães	Galinhas	Gatos	outros animais	Iluminação no quintal sim/não
Controle	1	2°36'04"S 44°10'58"W	270	169	101	2	6 a 10	-	-	sim
Controle	2	2°35'44"S 44°11'18"W	184	60	124	-	-	-	-	sim
Controle	3	2°35'12"S 44°11'18"W	712	173	539	1	-	-	-	não
Controle	4	2°35'08"S 44°11'11"W	361	208	153	2	-	-	-	não
Controle	5	2°35'11"S 44°11'13"W	420	128	292	2	-	-	-	não
Controle	6	2°35'10"S 44°11'18"W	29	21	8	1	-	-	-	sim
Controle	7	2°35'12"S 44°11'13"W	873	411	462	3	3 a 10	-	-	sim
Controle	8	2°35'11"S 44°11'16"W	20	7	13	2	6 a 10	-	-	sim
Controle	9	2°35'11"S 44°11'18"W	116	46	70	2	-	-	-	sim
Controle	10	2°35'03"S 44°11'06"W	74	14	60	4	6 a 10	2 a 5	-	sim
Tratamento	11	2°35'26"S 44°11'02"W	39	31	8	3	6	1	-	sim
Tratamento	12	2°35'03"S 44°10'52"W	111	107	4	3	6	-	3	sim
Tratamento	13	2°35'52"S 44°10'44"W	203	10	193	2	-	1	1	sim
Tratamento	14	2°36'23"S 44°10'38"W	158	52	106	2	-	5	1	sim
Tratamento	15	2°36'02"S 44°10'41"W	111	30	81	5	-	2	-	sim
Tratamento	16	2°35'22"S 44°10'49"W	103	90	13	1	6 a 10	1	-	sim
Tratamento	17	2°35'23"S 44°10'49"W	29	9	20	2	6 a 10	-	-	sim
Tratamento	18	2°35'40"S 44°10'44"W	142	93	49	3	6 a 15	-	-	sim
Tratamento	19	2°35'17"S 44°10'51"W	71	33	38	1	-	1	1	não
Tratamento	20	2°35'09"S 44°10'56"W	412	194	218	1	6 a 15	1	-	sim
Total			4.438	1.886	2.552					

Ao longo da pesquisa, *Lu. longipalpis* foi coletado no intra e no peridomicílio dos pontos amostrais. A figura 3, demonstra a abundância da espécie no peridomicílio das residências em todos os anos avaliados. Entre agosto de 2021 a julho de 2022 a quantidade de machos foi expressivamente maior neste ecótono. De agosto de 2022 a agosto de 2023, houve uma redução na captura geral no número de *Lu. longipalpis*, mas o padrão de maior abundância no peridomicílio foi mantido (Figura 3).

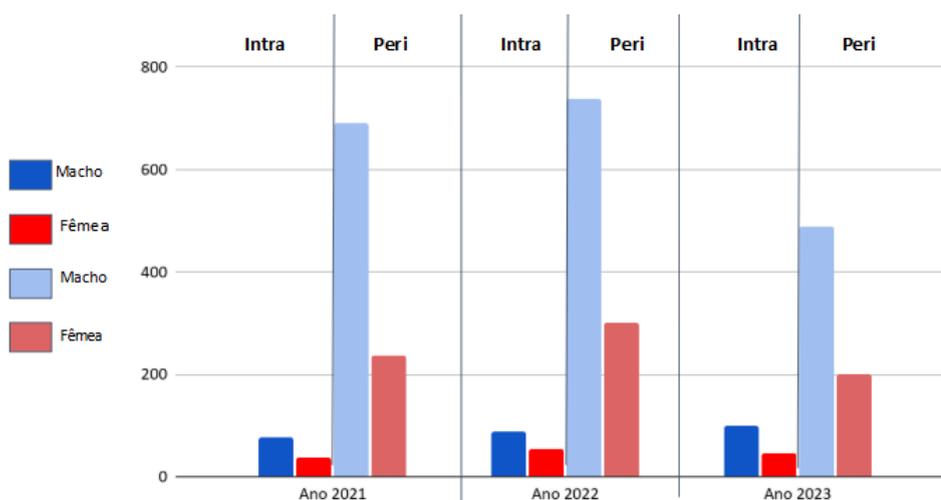


Figura 3. *Lutzomyia longipalpis* por ambiente e por ano, de agosto de 2021 a agosto de 2023 em São Luís, MA, Brasil.

A figura 4 apresenta a variação do número de *Lu. longipalpis* capturados ao longo de dois anos nas áreas controle (linha azul) e tratamento (linha laranja). Observa-se que ambas as áreas apresentam flutuações sazonais na abundância dos flebotomíneos, com picos nos períodos mais úmidos (dezembro a junho) e um declínio nos meses mais secos (julho e novembro). Com exceção dos picos que ocorreram nos meses de setembro e outubro, meses considerados de seca da estação seca.

Os momentos de encoleiramento ocorreram em fevereiro de 2022, agosto de 2022 e março de 2023 (indicados pelas setas vermelhas). Após o primeiro encoleiramento, houve uma redução mais acentuada na área tratamento em relação à área controle, indicando um possível efeito da intervenção. Em alguns momentos, principalmente entre novembro de 2022 e março de 2023, a área controle apresentou um aumento expressivo na população de flebotomíneos, enquanto a

área tratamento manteve valores mais baixos. Após o terceiro encoleimento (março de 2023), observa-se uma estabilização da população de flebotomíneos na área tratamento, enquanto na área controle ainda ocorrem picos de captura.

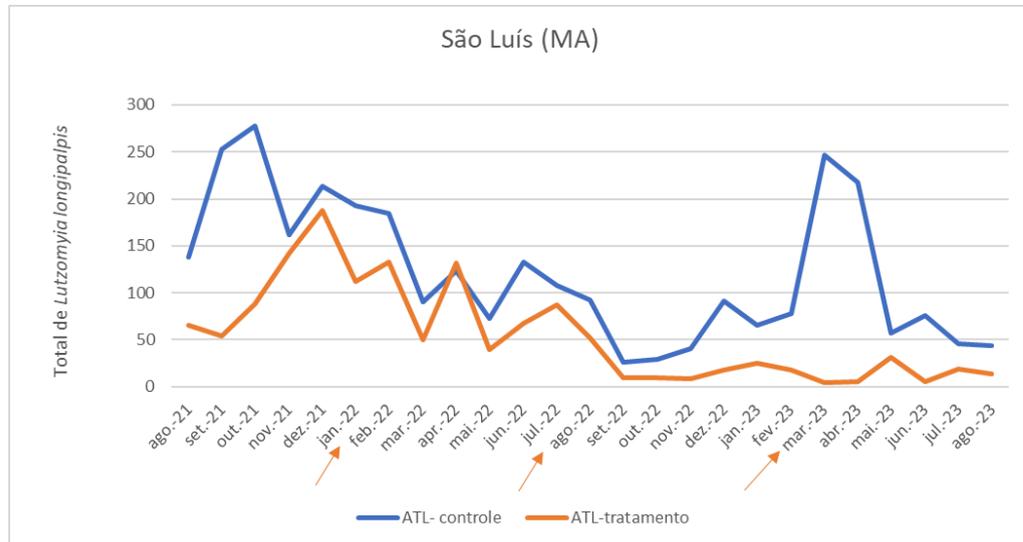


Figura 4. *Lutzomyia longipalpis*, ATL controle e ATL tratamento, distribuído ao longo dos anos e com destaque para os meses do encoleimento. São Luís, Maranhão, Brasil, de 2021 a 2023.

O número de fêmeas ingurgitadas de *Lu. longipalpis* ao longo do tempo está representado na Figura 5. Antes do encoleimento, observa-se uma variação na quantidade de fêmeas, com alguns picos elevados. Após a introdução das coleiras, há uma tendência de redução, especialmente na área de tratamento (ATL).

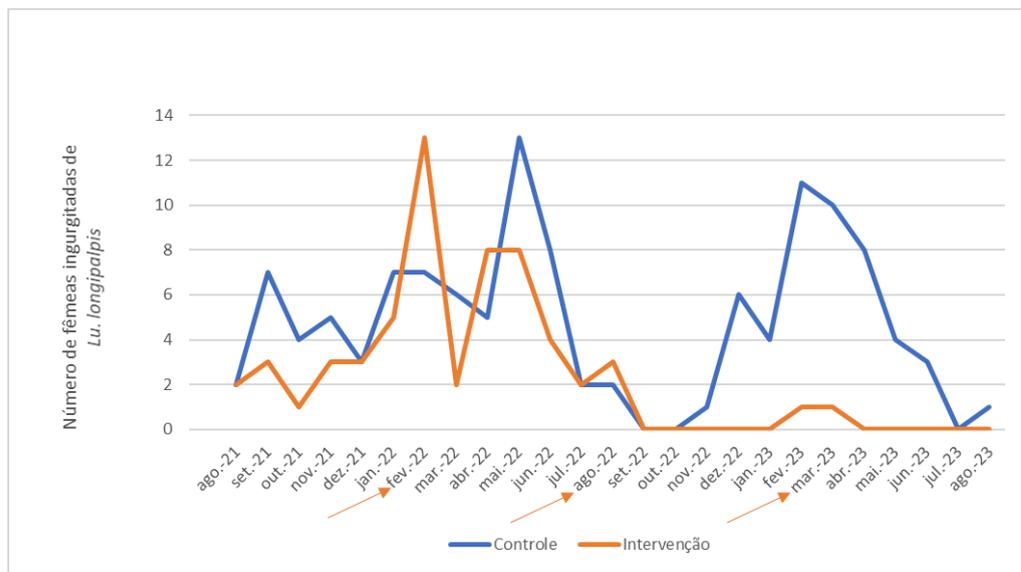


Figura 5. Fêmeas ingurgitadas de *Lutzomyia longipalpis*, ATL controle e ATL tratamento, distribuído ao longo dos anos e com destaque para os meses do encoleiramento. São Luís, Maranhão, Brasil, de 2021 a 2023.

A análise estatística, utilizando o método BACIPS (Before-After Control-Impact Paired Series) (WAUCHOPE *et al.*, 2021), revelou o seguinte resultado em São Luís (MA): nos meses que antecederam o encoleiramento, a comparação entre as ATL controle (azul) e ATL tratamento (vermelho) mostrou um crescimento da população de *Lu. longipalpis* em ambas as áreas. No entanto, esse aumento foi mais expressivo na ATL tratamento, onde também se observou uma maior variação na abundância (área sombreada)(Figura 6).

Nos meses pós encoleiramento, o gráfico 6 registra um efeito imediato após o encoleiramento com a redução na abundância de *Lu. longipalpis* em ambos os grupos, entretanto essa redução foi mais acentuada na área de tratamento.

Com o passar do tempo, a diferença entre as ATLs se reduz, porém a ATL tratamento mantém números um pouco mais baixos. Demonstrando a eficiência das coleiras impregnadas com deltametrina 4% em cães, na redução da população de *Lu. longipalpis*.

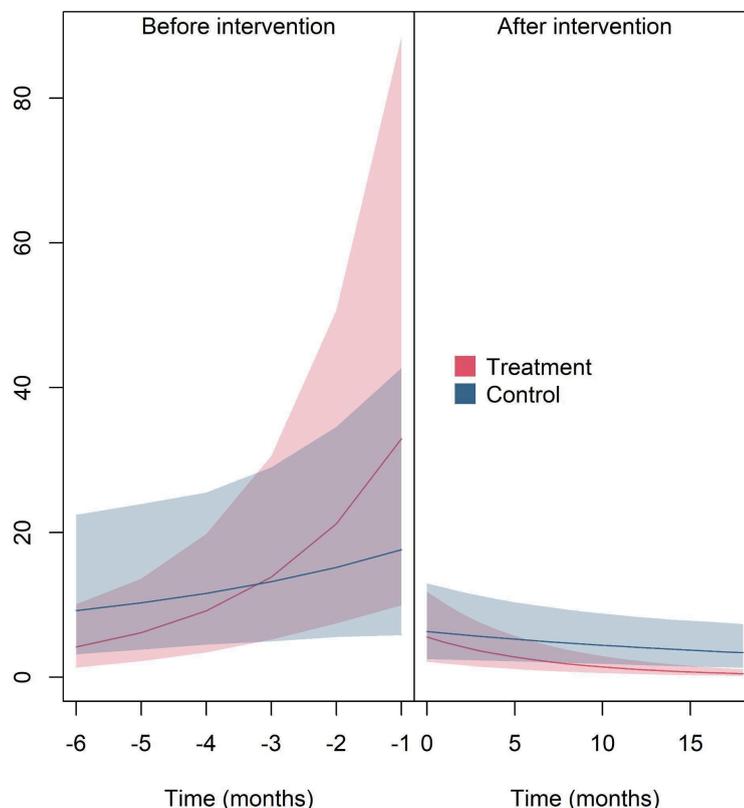


Figura 6. População de *Lutzomyia longipalpis*, nas áreas controle (em azul) e tratamento (vermelho), nos períodos pré e pós encoleiramento. São Luís, Maranhão, Brasil de 2021 a 2023.

Foram analisadas 1.067 amostras, 775 (154 individualizadas + 621 em *pools*) ATL controle e 292 (92 individualizadas + 200 em *pools*) da ATL tratamento. Deste total, quatro amostras foram positivas para *Leishmania* spp., sendo três da ATL controle e uma da ATL tratamento (Tabela 4).

Em São Luís (MA), entre as 92 fêmeas individualizadas na ATL tratamento, uma amostra do ponto 4, proveniente de janeiro de 2022, apresentou resultado positivo.

Tabela 4. Análise da Infecção por *Leishmania* em Flebotomíneos: Comparação entre Grupos Controle e Tratamento, São Luís (MA), 2021 a 2023.

ATL		Fêmeas testadas (n)	Positivos (n)	% Taxa de infecção estimada	
São Luís	total	775	3	0.4	
	Controle	individual	154	3	1.9
		<i>pool</i>	621	-	-
		total	292	1	0.3
	Tratamento	individual	92	1	1.1
		<i>pool</i>	200	-	-

11.2.3 Discussão

A Leishmaniose visceral (LV) é uma doença grave, que pode ser letal, se não tratada, principalmente quando acomete indivíduos imunodepressivos, idosos e crianças. A longa duração do tratamento, a limitada disponibilidade e resistência medicamentosa, faz dessa parasitose, segundo a Organização Mundial de Saúde um grave problema em saúde pública (WHO, 2023).

No Brasil, *Lutzomyia longipalpis* (LUTZ; NEIVA, 2012) é reconhecido como o principal vetor de *Leishmania infantum*, agente etiológico da leishmaniose visceral (LV) (LAINSON; RANGEL, 2005). Seu registro é especialmente relevante uma vez que a capital maranhense é notificada como área de transmissão muito intensa,

segundo o Ministério da Saúde. A taxa de infecção é calculada por meio do Índice Composto (IC), que corresponde à razão entre a média de casos em um período de dois ou três anos e a média de incidência. A taxa de infecção muito intensa, apresenta valores (IC) entre 9,16 a 15,1 casos por 100.000 habitantes. São Luís apresentou um IC de 9,16 (BRASIL, 2023).

No decorrer dos anos, estudos têm demonstrado um considerável decréscimo na diversidade de espécies em São Luís (MA). Rebêlo *et al.*, (1999) registraram 32 espécies na área urbana de São Luís. Penha *et al.* (2013) encontraram sete espécies e Costa Jr. *et al.* (2017) registraram apenas quatro espécies entre 2010 e 2015.

Estudos relatam que a antropização exerce uma influência negativa na diversidade, favorecendo a colonização apenas das espécies que são capazes de se adaptar às mudanças ambientais. O evidente domínio de *Lu. longipalpis* deve-se à sua alta capacidade de adaptação a ambientes antropizados, o que gera uma vantagem competitiva em relação às demais espécies (FERNANDES *et al.*, 2021; MARINHO *et al.*, 2008). Nos últimos 20 anos, a capital do Maranhão sofreu um considerável impacto ambiental, em decorrência do crescimento populacional, da extração de madeira e minerais e da drenagem dos manguezais para expansão da construção civil e de áreas industrializadas (IBGE, 2022; IPPC, 2006).

Em todos os pontos foi registrada a presença e a constância de *Lu. longipalpis* (Tabela 2). O ponto sete foi o que apresentou o maior número de representantes da espécie e um Índice de Constância (IC) de 96%, sendo sua presença em quase todos os meses de coleta. A elevada presença desses dípteros pode estar relacionada à ampla disponibilidade de alimento para as fêmeas (galinhas e cães) e à presença de iluminação elétrica noturna, segundo BARATA e colaboradores (2005) e PAIVA (2009), apontam hipótese da afinidade de *Lu. longipalpis* pelo sangue de galináceos. TEODORO *et al.*, (2007) em um estudo realizado no Paraná, observaram o comportamento de *Ny. whitmani* e sugerem que a presença de galinhas associadas à iluminação elétrica noturna no quintal pode ser um fator determinante para a presença desses flebótomos.

O segundo local com maior abundância foi o ponto três. Neste ponto as características que fazem relação com a abundância de *Lu. longipalpis* não foram observadas (RANGEL; LAINSON, 2003), sendo notificada apenas a presença de um único cão e ausência de iluminação noturna no quintal (Tabela 3). Apesar da baixa

oferta de fonte alimentar, outros fatores podem ter favorecido a presença de *Lu. longipalpis*, como o ambiente local apresentar características favoráveis para a existência de criadouros. Os criadouros são microambientes que oferecem condições ideais para o desenvolvimento de formas imaturas do inseto (ovos, larvas e pupas) e também servem de refúgio para adultos, favorecendo sua sobrevivência e reprodução, especialmente quando há disponibilidade de matéria orgânica e umidade adequadas (BRAZIL; BRAZIL, 2003; KILLICK-KENDRICK, 1999b; MAROLI *et al.*, 2013; SHERLOCK, 2003; ALEXANDER, 2000). Segundo FREITAS *et al.*, (2009) e GUERRA SILVA *et al.*, (2013) os flebotomíneos tendem buscar alimento nas proximidades de seus criadouros, permanecendo próximos a esses locais. Outra provável justificativa é a alta capacidade de adaptação de *Lu. longipalpis*, principalmente em locais sob influência da ação antrópica (RANGEL; VILELA, 2008; LAINSON; RANGEL, 2005).

Outros pontos (oito, 11 e 17) apresentaram resultados antagônicos aos pontos sete e três (Tabela 3). Apesar de contarem com abundância de fontes alimentares, esses locais apresentaram baixo número e constância de representantes da espécie. Algumas hipóteses podem justificar esse resultado: Kahime *et al.* (2015) e Lewis (1971) apontam que características do solo, como composição química, umidade e até mesmo sua textura, podem influenciar a oviposição, o desenvolvimento larval e a sobrevivência dos flebotomíneos. Outros fatores relacionados, são o uso de inseticidas nos pontos de coleta e a presença de predadores naturais (ALEXANDER; MAROLI, 2003; CASAGRANDE, 2018; 2014; DENISH *et al.*, 2014; WARBURG; FAIMAN, 2011).

Em contrapartida, a maior abundância desses insetos no peridomicílio em todos os anos de pesquisa (Figura 3) — resultado semelhante ao observado em outros estudos conduzidos nessa cidade — pode ser explicada pela instalação das armadilhas em proximidade aos abrigos de animais, como canis e galinheiros, que frequentemente estão localizados nesse ambiente (DIAS *et al.*, 2003; PENHA *et al.*, 2013; REBÊLO *et al.*, 1999).

Quanto aos resultados obtidos nos períodos pré e pós encoleiramento (Tabela 3), observou-se um aumento no número de *Lu. longipalpis* capturados, passando de 1.886 para 2.552 indivíduos. Apesar dessa tendência geral de crescimento, alguns pontos apresentaram redução, como no caso do ponto 12, que diminuiu de 107 para 4, e do ponto seis, que passou de 31 para 8. O aumento

populacional dos demais pontos pode estar relacionado ao aumento natural da população de flebotomíneos na época da coleta pós-encoleiramento, às mudanças climáticas e ecológicas (DE MELO NASCIMENTO, *et al.*, 2024; DIAS *et al.*, 2007; MENDES *et al.*, 2016). Para validar esses achados, é fundamental a realização de testes estatísticos, considerando que fatores podem ter influenciado os resultados.

Assim, os resultados desta pesquisa evidenciam a complexidade envolvida na presença desses dípteros. Destaca-se a relevância de considerar as características ambientais de cada ponto de coleta e seu entorno, incluindo fatores temporais ou permanentes que podem influenciar a distribuição e a constância dos flebotomíneos. Além disso, é fundamental que estudos bem conduzidos levem em conta esses e outros aspectos, garantindo uma abordagem mais detalhada e alinhada à dinâmica desses insetos.

A sazonalidade climática de uma determinada região é também importante para a frequência de flebotomíneos. Estudos anteriores relatam a preferência de *Lu. longipalpis* pelas estações mais úmidas, este padrão pode ser observado na figura 4 (NUNES *et al.*, 2008; GALVIS OVALLOS, 2016; REBÊLO, 2001).

Em São Luís, a estação chuvosa ocorre entre dezembro e junho, e a estação seca se estende de julho a novembro (INMET, 2023). Entretanto, de acordo com resultados apresentados, um maior número de *Lu. longipalpis* foi observado nos meses de setembro e outubro, considerados meses da estação seca. De acordo com dados do Núcleo de Meteorologia da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), em agosto de 2021 foram registrados índices pluviométricos acima da média (52,6 mm³), e segundo dados do WeatherSpark (2021) em setembro ocorreram chuvas esporádicas e fracas. A umidade com média de 98% e temperaturas variando entre 26°C e 32°C nesses dois meses, podem justificar a presença da espécie nesse período atípico. Rebêlo *et al.*, (2001), em um estudo realizado em São Luís (MA), salienta que embora *Lu. longipalpis* seja encontrado em todas as estações do ano, com a maior frequência registrada na estação chuvosa, destacando a precipitação como um fator relevante para a presença do vetor.

Entre novembro de 2022 e março de 2023, a ATL controle apresentou um aumento expressivo na densidade de flebotomíneos, enquanto a ATL tratamento manteve valores reduzidos (Figura 4). Esse achado pode estar relacionado a fatores sazonais, uma vez que esse período corresponde à estação chuvosa na região. Após o terceiro encoleiramento (março de 2023), a população desses dípteros na

ATL tratamento se estabilizou. Essa estabilização pode ser atribuída à proteção contínua conferida pela ação repelente e inseticida das coleiras, que impedem a aproximação dos flebotomíneos aos cães e reduzem sua longevidade (REITHINGER et al., 2004). Resultados semelhantes foram observados em estudos anteriores, os quais demonstraram o declínio populacional desses vetores após o uso de deltametrina, evidenciando sua eficácia tanto na repelência quanto na eliminação dos insetos, como relatado por Werneck et al. (2017) e Courtenay et al. (2019). No presente estudo, essa tendência também foi observada na análise do número de fêmeas ingurgitadas ao longo do tempo (Figura 5), com especial destaque para os meses de encoleiramento dos cães (fevereiro de 2022, agosto de 2022 e fevereiro de 2023), sugerindo que as fêmeas enfrentaram dificuldades para realizar o repasto sanguíneo em cães encoleirados, o que pode ter contribuído para a redução populacional observada, minimizando os efeitos das variações sazonais.

As análises moleculares para a detecção de DNA de *Leishmania* spp. (Tabela 4) em fêmeas não ingurgitadas tanto da ATL controle quanto da ATL tratamento, indicam que a transmissão ainda persiste. No entanto, a detecção de apenas uma amostra positiva na ATL tratamento, proveniente de uma fêmea de *Lutzomyia longipalpis* coletada antes da implementação das coleiras, aliada à baixa taxa de infecção dos flebotomíneos, sugere uma possível efetividade das coleiras. Esse resultado pode estar relacionado à menor disponibilidade de cães infectados como fonte de alimentação para esses dípteros (COURTENAY et al., 2019; LIMA et al., 2021; MOREIRA et al., 2022; NUNES et al., 2020; SILVA et al., 2018; WERNECK, 2017).

Para avaliar com precisão a efetividade do encoleiramento, foi adotado o método estatístico BACIPS, que compara períodos antes e depois da intervenção em locais controle e de impacto. Esse modelo reduz vieses causadas por variações ecológicas naturais ou antrópicas, permitindo identificar com maior segurança os efeitos reais da intervenção na fauna flebotomínica. O BACIPS já foi aplicado com sucesso em estudos de impacto ambiental e sanitário, com resultados estatisticamente robustos (SMITH, 2002; UNDERWOOD, 1994; WAUCHOPE et al., 2021). Após a análise, observou-se uma redução significativa da população de *Lu. longipalpis* logo após o encoleiramento, especialmente na ATL tratamento em São Luís (MA) (Figura 7), evidenciando que o uso de coleiras impregnadas com deltametrina a 4% em cães é uma medida eficaz no controle vetorial dessa espécie.

Estudos anteriores descreveram que, mesmo diante de uma série de problemas operacionais, o encoleiramento mostrou ser mais eficiente do que a eutanásia de cães no controle das leishmanioses (COURA-VITAL *et al.*, 2018; LOPES *et al.*, 2018; ALVES *et al.*, 2018). Em um trabalho realizado por Silva *et al.* (2018) em Montes Claros e Fortaleza no estado do Ceará, relataram uma menor frequência na população de *Lu. longipalpis* nas áreas de intervenção. WERNECK *et al.* (2024), associaram o uso das coleiras inseticidas em cães com a redução de 27% na incidência de casos humanos de LV, evidenciando a importância do encoleiramento canino em áreas endêmicas.

Além do uso de coleiras como uma medida eficaz, é importante sugerir a associação dessa prática com outras medidas de controle. Isso pode incluir a implementação de campanhas de conscientização, o controle da população de flebotomíneos, a limpeza de áreas propensas à proliferação do vetor e a realização de exames regulares em animais. Ao combinar essas ações, é possível potencializar as estratégias de prevenção e controle das leishmanioses, garantindo uma abordagem abrangente e eficaz.

11.2.4 Conclusões

Em São Luís (MA), a LV é um constante problema de saúde pública. A antropização ao longo dos anos reduziu a diversidade da fauna flebotomínica na área urbana do município. *Lutzomyia longipalpis*, com 98%, esteve presente em todos os pontos de coleta. O número de machos foi superior, assim como a presença no peridomicílio.

Este vetor foi encontrado em todo período da coleta em ambas as ATLS (controle e tratamento) com flutuações sazonais. Os picos ocorreram nos meses mais úmidos (dezembro a junho), enquanto um declínio foi observado nos períodos mais secos (julho e novembro).

Houve uma redução mais acentuada da população de flebotomíneos logo após ao encoleiramento, padrão também observado quando analisadas fêmeas ingurgitadas na área de tratamento em comparação à área controle, sugerindo um possível efeito da intervenção, o que foi comprovado com o teste estatístico BACIPS.

Testes moleculares para detecção de DNA de *Leishmania* em *Lu. Longipalpis* resultaram em quatro amostras positivas, três da ATL controle e uma da ATL tratamento.

11.2.5 Referências

ALEXANDER, B. E.; MAROLI, M. Controle de flebotomíneos. **Entomologia médica e veterinária**, v.17, n. 1, p. 1-18, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2003.00420.x>

ANDRADE-FILHO, J. D.; SCHOLTE, R. G. C.; AMARAL, A. L. G.; SHIMABUKURO, P. H. F., CARVALHO; O. D. S., & CALDEIRA, R. L. . Occurrence and probability maps of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia cruzi* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v 54, n 5, p.1430-1434. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jme/tjx094>

ALVES, E. B.; FIGUEIREDO, F. B.; ROCHA, M. F.; & WERNECK, G. L. Dificuldades operacionais no uso de coleiras caninas impregnadas com inseticida para o controle da leishmaniose visceral, Montes Claros, MG, 2012. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v.27, n. 4, p. e2017469, 2018. Doi: <https://doi.org/10.5123/S1679-49742018000400001>

BARATA, R. A.; FRANÇA-SILVA, J. C.; MAYRINK, W.; SILVA; J. C. D.; PRATA, A.; LOROSA, E. S.; DIAS, E. S. Aspectos da ecologia e do comportamento de flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose visceral, Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s.l.], v. 38, n. 5 , p. 421-425, set./out. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822005000500012>.

BRASIL. Ministério da Saúde. DATA SUS. **Tabnet**. Brasília, DF: Ministério da Saúde 2023. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?sinannet/cnv/ltabr.def>. Acesso em: 01 nov. 2023

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. (2020). Estratificação de risco para Leishmaniose Visceral: 2022 a 2024. **Ministério da Saúde**. Disponível em https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/leishmaniose-visceral/situacao-epidemiologica/publicacoes/estratificacaolv_22a24.pdf, Acesso em jul. de 2024.

BRASIL. MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO REGIONAL. SECRETARIA NACIONAL DE SANEAMENTO. **Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos – São Luís (MA), 2022** . Disponível em Brasília:<https://www.snis.gov.br/>. Acesso em: ago. 2023

BRAZIL, R. P.; BRAZIL, B. G. Biologia de flebotomíneos neotropicais. In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, v.1, cap. 4, p. 257-274, 2018. ID: ens-15860

BRAZIL, R. P.; BRAZIL, B. G. **Flebotomíneos do Brasil**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003.

CALDAS A. J. M.; COSTA J. M.; SILVA A. A.; VINHAS V.; BARRAL A. A risk factors associated with asymptomatic infection by *Leishmania chagasi* in Northeast Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** . v. 96, n.1, p. 21-28, 2002.

COSTA JUNIOR, H. N. P., CARVALHO, H. DE O., SANTOS, L. S. DOS, SILVA, M. S. D., OLIVEIRA, K. C. C., SILVA, F. M. DA, LARANJEIRA, M. P., ARAGÃO, F. B. A., SANTOS, G. R. B. DOS, & SCHMIDT, T. J. F. Relação entre incidência entomológica e notificações da leishmaniose visceral em humanos no período de 2010 a 2015, em São Luís – MA. **Uningá**, [s.l.], v. 53, n. 1, p. , 2017.

CASAGRANDE, B. Biogeografia da Saúde: A escolha de armadilhas para a captura de flebotomíneos. **Geografia em Atos**, Presidente Prudente, v. 3, n. 8, p. 41-58, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.35416/geoatos.v3i8.5775>.

CASAGRANDE, B.; MATSUMOTO, P. S. S.; PEDROSO, M. F.; GUIMARÃES, R. B. ESTUDOS BIOGEOGRÁFICOS E SAÚDE AMBIENTAL: a escolha adequada de armadilhas para a captura de flebotomíneos, 2014.

COURA-VITAL W.; LEAL G.; MARQUES L.; PINHEIRO, A.; CARNEIRO, M.; REIS A. Effectiveness of deltamethrin-impregnated dog collars on the incidence of canine infection by *Leishmania infantum*: a large-scale intervention study in an endemic area in Brazil. **PLoS One**. 2018;v. 13, n 12, p. :e0208613. Doi: [10.1371/journal.pone.0208613](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208613).

DAJOZ, R. Ecologia Geral. 4ª ed., Ed. **Vozes, Petrópolis, RJ**, 1983.

DE MELO NASCIMENTO, J., MORAES, J. L. P., BANDEIRA, M. D. C. A., PINHEIRO, V. C. S., & REBÊLO, J. M. M. (2024). Sazonalidade de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em áreas florestais degradadas na Amazônia oriental. **Caderno Pedagógico**, v.21, n.7, p. e5350-e5350, 2024.

DINESH, D. S.; KUMAR, V.; KESARI, S.; DAS, P. Mites and spiders act as biological control agent to sand flies. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, p. S463-S466, 2014. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60491-6](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60491-6)

DIAS, E. S.; FRANCA-SILVA, J. C.; DA SILVA, J. C.; MONTEIRO, E. M.; DE PAULA, K. KGONÇALVES, C. M.; BARATA, R. A. Sandflies (Diptera: Psychodidae) in an outbreak of cutaneous leishmaniasis in the State of Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 40, 49–52, 2007

DIAS, F. O. P.; LOROSA, E. S.; REBÊLO, J. M. M. Fonte alimentar sanguínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 5, p. 1373-1380, set./out. 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2003000500015>.

DOS SANTOS, L. E. N. Caracterização Sócio-Ambiental De São Luís-MA. **INCID – Instituto da Cidade Pesquisa e Planejamento Urbano e Rural**, [s.l.] v. 10, n. 11, 2019. Disponível em: saoluis.ma.gov.br

DOS SANTOS, S. O.; ARIAS, J.; RIBEIRO, A. A.; HOFFMANN, M. D. P.; FREITAS, R. A. D.; MALACCO, M. A. F. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American visceral leishmaniasis. **Medical and veterinary entomology**, [s.l.] v.12, n.3, p. 315-317, ago. 1998. [10.1046/j.1365-2915.1998.00104](https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.1998.00104).

EL TAI, N. O.; OSMAN, O. F.; EL FARI, M.; PRESBER, W. & SCHÖNIAN, G. Genetic heterogeneity of ribosomal internal transcribed spacer in clinical samples of *Leishmania donovani* spotted on filter paper as revealed by single-strand conformation polymorphisms and sequencing. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 94, n. 5, p. 575-579, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0035-9203\(00\)90093-2](https://doi.org/10.1016/S0035-9203(00)90093-2)

FERNANDES, Wagner de Souza. **Distribuição Espaço-Temporal de Flebotomíneos e da Leishmaniose Visceral Em Área De Transmissão Intensa, Campo Grande, Ms, Brasil**, 2021. 121f. Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias/ PPG DIP) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

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

FREITAS, J. S.; REINHOLD-CASTRO, K. R.; CASANOVA, C.; SILVA, J. P.; PREVIDELLI, I.; TEODORO, U. Memória espacial e/ou olfativa em flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose tegumentar americana, sul do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s.l.], v. 42, n. 2, p. 151-155, mar./abr. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822009000200011>

GALATI, E. A. B. Morfologia e taxonomia: classificação de Phlebotominae. In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, cap. 2, p. 23-51, 2003. <https://repositorio.usp.br/item/001549238>

GALATI, E. A. B. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae): classificação, morfologia, terminologia, identificação de adultos. Bioecologia e identificação de Phlebotominae. Vol. I. **Departamento de Epidemiologia, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2023.

GALATI, E. A. B.; RODRIGUES, B. L. A. Review of Historical Phlebotominae Taxonomy (Diptera: Psychodidae) Departamento de Epidemiologia, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo (FSP/USP), São Paulo, SP, Brazil.

Neotropical Entomology, [s.l.], v. 52, p. 539-559, mar. 2023. doi.org/10.1007/s13744-023-01030-8.

GALVIS OVALLOS F. Leishmaniose visceral americana: avaliação dos parâmetros da capacidade vetorial de *Lutzomyia longipalpis* em área urbana do município de Panorama, São Paulo, Brasil. 26/02/2016 123 f. **Doutorado em Saúde Pública. Instituição de Ensino: Universidade de São Paulo**, São Paulo Biblioteca Depositária: FSP/USP.

GUERRA SILVA, N. M. M.; MELO, S. C. C. S.; MASSAFERA, R.; ROSSI, R. M.; SILVEIRA, T. G. V.; TEODORO, U. Dispersal and Memory of Sand Flies in an Endemic Area of Cutaneous Leishmaniasis, Southern Brazil. **Journal of Medical Entomology**, [s.l.], v. 50, n. 5, p. 986-993, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1603/ME1206>

INSTITUTO DE ÁGUA E SANEAMENTO, SÃO LUÍS MARANHÃO, 2023, disponível <https://www.aguaesaneamento.org.br/municipios-e-saneamento/ma/sao-luis>. Acesso em 25 de agosto de 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). IBGE, 2022, disponível em <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ma/sao-luis/panorama>. Acesso em 23 de agosto de 2023.

INSTITUTO DE PESQUISA E PLANIFICAÇÃO DA CIDADE (IPPC). São Luís: uma leitura da cidade. Secretaria Municipal de Planejamento e Desenvolvimento, São Luís, 2006. p.94

INSTITUTO DE PESQUISA E PLANIFICAÇÃO DA CIDADE (IPPC). São Luís: uma leitura da cidade. Secretaria Municipal de Planejamento e Desenvolvimento, São Luís, 2022.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA DO BRASIL – INMET. Banco de dados meteorológicos. São Luís - MA. Disponível em: <https://portal.inmet.gov.br/noticias/noticias?noticias=São%20Luís>. Acesso em 05 de dezembro de 2023.

KAHIME, K.; BOUSSAA, S.; EL MZABI, A.; BOUMEZZOUGH, A. Spatial relations among environmental factors and phlebotomine sand fly populations (Diptera: Psychodidae) in central and southern Morocco. **Journal of Vector Ecology**, v. 40, n.2, p. 342-354, 2015.

KILLICK-KENDRICK, R. The Biology e Control of Phlebotomine Sand Flies. **Clinics in Dermatology**, v. 17, 1999b. Doi: [10.1016/S0738-081X\(99\)00046-2](https://doi.org/10.1016/S0738-081X(99)00046-2)

LAINSON, R.; RANGEL, E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 8, p. 811-827, dez. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762005000800001>

LEWIS, D. J. Phlebotomid sandflies. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 44, n. 4, p. 535, 1971.

LINS, R. M. M. A.; OLIVEIRA, S. G.; SOUZA, N. A.; QUEIROZ, R. G.; JUSTINIANO, S. C. B.; WARD, R. D.; KYRIACOU, C. P.; PEIXOTO, A. A. Molecular evolution of the cacophony IVS6 region in sandflies. **Insect Molecular Biology**, v. 11, p. 117-122, 2002.

LOPES, E. G.; SEVÁ, A. P.; FERREIRA, F.; NUNES, C. M.; CHAVE, L. B.; HIRAMOTO, R. M.; FERREIRA, H. L.; OLIVEIRA, T. m. F. s.; OVALLOS, F. G.; GALATI, E. A. B.; VILLEGAS, T. J.; BORTOLLETO, D. V.; VALADAS, S. Y. O. B.; SOARES, R. M. Efetividade vacinal e uso de coleira impregnada com inseticida para redução da incidência de infecção por *Leishmania* em cães em região endêmica para leishmaniose visceral, no Brasil. **Epidemiology & Infection**. V. 146, n. 3, p. 401-406, 2018. doi: 10.1017/S0950268817003053.

MARANHÃO. SECRETARIA DE ESTADO DA INFRAESTRUTURA. **[Pavimentação asfáltica]**. São Luís: SINFRA. Disponível em: <https://sinfra.ma.gov.br/>. Acesso em ago. 2024.

MARCONDES, C. B. 2007. A proposal of generic and subgeneric abbreviations for phlebotomine sandflies (Diptera: Phlebotominae) of the world. **Entomological News**, v.118, n. 4, p. 351-356, 2007. Disponível em: [https://doi.org/10.3157/0013-872X\(2007\)118\[351:APOGAS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.3157/0013-872X(2007)118[351:APOGAS]2.0.CO;2).

MARINHO, R. M.; FONTELES, R. S.; VASCONCELOS, C.; AZEVÊDO, P. C. B., MORAES, J. L. P. & REBÊLO, J. M. M. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em reservas florestais da área metropolitana de São Luís, Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 52, n. 1, p. 112-116, mar. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0085-56262008000100019>.

MAROLI, M.; FELICIANGELI, M.D.; BICHAUD, L.; CHARREL, R. N.; & GRADONI, L. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. **Medical and veterinary entomology**, v. 27, n. 2, p. 123-147, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2012.01034.x>

MENDES, C. S.; COELHO, A. B.; FÉRES, J. G.; SOUZA, E. C. D.; & CUNHA, D. A. D. (2016). Impacto das mudanças climáticas sobre a leishmaniose no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 21, n. 1, p. 263-272. 2016. Doi: [10.1590/1413-81232015211.03992015](https://doi.org/10.1590/1413-81232015211.03992015)

NASCIMENTO M. D. S. B.; SOUSA E. C.; SILVA L. M.; LEAL P. C.; CANTANHEDE K. L. BEZERRA G. F. B.; VIANA G. M. C. Prevalence of infection by *Leishmania chagasi* using ELISA (rK39 and CRUDE) and Montenegro Skin Test in a endemic leishmaniasis area of Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**. v. 21, n. 6, p.1801-1807, 2005.

NÚCLEO DE METEOROLOGIA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO. Disponível em: https://www.nugeo.uema.br/?page_id=81. Acesso: agosto de 2024.

NUNES, V. L. B., GALATI, E. A. B., CARDOZO, C., ROCCA, M. E. G., ANDRADE, A. R. O. D., SANTOS, M. F. D. C., AQUINO, R. B. & ROSA, D. D. (2008). Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em área urbana do município de Bonito, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, 52, p. 446-451, 2008 Doi: <https://doi.org/10.1590/S0085-56262008000300019>

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE – OPAS. **SisLeish - Sistema de Informação para Vigilância, Prevenção e Controle da Leishmaniose**. 2022. Disponível em: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/56832/OPASCDEV220021_por.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 27 de outubro de 2023.

PAIVA, BYANCA REGINA DE. **Utilização da PCR na identificação de espécies de Leishmânias e do hábito alimentar em flebotomíneos (Díptera: Psychodidae) de regiões do Mato Grosso do Sul, Brasil**. 2009, 144f. Tese (Doutorado em Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro) - **Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/T.42.2009.tde-02022010-122140>.

PENHA, T. A.; SANTOS, A. C. G.; REBÊLO, J. M. M.; MORAES, J. L. P.; GUERRA, R. M.. Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em área endêmica de leishmaniose visceral canina na região metropolitana de São Luís-MA, Brasil. **Revista Biotemas**, [s.l.], v. 26 , n. 2. p. 121-127, jun. 2013. doi: [10.5007/2175-7925.2013v26n2p121](https://doi.org/10.5007/2175-7925.2013v26n2p121).

PREFEITURA, DE SÃO LUÍS. São Luís: uma leitura da cidade. **São Luís: Instituto de pesquisa e Planificação da cidade**, 2006. Disponível em: <https://www.saoluis.ma.gov.br>. Acesso em 12/11/2023.

RANGEL, E. F.; VILELA, M. L. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 12, p. 2948-2952, dez. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2008001200025>.

RANGEL, E. F.; LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil**. In: RANGEL, Elizabeth F.; LAINSON, Ralph (Orgs.). *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003. p. 368-368.

REBÊLO, J. M. M.; ARAÚJO, J. A. C. D.; CARVALHO, M. L.; BARROS, V. L. L., SILVA, F. S.; OLIVEIRA, S. T. D. Flebotomos (Diptera, Phlebotominae) da Ilha de São Luis, zona do Golfão Maranhense, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 3 , p. 247-253, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86821999000300005>

REBÊLO, J. M. M. Frequência horária e sazonalidade de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) na Ilha de São Luís, Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 17, n. 1, p. 221-227, 2001.

SHERLOCK, I. A. Importância Médico-Veterinária. In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. (Org.). **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, cap. 1, p. 15-22. 2003.

SHIMABUKURO, P. H. F.; ANDRADE, A. J.; GALATI, E. A. B. Checklist of American sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): genera, species, and their distribution. **ZooKeys**, v. 660, p. 67 - 106, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3897/zookeys.660.10508>.

SMITH, Eric P. Projeto BACI. **Enciclopédia de environmetria**, v. 1, p. 141-148, 2002. (ISBN 0471 899976)

SILVA R. A. E.; ANDRADE, A. J.; QUINT, B. B.; RAFFOUL, G. E. S.; WERNECK, G. L.; RANGEL, E. F.; ROMERO, G. A. S. Effectiveness of dog collars impregnated with 4% deltamethrin in controlling visceral leishmaniasis in *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) populations. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 2018 Mar 26;113(5):e170377. <https://doi.org/10.1590/0074-02760170377>

TEODORO, U.; LONARDONI, M. V. C.; SILVEIRA, T. G. V.; DIAS, A. D. C., ABBAS, M.; ALBERTON, D.; SANTOS, D. R. D. Luz e galinhas como fatores de atração de *Nyssomyia whitmani* em ambiente rural, Paraná, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, [s.l.], v. 41, n. 3, p. 383-388, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0034-89102007000300009>.

UNDERWOOD, A. J. Além do BACI: projetos de amostragem que podem detectar distúrbios ambientais de forma confiável. **Ecological applications**, v. 4, n. 1, p. 3-15, 1994. Doi: <https://doi.org/10.2307/1942110>

WARBURG, A.; FAIMAN, R. Prioridades de investigação para o controle de flebotomíneos. **Jornal de Ecologia de Vetores**, v.36, S10-S16, 2011.

WAUCHOPE, H. S., AMANO, T., GELDMANN, J., JOHNSTON, A., SIMMONS, B. I., SUTHERLAND, W. J., & JONES, J. P. Evaluating impact using time-series data. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 36, n. 3, p. 196-205, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2020.11.001>. Acesso em: 14 mar. 2025.

WEATHERSPARK. Condições meteorológicas características de São Luís, Maranhão, Brasil, em 18 de setembro. Disponível em: <https://pt.weatherspark.com/d/30549/9/16/Condições-meteorológicas-características-de-São-Luís-Maranhão-Brasil-em-16-de-setembro#Sections-Precipitation>. Acesso em: 28 jan. 2025.

WERNECK G.L. Avaliação da efetividade do uso das coleiras impregnadas com inseticida para o controle da leishmaniose visceral. Relatório Técnico Final (mimeo), p. 15, 2017.

WERNECK, G. L.; FIGUEIREDO, F. B.; CRUZ, M. S. P. Impact of 4% Deltamethrin-Impregnated Dog Collars on the Incidence of Human Visceral Leishmaniasis: A Community Intervention Trial in Brazil. *Pathogens*. v.13, n. 2, p.135, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pathogens13020135>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Leishmaniasis. Fact sheet. 2023. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1. Acesso em maio de 2023.

11.3 Manuscrito 3

Monitoramento entomológico de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) em duas regiões distintas na cidade de Caxias, área de alta transmissão para leishmaniose visceral, estado do Maranhão, Brasil

Autores: Infran O.M. Jucelei^{1, 2}, Casaril E. Aline¹, Barbosa E.P. Matheus², Fernandes S. Wagner³, Santos R.O. Luís Gustavo⁴, Silva P. M. Monique⁵, Galati A.B. Eunice⁶, Galvis-Ovallos Fredy⁶, Werneck L. Guilherme⁷, Cruz P. Maria do Socorro⁸, Oliveira G. Alessandra^{1,2,6*}

¹ Institute of Biosciences Federal, University of Mato Grosso do Sul, Brazil.

² Graduate Program in Infectious and Parasitic Diseases, Faculty of Medicine, Federal University of Mato Grosso do Sul, Brazil.

³ University Hospital Maria Aparecida Pedrossian - Brazilian Hospital Services Company/Federal University of Mato Grosso do Sul - Brazil

⁴ Institute of Ecology, Federal University of Mato Grosso do Sul, Brazil.

⁵ Health Secretary of Maranhão State, Brazil.

⁶ Epidemiology department, Faculty of Public Health, University of São Paulo, Brazil.

⁷ Institute of Public Health Studies, Federal University of Rio de Janeiro, Brazil.

⁸ Graduate Program of Applied Technologies to Animals of Regional Interest, Federal University of Piauí, Brazil.

*alessandra.oliveira@ufms.br

Resumo

Nas Américas, o Brasil é responsável por 96% dos casos notificados de leishmaniose visceral, e estima-se que esses casos estejam concentrados principalmente em 121 municípios, especialmente nos estados do Maranhão, Pará e Tocantins. No estado do Maranhão, o Ministério da Saúde considera o município de Caxias área prioritária para medidas de prevenção e controle. Portanto, o objetivo deste estudo foi caracterizar a fauna flebotomínea em dois ambientes distintos na área urbana de Caxias (MA). Os flebotomíneos foram coletados por três noites consecutivas com armadilhas luminosas tipo CDC, em 20 residências no intra e no peridomicílio, das 16h às 7h, entre agosto de 2021 e julho de 2023. Foram capturados 119.978 flebotomíneos distribuídos em 23 espécies, a seguir: *Bichromomyia flaviscutellata*, *Brumptomyia avellari*, *Br. brumpti*, *Evandromyia begoniae*, *Ev. bourrouli*, *Ev. evandroi*, *Ev. lenti*, *Ev. sallesi*, *Ev. saulensis*, *Ev. termitophila*, *Lutzomyia evangelistai*, *Lu. longipalpis*, *Lu. sherlocki*, *Micropygomyia longipennis*, *Mi. trinidadensis*, *Mi. villelai*, *Nyssomyia antunesi*, *Ny. whitmani*, *Psathyromyia aragaoi*, *Pa. bigeniculata*, *Pa. campbelli*, *Pa. hermanlenti*, e *Sciopemyia sordellii*. A região periférica próxima à borda da mata apresentou um maior número de espécies (n=23), enquanto na área central foram identificadas 15 espécies. A espécie mais abundante foi *Nyssomyia whitmani*, seguida por *Lutzomyia longipalpis*. Ambas possuem importância médica como vetores dos agentes etiológicos da leishmaniose visceral e da leishmaniose cutânea, respectivamente. Recomenda-se forte intensificação das ações de vigilância em saúde e controle no município de Caxias (MA).

Palavras Chaves: flebotomíneos, Caxias, Leishmanioses.

Abstract

Introduction: In the Americas, Brazil is responsible for 96% of the visceral leishmaniasis cases notified and it is estimated that they are concentrated mainly in 121 municipalities, mainly in the states of Maranhão, Pará, and Tocantins. In the Maranhão state, the Ministry of Health considers Caxias municipality a priority area for prevention and control measures. **Goal:** The study's objective was to characterize the sand fly fauna in the urban area of Caxias. **Materials and method:** The sand flies were collected over a three-night period between August 2021 and July 2023. The collection was conducted using automatic light traps (CDC-type) in both indoor and outdoor areas of 20 residences, from 4:00 pm to 7:00 am. **Results:** A total of 119.978 sandflies belonging to 23 species were identified. The following species were identified: *Bichromomyia flaviscutellata*, *Brumptomyia avellari*, *Br. brumpti*, *Evandromyia begonae*, *Ev. bourrouli*, *Ev. evandroi*, *Ev. lenti*, *Ev. sallesi*, *Ev. saulensis*, *Ev. termitophila*, *Lutzomyia evangelistai*, *Lu. longipalpis*, *Lu. sherlocki*, *Micropygomyia longipennis*, *Mi. trinidadensis*, *Mi. villedai*, *Nyssomyia antunesi*, *Ny. whitmani*, *Psathyromyia aragaoi*, *Pa. bigeniculata*, *Pa. campbelli*, *Pa. hermanlenti*, and *Sciopemyia sordellii*. The peripheral areas close to the forest edge had a higher number of species captured (n=23), while in the central area, the presence of 15 species was identified. The most abundant species was *Lutzomyia longipalpis*, followed by *Ny. whitmani*. Both species have medical significance as vectors of the etiological agents of VL and cutaneous leishmaniasis, respectively. It is strongly recommended that health surveillance and control efforts in the municipality be intensified.

Keywords: Phlebotomines, Caxias, *Lutzomyia longipalpis*, Leishmaniasis.

11.3.1 Introdução

No mundo, são descritas cerca de 1.060 espécies de flebotomíneos e dessas, aproximadamente, 30 são vetores de *Leishmania* spp. Nas Américas, esse número é de 550 e no Brasil foram registradas 216 espécies até 2023 (GALATI; RODRIGUES, 2023; SHIMABUKURO *et al.*, 2017). Dentre as espécies identificadas, seis estão associadas à transmissão de agentes causadores da leishmaniose cutânea (LC).

Um trabalho realizado por Rebêlo *et al.*, (2010), em um levantamento em diferentes regiões filogenéticas no estado do Maranhão, registrou 91 espécies de flebotomíneos no estado do Maranhão. A hipótese que justifica a grande diversidade de espécies no estado do Maranhão, é a presença de três biomas, o Cerrado, a caatinga e a Amazônia. Segundo o autor todas as espécies encontradas no Maranhão, com raras exceções, estão presentes na Bacia Amazônica (REBÊLO *et al.*, 1996).

Em Caxias (MA), investigações voltadas para o levantamento e monitoramento da fauna registraram uma considerável diversidade de espécies. Ribeiro da Silva *et al.* (2019) catalogaram 20 espécies na localidade, com destaque para *Lutzomyia longipalpis* e *Nyssomyia whitmani*, como as mais abundantes. Além disso, estudos subsequentes não apenas confirmaram a presença dessas duas espécies vetoras na área urbana do município, mas também relataram a detecção de *Leishmania infantum* por meio de análises moleculares (GUIMARÃES E SILVA *et al.*, 2012; NASCIMENTO *et al.*, 2013).

De acordo com Ministério da Saúde (2022), Caxias (MA) é categorizado como área de transmissão alta para LV e apresentou, entre 2018 e 2022, seis óbitos e 42 casos notificados (BRASIL, 2020).

Diante do número de casos e gravidade das leishmanioses este estudo visa descrever a fauna flebotomínica em duas áreas distintas em Caxias (MA), com ênfase nas espécies vetores dos agentes das leishmanioses.

11.3.2 Material e métodos

Área de estudo

O município de Caxias - MA ($4^{\circ}51'32''$ S e $43^{\circ}21'22''$ W), possui uma área de $5.201,927 \text{ km}^2$, está localizado ao leste do estado (**Figura 1**), apresenta uma população estimada de 166.159 habitantes (quinta mais populosa do estado) e densidade demográfica de $30,12 \text{ hab/km}^2$ (IBGE, 2021). É um dos maiores centros econômicos do estado em decorrência de seu grande desempenho industrial, comércio e serviços. Sua vegetação compreende uma região de transição entre a Zona dos Cocais, a Pré-Amazônica e o Cerrado onde são encontrados os babaçuais, densos e puros, cerrados, matas de galeria ou ciliares até uma vegetação composta de matas secas denominada na região de "carrasco". O clima é quente na maior parte do ano com temperaturas que variam entre 23°C e 37°C e precipitação de entre 1.100 e 1.500 mm anuais (BRASIL, 2005).

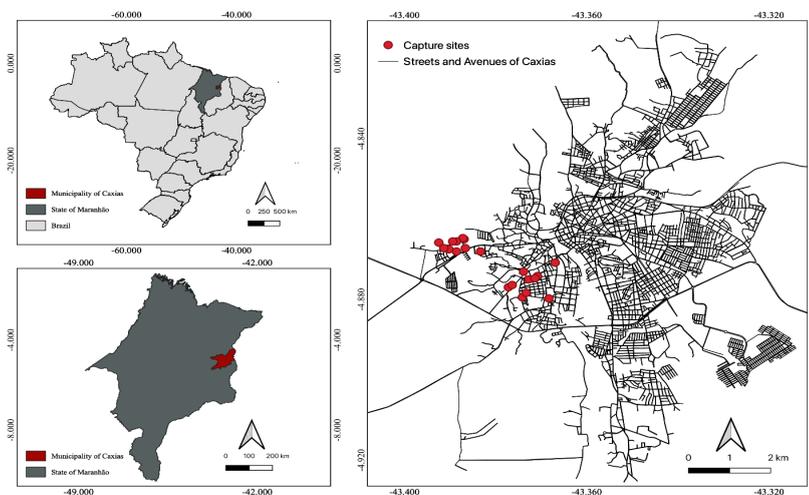


Figura 1. Mapa mostrando a localização da área de estudo, município, área urbana de Caxias, MA, Brasil e localização dos pontos de coleta. Os pontos em vermelho representam a localização dos pontos de coleta (Fonte: Fernandes, 2024).

Coleta de flebotômico

As coletas ocorreram de agosto de 2021 a julho de 2023, abrangendo duas áreas distintas: uma situada próxima à mata e outra localizada na região central, ambas com dez pontos cada.

Os pontos de coleta foram selecionados por meio de sorteio, em colaboração com as Secretarias do estado e do município. Os critérios para a seleção dos pontos e das áreas de coleta envolveram indicadores de vulnerabilidade social e ambiental — como renda, alfabetização, coleta de lixo, abastecimento de água e esgotamento sanitário, além de indicadores de risco de transmissão de *Leishmania* spp., como a ocorrência de casos humanos e caninos.

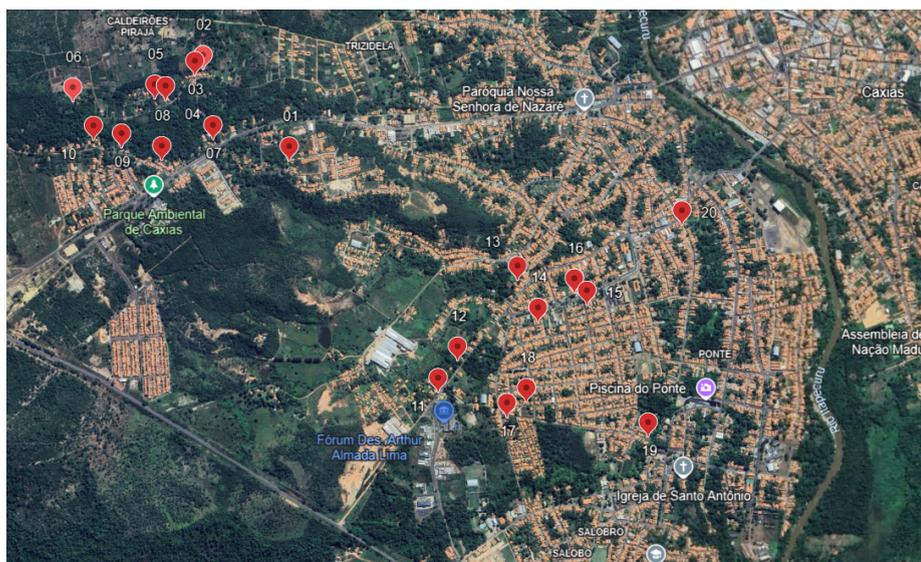


Figura 2. Pontos de captura de flebotomíneos, do 1 ao 10 (borda de mata) e 11 ao 20 (área central), entre agosto de 2021 e agosto de 2023, Caxias, Maranhão, Brasil. Fonte: [Google Earth](#).

Armadilhas automáticas luminosas do tipo CDC foram instaladas das 16h às 7h. As coletas foram mensais, durante três noites consecutivas no intradomicílio e peridomicílio no período de 24 meses (20 pontos x 2 armadilhas) x 3 noites x 24 meses x 16 horas = 46.080 horas de esforço amostral.

Os insetos foram eutanasiados com éter, triados por sexo e, em seguida, colocados em tubos de 1,5 mL, devidamente etiquetados (data da coleta, a cidade de origem, intra ou peridomiciliar). Para a identificação dos espécimes foram utilizadas as estruturas da cabeça, tórax e abdômen, com ênfase dada às genitálias, seguindo a classificação de acordo com Galati (2023). Para diferenciar o nível de adaptação das principais espécies de importância médica coletadas neste trabalho, foi calculado o índice de constância (IC) com o objetivo de avaliar a frequência de ocorrência da espécie estudada por ponto de coleta. O cálculo foi realizado utilizando a fórmula proposta por Dajoz (1983), considerando a proporção de coletas em que espécie analisada foi registrada (coletas positivas) em relação ao total de coletas realizadas. De

acordo com o resultado dessa análise, as espécies foram classificadas como constantes ($IC > 50\%$), acessórias ($25\% < IC \leq 50\%$) ou acidentais ($IC \leq 25\%$).

$$IC = (n \times 100) / N$$

n = número de coletas positivas mensais por ponto de coleta.

N = número total de coletas realizadas na pesquisa.

A quantidade e a presença de cães, galinhas e outros animais de cada ponto de coleta foram registradas, bem como a mata ao entorno e iluminação noturna no quintal foram notificadas.

Aspectos éticos

O grupo de estudo possui Licença Permanente para Coleta de Material Zoológico, emitida pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis em nome de Alessandra Gutierrez de Oliveira (IBAMA: SISBio 25592-2).

9.3.3 Resultados e discussão

Um total de 119.978 espécimes foram coletados e distribuídos em 23 espécies (**Tabela 1**).

Neste estudo, realizado em Caxias (MA), foram identificadas duas espécies vetoras de agentes da leishmaniose cutânea (LC): *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) e *Bichromomyia flaviscutellata* (Mangabeira, 1942). Além dessas, foi registrada a presença de *Nyssomyia antunesi*, espécie incriminada como possível vetor. Também foi registrada no município, a presença de *Lutzomyia longipalpis*, principal vetor de *Leishmania infantum*, agente etiológico da leishmaniose visceral (LV) nas Américas (BRASIL, 2017; LAINSON, 2010; RANGEL & LAINSON, 2003)

As espécies mais abundantes foram *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) com 63.238 (52,70%), seguida de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) com 53.817 (45,91%) exemplares, *Evandromyia evandroi* (Costa Lima & Antunes 1936) com 839 (0,69%) e *Evandromyia lenti* (Mangabeira, 1938) com 359 (0,29%). Os

números de exemplares, segundo sexo, dessas e as demais espécies podem ser observadas na tabela 1.

Tabela 1 – Espécies de flebotomíneos coletadas com armadilha luminosa CDC, por sexo e ecótopos, em Caxias, estado do Maranhão, de agosto de 2021 a julho de 2023.

Espécies	intradomicílio			Peridomicílio			Total
	M	F	subtotal	M	F	subtotal	
<i>Bichromomyia flaviscutellata</i>	-	1	1	3	8	11	12
<i>Brumptomyia avellari</i>	6	3	9	20	16	36	45
<i>Brumptomyia brumpti</i>	-	2	2	2	-	2	4
<i>Evandromyia bourrouli</i>	2	-	2	1	-	1	3
<i>Evandromyia evandroi</i>	34	87	121	400	318	718	839
<i>Evandromyia lenti</i>	23	18	41	217	101	318	359
<i>Evandromyia sallesi</i>	1	1	2	4	3	7	9
<i>Evandromyia saulensis</i>	1	-	1	-	2	2	3
<i>Evandromyia termitophila</i>	1	-	1	11	7	18	19
<i>Lutzomyia evangelistai</i>	5	-	5	-	5	5	10
<i>Lutzomyia sherlocki</i>	-	-	-	1	21	22	22
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	3.393	1.733	5.126	37.766	12.193	49.959	55.085
<i>Micropygomyia longipennis</i>					1		1
<i>Micropygomyia trinidadensis</i>	68	40	108	57	32	89	197
<i>Micropygomyia vilhelai</i>	1	-	1	-	1	1	2
<i>Nyssomyia antunesi</i>	5	-	5	15	18	33	38
<i>Nyssomyia whitmani</i>	1.823	1.155	2.978	41.147	19.113	60.260	63.238
<i>Psathyromyia aragai</i>	2	-	2	-	2	3	4
<i>Psathyromyia bigeniculata</i>	-	-	-	5	-	5	5
<i>Psathyromyia campbelli</i>	-	-	-	-	1	1	1
<i>Psathyromyia hermanlenti</i>	8	3	11	26	6	32	43
<i>Psychodopygus amazonensis</i>	-	-	-	-	4	4	4
<i>Sciopemyia sordellii</i>	1	14	15	6	14	20	35
Total	5.374	3.057	8.431	79.681	31.866	111.547	119.978

Os dados apresentados nas tabelas 2A e 2B indicam que a borda da mata possui uma densidade de flebotomíneos superior à observada na área urbanizada. Esses achados podem ser atribuídos à disponibilidade de fontes alimentares e criadouros naturais. Ademais, é importante considerar as consequências das alterações no ambiente natural, especialmente aquelas de origem antrópica. A significativa remoção da cobertura vegetal pode ter levado ao deslocamento de

animais silvestres de grande porte, que anteriormente serviam como fontes alimentares para esses dípteros. Como consequência, esses insetos começaram a buscar fontes alternativas de sangue no ambiente periurbano, o que resultou em uma maior proximidade com as habitações humanas e, por conseguinte, elevou o risco de transmissão por *Leishmania*. Esse resultado é evidenciado pela maior densidade de flebotomíneos observada no peridomicílio em comparação com o intradomicílio (FIALHO et al., 2025; PEZENTE, et al., 2019).

Tabelas 2A e 2B. Total de flebotomíneos coletados de agosto de 2021 a julho de 2023, nos dez pontos da borda da mata (tabela A) e nos dez pontos da área urbanizada (tabela B), intra e peridomicílio, machos e fêmeas. Caxias (MA), Brasil.

(A)	Intradomicílio				Peridomicílio			Total
	Pontos	M	F	subtotal	M	F	subtotal	
Borda da mata	1	192	84	276	505	159	664	940
Borda da mata	2	492	339	831	19.488	7.420	26.908	27.739
Borda da mata	3	332	140	472	5.555	1.897	7.452	7.924
Borda da mata	4	231	78	309	1145	666	1.811	2.120
Borda da mata	5	343	223	566	2.289	685	2.974	3.540
Borda da mata	6	1198	1011	2.209	29.208	15.115	44.323	46.532
Borda da mata	7	334	154	488	3.892	1.351	5.243	5.731
Borda da mata	8	23	15	38	432	73	505	543
Borda da mata	9	23	16	39	136	95	231	270
Borda da mata	10	169	72	241	1.648	602	2.250	2.491
Total		3.337	2.132	5.469	64.298	28.063	92.361	97.830

(B)	Intradomicílio				Peridomicílio			Total
	Pontos	M	F	subtotal	M	F	subtotal	
Área urbanizada	11	68	39	107	2.505	537	3.042	3.149
Área urbanizada	12	922	388	1.310	2592	461	3.053	4.363
Área urbanizada	13	183	73	256	1.235	451	1.686	1.942
Área urbanizada	14	46	11	57	92	42	134	191
Área urbanizada	15	240	140	380	951	358	1.309	1.689
Área urbanizada	16	180	138	318	1.047	151	1.198	1.516
Área urbanizada	17	211	62	273	4.292	1.091	5.383	5.656
Área urbanizada	18	29	23	52	103	38	141	193
Área urbanizada	19	27	17	44	898	255	1.153	1.197
Área urbanizada	20	130	35	165	1.669	418	2.087	2.252
Total		2.036	926	2.962	15.384	3.802	19.186	22.148

Ao longo dos dois anos de pesquisa, as espécies mais abundantes, *Ny. whitmani* e *Lu. longipalpis*, foram registradas em todos os meses de coleta e em todos os vinte pontos amostrados em Caxias (MA), 10 na área urbanizada e 10 na borda de mata. Na tabela 3, pode-se observar que o número desses vetores foi expressivamente maior no peridomicílio. Esse padrão sugere que ambas as espécies tendem a se concentrar no entorno das residências, possivelmente devido à presença de abrigos e fontes de alimento (animais domésticos e silvestres próximos às residências). Esse relato é fundamental, considerando o papel das espécies na transmissão dos patógenos de LV e LT sucessivamente. Outro ponto importante é a capacidade de adaptação de ambas espécies, o que significa que mesmo em áreas onde a vegetação nativa foi reduzida, o ciclo de transmissão das *leishmanias* pode continuar (DESJEUX, 2004; DIAS *et al.*, 2003; GUIMARÃES e SILVA, *et al.*, 2017; REBÊLO *et al.*, 2001, 2000). Vale salientar que *Lu. longipalpis* foi mais frequente na área urbanizada (83%) e *Ny. whitmani* na borda da mata (62%)

Tabela 3. Distribuição de *Lutzomyia longipalpis* e *Nyssomyia whitmani*, entre agosto de 2021 a julho de 2023, no intra e no peridomicílio, em diferentes pontos de coleta, divididos entre borda da mata e área urbanizada. Caxias (MA), Brasil.

Áreas	Pontos	<i>Lu. longipalpis</i>			<i>Ny. whitmani</i>		
		Intra	Peri	Subtotal	Intra	Peri	Subtotal
Borda da mata	1	221	503	724	43	138	181
Borda da mata	2	202	12.981	13.183	609	13.817	14.426
Borda da mata	3	332	3.246	3.578	119	3.941	4.060
Borda da mata	4	83	624	707	217	1.020	1.237
Borda da mata	5	416	855	1.271	16	2.091	2.107
Borda da mata	6	868	11.964	12.832	1.228	31.978	33.206
Borda da mata	7	352	2.516	2.868	115	2.695	2.810
Borda da mata	8	18	368	386	16	128	144
Borda da mata	9	8	68	76	30	139	169
Borda da mata	10	153	1.066	1.219	67	1.159	1.226
Área urbanizada	11	97	2.776	2.873	7	246	253
Área urbanizada	12	1.032	1.588	2.620	262	1.412	1.674
Área urbanizada	13	232	1555	1.787	20	107	127
Área urbanizada	14	55	121	176	1	10	11
Área urbanizada	15	355	1.151	1.506	20	126	146
Área urbanizada	16	201	525	726	113	668	781
Área urbanizada	17	249	4770	5.019	19	572	591
Área urbanizada	18	51	131	182	-	7	7
Área urbanizada	19	41	1137	1.178	2	8	10
Área urbanizada	20	160	2014	2.174	4	68	72
Total		5.126	49.959	55.085	2.908	60.330	63.238

A presença de *Lu. longipalpis* no peridomicílio é um fator de preocupação para a saúde pública, pois indica um maior risco de transmissão de *Leishmania infantum* em áreas habitadas. Antes considerada uma espécie de hábitos silvestres, sua adaptação ao ambiente periurbano foi impulsionada por modificações ambientais causadas pela ação humana, como desmatamento, urbanização desordenada e a presença de animais domésticos, que fornecem fontes de alimentação e abrigo. Essa mudança comportamental aumentou sua proximidade com a população humana, favorecendo a incidência da leishmaniose visceral (ALVAR et al., 2008; VAN GRIENSVEN, et al., 2014).

Podendo ser encontrada em matas, fragmentos de matas e no peridomicílio urbano, alimentando-se de animais silvestres, cães aves, *Nyssomyia whitmani* (é a espécie vetora de *Leishmania braziliensis*, *Leishmania guyanensis* e *Leishmania*

shawi, parasitas responsáveis pela leishmaniose cutânea (LC). A infecção determina uma doença estigmatizante, podendo promover diversas manifestações clínicas, como lesões ulcerosas indolores, múltiplas ou únicas. Além disso, o parasita pode se disseminar e causar inflamações severas na região nasofaríngea, causando perfuração do palato mole, septo nasal, lábios e outros. Esta doença está em franca expansão e segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (2022) é considerada um grave problema em saúde pública (AL-KAMEL, 2017; LAINSON, 2010).

Segundo dados obtidos por meio do TABNET-DATASUS, de 2020 a 2022, foram registrados 55 casos de LC no município de Caxias (MA) que apresenta uma taxa de infecção média para esta morbidade (BRASIL, 2020; TABNET-DATASUS, 2023).

A coexistência de *Lutzomyia longipalpis* e *Nyssomyia whitmani*, especialmente nos pontos 17 e 12 (área urbanizada) e 6 e 2 (borda da mata) (Figura 3), representa um risco significativo para a população. O fato pode ser explicado pela disponibilidade de recursos essenciais para a reprodução e a sobrevivência desses flebótomos, aliada à comprovada plasticidade de *Lu. longipalpis* e à capacidade de *Ny. whitmani* de ocupar tanto ambientes peridomésticos quanto silvestres (BRAZIL; BRAZIL, 2003; GALATI, 2003; SILVA-NUNES et al., 2008; TEODORO et al., 2007)

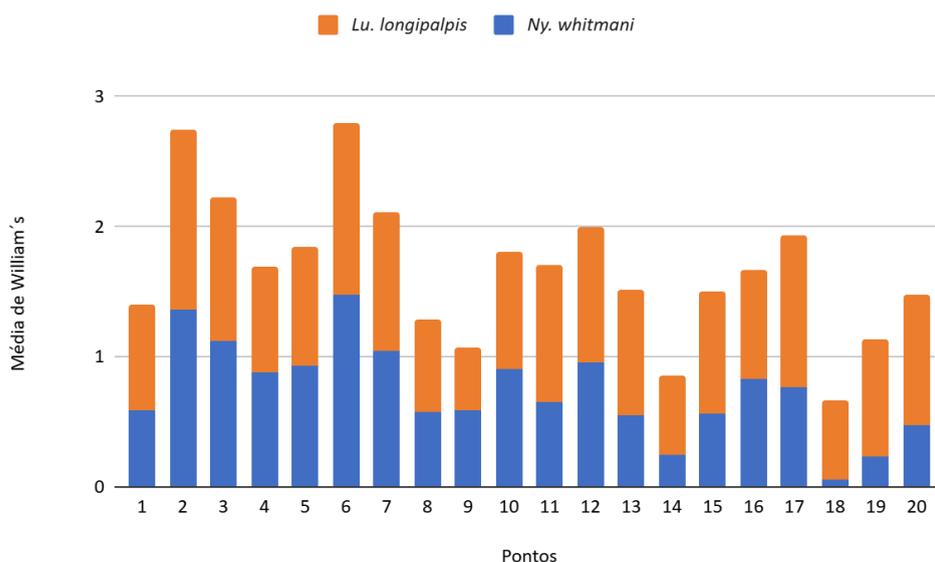


Figura 3. Frequência mensal (média de William's) das espécies *Lu. longipalpis* e *Ny. whitmani*, em áreas de borda de mata (1 ao 10) e área central (11 ao 20), em Caxias - MA, Brasil, de 2021 a 2023.

O índice de constância de *Lu. longipalpis* foi superior a 50%, sendo registrada em 19 dos 20 pontos de coleta. De acordo com Dajoz (1983) esta espécie é classificada como constante (IC= > 50%) tanto na área urbanizada, quanto na borda da mata (Tabela 4). Esse resultado reforça o comportamento oportunista da espécie, que lhe permite explorar condições favoráveis tanto em áreas urbanas quanto em áreas silvestres (COSTA, 2011; MARINHO *et al.*, 2008; LAINSON E RANGEL, 2005; REBÊLO, 2001).

Já o índice de constância (IC) de *Ny. whitmani* apresentou variação entre os diferentes ambientes amostrados (Tabela 5). Na borda da mata, o IC variou de 100% a 41%, com apenas três pontos de coleta apresentando valores do IC inferiores a 50%. Sua ocorrência foi constante na maioria dos pontos, mas com flutuações provavelmente associadas a fatores ambientais locais. Na área central, observou-se uma ampla variação no IC, de 95% a 8%, classificando a espécie como acessória e acidental em metade dos pontos (DAJOZ, 1983).

A presença de iluminação artificial nos quintais, associada à criação de galináceos nas duas áreas de estudo (Tabelas 5 e 6) não foram determinantes para a ocorrência de *Lu. longipalpis* e nem para *Ny. whitmani* em nossos resultados. Em todos os pontos de coleta, registrou-se a presença de galinhas (mais de 20 por ponto), e, nos locais com maior abundância desses dípteros e os mais elevados índices de constância (IC) as residências não possuíam iluminação artificial noturna. Esse padrão difere do resultado observado por Teodoro *et al.* (2007) quando analisou o comportamento de *Ny. whitmani*, em ambiente rural no Paraná.

O estado do Maranhão apresenta uma grande diversidade de espécies. As hipóteses que podem explicar essa riqueza são: a confluência de três biomas no estado (amazônica, cerrado e caatinga) e a grande diversidade de flebotomíneos na Bacia Amazônica (AGUIAR; MEDEIROS, 2003). Caxias (MA), apesar de sua localização não ocupar a confluência dos três biomas, sendo totalmente imersa no bioma Cerrado, o total de espécies coletadas neste estudo representa 25% do total de espécies relatadas em diferentes regiões fitogeográficas no estado do Maranhão por Rebêlo e colaboradores (2010). Em 2019, Ribeiro da Silva et al (2019) registraram em Caxias 20 espécies, também com o predomínio de *Lu. longipalpis* e *Ny. whitmani*.

A tabela 6, apresenta a distribuição de espécies de flebotomíneos coletados em diferentes pontos na borda da mata e na área urbanizada. As observações importantes incluem a diversidade de espécies por ambiente, com destaque para a borda da mata que apresentou um número maior de espécies, indicando que possivelmente esse ambiente pode oferecer condições mais adequadas às diferentes espécies de flebotomíneos. Vale salientar que existem vetores importantes circulando em ambas às áreas, é o caso de *Lu. longipalpis*, principal vetor do agente de LV e *Ny. whitmani* e *Bichromomyia flaviscutellata*, as duas espécies envolvidas na transmissão de patógenos de LT. Esses resultados reforçam a importância do monitoramento em ambas localidades (BRAZIL; RODRIGUES; ANDRADE-FILHO, 2015; DA COSTA et al., 2018; DE OLIVEIRA FALCÃO; BRAZIL, 2000; DORVAL et al. 2010).

Tanto na área urbanizada quanto na área de borda de mata os pontos com maior número de flebotomíneos e de diversidade de espécies estão próximos à mata ou a fragmentos de mata. Esses dados evidenciam que a diversidade está diretamente relacionada à conservação de áreas naturais (MARINHO et al., 2008; AZEVEDO et al., 2011; CAMPOS et al., 2013). É o caso dos pontos 12 e 17, localizados na área urbanizada, nestes pontos foram notificadas nove espécies cada uma. Os pontos seis e dois localizados na borda da mata, registraram 21 e 13 espécies respectivamente (Tabela 6).

Tabela 6. Distribuição das espécies de flebotomíneos de acordo com os pontos de coleta, na borda de mata (1 ao 10) e na área urbanizada (11 ao 20) no município de Caxias, estado do Maranhão, Brasil, de agosto de 2021 a julho de 2023.

Espécies	Borda da mata										Área urbanizada										
	Pontos										Pontos										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
<i>Bi. flaviscutellata</i>		x				x	x					x					x	x			
<i>Br. avellari</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	X
<i>Br. brumpti</i>					x	x											x				
<i>Ev. bourrouli</i>					x	x															
<i>Ev. evandroi</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x		X
<i>Ev. lenti</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x		X
<i>Ev. sallesi</i>													x							x	
<i>Ev. saulensis</i>					x	x															
<i>Ev. termitophila</i>		x	x			x					x	x			x						
<i>Lu. sherlocki</i>			x	x	x	x	x			x											
<i>Ev. evangelistai</i>			x			x				x											
<i>Lu. longipalpis</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	X
<i>Mi. longipennis</i>						x															
<i>Mi. trinidadensis</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x				X
<i>Mi. villelai</i>		x				x															
<i>Ny. antunesi</i>	x	x		x	x	x	x	x	x	x										x	
<i>Ny. whitmani</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	X
<i>Pa. aragaoi</i>	x	x		x																	
<i>Pa. bigeniculata</i>			x																		
<i>Pa. campbelli</i>						x															
<i>Pa. hermanlenti</i>		x	x	x	x																
<i>Ps. amazonensis</i>			x			x								x							
<i>Sc. sordellii</i>	x	x	x	x	x	x	x	x		x		x	x				x	x			X
Total	9	13	13	11	13	19	10	8	7	10	7	9	8	6	7	6	9	5	7	7	

(Bi) *Bichromomyia*, (Br) *Brumptomyia*, (Ev) *Evandromyia*, (Lu) *Lutzomyia*, (Mi) *Micropygomyia*, (Mg) *Migonemyia*, (Ny) *Nyssomyia*, (Pa) *Psathyromyia*, (Ps) *Psychodopygus*, (Sc) *Sciopemyia*

A diversidade, pode indicar uma proximidade entre as populações de flebotomíneos de áreas urbanizadas, de borda e os de mata. Nossos resultados demonstraram que algumas espécies não se restringem exclusivamente a ambientes de mata, sendo notificadas também na área central. Um percentual de 52% das espécies circula tanto na área de mata quanto na área central, 9% apenas

na área urbanizada e 39% na área de borda da mata (Figura 4) (BARATA et al., 2005; CAMPOS et al., 2013; MARINHO et al., 2008; REBÊLO et al., 2000).

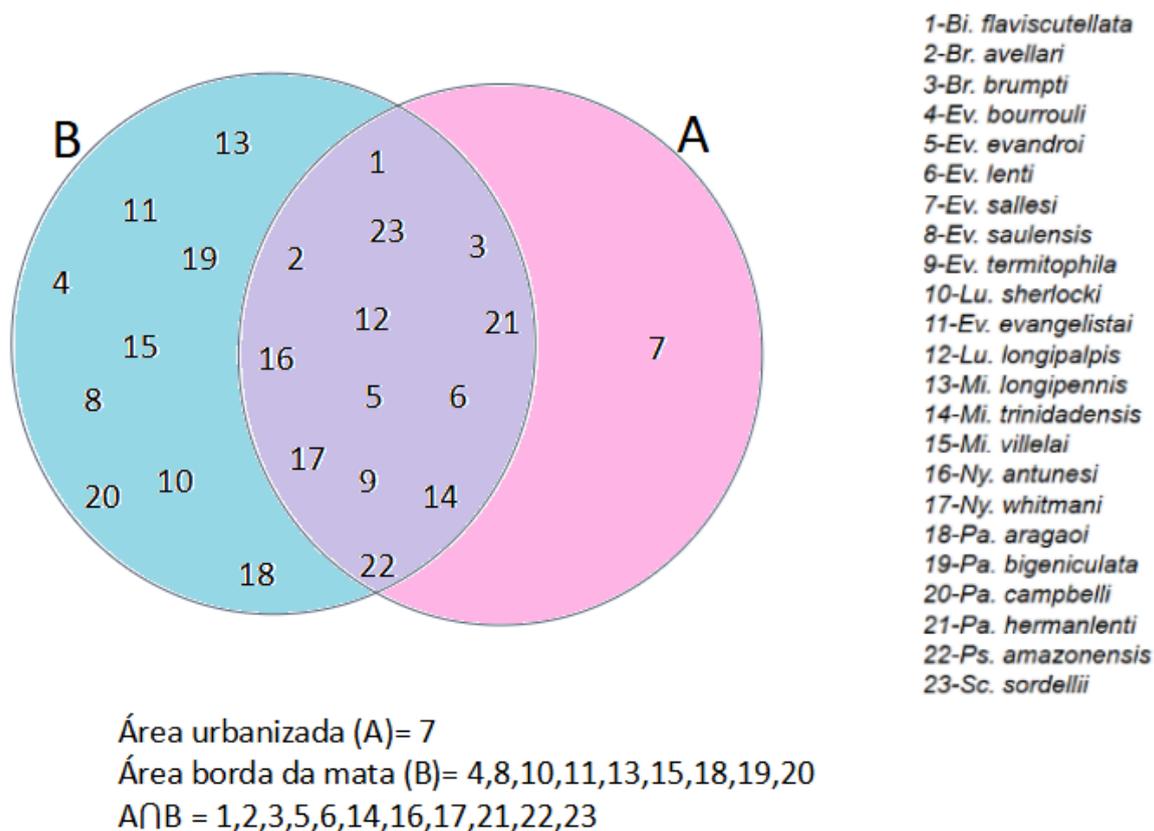


Figura 4. Distribuição de espécies de flebotomíneos que nas áreas urbanizadas e de borda e da mata em Caxias, MA, Brasil, de 2012 a 2023.

Este evento de intersecção entre as espécies é resultante das mudanças ambientais promovidas pelo homem, que aumenta a exposição da população a outras espécies de flebotomíneos, o que pode ser um risco de infecção por *Leishmania* spp. (DE CASTILHO SANGUINETTE, et al., 2015). Um exemplo é *Nyssomyia antunesi*, que, apesar do baixo número de indivíduos registrados neste estudo, foi encontrada em ambas as áreas de coleta. Essa espécie é reconhecida como vetor de *Leishmania lindenbergi*, agente causador da LC na região amazônica (CARVALHO et al., 2018; CHAGAS et al., 2018; SANTOS et al., 2019).

A possibilidade de outras espécies estarem envolvidas na transmissão do agente da leishmaniose visceral (LV), especialmente em áreas endêmicas, requer

mais estudos de infecção natural, bem como de detecção molecular. Já há relatos da presença de DNA de *Leishmania infantum* em *Ny. whitmani* e *Ev. evandroi* (SILVA, 2016), em *Evandromyia sallesi* e *Ev. termitophila* (SARAIVA et al., 2009), e *Ev. lenti* (SANGUINETTE, 2011). Todas essas espécies foram coletadas em Caxias (MA), reforçando a importância de mais investigações sobre a dinâmica de transmissão do agente em diferentes contextos que podem incluir ambientes geográficos e ecológicos, as condições climáticas, fatores sociais e econômicos, densidade populacional e presença de animais domésticos.

Caxias (MA), apesar de ter quase 200 anos, ainda possui áreas de mata preservadas dentro da área urbanizada. Na Figura 5 pode-se observar a presença de bolsões de vegetação. Esses fragmentos de mata urbanos, oferecem condições ideais à sobrevivência de diversas espécies de dípteros, mesmo em área urbana, como a presença de umidade, sombra, de matéria orgânica e abrigos naturais (CASANOVA; NATAL, 2005; MORRISON *et. al.*, 1993a; De OLIVEIRA et al., 2013).

Para as espécies que não estão totalmente adaptadas ao ambiente doméstico, os fragmentos de mata funcionam como corredores ecológicos naturais. Esses corredores são elementos lineares de vegetação que conectam fragmentos de habitat, facilitando a movimentação de organismos entre áreas isoladas. As curtas distâncias entre os fragmentos sugerem que os organismos percebam o ambiente fragmentado como um único grande habitat, e que promove a redução dos efeitos negativos da fragmentação, promovendo a persistência de espécies (RIBEIRO et al., 2022; COLLINGE, S. K., 1998). A hipótese que justifica a diversidade de espécies coletadas na área urbanizada de Caxias, são os fragmentos de mata que permitem o deslocamento de flebotomíneos entre áreas florestais e peri-residenciais, sugerindo-se que um processo de transição ecológica pode estar em andamento. Esses insetos, provavelmente, utilizam os abrigos presentes nesses fragmentos e se movem até o peridomicílio, possivelmente em busca de fontes alimentares, retornando posteriormente aos seus refúgios. Em nossos resultados, 11 das 23 espécies (48%), foram coletadas tanto na área central como na borda da mata.



Figura 5. Imagem de satélite, área central de Caxias (MA), Brasil. De 2021 a 2023. Fonte: [Google Earth](#), 2024.

O processo descontrolado de urbanização, o crescimento populacional, a carência de serviços públicos, as más condições de vida e as migrações para as periferias dos municípios têm gerado um ambiente ideal para o ciclo zoonótico das leishmanioses, segundo RANGEL e VILELA (2008). Caxias (MA) apresentou um crescimento populacional significativo de 11,6% nos últimos 20 anos (IBGE, 2022), o que pode ter contribuído para a expansão de áreas urbanas e periurbanas sem o devido planejamento, favorecendo a proliferação de vetores e a manutenção da transmissão de *Leishmania* spp. Esse cenário reforça a importância de políticas públicas voltadas para o controle ambiental e entomológico, bem como a necessidade de infraestrutura adequada para reduzir o risco de disseminação dessas morbidades.

11.3.4 Conclusões

Fatores antrópicos e ambientais favorecem a proliferação de flebotomíneos em Caxias (MA), onde o grande número de exemplares de *Lu. longipalpis* e *Ny. whitmani* exige um monitoramento entomológico contínuo, aliado a estratégias de controle e prevenção. Além disso, os fragmentos de mata na área central podem estar atuando como corredores ecológicos, facilitando a presença de espécies que ainda não estão totalmente adaptadas a ambientes peridomiciliares. Diante da complexidade da transmissão de *Leishmania* spp. e da diversidade de flebotomíneos na região, torna-se essencial a investigação de outras possíveis espécies vetoras.

11.3.5 Referências

AGUIAR, G. M.; MEDEIROS, W. M. Distribuição regional e habitats das espécies de flebotomíneos do Brasil. In: RANGEL, E.; LAINSON R. **Flebotomíneos do Brasil**, Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003. p. 207-255. Id: [id:lil-359666](#)

AL-KAMEL, M. A. Stigmata in cutaneous leishmaniasis: Historical and new evidence-based concepts. **Our Dermatology Online**, v. 8, n. 1, p. 81, 2017. Doi: [10.7241/ourd.20171.21](#)

ALVAR, J.; APARICIO P.; ASEFFA A.; BOER M. DEN.; CAÑAVATE C. DEDET J. P.; GRADONI L.; HORST R.TER.; LÓPEZ-VÉLEZ R.; MORENO J. The relationship between leishmaniasis and AIDS: The second 10 years. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 21, p. 334–359, 2008. Doi: [10.1128/CMR.00061-07](#).

ANDRADE, M. S.; COURTENAY, O.; F. BRITO, M. E.; CARVALHO, F. G.; CARVALHO, A. W. S.; SOARES, F., ... & BRANDÃO-FILHO, S. P. A infectividade de pequenos roedores silvestres e sinantrópicos implica um reservatório multi-hospedeiro de *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **PLoS doenças tropicais negligenciadas** , v.9 n.10, p. e0004137, 2015. Doi: [10.1371/journal.pntd.0004137](#)

ÁVILA, M. M.; BRILHANTE, A. F.; DE SOUZA, C. F. Ecologia, alimentação e infecção natural por *Leishmania* spp. de flebotomíneos em uma área de alta incidência de leishmaniose tegumentar americana no município de Rio Branco, Acre, Brasil. **Parasitas Vetores**, v. 11, n. 64, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2641-y>

AZEVEDO, P. C. B.; LOPES, G. N.; FONTELES, R. S.; VASCONCELOS, G. C.; MORAES, J. L. P.; REBÊLO, J. M. M. O efeito da fragmentação nas comunidades de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em áreas de floresta ombrófila em São Luís, estado do Maranhão, Brasil. **Entomologia Neotropical**, [s.l.], v. 40, n. 2, p. 271-277, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2011000200018>

BARATA, R. A.; FRANÇA-SILVA, J. C.; MAYRINK, W.; SILVA, J. C. D.; PRATA, A.; LOROSA, E. S.; DIAS, E. S. Aspectos da ecologia e do comportamento de flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose visceral, Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s.l.], v. 38, n. 5 , p. 421-425, set./out. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822005000500012>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Leishmaniose visceral: recomendações para a vigilância, atenção e controle de vetores**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2017. 190 p. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/periodicos/ccs_artigos/vigilancia_leishmaniose_visce ral.pdf

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. (2020). Estratificação de risco para Leishmaniose Visceral: 2022 a 2024. **Ministério da Saúde**. Disponível em https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/leishmaniose-visceral/situa cao-epidemiologica/publicacoes/estratificacao_lv_22a24.pdf, Acesso em julho de 2024.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. (2020). Estratificação de risco para Leishmaniose Cutânea 2021 a 2023. **Ministério da Saúde**. Disponível em : <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/lt/estratificacao-de-risco/estratificacao-de-risco-da-leishmaniose-tegumentar-por-municipio-de-infeccao-brasil-2021-a-2023.pdf/view>, Acesso em julho de 2024.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Panorama**: população de Caxias. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ma/caxias/panorama>. Acesso em: 12 ago. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. DATA SUS. **Tabnet**. Brasília, DF: Ministério da Saúde 2023. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?sinannet/cnv/ltabr.def>. Acesso em: 01 nov. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Leishmaniose**. [S./]. 2022. Disponível em: <https://bvsmis.saude.gov.br/leishmaniose-2/>. Acesso em: Novembro, 2023.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. Plano Diretor do Município de Caxias – MA. Brasília, DF: MDR, 2005. Disponível em: https://www.mdr.gov.br/>Caxias_Anexo02MA . Acesso em: 30 jan. 2025.

BRAZIL, R. P.; BRAZIL, B. G. **Flebotomíneos do Brasil**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003.

BRAZIL, R. P.; RODRIGUES, A. A. F.; ANDRADE FILHO, J. D. Flebotomíneos vetores de Leishmania nas Américas - uma mini revisão. **Entomologia, Ornitologia & Herpetologia**, v. 4, n. 2, p. 1, 2015.

CAMPOS, A. M.; MATAVELLI, R.; DOS SANTOS, C. L. C.; MORAES, L. S.; & REBÊLO, J. M. M. Ecology of phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in a transitional area between the Amazon and the Cerrado in the state of Maranhão, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 50, n. 1, p. 52-58, 2013. <https://doi.org/10.1603/ME12074>

CARVALHO, B. M.; DOS SANTOS, T. V.; DA R. BARATA, I.; LIMA, J. A. N.; SILVEIRA, F. T.; VALE, M. M.; RANGEL, E. F. Entomological surveys of *Lutzomyia flaviscutellata* and other vectors of cutaneous leishmaniasis in municipalities with records of Leishmania amazonensis within the Bragança region of Pará State, Brazil. **Journal of Vector Ecology**, [s./] v. 43, n. 1, p. 168-178. jun. 2018. Doi: [10.1111/jvec.12296](https://doi.org/10.1111/jvec.12296)

CASANOVA, C.; COSTA, A. I. P.; NATAL, D. Dispersal pattern of the sandfly *Lutzomyia neivai* (Diptera: Psychodidae) in cutaneous leishmaniasis endemic rural area northeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 100, n. 7, p. 719-724, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762005000700006>

CHAGAS, E. C. D. S.; SILVA, A. S.; FÉ, N. F.; FERREIRA, L. S.; SAMPAIO, V. D. S.; TERRAZAS, W. C. M.; GUERRA, M. G. V. B. Composition of sand fly fauna (Diptera:

Psychodidae) and detection of *Leishmania* DNA (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in different ecotopes from a rural settlement in the central Amazon, Brazil. **Parasites & vectors**, [s.l.] v. 11, n. 180, p. 1-10. mar. 2018. [Doi: 10.1186/s13071-018-2743-6](https://doi.org/10.1186/s13071-018-2743-6)

COLLINGE, S. K. Arranjo espacial de manchas e corredores de habitat: pistas de experimentos ecológicos de campo. **Landscape and Urban Planning**, v.42 n. 2-4, p.157-168, 1998.

COSTA, P. L. Comportamento da fauna de flebotomíneos com ênfase em *Lutzomyia longipalpis*, em área endêmica para leishmaniose visceral, município de Passira, agreste de Pernambuco. 2011. 91 f. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública)-**Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães**, Recife.

DA COSTA, S. M.; CORDEIRO, J. L. P. & RANGEL, E. F. Adequação ambiental para *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) e a ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Brasil. **Parasitas & Vetores**, v.11, n. __, p. 1-10, 2018. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2742-7>

DAJOZ, R. Ecologia Geral. 4* ed., Ed. **Vozes, Petrópolis, RJ**, 1983.

DE CASTILHO SANGUINETTE, C., DA SILVA, D. F., STUMPP, R. G. A. V., REGO, F. D. TONELLI, G. B., TANURE, A., ... & ANDRADE FILHO, J. D. Comparison of the phlebotomine (Diptera: Psychodidae) fauna of urban, transitional, and wild areas in northern Minas Gerais, Brazil. **Parasites & vectors**, v,8, p.1-8, 2015. [Doi.10.1186/s13071-015-1003-2](https://doi.org/10.1186/s13071-015-1003-2)

DE 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**. [s.l.], v. 34, n. 6, p. 654-55, dez. 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0034-89102000000600014>

DE OLIVEIRA, E. F.; SILVA, E. A.; CASARIL, A. E.; FERNANDES, C. E. S.; PARANHOS FILHO, A. C.; GAMARRA, R. M.; RIBEIRO A. A.; BRAZIL, R. P.; OLIVEIRA A. G. Behavioral aspects of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in urban area endemic for visceral leishmaniasis. **Journal of Medical Entomology**, [s.l.], v. 50, n. 2, p. 277-284, mar. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1603/ME12082>.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 27, n. 5, p. 305–318, 2004. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2004.03.004>

DIAS, F. O. P.; LOROSA, E. S.; REBÊLO, J. M. M. Fonte alimentar sanguínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 5, p. 1373-1380, set./out. 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2003000500015>.

DORVAL, M. E. C.; T. P. ALVES; G. CRISTALDO; H. C. ROCHA; M. A. ALVES; E. T. OSHIRO, A. G. OLIVEIRA, R. P. BRAZIL, E. A. B. GALATI, AND R. V. CUNHA. Sand fly captures with Disney traps in area of occurrence of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in the state of Mato Grosso do Sul, mid-western Brazil. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 5, p.491-495, 2010.

FIALHO, S. N.; BRANCO JUNIOR, A. G.; MARTINEZ, L. do N. .; ALBINO, A. M.; SILVA, M. A da.; CEDARO, J. J A relação entre degradação ambiental e aumento de casos de leishmaniose no Brasil: uma revisão integrativa da literatura. Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento , [S. l.] , v. 11, n. 11, p. e99111133342, 2022. Doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i11.33342>.

Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/33342>.

GALATI, E. A. B. Morfologia e taxonomia: classificação de Phlebotominae. In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, cap. 2, p. 23-51, 2003b. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/001549238>

GALATI, E. A. B.; RODRIGUES, B. L. A. Review of Historical Phlebotominae Taxonomy (Diptera: Psychodidae) Departamento de Epidemiologia, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo (FSP/USP), São Paulo, SP, Brazil. **Neotropical Entomology**, [s.l.], v. 52, p. 539-559, mar. 2023. doi.org/10.1007/s13744-023-01030-8.

GALATI, E. A. B. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae): classificação, morfologia, terminologia, identificação de adultos. Bioecologia e identificação de Phlebotominae. Vol. I. Departamento de Epidemiologia, **Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2023. Disponível em: https://www.fsp.usp.br/egalati/wp-content/uploads/2023/07/Nova-Apostila-Vol-I_2023_1-atualizada-em-6_06.pdf

GUIMARAES-E-SILVA, A. S., SILVA, S. D. O., RIBEIRO DA SILVA, R. C., PINHEIRO, V. C. S., REBÊLO, J. M. M., & MELO, M. N. (2017). *Leishmania* infection and blood food sources of phlebotomines in an area of Brazil endemic for visceral and tegumentary leishmaniasis. **PLoS One**, v.12, n. 8, p. e0179052, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179052>

LAINSON, Ralph; RANGEL, Elizabeth F. *Lutzomyia longipalpis* e a eco-epidemiologia da leishmaniose visceral americana, com referência particular ao Brasil: uma revisão. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** , v. 100, p. 811-827, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762005000800001>

LAINSON, R. The Neotropical *Leishmania* species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, [s.l.], v. 1, n. 2, p. 13-32, jun. 2010. doi: 10.5123/S2176-62232010000200002.

MORRISON, A. C., FERRO, C.; TESH, R. Host preference of sandfly *Lutzomyia longipalpis* at an endemic: focus of american visceral leishmaniasis in Colombia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 49, n. 1, p. 68-75, 1993.

doi 10.1093/jmedent/30.2.427. Disponível em:
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.1993.49.68>

MARINHO, R. M.; FONTELES, R. S.; VASCONCELOS, C.; AZEVÊDO, P. C. B.; MORAES, J. L. P.; REBÊLO, J. M. M. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em reservas florestais da área metropolitana de São Luís, Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, [s.l.], v. 52, n. 1, p. 112-116, março 2008. Disponível em:
<https://doi.org/10.1590/S0085-56262008000100019>.

MORRISON, A. C., FERRO, C.; TESH, R. Host preference of sandfly *Lutzomyia longipalpis* at an endemic: focus of american visceral leishmaniasis in Colombia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 49, n. 1, p. 68-75, 1993.
 doi 10.1093/jmedent/30.2.427. Disponível em:
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.1993.49.68>

NASCIMENTO, M. D. S. B.; SILVA, M. H.; VIANA, G. M. C.; LEONARDO, F. S.; BEZERRA, G. F. B.; SILVA, A. S. G.; SOARES, V. C. P.; PEREIRA, S. R. F.; REBÊLO, J. M. M.; BRASIL, R. P. Spatial dynamics of urban populations of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in Caxias, State of Maranhão, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 5, p. 555-559, 2013. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0150-2013>.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE – OPAS. **SisLeish - Sistema de Informação para Vigilância, Prevenção e Controle da Leishmaniose**. 2022. Disponível em:
https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/56832/OPASCDEVT220021_por.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 27 de outubro 2023.

PEZENTE, L. G., & BENEDETTI, M. S. G. Perfil epidemiológico da leishmaniose Tegumentar Americana no Estado de Roraima, Amazônia, Brasil, entre 2007 e 2016. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 3, p. 1734-1742, 2019.
 ISSN 2595 - 6825

RANGEL, E. F., VILELA, M. L. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, p. 2948-2952, 2008. Disponível em:
<https://doi.org/10.1590/S0102-311X2008001200025>

RANGEL E. F. & LAINSON R. Ecologia das leishmanioses: transmissores de leishmaniose tegumentar americana. In: Rangel E. F & Lainson R, editors. **Flebotomíneos do Brasil**, Rio de Janeiro: Fiocruz, p. 291–310, 2003. Disponível em: <https://patua.iec.gov.br/handle/iec/257>

REBÊLO, J. M. M.; BRASIL ROCHA; R.V; MORAES, J. L. P.; AMORIM, G. A.; LEONARDO, F. S.; ANDRADE, L. M.; MENDES, W. A.; COSTA, E.CÂMARA; L. E. M. B. Distribuição De *Lutzomyia Longipalpis* No Estado Do Maranhão, 1996. Disponível em:

<https://www.seb-ecologia.org.br/revistas/indexar/anais/viiceb/resumos/1087a.pdf>. Acesso em abril de 2024.

REBÊLO, J. M. M., ARAÚJO, J. A. C. D., CARVALHO, M. L., BARROS, V. L. L., SILVA, F. S., & OLIVEIRA, S. T. D. Flebotomos (Diptera, Phlebotominae) da Ilha de São Luís, zona do Golfão Maranhense, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s.l.], v. 32, n. 3, p. 247-253, maio/jun. 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86821999000300005>.

REBÊLO, J. M. M.; OLIVEIRA, S. T. D.; BARROS, V. L. L.; SILVA, F. S.; COSTA, J. M. L.; FERREIRA, L. A.; SILVA, A. R. D. Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) de Lagoas, município de Buriticupu, Amazônia Maranhense. I-Riqueza e abundância relativa das espécies em área de colonização recente. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s.l.], v. 33, n. 1, p. 11-19, jan./fev. 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822000000100002>.

REBÊLO, J. M. M. Frequência horária e sazonalidade de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) na Ilha de São Luís, Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.17, n.1, p. 221-22, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2001000100023>

REBÊLO, J. M. M.; ROCHA, R. V. D.; MORAES, J. L. P.; SILVA, C. R. M. D.; LEONARDO, F. S.; ALVES, G. A. The fauna of phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in different phytogeographic regions of the state of Maranhão, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, [s.l.], v. 54, n. 3, p. 494-500, sep. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0085-56262010000300022>

RIBEIRO DA SILVA, R. C.; GUIMARÃES E. SILVA, A. S.; DA SILVA SOUSA, S. S, BEZERRA, J. M. T, MACÁRIO REBÊLO, J. M.; & PINHEIRO, V. C. S. Ocorrência de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) em focos de transmissão de leishmaniose urbana no Nordeste do Brasil. **Jornal de entomologia médica** , v. 56 n.1, p. 247-253, 2019. Doi: [10.1093/jme/tjy182](https://doi.org/10.1093/jme/tjy182)

RIBEIRO PRIST, P.; REVERBERI TAMBOSI, L.; FILIPE MUCCI, L.; PINTER, A.; PEREIRA DE SOUZA, R.; DE LARA MUYLAERT, R., ... & METZGER, JP . Estradas e bordas de florestas facilitam a dispersão do vírus da febre amarela. **Jornal de Ecologia Aplicada** , v. 59, n. 1, p. 4-17, 2022. Doi: DOI: [10.1111/1365-2664.14031](https://doi.org/10.1111/1365-2664.14031)

SANGUINETTE, C. C. **Leishmanioses no município de Várzea da Palma, Minas Gerais, Brasil: Estudo dos flebotomíneos e da leishmaniose canina**. Orientação: Célia Maria Ferreira Gontijo e José Dilermando Andrade Filho. Belo Horizonte: [s.n.], 2011. 160 p. Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas e Parasitárias) - Ministério da Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. Disponível em: [Tese DIP CristianideCastilhoSanguinette - T_97.pdf](https://repositorio.fiocruz.br/bitstream/handle/1873/45444/Tese_DIP_CristianideCastilhoSanguinette_-_T_97.pdf)

SANTOS, W. S.; ORTEGA, F. D.; ALVES, A. R.; Garcez, L. M. Flebotomíneos (Psychodidae: Phlebotominae) de área endêmica para leishmaniose cutânea e visceral no nordeste do estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananindeua, v. 10, p. 1-8. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.5123/S2176-6223201900059>

SARAIVA, L.; CARVALHO, G. M.; GONTIJO, C. M.; QUARESMA, P. F.; LIMA, A. C.; FALCÃO, A. L.; FILHO, J. D. A. Infecção natural de *Lutzomyia neivai* e *Lutzomyia sallesi* (Diptera: Psychodidae) por *Leishmania infantum chagasi* no Brasil. **Jornal de Entomologia Médica**, v. 46, n. 5, p. 1159-1163, 2009. [Doi: 10.1603/033.046.0525](https://doi.org/10.1603/033.046.0525).

SHIMABUKURO, P. H. F.; ANDRADE, A. J.; GALATI, E. A. B. Checklist of American sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): genera, species, and their distribution. **ZooKeys**, v. 660, p. 67 - 106, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3897/zookeys.660.10508>.

SILVA, R. C. R. Ocorrência e infecção natural de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em áreas periurbanas endêmicas para leishmaniose no município de Caxias, Maranhão, Brasil. 2016. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2016.

SILVA-NUNES, M. D.; CAVASINI, C. E.; SILVA, N. S. D.; & GALATI, E. A. B. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar e descrição das populações de flebotomíneos no município de Acrelândia, Acre, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 11, n. __, p. 241-251, 2008.

TEODORO, U.; LONARDONI, M. V. C.; SILVEIRA, T. G. V.; DIAS, A. D. C.; ABBAS, M.; ALBERTON, D.; & SANTOS, D. R. D. Luz e galinhas como fatores de atração de *Nyssomyia whitmani* em ambiente rural, Paraná, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 41, p. 383-388, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0034-89102007000300009>

VAN GRIENSVEN, J.; CARRILLO, E.; LÓPEZ-VÉLEZ, R.; LYNEN, L.; MORENO, J. (2014). Leishmaniasis in immunosuppressed individuals. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 20, n.4, 286-299, 2014. Doi: <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12556>

12. CONCLUSÕES

No primeiro manuscrito intitulado “ Abundância de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) antes e depois do uso de coleiras caninas com deltametrina a 4% em Campo Grande, MS, Brasil, 2021-2023”, a espécie mais abundante foi *Lutzomyia longipalpis*, com índice de constância acima de 50% em todos os pontos ao longo dos dois anos de estudo. O maior número de insetos foi no intradomicílio nas duas ATLS (tratamento e controle).

O estudo também revela que a iluminação artificial nos quintais não foi um fator determinante da abundância de *Lu. longipalpis* em Campo Grande. Uma vez que um dos pontos com maior número de insetos, ponto 19, não apresentava iluminação noturna. Com relação ao número de animais no peridomicílio, o ponto nove, com maior abundância de flebotomíneos na ATL controle tinha a presença de apenas um cão num terreno pouco arborizado e parcialmente pavimentado.

A média de *Lu. longipalpis* nas ATL controle e tratamento, antes e pós encoleiramento em Campo Grande (MS), demonstrou que nos meses mais úmidos (outubro a março) houve um incremento na população de flebotomíneos, enquanto que nos meses mais secos (abril a setembro), essa população tende a diminuir, indicando uma forte tendência da espécie com a estação chuvosa, com exceção de alguns picos observados nos meses mais secos em decorrência de chuvas ocasionais no período.

A redução no número total, bem como de fêmeas ingurgitadas de *Lutzomyia longipalpis*, foi observada principalmente nos meses após o encoleiramento, o que reforça a possível ação repelente e inseticida da coleira.

A análise estatística (BACIPS) reforçou o uso de coleiras impregnadas com deltametrina 4% na redução da frequência de *Lu. longipalpis*, mostrando ser uma ferramenta útil no controle da LV.

Foram detectadas fêmeas com DNA de *Leishmania* antes e após a intervenção. Demonstrando que a circulação do parasita persiste nas fêmeas, mesmo em menor quantidade. Sugerindo-se que é necessária a associação do uso das coleiras com outras medidas de manejo ambiental para o controle das leishmanioses.

No segundo manuscrito intitulado “Impacto das coleiras impregnadas com deltametrina a 4% na população de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae),

em área de transmissão muito intensa, Brasil, 2021-2023", a espécie mais abundante *Lutzomyia longipalpis*, com 98%, esteve presente em todos os pontos de coleta. O número de machos foi superior, assim como a presença no peridomicílio.

Este vetor foi encontrado em todo período da coleta em ambas as ATLS (controle e tratamento) com flutuações sazonais. Os picos ocorreram nos meses mais úmidos (dezembro a junho), enquanto um declínio foi observado nos períodos mais secos (julho e novembro).

Logo após os períodos de encoleiramento (fevereiro de 2022, agosto de 2022 e março de 2023), houve uma redução mais acentuada da população de flebotomíneos e fêmeas ingurgitadas na área de tratamento em comparação à área controle, sugerindo um possível efeito da intervenção, o que foi comprovado com o teste estatístico BACIPS.

Testes moleculares para detecção de DNA de *Leishmania* em *Lu. Longipalpis* resultaram em quatro amostras positivas, três da ATL controle e uma da ATL tratamento.

No terceiro manuscrito intitulado Monitoramento entomológico de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) em duas regiões distintas na cidade de Caxias, área de alta transmissão para leishmaniose visceral, estado do Maranhão, Brasil, foi analisada a fauna flebotomínica em Caxias (MA). Os resultados indicaram uma alta diversidade e abundância de flebotomíneos ao longo do período de pesquisa. Duas áreas foram avaliadas: a borda de mata e a área urbanizada, sendo a primeira aquela com o maior número de indivíduos coletados e a maior riqueza de espécies registradas.

Nas duas áreas de estudo a diversidade está relacionada à mata ou a fragmentos de mata. Esses dados evidenciam que a diversidade está diretamente relacionada à conservação de áreas naturais. Esta observação também é registrada na área urbanizada, onde os pontos com maior diversidade de flebotomíneos estão localizados próximos a fragmentos de mata. Os fragmentos de mata na área central podem estar atuando como corredores ecológicos, facilitando a presença de espécies que ainda não estão totalmente adaptadas a ambientes peridomiciliares.

As espécies *Nyssomyia whitmani* (52,7%) e *Lutzomyia longipalpis* (45,91%) foram as mais frequentes, registradas em todos os pontos de coleta. Ambas apresentaram maior abundância no peridomicílio, com predomínio de machos em

relação às fêmeas. A coexistência dessas duas espécies de relevância em saúde pública representa um potencial risco de infecção de patógenos das leishmanioses.

O índice de constância de *Lu. longipalpis* foi superior a 50%, sendo classificada como espécie constante (IC = > 50%) em ambas as áreas estudadas, conforme a classificação Dajoz (1983). Já *Ny. whitmani* apresentou variações no IC entre os diferentes ambientes amostrados. Na borda da mata, os valores variaram entre 100% e 41%, com apenas três pontos apresentando IC inferior a 50%, indicando que sua ocorrência foi predominante, embora com flutuações possivelmente associadas a fatores ambientais locais. Na área urbanizada, o IC variou amplamente, de 95% a 8%, caracterizando a espécie como acessória ou acidental nesta área.

O estudo também revela que a presença de iluminação artificial nos quintais, associada à criação de galináceos nas duas áreas de estudo (borda da mata e área urbanizada), não foram determinantes para a ocorrência de *Lu. longipalpis* e nem para *Ny. whitmani* em nossos resultados.

13. REFERÊNCIAS

ABONNENC, E.; LEGER, N. "Morfologia e Taxonomia", in RANGEL, E.; LAINSON R. (Org) **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p. 28, 2003.

ALEXANDER, B.; MAROLI, M. Control of phlebotomine sandflies. **Medical and veterinary entomology** v. 17, n. 1, p. 1-18, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2003.00420.x>

AL-KAMEL, M. A. Stigmata in cutaneous leishmaniasis: Historical and new evidence-based concepts. **Our Dermatology Online**, v. 8, n. 1, p. 81, 2017. [id:lil-359666](https://doi.org/10.1159/000451111)

ALMEIDA, J. V. D.; SOUZA C. F.; TEIXEIRA I. O.; VALDIVIA H. O.; BARTHOLOMEU D. C.; BRAZIL R. P. Parasitological and molecular diagnosis of cutaneous leishmaniasis among indigenous peoples in the state of Roraima, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 21, n. 53, p. e20200006. Doi: [10.1590/0037-8682-0006-2020](https://doi.org/10.1590/0037-8682-0006-2020). PMID: 33111906; PMCID: PMC7580279.

ALTAMIRANO-ENCISO, A. J.; MARZOCHI, M. C.; MOREIRA, J. S.; SCHUBACH, A. O.; MARZOCHI, K. B. Sobre a origem e dispersão das leishmanioses cutânea e mucosa com base em fontes históricas pré e pós-colombianas. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**. v. 10, n. 3, p. 853-882, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0104-59702003000300004>

ALVAR, J.; APARICIO P.; ASEFFA A.; BOER M. DEN.; CAÑAVATE C. DEDET J. P.; GRADONI L.; HORST R.TER.; LÓPEZ-VÉLEZ R.; MORENO J. The relationship between leishmaniasis and AIDS: The second 10 years. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 21, p. 334–359, 2008. Doi: [10.1128/CMR.00061-07](https://doi.org/10.1128/CMR.00061-07).

ALVAR, J.; VÉLEZ, I. D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANO, J.; JANNIN, J.; BOER, M.; WHO LEISHMANIASIS CONTROL TEAM. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, e 35671, 2012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035671>

AMPUERO, J.; RIOS, A. P.; CARRANZA-TAMAYO, C. O.; ROMERO, G. A. Genus-specific kinetoplast DNA PCR and parasite culture for the diagnosis of localised cutaneous leishmaniasis: applications for clinical trials under field conditions in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 7, p. 992-997, 2009.

ANDRADE-FILHO, J. D.; GALATI, E. A. B.; BRAZIL, R. P. Review of American fossil Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) with a description of two new species. **Journal of medical entomology**, v. 46, n. 5, p. 969-979, 2009. Doi <https://doi.org/10.1603/033.046.050>

ARAUJO-PEREIRA, T. D.; PITA-PEREIRA, D. D.; MOREIRA, R. B.; SILVA-GALDINO, T.; DUARTE, M. P. D. O.; BRASIL, R. P. & BRITTO, C. Diagnóstico molecular da leishmaniose cutânea em área endêmica do Estado do Acre na Região Amazônica do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de**

Medicina Tropical, v. 51, n. 03, p. 376-381, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0232-2017>

ARTEMIEV, M. M. A classification of the subfamily Phlebotominae. *Parasitologia*, v. 33, p. 69-77, 1991. Doi: <https://doi.org/10.1051%2Fparasite%2F2023018>

BRANDÃO-FILHO, S. P.; CARVALHO, F. G.; BRITO, M. E. F.; ALMEIDA, F. A.; NASCIMENTO, L. A. American cutaneous leishmaniasis in Pernambuco, Brazil: eco-epidemiological aspects in "Zona da Mata" region. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 89, n. 3, p. 445-449, jul./set. 1994. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761994000300028tt>

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral no Brasil**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2006. Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br>. Acesso em: abril de 2025.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar [recurso eletrônico] / **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2017**. p.31. Disponível em https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Saúde lança nova estratégia para controle da leishmaniose visceral, 2021**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2021/agosto/saude-lanca-nova-estrategia-para-controle-da-leishmaniose-visceral> Acesso em: Novembro de 2024.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Situação epidemiológica de leishmaniose tegumentar, 2021**. disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/situacao-epidemiologica#:~:text=Distribuição%20da%20Leishmaniose%20Tegumentar&text=Em%20m%C3%A9dia%20são%20registrados%20cerca,habitantes%20nos%20últimos%205%20anos%20de2023>. Acesso em novembro de 2023.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Biblioteca Virtual da Saúde (2020) **Estratificação de risco de leishmaniose visceral por município de infecção. Brasil, 2019 a 2021. 2022**. Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/leishmaniose-2/>. Acesso em: Novembro de 2023.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. (2023). **Guia de Vigilância em Saúde: Leishmanioses**. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente, Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br>.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. DATASUS: **Departamento de Informática do SUS. Brasília, Ministério da Saúde**, Disponível em: em <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinannet/cnv/ltabr.def>. Acesso em novembro de 2023.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE/SVSA - **Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan Net**. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?sinannet/cnv/ltabr.def>, acesso em novembro de 2023.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. **MAPA suspende fabricação e venda de lotes da vacina contra leishmaniose visceral canina**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/mapa-suspende-fabricacao-e-venda-e-determina-o-recolhimento-de-lotes-de-vacina-contr-leishmaniose-apos-fiscalizacao>. Acesso em Novembro de 2024.

BRAZIL, R. P.; BRAZIL, B. G. **Flebotomíneos do Brasil**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003.

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**, v. 4, n. 2, 2015. Doi: [10.4172/2161-0983.1000144](https://doi.org/10.4172/2161-0983.1000144)

BROWN, M., & HEBERT, A. A. Insect repellents: an overview. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 36, n. 2, p. 243-249, 1997. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0190-9622\(97\)70289-5](https://doi.org/10.1016/S0190-9622(97)70289-5)

CAMARGO-NEVES, V. L. F.; RODAS, L. A. C.; PAULIQUEVIS JUNIOR, C. Avaliação da efetividade da utilização de coleiras impregnadas com deltametrina a 4% para o controle da leishmaniose visceral americana no Estado de São Paulo: resultados preliminares. **Boletim Epidemiológico Paulista**. v. 1, n. 12, p. 7 – 14, 2004.

Id:biblio-944188

CARRANZA-TAMAYO, C. O.; WERNECK, G. L.; ROMERO, G. A. S. Are opossums a relevant factor associated with asymptomatic Leishmania infection in the outskirts of the largest Brazilian cities?. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 20, p. 119-126, 2016. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2015.11.013>

CASANOVA, C.; COSTA, A. I. P.; NATAL, D. Dispersal pattern of the sandfly *Lutzomyia neivai* (Diptera: Psychodidae) in cutaneous leishmaniasis endemic rural area northeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 7, p. 719-724, 2005. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762005000700006>

CASANOVA, C.; MOTOIE, G.; DOMINGOS, M. D. F.; SILVA, V. G. D.; SILVA, M. D. D.; GALATI, E. A. B. & GALVIS-OVALLOS, F. A transmissão da leishmaniose visceral no município de Guarujá, litoral do estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 56, n.1., 2022. Doi: <https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2022056003680>

CASTILHO, T. M.; SHAW, J. J.; FLOETER-WINTER, L. M. New PCR assay using glucose-6-phosphate dehydrogenase for identification of *Leishmania* species. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, p. 540-546, 2003. Doi: <https://doi.org/10.1128/jcm.41.2.540-546.2003>

CHAGAS, E. Visceral Leishmaniasis in Brazil. **Science** (Washington), v. 84, n. 2183, 1936. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.84.2183.397.br>

CORNELIO, L. R., RIBEIRO, E. K. M., & ALBUQUERQUE, R. (2020). Estamos desperdiçando um carácter de taxonomia útil? o caso da pigmentação do tórax para identificar *Lutzomyia Longipalpis*. **Programa de Iniciação Científica-PIC/UniCEUB-Relatórios de Pesquisa**.

COSTA J. M. L. Epidemiologia das Leishmanioses no Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 74. n. 1, p. 3–17, 2008. Acesso em: <http://www.gmbahia.ufba.br/index.php/gmbahia/article/viewFile/346/335>

COURA-VITAL, W.; LEAL, G. G. D. A.; MARQUES, L. A.; PINHEIRO, A. D. C.; CARNEIRO, M.; REIS, A. B. (2018). Effectiveness of deltamethrin-impregnated dog collars on the incidence of canine infection by *Leishmania infantum*: a large scale intervention study in an endemic area in Brazil. **PLoS One**, v.13, n.12, p. e0208613, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208613>

COURTENAY, O.; BAZMANI, A.; PARVIZI, P.; READY, P. D. & CAMERON, M. M. Coleiras de cachorro impregnadas com inseticida reduzem a leishmaniose visceral clínica infantil sob condições operacionais no noroeste do Irã: um ensaio randomizado de cluster em toda a comunidade. **PLoS neglected tropical diseases**, v.13, n.3, p. e0007193, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007193>

CRUZ, C. F. R.; CRUZ, M. F. R.; GALATI, E. A. B. Sandflies (Diptera: Psychodidae) in rural and urban environments in an endemic area of cutaneous leishmaniasis in southern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, n.3, p.303-311, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762013000300008>

DAVID, J. R.; STAMM, L. M.; BEZERRA, H. S.; SOUZA, R. N.; KILLICK-KENDRICK, R.; LIMA, J. W. O. Deltamethrin-impregnated dog collars have a potent anti-feeding and insecticidal effect on *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n.6, p. 839-847, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762001000600018>

DA SILVA, O. S.; GRÜNEWALD, J. Hematofagia natural de flebotomíneos machos de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae). **Entomologia médica e veterinária**, v. 13, p. 465-466, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.1999.00190.x>

DEANE, L. M.; DEANE, M. P. Isolation of *leishmaniae* in the viscera and the skin of a fox in the kala-azar endemic zone in Sobral, Ceara. **Hospital (Rio de Janeiro, Brazil)**, v. 45, n. 4, p. 419-421, 1954. PMID: 13183549

DE CARVALHO, M. R.; VALENCA, H. F.; DA SILVA; F. J.; DE PITA-PEREIRA, D.; DE ARAÚJO PEREIRA; T., BRITTO, C.; 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 tropica**, v.116, n.1, p. 108-110, 2010. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.03.009>

DE MOURA GUERRA, A. M. N., MARACAJÁ, P. B., DE FREITAS, R. D. S., SOUSA, A. H., & SOUSA, C. S. M. Atividade inseticida de plantas medicinais sobre o *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Revista Caatinga**, v. 22, n. 1, p. 145-150, 2009.

DE 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. Disponível em: www.fsp.usp.br/rsp

DE OLIVEIRA, E. F.; SILVA, E. A.; CASARIL, A. E.; FERNANDES, C. E. S.; PARANHOS FILHO, A. C.; GAMARRA, R. M., A.; RIBEIRO, A.; BRAZIL, R. P.; OLIVEIRA, A. G. Behavioral aspects of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in urban area endemic for visceral leishmaniasis. **Journal of Medical Entomology**. v. 50, n. 2, p. 277-284, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1603/ME12082>

DE PITA-PEREIRA, Daniela et al. Detection of natural infection in *Lutzomyia cruzi* and *Lutzomyia forattinii* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) by *Leishmania infantum* chagasi in an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil using a PCR multiplex assay. **Acta Tropica**, v. 107, n. 1, p. 66-69, 2008. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.04.015>

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 27, n. 5, p. 305–318, 2004. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2004.03.004>

DOS SANTOS MARQUES L. H.; DA ROCHA I. C.; REIS, I. A.; DA CUNHA, G. M.; OLIVEIRA, E.; PFEILSTICKER, T. R.; DE ARAÚJO, V. E.; MORAES, M. H.; RABELLO, A.; CARNEIRO, M. *Leishmania infantum*: illness, transmission profile and risk factors for asymptomatic infection in an endemic metropolis in Brazil. **Parasitology**, v. 144, n. 4, p. 546-556. 2017. Doi: <https://doi.org/10.1017/S0031182016002134>

FERNANDES, W. S. **Distribuição Espaço-Temporal de Flebotomíneos e da Leishmaniose Visceral Em Área De Transmissão Intensa, Campo Grande, Ms, Brasil**, 2021. 121f. Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias/ PPG DIP) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

FERREIRA, P. R.; LARANJEIRA, D. F.; OLIVEIRA, L. S. D.; MALTA, M. D. C.; GOMES, M. C.; BASTOS, B. L.; BARROUIN-MELO, S. M. Teste de ELISA indireto para diagnóstico sorológico de leishmaniose visceral em canídeos silvestres. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 528-534, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000400018>

FERROGLIO, E.; POGGI, M.; TRISCIUOGLIO, A. "Evaluation of 65% permethrin spot-on and deltamethrin-impregnated collars for canine *Leishmania infantum* infection prevention. **Zoonoses and public health**, v. 55, n.3, p. 145-148. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2007.01092.x>

FORATTINI, O. P.; PATTOLI, D. B.; RABELO, E. X.; FERREIRA, O. A. Nota sobre infecção natural de *Oryzomys capito laticeps* em foco enzoótico de leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 7, p. 181-184, 1973. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0034-89101973000200010>

FORATTINI, O. P. Entomologia Médica: psychodidae, phlebotominae, leishmanioses, bartoneloses. 4ª ed. São Paulo: Edgar Blücher, 1973b
FRANÇA-SILVA, J. C. F.; GIUNCHETTI, R. C.; MARIANO, R. M. D. S.; MACHADO-COELHO, G. L. L.; TEIXEIRA, L. D. A. S.; BARATA, R. A.; ERILA MONTEIRO MAICHALSKY, E. M.; ROCHA, M. R.; FORTES-DIAS, C. L.; & DIAS, E. S. The program for the control of visceral leishmaniasis in brazil: the effect of the systematic euthanasia of seropositive dogs as a single control action in porteirinha, a brazilian city with an intense transmission of visceral leishmaniasis. **Pathogens (Basel, Switzerland)**, v. 12, n. 8, p. 1060, 2023. doi: <https://doi.org/10.3390/pathogens12081060>.

FU, G.; PERONA-WRIGHT, G.; BARKER, D. C. *Leishmania braziliensis*: characterisation of a complex specific subtelomeric repeat sequence and its use in the detection of parasites. **Experimental Parasitology**, v. 90, n. 3, p. 236-243, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/expr.1998.4326>.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (Fiocruz). Biologia Molecular. Portal DH<https://chagas.fioc.fiocruz.br/parasita/biologia-molecular/>. Acesso em novembro de 2024.

FREITAS, J. S.; REINHOLD-CASTRO, K. R.; CASANOVA, C.; SILVA, J. P.; PREVIDELLI, I.; TEODORO, U. Memória espacial e/ou olfativa em flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose tegumentar americana, sul do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 2, p. 151-155, 2009. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822009000200011>

GALATI, E. A. B.; REGO JR, F. A.; NUNES, V. L. B.; TERUYA, E. Fauna Flebotomínica do município de Corumbá, Mato Grosso do Sul, Brasil e descrição de *Lutzomyia forattinii*, sp. n. (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 29, n. 2, p. 261-266, 1985. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/result.php?>

GALATI, E.A.B. Phylogenetic systematics of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) with emphasis on American groups. **Boletín de Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental**, v.35, n. 1, p. 133-142, 1995. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/result.php>

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, 1997.

GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L. B.; BOGGIANE, P. C.; DURVAL, M. E. C.; CRISTALDO, G.; ROCHA, H. C.; OSHIRO, E. T.; GONÇALVES-DE-ANDRADE, R. M.; NAUFEL, G. Phebotomines (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, 2003a. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0085-56262003000200017>

GALATI, E. A. B. Morfologia e taxonomia: classificação de Phlebotominae. In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. (Org.). **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, cap. 2, p. 23-51, 2003b.

GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L. B.; BOGGIANE, P.C.; DORVAL M. E. C.; CRISTALDO, G.; ROCHA, H. C.; OSHIRO, E. T.; GONÇALVES-DE-ANDRADE, R. M.; NAUFEL, G. Phebotomines (Diptera, Psychodidae) in forested áreas of the Serra da Bodoquena, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.101, n. 2, p. 175-193, 2006. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762006000200010>

GALATI, E. A. B. Phlebotominae (Diptera, Psicodidae): classificação, morfologia e terminologia de adultos e identificação de taxa americana. In: Moscas brasileiras de areia. Springer, Cham, v_, p. 9-212, 2018. Disponível em: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.fsp.usp.br/egalati/wp-content/uploads/2018/07/Nova-Apostila-Vol-I_2018.pdf

GALATI, E. A. B.; RODRIGUES, B. L. Uma revisão da taxonomia histórica de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae). **Entomologia Neotropical**, v. 52, n. 4, pág. 539-559, 2023a. Doi: <https://doi.org/10.1007/s13744-023-01030-8>

GALATI, E. A. B. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae): classificação, morfologia, terminologia, identificação de adultos. Bioecologia e identificação de Phlebotominae. Vol. I. **Departamento de Epidemiologia, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2023b. Disponível em: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.fsp.usp.br/egalati/wp-content/uploads/2023/07/Nova-Apostila-Vol-I_20231-atualizada-em-6_06.pdf

GALVIS-OVALLOS, F.; UETA, A. E.; MARQUES, G. O.; SARMENTO, A. M. C.; ARAÚJO, G.; SANDOVAL, C., ... & GALATI, E. A. B. Detection of *Pintomyia fischeri* (Diptera: Psychodidae) with *Leishmania infantum* (Trypanosomatida: Trypanosomatidae) promastigotes in a focus of visceral leishmaniasis in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.58, n. 2, p. 830–836. Doi: <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa199>

GAVGANI, A. M., HODJATI, M. H., MOHITE, H., DAVIES, C. R. Effect of insecticide-impregnated dog collars on incidence of zoonotic visceral leishmaniasis in Iranian children: a matched-cluster randomized trial. **The Lancet**, v. 360, n. 9330, p. 374-379, 2002. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)09609-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)09609-5)

GEPLAN. Gerência de planejamento e desenvolvimento econômico. Atlas do Maranhão. São Luís: UEMA/ GEPLAN, 2002. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=22142>

GONTIJO, B.; CARVALHO, M. DE L. R. DE. Leishmaniose tegumentar americana. **Revista da sociedade brasileira de medicina tropical**, v. 36, p. 71-80, 2003. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822003000100011>

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. 338-349, 2004. Disponível em: : <https://www.scielo.org/pdf/csp/v22n11/06.pdf>

GUERRA, J. A. D. O., PAES, M. G., COELHO, L. I. A., BARROS, M. L. B., FÉ, N. F., BARBOSA, M. D. G. V., & GUERRA, M. V. D. F. Estudo de dois anos com animais reservatórios em área de ocorrência de leishmaniose tegumentar americana humana em bairro de urbanização antiga na cidade de Manaus-AM, Brasil. **Acta Amazonica**, v.37, n.1, p. 133-137, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0044-59672007000100017>

GUERRA, J. A. D. O.; RIBEIRO, J. A. S.; COELHO, L. I. D. A. R. D. C.; BARBOSA, M. D. G. V.; & PAES, M. G. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar na Comunidade São João, Manaus, Amazonas, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n.11, p. 2319-2327, 2006. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.scielo.org/pdf/csp/v22n11/06.pdf>

GUERRA SILVA, N. M. M.; MELO, S. C. C. S.; MASSAFERA, R.; ROSSI, R. M.; SILVEIRA, T. G. V.; TEODORO, U. Dispersal and Memory of Sand Flies in an Endemic Area of Cutaneous Leishmaniasis, Southern Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 50, n. 5, p. 986-993, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1603/ME12065>

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA DO BRASIL – INMET. Banco de dados meteorológicos. São Luís - MA. Disponível em: <https://portal.inmet.gov.br/noticias/noticias?noticias=São%20Luís>. Acesso em 05 de dezembro de 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). IBGE, 2022, Disponível em <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/ms/campo-grande.html>, Acesso em agosto de 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). IBGE, 2022, disponível em <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ma/sao-luis/panorama>. Acesso em 23 de agosto de 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Panorama**: população de Caxias. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ma/caxias/panorama>. Acesso em: 12 agosto de 2022.

JACOBSON, Raymond. *Leishmania Tropica* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). **Folie Parasitologica**, v. 50, n. 4, p. 241- 250, 2003. Doi: [10.14411/fp.2003.042](https://doi.org/10.14411/fp.2003.042).

JONES, T. M.; HAMILTON, J. G. C. A role for pheromones in mate choice in a lekking sandfly. **Animal behaviour**, v. 56, n.4, p. 891-898, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/anbe.1998.0857>

KATO, H.; UEZATO, H.; KATAKURA, K.; CALVOPIÑA, M.; MARCO, J. D.; BARROSO, P. A.; GOMEZ, E. A.; MIMORI, T.; KORENAGA, M.; IWATA, H.; NONAKA, S.; HASHIGUCHI, Y. Detection and identification of *Leishmania* species within naturally infected sand flies in the andean areas of ecuador by a polymerase chain reaction. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 72, n.1, p. 87-93, 2005. Doi: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2005.72.87>

KELLY, D. W.; DYE, C. Pheromones, kairomones and the aggregation dynamics of the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. *Animal Behaviour*, v. 53, n. 4, p. 721-731, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/anbe.1996.0309>

KILLIK-KENDRICK, R. Life cycle of *Leishmania* in the sandfly with special reference to the form infective to the vertebral host. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, v. 65, p. 37-42, 1990. Doi: <https://doi.org/10.1051/parasite/1990651037>

KILLICK-KENDRICK, R. Vetores flebotomíneos das leishmanioses: uma revisão. **Entomologia médica e veterinária**, v. 4, n. 1, p. 1-24, 1990. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.1990.tb00255.x>

KILLICK-KENDRICK, R. The Biology e Control of Phlebotomine Sand Flies. **Clinics in Dermatology**, v. 17, 1999b. Doi: [10.1016/S0738-081X\(99\)00046-2](https://doi.org/10.1016/S0738-081X(99)00046-2)

KONO, I. S.; BERTÃO-SANTOS A.; FREIRE SEMINA R.L.; SILVA D. A. Southern Brazilian geographic distribution of *Migonemyia migonei* (Diptera: Psychodidae), a putative vector of *Leishmania infantum* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae): a systematic review Distribuição geográfica sul brasileira de *Migonemyia*. **Seminário de ciências agrárias**, p. 61-72, 2023. DOI: [10.5433/1679-0359.2023v44n1p61](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2023v44n1p61)

LAINSON, Ralph. The Neotropical *Leishmania* species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 2, p. 13-32, 2010. Doi: <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232010000200002>.

LAINSON, R.; RANGEL, E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 100, n. 8, p. 811-827, dez. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762005000800001>

LAINSON, R.; WARD, R. D; SHAW, J. J. Transmissão experimental de *Leishmania chagasi*, agente causador da leishmaniose visceral neotropical, pelo flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis*. **Natureza** , v. 266, n. 5603, p.. 628-630, 1977. Doi: [10.1038/266628a0](https://doi.org/10.1038/266628a0).

LAINSON, R., SHAW, J. J., READY, P. D., MILES, M. A., & PÓVOA, M. Leishmaniasis in Brazil: XVI. Isolation and identification of, Leishmania species from sandflies, wild mammals and man in north Pará State, with particular reference to *L. braziliensis guyanensis* causative agent of "pian-bois". *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 75, n. 4, p. 530-536, 1981. Doi: [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(81\)90192-9](https://doi.org/10.1016/0035-9203(81)90192-9)

LAINSON R, SHAW, J. J. Evolution, classification and geographical distribution. In: *The leishmaniasis*. London, Peters W. & KillickKendrick R. v.1, p.1-128,1987. Disponível em: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19880852011>

LAINSON, R.; SHAW, J. J. New World Leishmaniasis. In: Cox, F. E. G.; Wakelin D.; Gillespie, S. H.; Despommier, D. D. editors. *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections: parasitology*. Londres: Hodder Arnold ASM Press, p. 313-349, n., 2005. Disponível em: <https://patua.iec.gov.br/handle/iec/254>

LAINSON, R. New World leishmaniasis. In: COX, F. E. G. (Ed.). *The Wellcome Trust Illustrated History of Tropical Diseases*. London: The Wellcome Trust, p. 218–229, 1996. ISBN (capa dura) : 978-1-869835-86-6

LEWIS, D. J.; YOUNG, D. G.; FAIRCHILD, G. B.; MINTER, D. M. Proposals for a stable classification of the Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). **Systematic Entomology**, v. 2, n. 1, p. 319–332, 1977. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.1977.tb00381.x>

LUTZ, A.; NEIVA, A. Contribuição para o conhecimento das espécies do gênero *Phlebotomus* existentes no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 4, n. 1, p. 84-95, 1912. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://www.scielo.br/j/mioc/a/zJmRfQPrKFyG9Z6DvnnQcyr/?format=pdf&lang=pt>

MARCONDES, M.; VASCONCELLOS, S. A. Leishmaniose Visceral. *Leishmaniose-Serie Zoonoses*, 2019. Disponível em: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://www.saude.sp.gov.br/recursos/coordenadoria-de-defesa-e-saude-animal/homepage/aceso-rapido/aceso-rapido-zoonoses/leishmaniose_serie_zoonoses.pdf

MARZOCHI, M. C. D. A.; SABROZA, P. C., TOLEDO; L. M. D., MARZOCHI; K. B. F., TRAMONTANO; N. C.; RANGEL FILHO, F. B. Leishmaniose visceral na cidade do Rio de Janeiro-Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 1, n.1, p. 5-17, 1985. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X1985000100002>

MASSAFERA, R.; SILVA A. M.; CARVALHO, A. P.; SANTOS, D. R.; GALATI, E. A. B.; TEODORO, U. Fauna de flebotomíneos do município de Bandeirantes, no estado do Paraná. **Revista de Saúde Pública**. v. 39, n. 4, p. 571-7, 2005. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://www.scielosp.org/pdf/rsp/2005.v39n4/571-577/pt>

MAROLI, M., MIZZONI, V., SIRAGUSA, C., D'ORAZI, A., & GRADONI, L. (2001). Evidence for an impact on the incidence of canine leishmaniasis by the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars in southern Italy. **Medical and Veterinary Entomology**, v.15, p. 4, p.358-363, 2001. Doi: <https://doi.org/10.1046/j.0269-283x.2001.00321.x>

MAROLI, M.; FELICIANGELI, M.D.; BICHAUD, L.; CHARREL, R. N.; & GRADONI, L. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. **Medical and veterinary entomology**, v. 27, n. 2, p. 123-147, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2012.01034.x>

MATO GROSSO DO SUL. Boletim epidemiológico Leishmaniose Tegumentar, 2022. Disponível em: https://www.vs.saude.ms.gov.br/wp-content/uploads/2023/02/Boletim_LT_2023_Final.pdf. Acesso em: 13 de novembro de 2022.

MATO GROSSO DO SUL Secretaria do Estado de Saúde. Boletim Epidemiológico: Leishmaniose Visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, [s.l.], ago. 2022. Disponível em: <https://www.vs.saude.ms.gov.br/wp-content/uploads/2020/08/Boletim-Epidemiológico-Leishmaniose-SE-32.pdf>. Acesso em 01 de novembro de 2023.

MELLO, D. A., REGO, F. D. A. J., OSHOZO, E., & NUNES, V. L. (1988). *Cerdocyon thous* (L.)(Carnivora, Canidae) naturally infected with *Leishmania donovani* chagasi (Cunha & Chagas, 1973) in Corumbá (Mato Grosso do Sul State, Brazil). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 83, n. 2,259, 1989. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0074-02761988000200018>

MIGONE, L. E. , 19126300448, Indeterminado, Artigo de jornal, França, 1961-9049 0037-9085. **Societe de Pathologie Exotique**. Un Cas de Kala-azar a Asuncion (Paraguay), v. 6, n. 2, p.118-120. 1913.

MONTEIRO, S. R. D. **Participação dos gambás na epidemiologia da leishmaniose na Mata Atlântica do estado de Pernambuco, Brasil**. Dissertação - Universidade Federal Rural do Pernambuco, Recife, Brasil, 2010.

MORRISON, A. C., FERRO, C.; TESH, R. Host preference of sandfly *Lutzomyia longipalpis* at an endemic: focus of american visceral leishmaniasis in Colombia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. v. 49, n. 1, p. 68-75, 1993b. Doi [10.1093/jmedent/30.2.427](https://doi.org/10.1093/jmedent/30.2.427)

MOTTA, P. E. F.; PEREIRA, N. R.; CARVALHO FILHO, A.; GONCALVES, A. O.; BHERING, S. B.; CARVALHO JUNIOR, W.; AGLIO, M. L. D.; AMORIM, A.; SOTOYA, J.; LEMOS, C. H.; AGLIO, M. L. D.; SOUZA, J. S. Levantamento de reconhecimento de baixa intensidade dos solos do município de Campo Grande, MS. Rio de Janeiro: **Embrapa Solos**, p. 183, 2013. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/147403/1/BPD-235-Levantamento-Solos-Campo-Grande.pdf>

MULLIS, K. B. A reação em cadeia da polimerase. Springer science & business media. v. 41, n. 5, 1994. Acta Medicinæ Legalis Vol. XLIV 1994: **XVth Congress of the International Academy of Legal Medicine and Social Medicine, Strasbourg, France**, 31 May – 2 June, 1994. (1995). Alemanha: Springer Berlin Heidelberg.

NASUTI, C. et al. Different effects of type I and type II pyrethroids on erythrocyte plasma membrane properties and enzymatic activity in rats. **Toxicology**, v.191, n.2-3, p.233-244, 2003. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(03\)00207-5](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00207-5)

NGUMBI, P. M., LAWYER, P. G., JOHNSON, R. N., KIILU, G., & ASIAGO, C. Identification of phlebotomine sandfly bloodmeals from Baringo district, Kenya, by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Medical and veterinary entomology**, v. 6, n. 4, p. 385-388, 1992. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(03\)00207-5](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00207-5)

NUGEO. Núcleo Geoambiental. Bacias hidrográficas e climatologia. São Luís: **Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual do Maranhão**, 2016. Disponível em: <https://www.nugeo.uema.br/>

OLIVEIRA E. F.; OSHIRO E.T.; SOUZA FERNANDES W.; MURAT P. G.; MEDEIROS, M. J. SOUZA A. L. Experimental infection and transmission of *Leishmania* by *Lutzomyia cruzi* (Diptera: Psychodidae): Aspects of the ecology of parasite-vector interactions. **PLoS Neglected Tropical Diseases**. 2017; v. 11, n. 2, p. e0005401, 2017a. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005401>

OLIVEIRA E. F; OSHIRO E. T; FERNANDES W. S; FERREIRA A. M. T; OLIVEIRA A. G; GALATI E. A. B. Vector competence of *Lutzomyia cruzi* naturally demonstrated for *Leishmania infantum* and suspected for *Leishmania amazonensis*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 96, n. 1, p. 178–181, 2017b Disponível: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0191> PMID:28077746. Doi: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0191>

DA SILVA, O. S.; GRÜNEWALD. "Natural haematophagy of male *Lutzomyia* sandflies (Diptera: Psychodidae). **Medical and Veterinary Entomology**, v. 13, n. 4, P. 465-466, 1999. Doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.1999.00190.x>

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Informe Epidemiológico nas Américas. Washington: OPAS; 2019. Disponível em: <http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/50505/2019-cde-leish-informe-epi-das-americas.pdf?ua=1>. Acesso em: 17 mar. 2019.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE – OPAS. SisLeish - Sistema de Informação para Vigilância, Prevenção e Controle da Leishmaniose. 2020. Disponível em: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/56832/OPASCDEV220021_por.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em 27 de outubro de 2023.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. - OPAS Leishmanioses: Informe epidemiológico nas Américas. Núm. 11, 2022. Washington, D.C. Disponível em: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/56832/OPASCDEV220021_por.pdf?

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE - OPAS. Leishmanioses: informe epidemiológico da Região das Américas. Nº 13, dezembro de 2024. Washington, DC: OPS; 2024. Disponível em: [hps://iris.paho.org/handle/10665.2/51742](https://iris.paho.org/handle/10665.2/51742).

PALMQUIST, K.; SALATAS, J.; FAIRBROTHER, A.. Pyrethroid insecticides: use, environmental fate, and ecotoxicology. In **Insecticides-advances in integrated pest management**, p. 251-278, 2012.

PAIVA, R. B.; SECUNDINO, N. F. C.; PIMENTA, P. F. P.; GALATI, E. A. B.; ANDRADEJUNIOR, H. F.; MALAFRONTA, R. S. Padronização de condições para a detecção de DNA de *Leishmania* spp. em flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) pela reação em cadeia da polimerase. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 23, n. 1, p. 87-94, 2007. Disponível em: <mailto:byapaiva@usp.br>

PAULIN, S., FRÉNAIS, R., THOMAS, E., & BALDWIN, P. M. Laboratory assessment of the anti-feeding effect for up to 12 months of a slow release deltamethrin collar (Scalibor®) against the sand fly *Phlebotomus perniciosus* in dogs. *Parasites & Vectors*, v. 11, n. 1, p. 529, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3094-z>

PEREZ, J. E.; VELAND, N.; ESPINOSA, D.; TORRES, K.; OGUSUKU, E.; LLANOSCUENTAS, A.; GAMBOA, D.; ARÉVALO, J. Isolation and molecular identification of *Leishmania* (*Viannia*) *peruviana* from naturally infected *Lutzomyia peruensis* (Diptera: Psychodidae) in the Peruvian Andes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 102, n. 5, p. 655-658, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762007005000077>

PEREIRA, P. B.; NUNES, H. K. de B.; SOUSA, A. da S. Caracterização Geoambiental do município de Caxias, Maranhão/Brasil. **Revista Geografia em Atos (Online)**, v.6, Ano 2022. p. 1-19. Doi: <https://doi.org/10.35416/geoatos.2022.8897>

PIGOTT, D. M.; BHATT, S.; GOLDING, N.; DUDA, K. A.; BATTLE, K. E.; BRADY, O. J.; HAY, S. I. Global distribution maps of the leishmaniasis. *Elife*, v. 3, p. e02851, 2014. <https://doi.org/10.7554/eLife.02851.001>

PIMENTA, P. F. P.; SECUNDINO, N. F. C.; BLANCO, E. E. N. Interação Vetor – Hospedeiro. In **Flebotomíneos do Brasil**. 1. ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, cap 5, p. 275-287, 2003.

CPMCG/PLANURB – Agência Municipal de Meio Ambiente e Planejamento Urbano. Prefeitura Municipal de Campo Grande, MS. Aspectos físicos e biológicos–Capítulo 2. 2021. Disponível em: <https://prefcg-repositorio.campogrande.ms.gov.br/wp-cdn/uploads/sites/76/2022/03/perfilsocioeconomico2021-prefcg-1647974735.pdf> >Acesso em 12 de agosto de 2022.

POINAR, G. *Lutzomyia adiketis* sp. n. (Diptera: Phlebotomidae), a vector of *Paleoleishmania neotropicum* sp. n. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in

Dominican amber. **Parasites & Vectors**, v. 1, n. 22, 2008. DOI: 10.1186/1756-3305-1-22. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/1756-3305-1-22>

QUINNELL, R. J.; COURTENAY, O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. **Parasitology**, v. 136, n.14, p.1915-1934, 2009. Doi: <https://doi.org/10.1017/S0031182009991156>

RABELLO, A.; ORSINI, M.; DISCH, J. Leishmania/HIV co-infection in Brazil: an appraisal. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 97, n. sup1, p. 17-28, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1179/000349803225002507>.

RANGEL, E. F.; VILELA, M. L. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 12, p. 2948-2952, 2008. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2008001200025>

REBÊLO, J. M. M. Frequência horária e sazonalidade de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) na Ilha de São Luís, Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.17, n.1, p. 221-22, 2001. Disponível em: <mailto:macariorebelo@uol.com.br>

READY, Paul D. Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. **Annual review of entomology**, v. 58, p. 227-250, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153557>

READY, P. D. Factors affecting egg production of laboratory-bred *Lutzomyia longipalpis* (diptera: psychodidae). **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 16, n. 5, p. 413-423, 1979. Doi: <https://doi.org/10.1093/jmedent/16.5.413>

REITHINGER, Richard; TEODORO, Ueslei; DAVIES, Clive R. Topical insecticide treatments to protect dogs from sand fly vectors of leishmaniasis. **Emerging Infectious Diseases**, v. 7, n. 5, p. 872, 2001. Doi: <https://doi.org/10.3201%2F705.017516>

REITHINGER, R.; QUINNELL, R. J.; ALEXANDER, B.; DAVIES, C. R.). Rapid detection of *Leishmania infantum* infection in dogs: comparative study using an immunochromatographic dipstick test, enzyme-linked immunosorbent assay, and PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v.40, n.7, p. 2352-2356, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jcm.40.7.2352-2356.2002>

REITHINGER, R.; COLEMAN, P. G., ALEXANDER, B., VIEIRA, E. P., ASSIS, G., & DAVIES, C. R. DA SILVA Are insecticide-impregnated dog collars a feasible alternative to dog culling as a strategy for controlling canine visceral leishmaniasis in Brazil?. **International Journal for Parasitology**, v. 34, n. 1, p. 55-62, 2004. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2003.09.006>.

RIBEIRO, L.M.; OSHIRO, E.T.; SOUZA, D.A.; FERNANDES, M.F.; SANTOS, K.M.; MATEUS, N.L.F.; OLIVEIRA, A.G. Biological aspects of immature stage of *Nyssomyia whitmani* (Antunes and Coutinho) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in laboratory conditions. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 59, p.1, 2015. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2015.02.012>

RODRIGUEZ, N.; GUZMAN, B.; RODAS, A.; TAKIFF, H.; BLOOM, B. R.; CONVIT, J. Diagnosis of cutaneous leishmaniasis and species discrimination of parasites by PCR and hybridization. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 9, p. 2246-2252, 1994. Doi: <https://doi.org/10.1128/jcm.32.9.2246-2252.1994>

ROMERO, G. A.; BOELAERT, M. (2010). Control of visceral leishmaniasis in Latin America—a systematic review. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.4, n. 1, p. e584, 2010. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000584>

ROZENDAAL, J. A. Controle de vetores: métodos para uso por indivíduos e comunidades. In **Vector control**, Organização Mundial da Saúde, 1997. Disponível em:

<https://books.google.com.br/books?id=z6H5qwdddREC&lpg=PR9&ots=-A8BBkgkZx&dq=ROZENDAAL%2C%201997&lr&hl=pt-BR&pg=PP1#v=onepage&q=ROZENDAAL,%201997&f=false>

SEVÁ, A. P.; OVALLOS, F. G.; AMAKU, M.; CARRILLO, E.; MORENO, J.; GALATI, E. A.; FERREIRA, F. Canine-based strategies for prevention and control of visceral leishmaniasis in Brazil. **PLoS One**, v. 11, n. 7, p. e0160058, 2016. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160058>

SHAW, J.; ROSA, A.T.; SOUZA, A.; CRUZ, A.C.(2003). Os flebotômíneos brasileiros como hospedeiros e vetores de determinadas espécies. In: RANGEL, E.; LAINSON R. Em **Flebotômíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, p. 335-337, 2003.

SHAW J. J, LAINSON R. Leishmaniasis in Brazil: Some observations on intradermal reactions to different trypanosomatid antigens of patients suffering from cutaneous and mucocutaneous leishmaniosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* v. 69:p.323-335, 1975.

Doi: [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(75\)90127-3](https://doi.org/10.1016/0035-9203(75)90127-3)

SHAW J. J. The relationship of sand fly ecology to the transmission of leishmaniasis in South America with particular reference to Brasil. In: *Memoirs on Entomology, International*. JFB.(eds). Associated Publishers, 1999.

[ISBN 9781566650717.](https://doi.org/10.1016/0035-9203(75)90127-3)

SHERLOCK, I. A. Importância Médico-Veterinária. In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. (Org.). **Flebotômíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, cap. 1, p. 15-22. 2003.

SCHONIAN, G.; NASEREDDIN, A.; DINSE, N.; SCHWEYNOCH, C.; SCHALLIG, H. D. F. H.; PRESBER, W.; JAFFE, C. L. PCR diagnosis and characterization of *Leishmania* in local and imported clinical samples. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 47, p. 349-358, 2003. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0732-8893\(03\)00093-2](https://doi.org/10.1016/S0732-8893(03)00093-2)

SHIMABUKURO, P. H. F.; ANDRADE, A. J.; GALATI, E. A. B. Checklist of American sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): genera, species, and

their distribution. *ZooKeys*, v. 660, 2017. Doi: <https://doi.org/10.3897/zookeys.660.10508>

SILVA, A. C.; GOMES, A. C. Estudo da competência vetorial de *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) para *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Viannia* 1911. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 34, n.2, p. 187-91, 2001. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822001000200006>

SILVA, R. A. Avaliação do comportamento de *Lutzomyia longipalpis* (Phlebotominae) em áreas de transmissão intensa submetidas à intervenção com coleiras impregnadas com deltametrina a 4% para controle de leishmaniose visceral. 2018.

SILVEIRA, F. T. An outbreak of cutaneous leishmaniasis among soldiers in Belém, Pará State, Brazil, caused by *leishmania (viannia) lindenbergi* n. sp. A new leishmanial parasite of man in the Amazon region. *Parasite*, [S.l.], v. 9, n. 1, p. 43-50, 2002. Doi: <https://doi.org/10.1051/parasite/200209143>

SILVEIRA, F.; T.; LAINSON, R.; SHAW, J. J.; BRAGA, R. R.; ISHIKAWA, E. A. SOUZA, A. A. Leishmaniose cutânea na Amazônia: isolamento de *Leishmania (Viannia) Lainsoni* do roedor *Agouti paca* (Rodentia: Dasyproctidae), no Estado do Pará, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 33 p. 18-22, 1991. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0036-46651991000100004>

SOUZA, N. P.; ALMEIDA, A. D. B. P. F. D.; FREITAS, T. P. T. D.; PAZ, R. C. R. D.; DUTRA, V.; NAKAZATO, L., & SOUSA, V. R. F. *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* em canídeos silvestres mantidos em cativeiro, no Estado de Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, p. 333-335, 2010. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822010000300024>

SOUZA, N. A.; BRAZIL, R. P.; & ARAKI, A. S. O estado atual do complexo de espécies *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.112, n.3, p.161-174, 2017. Disponível em: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/24869/1/FlebotomíneosZonaProtecao_Silva_2017.pdf

TANURE, A.; PEIXOTO, J. C.; AFONSO, MMDS, DUARTE, R.; PINHEIRO, A. D. C.; COELHO, S. V. B.; & BARATA, R. A. Identificação do alimento sanguíneo de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) provenientes de área endêmica de leishmaniose no Brasil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 57, p. 321-324, 2015. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0036-46652015000400008>

TELES, C. B. G.; MEDEIROS, J. F.; SANTOS, A. P. D. A. D.; FREITAS, L. A. R. D.; KATSURAGAWA, T. H.; CANTANHEDE, L. M.; ... & CAMARGO, L. M. A. Caracterização molecular da leishmaniose tegumentar americana na região da tríplice fronteira de Assis Brasil, Acre, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. 4, p.343-347, 2015. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652015000400012>

TESH, R. B.; MODI, G. B. A simple method for experimental infection of phlebotomine sand flies with Leishmania. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 33, p. 41-46, 1984. Doi: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1984.33.41>

TOJAL DA SILVA A. C.; CUPOLILLO, E.; VOLPINI, Â. C.; ALMEIDA, R.; & SIERRA ROMERO, G.A. Diversidade de espécies causadoras da leishmaniose cutânea humana em Rio Branco, estado do Acre, Brasil. **Medicina tropical e saúde internacional**, v. 11, n. 9, p. 1388-1398, 2006. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2006.01695.x>

VALE, E. C. S. do; FURTADO, T. Leishmaniose tegumentar no Brasil: revisão histórica da origem, expansão e etiologia. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 421-428, 2005. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0365-05962005000400015>

VAN GRIENSVEN, J.; CARRILLO, E.; LÓPEZ-VÉLEZ, R.; LYNEN, L.; MORENO, J. (2014). Leishmaniasis in immunosuppressed individuals. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 20, n.4, 286-299, 2014. Doi: <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12556>

VAZ, T. P.; GAMA-MELO, M. O.; QUARESMA, P. F.; GONTIJO, C. M. F.; SANTOS, G.; BARBOSA, F. S.; FONTES, G. Evaluation of the euthanasia of seropositive dogs for canine visceral leishmaniasis as the only method of controlling the disease in the enzootic area in the Midwestern Minas Gerais. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 40, n. 2, p. 107–112, 2020. Doi: [10.1590/1678-5150-PVB-6165](https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6165).

VIGODER, F. M.; ARAKI, A. S.; BAUZER, L. G. S. R.; SOUZA, N. A.; BRAZIL, R. P.; PEIXOTO, A. A. Lovesongs and period gene polymorphisms indicate *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) as a sibling species of the *Lutzomyia longipalpis* (Lutz and Neiva, 1912) complex. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 10, n. 6, p. 734–739, 2010. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2010.05.004>

VOLF, P.; VOLFOVA, V. Establishment and maintenance of sand fly colonies. *Journal of Vector Ecology*, v. 36, p. S1-S9, 2011. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2011.00106.x>

XIMENES, M. D. F. D. M., SILVA, V. P., DE QUEIROZ, P. V., REGO, M. M., CORTEZ, A. M., BATISTA, L. M. D. M., JERONIMIO, S. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) e leishmanioses no Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil: reflexos do ambiente antrópico. *Neotropical Entomology*, v.36, n.1, 128-137, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2007000100016>

YOUNG, D. G.; DUNCAN, M. A. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). **American Entomological Institute**. v. 2, n. 54, p. 881, 1994.

WERNECK, G. L.; COSTA, C. H. C.; CARVALHO, F.A.A.; PIRES, E.; CRUZ, M.S.; MAGUIRE, J. H.; CASTRO, M. C. Effectiveness of insecticide spraying and culling of dogs on the incidence of *Leishmania infantum* infection in humans: a cluster

randomized trial in Teresina, Brazil. PLoS Neglected Tropical Diseases. v. 8, n. 10, p. e3172, 2014. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003172>

WERNECK G.L. Avaliação da efetividade do uso das coleiras impregnadas com inseticida para o controle da leishmaniose visceral. Relatório Técnico Final (mimeo), p. 15, 2017.

WERNECK, G. L.; FIGUEIREDO, F. B.; CRUZ, M. S. P. Impact of 4% Deltamethrin-Impregnated Dog Collars on the Incidence of Human Visceral Leishmaniasis: A Community Intervention Trial in Brazil. Pathogens. v.13, n. 2, p.135, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pathogens13020135>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Leishmaniasis. Fact sheet. 2023. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1. Acesso em maio de 2023.

ZELAZNY, A. M.; FEDORKO, D. P.; LI, L.; NEVA, F. A.; FISCHER, S. H. Evaluation of 7SL RNA gene sequences for the identification of *Leishmania* spp. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, v. 74, n. 2, p. 415-420, 2005. Disponível em:
<chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=b90fae5edf6e7749286a0e86fa7bd9e286eadf55>