

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA**

**LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA E A FAUNA DE
FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE) NO
MUNICÍPIO DE TABATINGA, AMAZONAS, BR.**

FABIANE VELOSO SOARES

**MANAUS – AM
ABRIL - 2012**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA**

**LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA E A FAUNA DE
FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE) NO
MUNICÍPIO DE TABATINGA, AMAZONAS, BR.**

FABIANE VELOSO SOARES

ORIENTADORA: Dr^a ANTONIA MARIA RAMOS FRANCO

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação Mestrado em Ciências da Saúde convênio INPA-UFAM, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. Área de concentração: Saúde.

MANAUS – AM

ABRIL - 2012

FICHA CATALOGRÁFICA

S676s Soares, Fabiane Veloso

Leishmaniose Tegumentar Americana e a Fauna de Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) no município de Tabatinga, AM, BR/ Fabiane Veloso Soares - Manaus: UFAM, 2012.

133f.; il. color.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) — Universidade Federal do Amazonas, 2012.

Orientadora: Prof^a Dr^a Antonia Maria Ramos Franco

1. Leishmaniose Tegumentar Americana- Amazonas 2. Levantamento epidemiológico 3. Flebotomíneos – Tabatinga (AM) I. Franco, Antonia Maria Ramos (Orient.) II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

CDU (1997)616.993.161(811.3) (043.3)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho àqueles que me abriram portas, que me deram todas as oportunidades, que lutaram pelos meus interesses. Aos meus pais, Carlos e Neidemar, que sempre priorizaram uma educação de qualidade. Ao meu amado marido Dilmar Martins pelo total apoio em cada passo dado na minha profissão, sem nunca medir esforços. Aos meus irmãos, Maria, Mauricio, Carlos Jr e Eduardo, pelo apoio, confiança e carinho.

O meu profundo OBRIGADA. AMO VOCÊS!!!

AGRADECIMENTOS

À Deus, por guiar meus caminhos com muita luz e fé e conduzir minhas vitórias e conquistas.

À Dra. Antonia Maria Ramos Franco, minha orientadora, pelos ensinamentos, suporte intelectual através de sua experiência, disponibilidade e competência. Obrigada pela oportunidade em abrir as portas do seu laboratório e por toda atenção dispensada. Obrigada pelo incentivo e apoio constantes.

À minha mãezona de laboratório, Prof^a. Pesquisadora Maricleide de Farias Naiff, pela generosidade, conselhos, preocupação, ensinamentos e valiosas considerações.

Ao grande taxonomista Dr. Rui Alves de Freitas pela paciência em tentar me ensinar taxonomia e pela identificação dos flebotomíneos.

À Dra. Sônia Rolim Reis, nossa veterinária, pela amizade e amabilidade com que me acolheu, pela preocupação e pelos excelentes momentos de descontração.

À Dra. Flávia Regina Naief pelos agradáveis momentos de convivência.

À mineirinha Luanda Figueira (Speed de porco) e a paraense Alana Vinhote (Cutia), pela doçura, apoio, preocupação e amizade, sempre se disponibilizando a ajudar e é claro, pelos excelentes momentos de descontração. Obrigada pelo apoio, entusiasmo e incentivo constantes, pela oportunidade de aprendizado aos seus lados, não só em ciência, mas também pela experiência de vida compartilhada, tão nobre e rica, que vocês possuem. A riqueza que construímos nesta vida de amizade inabalável é com certeza bem mais antiga do que pensamos... A vocês toda minha gratidão, carinho e admiração!

À Claudia Comandolli Wyrepkowski pela nova amizade, carinho, conselhos e não poderia deixar de dizer, toda “química boa”, que você proporciona.

À Dra. Liliane Rocha pelo carinho, disponibilidade e esclarecimentos neste trabalho.

À Dra. Tatiana Libório (ex-coordenadora do mestrado) pelo apoio incondicional em todos os momentos da sua administração.

À Francimeire Pinheiro pela eficiência e amabilidade com que acolhe todos os alunos. Obrigada pela disponibilidade, atenção e paciência. Ah... e pelo treinamento em biologia molecular.

Ao Luis Henrique Gomes (Pesquisador Visitante do Laboratório) por sua boa vontade em sempre me ajudar e aos divertidos momentos.

Aos colegas de laboratório Súsi Simas, Juliana Moraes, Izabel Rocha, Jéssica Sidou, Sebastião Neto, Sharala Kumari, Carlos Cardoso e as Pibiquinhas pelo convívio e apoio, durante as atividades no laboratório.

Aos técnicos Artêmio Coelho, Francisco Lima e Lourival Maciel, pela amizade, cuidado, empenho e dedicação no trabalho de campo.

Ao Sr. Roberto Dantas, o “tinho”, exemplo de dedicação e competência, lhe agradeço profundamente pela paciência, atenção e auxílio.

À Ana Cleide, técnica da esterilização, por todo carinho, apoio e boa vontade.

À todos os integrantes da Coordenação de Pesquisa em Sociedade, Ambiente e Saúde/CSAS que contribuíram de forma direta e indireta para realização deste trabalho.

À todos os moradores da Estrada do INCRA, em especial os proprietários do Sítio “A Grande Família”, na figura de Aurélio Alves, pelo acolhimento para realização deste trabalho.

Ao Enfermeiro Anderson Olivar de Souza pelo apoio incondicional, com palavras e atos inspiradores, e preocupação de irmão que sempre me foi dada. À todos os colegas de mestrado, pela amizade e convívio ao longo do curso.

À todos os professores que fizeram parte deste curso.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde/UFAM, pela oportunidade de aprendizado.

À CAPES pela bolsa de estudo concedida.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), pela disponibilidade de equipamentos, materiais e instalações.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Página

Tabela	Levantamento de espécies de flebotomíneos utilizando-se dois métodos de coleta, em agosto de 2010 e 2011, no município de Tabatinga, Amazonas, Brasil.....	27
--------	--	----

Capítulo II

Tabela 1.	Levantamento de espécies de flebotomíneos naturalmente infectados por tripanosomatídeos já descritos na literatura.....	61
Tabela 2.	Flebotomíneos incriminados como transmissores de tripanosomatídeos capturados em área silvestre e peridomicílio no município de Tabatinga, AM, Brasil.....	59
Tabela 3.	Origem e identificação de <i>Leishmania</i> sp. e cepas de referencia utilizadas neste estudo para identificação preliminar das amostras isoladas de flebotomíneos.....	66

LISTA DE FIGURAS

Revisão da Literatura	Pag
Figura 1. Incidência dos casos de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) na região norte, nos anos de 2003 a 2009.....	10
Figura 2. Números de casos humanos de LTA no Amazonas e sua distribuição entre os municípios com maior número de notificações, nos anos de 2010 e primeiro semestre de 2011.....	10
Figura 3. Tríplice fronteira: Brasil – Colômbia – Peru.....	11
Figura 4. Ligação entre a cidade de Letícia (Colômbia) e Tabatinga (Brasil). a) Vista aérea da Avenida da Amizade e Avenida Internacional; b) Marco limítrofe entre Brasil e Colômbia e c) lado brasileiro.....	13

Capítulo I

Figura 1. a) Localização geográfica do município de Tabatinga, AM, BR, área de fronteira com a Colômbia e Peru. b) Planta da localização da estrada do INCRA, de acordo com o Ministério do Desenvolvimento Agrário. c) Mapa (Satélite) da fronteira mostrando área de vegetação. d) Local das áreas de coletas.....	22
Figura 2. Métodos de coleta de flebotomíneos: a) armadilha luminosa tipo CDC; b) aspiração em base de árvore.....	23

Figura 3. Comparação dos métodos de coletas (CDC e BA): a) Índice de diversidade de Shannon-Wiener (H') e b) Índice de Equitabilidade (J'), com abundância de espécies nas coletas em armadilha tipo CDC, em 2010 e 2011, Tabatinga, AM, BR.....	28
--	----

Capítulo II

Figura 1. Mapa (Satélite) com localização do município de Tabatinga, AM, BR, área de fronteira com a Colômbia e Peru.....	54
Figura 2. Área de estudo – município de Tabatinga, AM, BR. Localização das áreas de coletas ao longo da estrada do INCRA, Geodésica II, entre os Km 4 e 8.....	55
Figura 3. Número de casos de LTA no período de 2005 a 2011, no município de Tabatinga.....	58
Figura 4. Coleta de flebotomíneos em ambiente silvestre (km 4, 5 e 6) no município de Tabatinga, AM, com armadilha CDC e BA.....	60
Figura 5. Coleta de flebotomíneos em ambiente de peridomicílio (km 4) no ano de 2010, no município de Tabatinga, AM, com armadilha CDC. a) galinheiro e b) chiqueiro.....	63
Figura 6. Formas promastigotas de tripanosomatídeos isolados em cultivo do trato digestório de <i>Lutzomyia</i> spp.....	65
Figura 7. Zimograma de isolados de tripanosomatídeos de Tabatinga, enzimas: GPI, 6PGDH, G6PDH, IDH-NADP e MDH. EZ01 (<i>Endotrypanum</i> sp.), EZ12 (<i>E. schaudinni</i>), Z23 (<i>L. (V.) guyanensis</i>), <i>L. c. (L. (V.) colombiensis)</i> , A (IM5790, IM5792, IM5794, IM5803,	

IM5804, IM5813), B (IM5789, IM5790,IM 5792, IM5794, IM5803), C (IM5789, IM5790, IM5813), D (IM5792, IM5794, IM5803), E (IM5789, IM5805), F (IM5813, IM5794, IM5792, IM5790, IM5803), IM5804 (<i>L. dendrophyla</i>),IM 5813 (<i>L. umbratilis</i>) e 5794 (<i>L. dendrophyla</i>).....	67
--	----

Capítulo III

Figura 1. a) Localização da área de estudo no município de Tabatinga, Amazonas – BR, aréa de fronteira com a Colômbia. b) Locais de registro de <i>Lutzomyia (trichopygomyia) witoto</i> na Colômbia (Letícia, Pto. Caicedo e El Retorno). ☆ = Local. Fonte: 1: Young e Morales (1987); 2: Barreto <i>et al.</i> (2000); 3: Cabrera <i>et al.</i> (2009).....	94
---	----

Figura 2. Genitália do macho de <i>Lutzomyia (Trichopygomyia) witoto</i> Young e Morales 1987.....	95
--	----

Capítulo IV

Figura 1. Áreas de coletas (☆) de <i>Lutzomyia (Trichophoromyia) howardi</i> no Estado do Amazonas, Brasil (Tabatinga, AM - área de tríplice fronteira).....	101
--	-----

RESUMO

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é um problema de Saúde Pública mundial. É amplamente distribuída no Brasil e a população amazonense encontra-se entre os estados mais acometidos pela doença no país. Este estudo teve como objetivo averiguar os aspectos epidemiológicos e entomológicos da LTA no município de Tabatinga, Estado do Amazonas. O município está situado à margem esquerda do rio Solimões, região fronteira à Colômbia e ao Peru. Foi realizado um estudo retrospectivo (últimos sete anos) dos casos humanos de leishmaniose cutânea notificados no município, a partir dos dados fornecidos pela Secretaria Municipal de Saúde de Tabatinga e o levantamento da fauna de flebotomíneos em agosto de 2010 e 2011. As coletas de flebotomíneos foram realizadas na Estrada do Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária - INCRA, Geodésica II, entre os km 4 e 8, utilizando-se armadilhas luminosas (CDC) e aspiração em base de árvore com CDC modificada. Para análise estatística foram utilizados o Índice de Abundância de Espécies (IAE), Índice Padronizado de Abundância de Espécies (IPAE), Índice de Diversidade Shannon-Wiener (H') e Índice de equitabilidade (J'). Foram notificados 41 casos autóctones de LTA em Tabatinga, onde 61,7% eram do sexo masculino, com faixa etária de 30 a 39 anos (24,4%) e agricultores (21,9%). A forma clínica predominantemente foi cutânea. Foram coletados 5.741 espécimens, correspondente a 35 espécies do gênero *Lutzomyia*, capturados tanto em ambiente silvestre quanto peridomiliar. A espécie mais abundante foi *L. umbratilis* (IPAE= 1.000). Deste total, 13 espécies são consideradas transmissoras ou vetores potenciais de *Leishmania* e/ou outros tripanosomatídeos. Das 44 amostras positivas, 10 foram isoladas/mantidas em cultivo, sendo oito de *L. umbratilis* e duas de *L. dendrophyla*. Análise isoenzimática desses isolados, demonstrou perfis similares a *Leishmania colombiensis* e *Endotrypanum* sp., no entanto, o perfil do locus MDH demonstrou maior similaridade para o gênero *Endotrypanum*. Foi feito o relato da ocorrência de duas novas espécies de flebotomos no Amazonas (*Lutzomyia howardi*) e no Brasil (*Lutzomyia witoto*). Os resultados deste trabalho referem-se à primeira informação sobre a fauna de flebotomíneos no município de Tabatinga, ampliando o conhecimento da distribuição, diversidade e infecção natural por tripanosomatídeos no Estado do Amazonas.

Palavras-chave: Leishmaniose Tegumentar; Amazonas; Tríplice Fronteira; Flebotomíneos; *Lutzomyia umbratilis*; *Endotrypanum*

ABSTRACT

The American Cutaneous Leishmaniasis (ACL) is a public health problem worldwide. It is widely distributed in Brazil and the Amazonas population is among the states most affected by the disease in the country. This study aimed to investigate the epidemiological and entomological leishmaniasis in the municipality of Tabatinga, Amazonas state. The city is situated on the left margin of the Solimões River, the border region to Colombia and Peru. We conducted a retrospective study (seven years), human cases of cutaneous leishmaniasis reported in the city, from data supplied by the Municipal Health Tabatinga and fauna survey of sand flies in August 2010 and 2011. Sandfly collections were carried out on the road from the National Institute of Colonization and Agrarian Reform - INCRA, Geodesy II, between km 4 and 8, using light traps (CDC) and aspiration in base tree with modified CDC. For statistical analysis we used the abundance index of species (ISA), standardized index of abundance of species (SISA), Index of Shannon-Wiener diversity (H') and evenness index (J'). Have been reported 41 autochthonous cases of ACL in Tabatinga, where 61.7% were male, aged 30-39 years (24.4%) and farmers (21.9%). The predominant clinical form was cutaneous. We collected 5741 specimens representing 35 species of the genus *Lutzomyia*, both captured in the sylvatic and peridomiliar environment. The most abundant species was *L. umbratilis* (SISA = 1.000). Of this total, 13 species are considered vectors or potential vectors of *Leishmania* and/or other trypanosomatids. Of the 44 positive samples, 10 were isolated / maintained in culture, eight from *L. umbratilis* and two *L. dendrophyla*. Isozyme analysis of these isolates showed similar profiles to *Leishmania colombiensis* and *Endotrypanum* sp., however, the profile of MDH locus showed greater similarity to the genus *Endotrypanum*. It made the report of the occurrence of two new species of sand flies in the Amazonas State (*Lutzomyia howardi*) and Brazil (*Lutzomyia witoto*). These are the first information on the phlebotomine fauna in the municipality of Tabatinga and expanding knowledge of the distribution, diversity and natural infection of trypanosomatids in the state of Amazonas.

Keywords: Cutaneous Leishmaniasis; Amazon; Triple Frontier; Sand fly; *Lutzomyia umbratilis*; *Endotrypanum*

SUMÁRIO

	Pg
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	001
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	003
3. OBJETIVOS.....	016
CAPÍTULO I	
Entomofauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) numa área de fronteira do estado do Amazonas, Brasil.....	017
CAPÍTULO II	
Levantamento Epidemiológico da Leishmaniose Cutânea e vetores de Tripanosomatídeos (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) em Tabatinga, AM, BR.....	050
CAPÍTULO III	
Primeiro registro de <i>Lutzomyia (Trichopygomyia) witoto</i> Young & Morales 1987 (Diptera: Psychodidae) no Brasil.....	090
CAPÍTULO IV	
Primeiro registro de <i>Lutzomyia (Trichophoromyia) howardi</i> Young 1979 (Diptera: Psychodidae) no Amazonas, Brasil.....	099
4. DISCUSSÃO GERAL.....	105
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	109
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....	111
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	112

1. INTRODUÇÃO GERAL

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é um problema de Saúde Pública mundial e é considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma das cinco doenças infecto-parasitárias endêmicas de maior relevância (Nogueira & Sampaio, 2001).

De acordo com dados do Sistema de Informações de Agravos de Notificações (SINAN) do Ministério da Saúde, foram registrados no período de 2004 a 2008 em torno de 118.972 casos de LTA no Brasil (Brasil, 2009).

A Leishmaniose Tegumentar é amplamente distribuída pelo país, mas as áreas de maior prevalência atingem as regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste, apresentando nas últimas décadas mudanças em relação a seu padrão epidemiológico e distribuição (Sessp, 2004).

Conforme Dourado *et al.* (1989), Grimaldi Jr. (1989) e Desjeux (2004) a doença apresenta cadeia de transmissão complexa, estando sujeita, em uma mesma região, a diversos determinantes, tais como: desequilíbrio ecológico produzido pela ação invasiva do homem, o desflorestamento para assentamentos populacionais, variações sazonais e ademais, desnutrição, susceptibilidade genética e síndrome da imunodeficiência adquirida.

No Amazonas, a LTA é primariamente uma zoonose, com ciclo de transmissão silvestre ocorrendo entre os flebotomíneos e os mamíferos silvestres. Na maioria das vezes, o homem se infecta ao entrar em contato com o ciclo natural de transmissão alterando o ambiente interpondo-se ao ciclo silvestre (Guerra *et al.*, 2006).

A população amazonense encontra-se entre os estados mais acometidos por

LTA no país (Naiff-Jr *et al.*, 2009), sendo os municípios de Manaus (22,69%), Presidente Figueiredo (4,8%) e Rio Preto da Eva (2,98%) com o maior número de casos, segundo dados epidemiológicos realizados no ano de 2010 (SINAN, 2011).

De acordo com o levantamento de dados realizado pela Vigilância Epidemiológica do município de Tabatinga, foram notificados 51 casos no período de 2005 a 2011 (SEMSA - TBT, 2012).

O município de Tabatinga apresenta um forte determinante para exposição do homem a doença, pois trata-se de uma região de fronteira com outros países amazônicos (Colômbia e Peru), o que permite a migração de estrangeiros para o local em busca de melhores condições de vida e de serviços de saúde diferenciado, iniciando desta forma um processo de desmatamento para ocupação da área, ocasionando assim um ambiente propício para infecção do homem, pois este ao invadir o habitat natural do inseto vetor, torna-se um hospedeiro acidental.

Nesse sentido, foram investigados os aspectos epidemiológicos da LTA, bem como a composição da fauna de flebotomíneos no município de Tabatinga, visando um maior entendimento das características da transmissão dessa doença na localidade, para caracterizar a doença nessa região.

Estudos com este foco contribuem com informações para uma melhor compreensão ou adequação das ações em políticas públicas, bem como, dão suporte para o desenvolvimento de estratégias e ferramentas efetivas de prevenção da LTA junto à população exposta as áreas de risco. Tais ações poderiam ser adotadas como forma de vigilância em saúde para melhoria da qualidade de vida da população afetada.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Considerações Gerais da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA)

A LTA é uma doença que acompanha o homem desde a antigüidade, existindo relatos e descrições encontrados na literatura desde o século I d.C. (Lainson, 1997; Camargo; Barcinski, 2003).

Nas Américas, foram encontradas cerâmicas pré-colombianas, datadas de 400 a 900 anos d.C., feitas pelos índios do Peru, que apresentam mutilações de lábios e narizes, características da espúndia, hoje conhecida como leishmaniose cutânea-mucosa (Lainson & Shaw, 1988).

Posteriormente, através dos estudos de paleomedicina, foram descobertas múmias com lesões de pele e mucosas características da leishmaniose (Santos & Coimbra, 1994).

A primeira referência de LTA no Brasil encontra-se no documento da Pastoral Religiosa Político-Geográfica de 1827, citado no livro de Tello intitulado “Antigüidad de la Sifilis en el Peru”, onde ele relata a viagem de Frei Dom Hipólito Sanches de Fayas e Quiros, de Tabatinga (AM) até o Peru, percorrendo as regiões do vale amazônico (Pessoa & Barreto, 1984). O primeiro a observar o parasita do gênero *Leishmania* foi Cunningham (1885), na Índia, em casos de leishmaniose visceral.

No Brasil, Cerqueira (1855) observara a existência da moléstia da pele, identificando-a clinicamente como botão de Biskra. Em 1895, na Itália, Breda, descreveu a moléstia em italianos provenientes de São Paulo (Pessoa, 1982). Entretanto, no Brasil, a natureza leishmaniótica das lesões cutâneas e nasofaríngeas só foi confirmada, pela primeira vez, em 1909, por Lindenberg, que

encontrou formas de leishmania, idênticas à *Leishmania tropica* da leishmaniose do Velho Mundo, em lesões cutâneas de indivíduos que trabalhavam nas matas do interior do Estado de São Paulo (Pessoa, 1982). Gaspar Vianna, por considerar o parasito diferente da *L. (L.) tropica*, o batizou de *L. (V.) braziliensis*, ficando assim denominado o agente etiológico da “úlcer de Bauru”, “ferida brava” ou “nariz de tapir” (Silveira *et al.*, 1997).

A LTA está incluída entre as seis principais endemias causadas por protozoários, representando um importante problema de saúde pública mundial (Who, 1990; França, 1999). É uma doença inflamatória do tegumento e/ou das membranas mucosas (Mcadam & Sharpe, 2004), causada por protozoários parasitos do gênero *Leishmania* (Ross, 1903), transmitida a partir de animais para o ser humano, através da picada da fêmea infectada de vetores flebotomíneos (França, 1999).

Os parasitos do gênero *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), são protozoários digenéticos (heteroxenos), que tem o seu ciclo biológico desenvolvido em dois hospedeiros, um vertebrado e um invertebrado (Lainson & Shaw, 1979). Apresentam dois estágios evolutivos principais: (1) forma promastigota (com flagelo livre) que se desenvolve no aparelho digestivo do vetor e a (2) forma amastigota (intracelular, com flagelo rudimentar) que parasita o Sistema Fagocítico Mononuclear (SFM) do hospedeiro vertebrado infectado, reproduzindo-se no interior de macrófagos (Lainson & Shaw, 1987; Grimaldi *et al.*, 1989). Esta moléstia pode acometer indivíduos de qualquer idade, sexo ou raça (Alchorne & Yamashita, 2003).

Surtos da doença geralmente ocorrem em áreas de desmatamento recente, para ocupação da terra por posseiros, edificação de estradas, instalação de frentes de trabalho, organizações militares em treinamento de selva, caçadores,

implantação de assentamentos rurais e população indígena que habita a floresta de áreas endêmicas (Brasil, 2000).

No Novo Mundo, o ciclo de transmissão de *Leishmania* ocorre em vários animais mamíferos (roedores, marsupiais, edentados, eqüinos, primatas e canídeos) que funcionam como verdadeiros reservatórios naturais do parasito e em insetos hematófagos flebotomíneos, do gênero *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) pertencentes a várias espécies e diferentes gêneros, dependendo da localização geográfica (Young & Duncan, 1994).

Existem aproximadamente 800 espécies de flebotomíneos catalogadas em todo o mundo, das quais mais de 120 ocorrem na Amazônia. Porém, somente 32 espécies de flebótomos têm sido implicadas na transmissão da leishmaniose humana (Arias & Freitas, 1977; Who, 1990; Young & Duncan, 1994).

O hospedeiro vertebrado adquire a infecção com a inoculação do parasito (forma promastigota metacíclica) durante o repasto sanguíneo. Os humanos e animais domésticos infectados com *Leishmania* são hospedeiros secundários e não desempenham papel importante no ciclo de transmissão, são considerados hospedeiros acidentais (Lainson, 1988).

O modelo de transmissão da LTA transformou-se gradualmente durante as últimas décadas, passando de silvestre, primordialmente, para associação de silvestre, domiciliar e peridomiciliar (Armijos *et al.*, 1997).

Atualmente existem cerca de 30 espécies de *Leishmania* descritas, sendo 10 no Velho Mundo e 20 no Novo Mundo. Dentre essas 21 causam a doença no homem. Nas Américas, 13 espécies são conhecidas, destas sete causam LTA no Brasil (Grimaldi & Tesh, 1993).

A LTA na Amazônia pode ser ocasionada por sete espécies de leishmanias, seis do subgênero *Viannia*: *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) shawi*, *L. (V.) lindenbergi* e uma do subgênero *Leishmania*: *L. (L.) amazonensis* (Silveira *et al.*, 2002). Dentre essas, até o momento, as de maior importância no estado do Amazonas são: *L. (V.) guyanensis* (Flock, 1954) e a *L. (V.) naiffi* (Lainson & Shaw, 1989), seguidas de *L. (V.) braziliensis* (Vianna, 1911) e *L. (L.) amazonensis* (Lainson & Shaw, 1972) (Reis & Franco, 2010).

A comparação de dados clínicos e dos agentes etiológicos revelou que 83% dos casos notificados na região são ocasionados pela *L. (V.) guyanensis*. A endemia associada a este patógeno incide em focos rurais e urbanos (75,9% e 24,1% dos casos, respectivamente), sendo a doença comum em jovens do sexo masculino, que trabalham no campo (Naiff, 1998).

A *L. (V.) naiffi* raramente causam lesões ulceradas em humanos. Está associada com tatus (*Dasyus novencintus*), em florestas primárias na região amazônica. Seus vetores são *Lutzomyia davisi*, *L. squamiventris*, *L. paraensis* e *L. ayrozai* (Lainson *et al.*, 1990; Young & Duncan, 1994).

A *L. (L.) amazonensis* é responsável pelos casos de leishmaniose anérgica, sendo encontrado ao norte e ao sul do rio Amazonas (Lainson & Shaw, 1979). Segundo Grimaldi & Tesh (1993) é a única espécie do subgênero *Leishmania* que causa a Leishmaniose Tegumentar no Brasil, com distribuição geográfica relativamente ampla nas Américas.

A *L. (V.) braziliensis* causa lesões cutâneas e mucosas, estende-se de Norte a Sul do Brasil em áreas de colonização recente e antiga. Está relacionada com animais domésticos, como cavalos e cães. Sua transmissão está associada ao vetor

L. wellcomei em florestas primárias no Pará e Sul da Bacia Amazônica (Marzochi, 1994).

A LTA pode ocasionar infecções subclínicas ou determinar lesões tegumentares. Sabe-se da existência de indivíduos naturalmente resistentes à infecção (assintomáticos) e outros com diferentes graus de suscetibilidade (sintomáticos). No homem, a evolução da infecção por *Leishmania* depende da natureza da resposta imunológica do hospedeiro, assim como da virulência e/ou composição antigênica da cepa do parasito (França, 1999).

Dependendo da espécie de *Leishmania* envolvida e da resposta imune mediada por células do indivíduo acometido, teremos diferentes formas clínicas conhecidas como leishmaniose cutânea localizada (LCL), leishmaniose mucocutânea (MCL) e leishmaniose difusa anérgica - ADCL (Silveira *et al.*, 2004).

Segundo Alchorne & Yamashita (2003), as manifestações clínicas da doença ocorrem após período de incubação variável (um a três meses). A lesão inicial no ponto de inoculação é papulosa, que posteriormente evolui para lesão ulcerada com bordas elevadas (aspecto em moldura), podendo regredir espontaneamente após alguns meses ou evoluir para lesões mucosas.

As lesões mucosas são na maioria das vezes secundárias as lesões cutâneas, podendo surgir depois de meses ou anos, sendo ocasionadas pela disseminação hematogênica da doença e acometem, principalmente, cavidades nasais, seguidas de faringe, laringe e cavidade oral (Sampaio & Rivitti, 2001).

A maioria das lesões de mucosa é causada por parasitos do subgênero *Viannia*, quase sempre a *L. (V.) braziliensis* e mais raramente por subtipos de *L. (V.) guyanensis* (Naiff, 1998). Algumas vezes a úlcera primária ainda pode ser observada

quando surgem as lesões mucosas, em outras vezes o acometimento mucoso surge até 10 anos depois a inoculação do parasito (Veronesi & Focaccia, 2002).

Outra forma clinica da LTA é a cutâneo-mucosa, na qual se verificam lesões na pele e na mucosa, podendo ser concomitante. A disseminação ocorre, geralmente nos três primeiros meses de doença, distribuindo-se, principalmente, na face e membros superiores (Veronesi & Focaccia, 2002).

Deve-se considerar o caso de LTA como um todo, pela ocorrência do parasito, das condições particulares de cada individuo e do estado de seu sistema imune. A resultante desta associação é que determinará a evolução da doença (Brasil, 2010).

2.2 Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana

Endêmica em quatro dos sete continentes, a LTA ocorre em regiões tropicais e subtropicais. Tem sido descrita em quase todos os países americanos, do sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina, com exceção do Uruguai e do Chile (Shaw *et al.*, 1976; Lainson, 1983).

Segundo estimativa da Organização Mundial da Saúde (OMS), a leishmaniose ocorre em 88 países e sua notificação é compulsória em apenas 30 deles (Ashford *et al.*, 1992; Desjeux, 1996). Estima-se uma prevalência global de 12 milhões de casos e incidência de 1,5 a 2 milhões de casos ao ano (Who, 2002).

O Brasil encontra-se entre os cinco países com maior número de casos desta endemia que representa um grave problema de saúde pública, com ampla distribuição por todas as regiões geográficas (Sampaio *et al.*, 1980; Furtado & Vieira, 1982), com destaque para a região Norte (40%), Nordeste (32%) e Centro-Oeste

(16%) dos casos notificados (SINAN, 2011) e, apresenta um importante incremento de casos com duplo perfil epidemiológico observado, expresso pela manutenção de casos oriundos dos focos antigos ou de áreas próximas a eles, e ainda, pelo aparecimento de surtos epidemiológicos associados especialmente ao acelerado processo de expansão das fronteiras agrícolas, a implantação e áreas de garimpos, a construção de rodovias e invasões na periferia das cidades (FVS, 2007).

No início da década de 80 foram registrados casos em 19 unidades federadas e, em 2003, todos os estados registraram autoctonia. Estima-se que entre 1990 e 2010 ocorreram mais de 618.207 casos, onde as maiores taxas têm sido registradas na Região Norte do país (Alchorne & Yamashita, 2003; Guimarães, 2011).

A população do Estado do Amazonas destaca-se como uma das mais acometidas por LTA no país, cuja prevalência no primeiro semestre de 2011, foi de 1.204 casos notificados (SINAN, 2011).

A incidência de Leishmaniose no Amazonas ainda é expressiva (Fig. 1), devido à abertura de novas estradas, instalação de novos núcleos residenciais, onde previamente existia densa floresta tropical e com treinamento de militares na selva (Talhari *et al.*, 1988; Guerra *et al.*, 2003; Pinheiro, 2008). Em especial, na cidade de Manaus, que teve uma urbanização não planejada, com construção de vários bairros nos arredores da floresta primária (Figueira, 2006).

Os municípios com maior número de casos da doença no ano de 2010 e no primeiro semestre de 2011 foram: Manaus com 390/474 casos, seguido de Presidente Figueiredo com 130/69 casos e Rio Preto da Eva com 77/104 casos (SINAN, 2011) (Fig. 2).

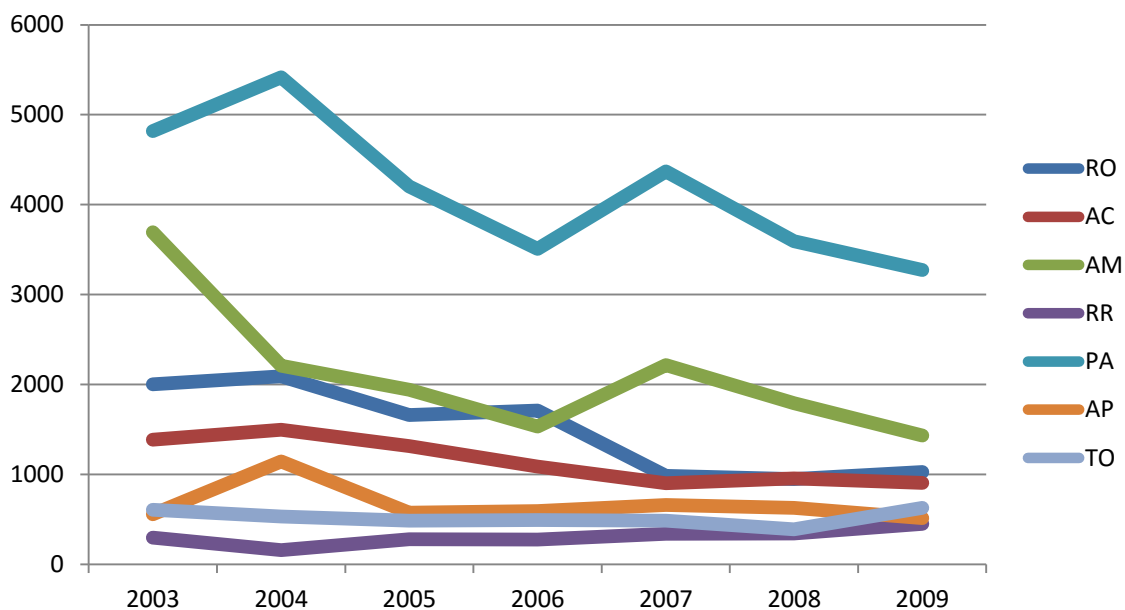


Figura 1. Incidência dos casos de LTA na região norte, nos anos de 2003 a 2009. Fonte: DATASUS - <http://tabnet.datasus.gov.br>.

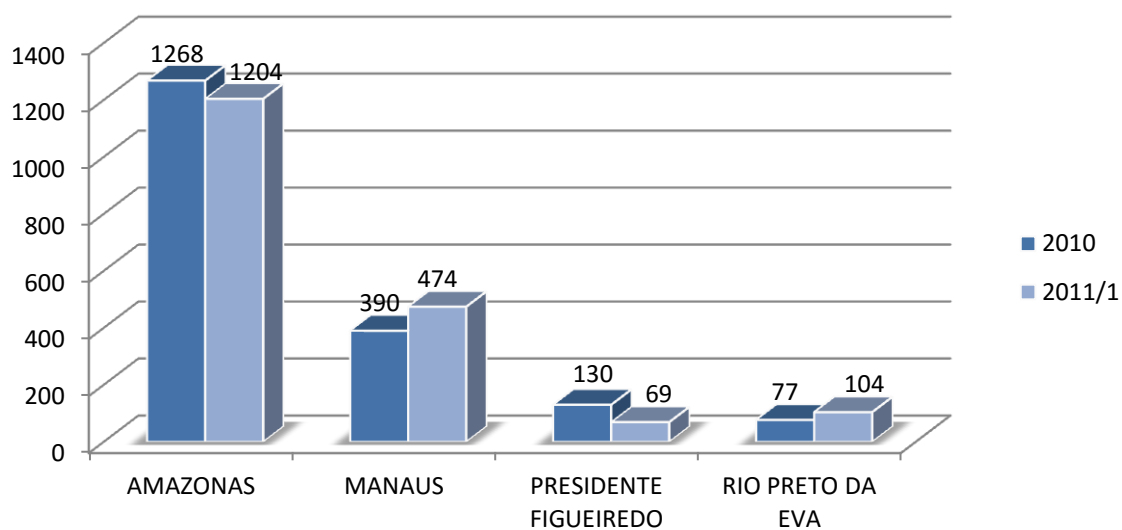


Figura 2. Número de casos humanos de Leishmaniose Tegumentar Americana no Amazonas e sua distribuição entre os municípios com maior número de notificações nos anos de 2010 e primeiro semestre de 2011. Fonte: SINAN, 2011.

A Organização Mundial de Saúde definiu que a luta contra a leishmaniose deve ser parte da atenção primária a saúde, destacando as responsabilidades de

esferas locais e federais, e da população em geral, para o combate da expansão da doença e o controle da mesma (OMS, 1990; 2011).

2.3 Tabatinga como área de estudos fronteiriços

O município de Tabatinga localiza-se no Estado do Amazonas - Brasil, situado à margem esquerda do rio Solimões ($04^{\circ} 15' 09'' S / 69^{\circ} 56' 17'' O$), região fronteiriça à Colômbia e ao Peru (Fig. 3).



Figura 3. Tríplice Fronteira: Brasil – Colômbia – Peru. Fonte: Revista Veja, 2008.

Tabatinga é uma palavra origem indígena que no Tupi significa "barro branco" de muita viscosidade, encontrado no fundo dos rios, e, no Tupi Guarani quer dizer "casa pequena" (Prefeitura Municipal de Tabatinga, 2010).

A cidade deriva do povoado de São Francisco Xavier de Tabatinga, fundada na primeira metade do séc. XVIII por Fernando da Costa Ataíde Teives, que para ali transferiu um destacamento militar do Javari (mais ao sul, na fronteira Brasil-Peru), estabelecendo um posto de guarda de fronteiras entre domínios do Reino de

Portugal e da Espanha. Também como postos militares de fronteira foram criadas mais tarde (década de 30 do séc. XX), do lado brasileiro, Vila Ipiranga e Vila Bittencourt, os dois outros pontos povoados de maior expressão (Machado, 1987).

Tabatinga foi por um longo período um subdistrito de Benjamim Constant, que era o distrito-sede da região. Foi a partir de 10 de dezembro de 1981, através da Emenda Constitucional nº 12 do Estado do Amazonas, que Tabatinga desmembrou-se de Benjamim Constant, tornando-se um Município Autônomo, sendo instalado em 1º de janeiro de 1983 (Prefeitura Municipal de Tabatinga, 2010).

Toda área nessa região está coberta por florestas (altas, baixas e pouco densas) e, hidrograficamente, pertence à bacia do rio Amazonas, sendo banhada pelo rio Solimões. No Brasil, essa região é denominada de Alto Solimões e na Colômbia de Trapézio Amazônico. No lado colombiano, situa-se a cidade de Letícia, capital do Departamento (Estado) do Amazonas, ligadas através de uma avenida que corta transversalmente ambas as cidades (Fig. 4a). Já o rio Solimões separa ambas as cidades da ilha de Santa Rosa no Peru (Oliveira, 2006).

As cidades de Tabatinga (Brasil) e Letícia (Colômbia) são interdependentes, no tocante ao abastecimento das populações. Todavia, o único marco limítrofe é um poste com as duas bandeiras (Fig. 4b e 4c), o que faz com a população local transite livremente entre os dois países como se as duas cidades fossem uma. A vegetação em toda região é caracterizada por floresta tropical úmida. O clima é equatorial, quente e úmido, com temperaturas variando entre 25°C e 32°C (Oliveira, 2006).



Figura 4. Ligação entre a cidade de Letícia (Colômbia) e Tabatinga (Brasil). (a) Vista área da Avenida da Amizade e Avenida Internacional; (b) marco limítrofe entre Brasil e Colômbia (lado colombiano) e (c) lado brasileiro. Fonte: www.universodosviajantes.com; www.portaltabatinga.com.br.

O município possui uma área territorial de 3.239,3km², altitude 60 m, com população estimada em 52.279 habitantes, conforme dados do IBGE (2010). Trata-se de uma população heterogênea formada por brasileiros, peruanos e colombianos, e dentre estes, os indígenas de diversas etnias.

O acesso ao município dá-se por barco ou por avião, inexistindo estradas que unam Tabatinga a Manaus. A distância da sede municipal para Manaus capital do Estado, em linha reta é de 1.105km e de 1.607km por via fluvial. Em termos de saúde, possui cinco Unidades Básicas de Saúde (UBS) na zona urbana e três Pólos Bases de Saúde (PB) na zona rural (FUNASA). Existe apenas um hospital, sendo este militar (Hospital de Guarnição de Tabatinga/HGuT) e um laboratório estadual (Laboratório de Fronteira/LAFRON).

Sabemos que as fronteiras são limites políticos, ou seja, linha de divisa internacional, mas que se configuram em um importante processo envolvendo fatores biológicos, ecológicos, socioeconômicos e comportamentais.

Gadelha e Costa (2005) afirmam que as zonas de fronteira são locais de interconexão de redes sociais de diferentes origens e é isso que torna essas áreas muito mais susceptíveis e vulneráveis (Peiter, 2007). Tradicionalmente tratada como local de isolamento, a fronteira configura-se como uma região de baixo desenvolvimento socioeconômico marcada por profundas iniquidades sociais.

Segundo Barcellos *et al.* (2001), a área de fronteira apresenta duas características básicas no que se refere aos processos saúde/doença que aí se estabelecem: é o lugar de entrada ou saída de pessoas, animais e mercadorias que permitem o intercâmbio e a difusão de agentes patogênicos entre países e; é uma área ou zona com características particulares, onde os habitantes dos países vizinhos vivem os efeitos de proximidade, gerando comportamentos particulares.

O movimento de cruzar as fronteiras é um fator de risco fundamental que contribui para a urbanização das leishmanioses (Rowland *et al.*, 1999). Nesse tipo de região é livre o acesso para outros países, por exemplo, Colômbia e o Peru, tornando-se ainda mais amplo o surgimento e/ou notificação de outras espécies de flagelados não autóctones, assim como outras doenças.

Conforme o Relatório do Projeto Sis Fronteiras (Brasil, 2006) a dificuldade de acesso a serviços assistenciais e a ausência de controle das ações de saúde pública têm sido observadas nos países de fronteira com o Brasil, levando a um aumento do fluxo de circulação das populações ali residentes, na busca de uma melhor oferta de serviços de saúde.

Para Peiter (2005), a área da saúde apresenta problemas típicos em áreas de fronteira, como o controle e o monitoramento de doenças e a perda ou falta de informações e registros no acompanhamento de casos de longo tratamento; essas dificuldades que inviabilizam ações de intervenção em saúde, um exemplo é o controle de vetores.

Apesar da extensão territorial deste município e, por consequência, a extensa linha fronteira com outros países, o Estado do Amazonas tem realizado poucos estudos em relação à ocorrência de focos de leishmaniose tegumentar nestas localidades. A realização de estudos que envolvem o levantamento da fauna de flebotomíneos e da indicação de vetores potenciais da leishmaniose nestas áreas de fronteira em muito enriquecem o conhecimento acerca da circulação de uma importante endemia como é a leishmaniose, sendo assim, a realização do diagnóstico biológico para a detecção da infecção natural nestes insetos em uma região de fronteira (particularmente vulnerável) é de suma importância para a compreensão da dinâmica da doença, contribuindo para a construção de um panorama mais amplo sobre a fronteira e das melhores condições de controle e medidas de prevenção da mesma.

3. OBJETIVOS

3.1 – GERAL

Analisar os aspectos epidemiológicos e entomológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana no município de Tabatinga, Estado do Amazonas.

3.2 – ESPECÍFICOS

Capítulo I – ENTOMOFAUNA DE FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE) NUMA AREA DE FRONTEIRA DO ESTADO DO AMAZONAS, BRASIL.

- Realizar levantamento da fauna de flebotomíneos e caracterizar a diversidade de espécies no município de Tabatinga, AM;

Capítulo II – VETORES DE LEISHMANIOSE EM TABATINGA, ESTADO DO AMAZONAS.

- Realizar um estudo retrospectivo a partir do ano de 2005, dos casos de LTA no município de Tabatinga, AM;
- Verificar as espécies de vetores potenciais da Leishmaniose Tegumentar na região;

Capítulo III – PRIMEIRO REGISTRO DE *LUTZOMYIA (TRICHOPYGOMYIA) WITOTO* YOUNG & MORALES, 1987 (DIPTERA: PSYCHODIDAE) NO BRASIL.

Capítulo IV – PRIMEIRO REGISTRO DE *LUTZOMYIA (TRICHOPHOROMYIA) HOWARDI* YOUNG 1979 (DIPTERA: PSYCHODIDAE) NO AMAZONAS, BRASIL.

- Verificar a distribuição geográfica das espécies identificadas e sua ocorrência no Amazonas e no Brasil.

CAPÍTULO I

ENTOMOFAUNA DE FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE) NUMA ÁREA DE FRONTEIRA DO ESTADO DO AMAZONAS, BRASIL

CAPÍTULO I

ENTOMOFAUNA DE FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE) NUMA ÁREA DE FRONTEIRA DO ESTADO DO AMAZONAS, BRASIL

Fabiane Veloso Soares, Rui Alves de Freitas, Antonia Maria Ramos Franco

Coordenação de Pesquisa em Sociedade, Ambiente e Saúde, Laboratório de Leishmaniose e Doença de Chagas, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA, Manaus, AM, Brasil.

Palavras-chave: Tabatinga, *Lutzomyia*, Amazonas, Psychodidae

RESUMO

Levantamento da fauna de flebotomíneos foi realizado no município de Tabatinga, Estado do Amazonas - BR, área de fronteira com a Colômbia e Peru, onde foram coletados 5.741 espécimens em agosto de 2010 e 2011, capturados tanto em ambiente silvestre quanto em peridomiliar. A análise do Índice Padronizado de Abundância de Espécies (IPAE) revelou *Lutzomyia umbratilis* (IPAE= 1.000), como espécie predominante. Na área estudada, 20,87% dos flebotomíneos foram capturados utilizando-se armadilha luminosa tipo CDC, pertencentes a 34 espécies. As três mais abundantes nesse método foram, respectivamente, *L. umbratilis*, *L. davisii* e *L. howardi*. Foram coletados 79,13% dos flebotomíneos em base de árvores, distribuídos em 19 espécies, sendo as mais abundantes, *L. umbratilis*, *L. dendrophyla* e *L. araracuarensis*. Os resultados deste trabalho referem-se às primeiras informações sobre os flebotomíneos nesta região, ampliando o conhecimento desses insetos no Amazonas.

1. INTRODUÇÃO

Os flebotomíneos são dípteros que pertencem à família Psychodidae, subfamília Phlebotominae, e estão agrupados nos gêneros: *Phlebotomus*, *Sergentomyia* e *Chinius* no Velho Mundo e *Lutzomyia*, *Brumptomyia* e *Warileya*, no Novo Mundo. Os gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia* são os que apresentam importância médica e veterinária, pela ampla distribuição geográfica e pela capacidade de transmitir cerca de 150 microorganismos, como tripanosomatídeos, vírus e bactérias (Young & Duncan, 1994; Shaw *et al.*, 2003; Desjeux, 2004).

São conhecidas mais de 800 espécies destes insetos no mundo e estima-se que 81 delas são capazes de transmitir *Leishmania* (Killick-Kendrick, 1990; Rangel & Lainson, 2003). Das 476 espécies de flebotomíneos encontradas nas Américas, aproximadamente 40 estão envolvidas na transmissão das leishmanioses (Young & Duncan, 1994). Destas, algumas são comprovadamente vetoras, baseando-se nas características antropofílicas, na identificação da infecção natural e na distribuição espacial e sazonal em associação com o registro de casos humanos. Outras espécies são incriminadas por evidências epidemiológicas, acrescidas ou não da infecção natural pelos parasitos (Killick-Kendrick, 1990).

No Brasil o gênero *Lutzomyia* também é considerado o de maior importância médica, com ampla distribuição no país, desde regiões do sul até áreas do norte do país (Martins *et al.*, 1965; Lainson & Shaw, 1968). Em diversos Estados da região norte a investigação sobre a fauna de flebotomíneos colaborou com o conhecimento da distribuição, abundância e biologia de diversas espécies vetoras e suspeitas de transmitirem a leishmaniose (Arias & Freitas, 1978; Castellón *et al.*, 2000; Filho *et al.* 2001; Freitas *et al.*, 2002; Nery *et al.*, 2010). Estes insetos recebem várias

denominações dependendo da região encontrada, tais como, tatuquira, mosquito-palha, cangalhinha, dentre outros (Arias & Freitas, 1977; Young & Duncan, 1994).

Estudos mais recentes também ressaltam a preocupação com a epidemiologia da leishmaniose na Amazônia Brasileira (Lainson & Shaw, 2005; Tojal da Silva *et al.*, 2006; Pessoa *et al.*; Silva *et al.*, 2007; Gomes *et al.*, Gil *et al.*, 2009; Franco *et al.*, Nery *et al.*, 2010; Guerra *et al.*; Saraiva *et al.*, 2011), entretanto, estes estudos está voltada somente para as espécies de vetores (Rangel & Lainson, 2003).

Ainda não é totalmente conhecida a dinâmica da doença no Estado do Amazonas. Este por sua vez, possui 62 municípios e a maioria dos estudos abrangem somente as áreas mais próximas a Manaus, daí a importância de trabalhos como este que revelam a composição da fauna de flebotomíneos em outras localidades do Estado, com especial atenção a área de fronteira brasileira. O objetivo deste estudo foi descrever a entomofauna de flebotomíneos no município de Tabatinga, Estado do Amazonas, uma região de tríplice fronteira.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Área de estudo: O estudo foi realizado no município de Tabatinga (4° 15' 9" S, 69° 56' 17" O), Estado do Amazonas, Brasil, área de fronteira com a Colômbia e Peru (Fig. 1), distante 1.105 km de Manaus, localizado à margem esquerda do Rio Solimões. O município possui 3.239 km², altitude 60 m. Sua população é de 52.279 habitantes (IBGE, 2010) e o clima é equatorial, com temperatura média de 25°C.

2.2 Coletas de flebotomíneos: As coletas foram realizadas ao longo da Estrada do Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária - INCRA, Geodésica II, entre os

km 4 e 8 (Fig. 2), em área de mata de terra firme com maior e menor alteração antrópica dentro de um fragmento florestal e em área de peridomicílio – chiqueiro e galinheiro. Nestas áreas pode-se observar a existência de assentamentos com plantações de banana e mandioca para subsistência. O critério de seleção dos locais de captura foi baseado na ocorrência de casos humanos de Leishmaniose Tegumentar e onde as condições ambientais fossem favoráveis aos criadouros de vetores.

O levantamento da população de flebotomíneo foi realizado durante o período de 15 dias no mês de agosto de 2010 e 2011 (totalizando 30 dias), empregando metodologia diversificada (licença de coleta do IBAMA nº 24841-1/2). Os flebótomos foram coletados utilizando-se armadilhas luminosas (CDC “miniature” - Hausherr’ Machine Works, New Jersey, EUA) [Fig. 2a], instaladas nas árvores em área de platô a 1m do solo e em moradia de animais (chiqueiro e galinheiro), permanecendo ligadas no período das 18h às 8h do dia seguinte. A aspiração em base de árvore com CDC modificada (Fig. 2b) foi realizada no mesmo horário e dias da retirada das armadilhas luminosas, período da manhã nas áreas selecionadas de acordo com a vegetação ao longo da estrada. O esforço de coleta para este método foi de uma hora e meia (8:00 –9:30h).

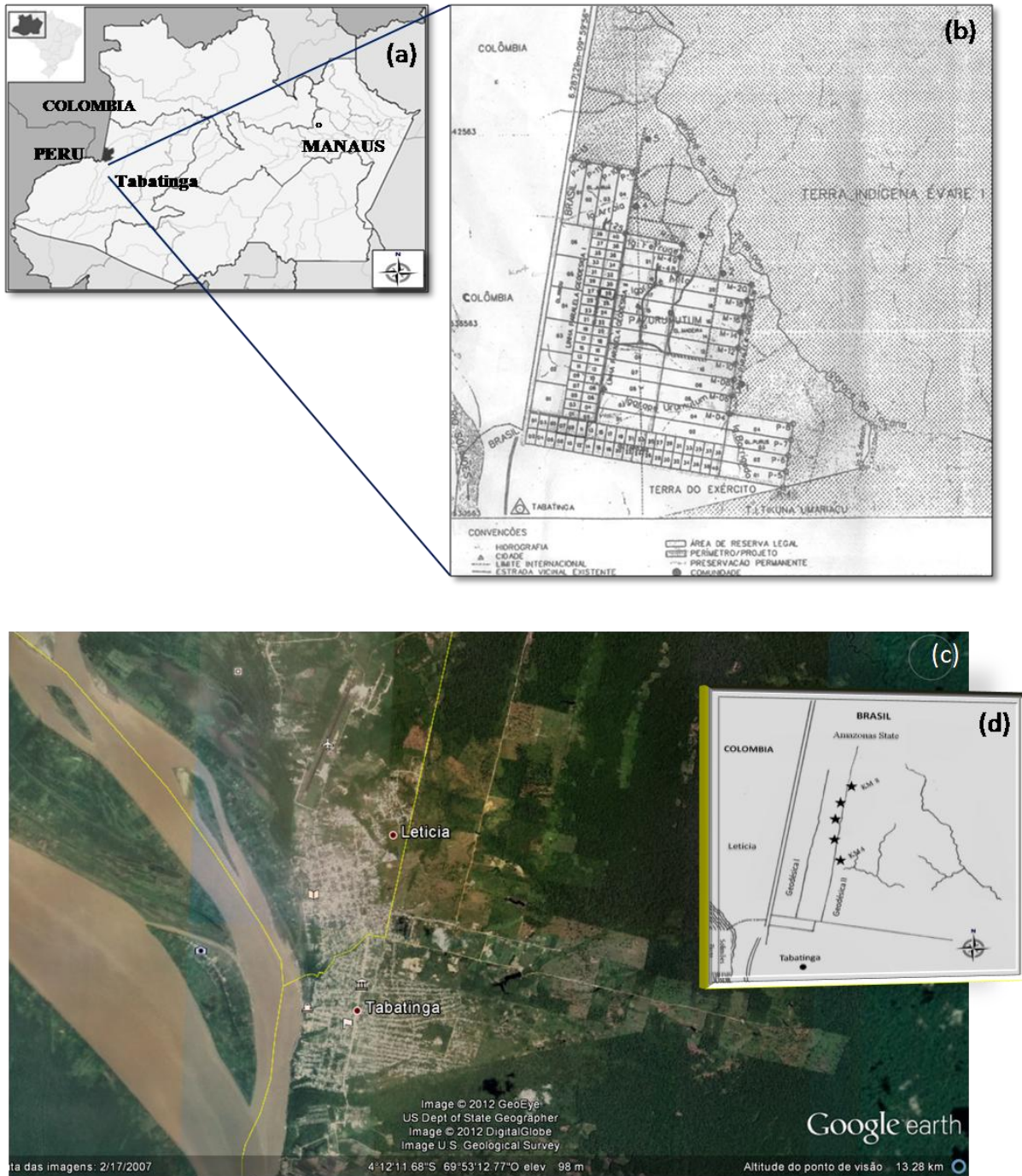


Figura 1. Município de Tabatinga, Amazonas – BR, área de fronteira com a Colômbia e Peru. (a) Localização geográfica. Fonte: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Tabatinga.svg>; (b) Planta da localização da Estrada do INCRA, de acordo com Ministério do Desenvolvimento Agrário. (c) Mapa (Imagem Satelital) da fronteira, mostrando área de vegetação. Fonte: googleearth.com. (d) Localização das áreas de coletas ao longo da Estrada do INCRA, Geodésica II, entre os kms 4 e 8, Tabatinga, Amazonas – BR. Fonte; Artêmio Coelho, 2010, INPA.

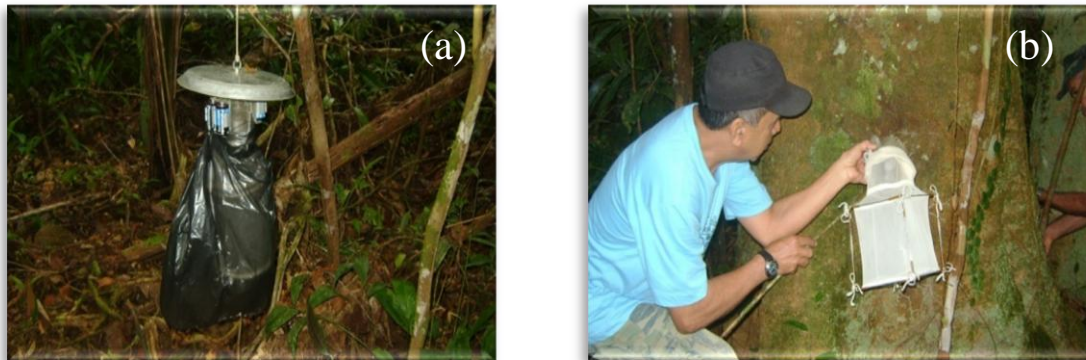


Figura 2- Métodos de coleta de flebotomíneos: **(a)** armadilha luminosa tipo CDC; **(b)** aspiração em base de árvore. Fonte: Soares, 2010.

Todos os espécimens coletados foram transportados ao laboratório local improvisado em caixa de polietileno (tipo isopor), dentro de gaiola de náilon e acondicionados em saco plástico contendo chumaço de algodão embebido em água destilada, para manter a temperatura e a umidade no interior do recipiente. Posteriormente foram triados, condicionados em etanol e identificados segundo a chave taxonômica de Young & Duncan (1994). As fêmeas foram dissecadas para observação e isolamento de flagelados.

Em alguns dos representantes por espécie, foram colocadas duas gotas de Berlese de modo que a substância penetrasse por debaixo da lamínula envolvendo o material. Após a secagem foi feita a etiquetagem incluindo nome da espécie, data, local, método de coleta e coletor. Esse procedimento é necessário para se ter uma coleção de referência da área de estudo, contribuindo assim para o conhecimento da fauna da região. Espécimens representantes da fauna local foram depositados na Coleção de invertebrados do INPA.

2.3 Análise dos dados: O Índice de Abundância de Espécies (IAE) e o Índice Padronizado de Abundância de Espécies (IPAE) (Roberts & Hsi, 1979) foram utilizados para analisar os dados obtidos a partir de capturas em áreas silvestres com métodos de coleta distintos. O programa Excell 2007 foi usado para análise dos dados.

Os dados foram registrados em uma tabela e distribuídos em linhas e colunas para as espécies por método de coleta. Cada coluna foi classificada separadamente, de acordo com o número de espécimes de cada espécie. O valor mais alto para cada coluna foi classificada como 1, o segundo como 2 e assim por diante. O IAE foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$IAE = \frac{(a + R_j)}{K}$$

onde:

k: número de colunas da tabela (métodos de coleta);

a: número de métodos de captura em que a espécie esteve ausente x **c**;

c: para cada método um ranking de espécies variando entre 1 e n (atribuindo o valor de 1,0 para as espécies mais abundantes). O c compreenderá o maior valor de n obtido, considerando todos os métodos de captura, acrescido de 1;

RJ: soma das posições de uma determinada espécie em cada método de coleta.

Os limites mínimo e máximo deste índice será determinado de acordo com a classificação mais elevada da distribuição, de modo limite é diferente em cada série de dados. A fim de evitar esta variação e padronizar o índice, que pode ser

convertido sobre a escala de valores entre 0 e 1, outro índice foi utilizado, denominado pelos autores "Índice Padronizado de Abundância de Espécies - IPAE", onde as espécies mais abundantes apresentam valores mais próximos a 1 e vice-versa. A fórmula para calcular IPAE é:

$$IPAE = \frac{(c-IAE)}{(c-1)}$$

Os resultados fornecem informações sobre a abundância relativa de espécies, bem como sobre a distribuição espacial dos indivíduos coletados.

Para comparar o total de flebotomíneos capturados na área utilizando-se os dois métodos de coleta foi utilizado o DivEs software - Diversidade de Espécies v2.0 (Rodrigues, 2005), de modo que os dados puderam ser analisados pelos seguintes testes: Índice de Diversidade Shannon-Wiener (H'): em função do grande número de espécies representadas por poucos indivíduos e Índice de equitabilidade (J'): para medir como cada espécie contribui na comunidade através de um determinado método.

3. RESULTADOS

Foram coletados 5.741 flebotomíneos em 2010 e 2011, capturados tanto em ambiente silvestre quanto em peridomiliar. Desse total, 70,3% (4.037/5.741) eram machos e 29,7% (1.704/5.741) fêmeas, distribuídas em 35 espécies do gênero *Lutzomyia* França 1924 (Tabela 1).

A análise do Índice Padronizado de Abundância de Espécies (IPAE) revelou *L. umbratilis* (IPAE= 1.000), como espécie predominante nesse estudo.

Na área estudada, com cerca de 420 horas de capturas, 1.198 (20,87%) flebotomíneos foram capturados utilizando-se armadilha luminosa tipo CDC, pertencentes a 34 espécies. As três espécies mais abundantes nesse método foram, respectivamente, *L. umbratilis* (IPAE= 1.000), *L. davisii* (IPAE= 0.971) e *L. howardi* (IPAE= 0.941) (Tabela). Ao contrário dos espécimens capturados com armadilha luminosa na mesma área, 4.543 (79,13%) flebotomíneos foram coletados em bases de árvores (BA), com cerca de 45 horas de capturas, distribuídos em 19 espécies. As mais abundantes por este método foram, respectivamente: *L. umbratilis* (IPAE= 1.000), *L. dendrophyla* (IPAE= 0.947) e *L. araracuarensis* (IPAE= 0.895) (Tabela).

Quanto ao ambiente silvestre, no ano de 2010 foram coletados 2.688 (46,8%) indivíduos, sendo 629 capturados em armadilha luminosa do tipo CDC e 2.059 em bases de árvores. No ano de 2011 foram coletados 3.044 (53%) indivíduos, sendo 560 capturados em armadilhas luminosas tipo CDC e 2.484 em bases de árvores.

Em relação ao peridomicílio (chiqueiro e galinheiro), nove (0,2%) espécimes foram capturados em armadilhas luminosas tipo CDC somente no ano de 2010, são eles: *L. umbratilis* (2), *L. christenseni* (1), *L. yuilli* (1), *L. ayrozai* (1), *L. furcata* (2), *L. howardi* (1) e *L. walkeri* (1).

Tabela. Levantamento de espécies de flebotomíneos utilizando-se dois métodos de coleta, em agosto de 2010 e 2011 no município de Tabatinga, Amazonas, Brasil.

ESPÉCIES de <i>Lutzomyia</i>	Período de 2010 e 2011								TOTAL GERAL	
	CDC		IPAE	BA		IPAE	TOTAL (CDC/BA)			%
	♂	♀		♂	♀		♂	♀		
<i>L. umbratilis</i> *	189	175	1.000	2422	791	1.000	2611	966	62,3	3577
<i>L. dendrophyla</i> *	56	7	0.882	365	50	0.947	421	57	8,3	478
<i>L. araracuarensis</i>	11		0.735	228		0.895	239		4,2	239
<i>L. marinkellei</i>	13		0.588	180		0.842	193		3,4	193
<i>Lutzomyia</i> sp.		20	0.632		165	0.789		185	3,2	185
<i>L. davisii</i> *	68	88	0.971		1	0.737	68	89	2,7	157
<i>L. christenseni</i>	6	19	0.853	78	11	0.684	84	30	1,9	114
<i>L. shannoni</i> *	9		0.500	84	9	0.632	93	9	1,7	102
<i>L. howardi</i> †	56	33	0.941	3	2	0.579	59	35	1,6	94
<i>L. falcata</i>	5		0.691	78		0.526	83		1,4	83
<i>L. yuilli</i> *		74	0.912			0.237		74	1,2	74
<i>L. sherlocki</i>	7	55	0.853			0.211	7	55	1,0	62
<i>L. sordellii</i>	36	22	0.824			0.184	36	22	1,0	58
<i>L. witoto</i> **	27	16	0.794	1		0.395	28	16	0,7	44
<i>L. tuberculata</i> *		27	0.868	4	6	0.342	4	33	0,6	37
<i>L. ayrozai</i> *	19	13	0.765			0.105	19	13	0,5	32
<i>L. antunesi</i> *		2	0.779	21	7	0.263	21	9	0,5	30
<i>L. preclara</i>	3	25	0.735			0.053	3	25	0,4	28
<i>L. scaffi</i>	1	1	0.588	19	5	0.184	20	6	0,4	26
<i>L. aragaoi</i>	9	16	0.838				9	16	0,4	25
<i>L. furcata</i> *	4	15	0.794	5		0.105	9	15	0,4	24
<i>L. evangelistai</i>	1	20	0.662				1	20	0,3	21
<i>L. runoides</i>	9	4	0.765				9	4	0,2	13
<i>L. walkeri</i>	6	7	0.544				6	7	0,2	13
<i>L. infraspinoza</i>		6	0.706		1	0.0		7	0,1	7
<i>L. abonnenci</i>				5		0.0	5		0,0	5
<i>L. paraensis</i> *	2	3	0.676				2	3	0,0	5
<i>L. lutziana</i>	2		0.426	1		0.0	3		0,0	3
<i>L. pilosa</i>	1	1	0.647				1	1	0,0	2
<i>L. reducta</i>		2	0.368					2	0,0	2
<i>L. saulensis</i>	1	1	0.618				1	1	0,0	2
<i>L. amazonensis</i> *		1	0.294	1		0.0	1	1	0,0	2
<i>L. georgii</i>		2	0.603					2	0,0	2
<i>L. cusquena</i>	1		0.559				1		0,0	1
<i>L. geniculata</i>		1	0.544					1	0,0	1
TOTAL	542	656		3495	1048		4037	1704		5741

L = *Lutzomyia*; ♂= macho; ♀= fêmea; CDC= armadilha luminosa; BA= base de árvore; IPAE= Índice Padronizado de Abundância de Espécies; %= Frequência;† Primeiro registro para o Amazonas; ** Primeiro registro para o Brasil;* Espécies incriminadas ou suspeitas na transmissão de Leishmaniose Tegumentar.

A análise da diversidade de espécies nas áreas estudadas foi avaliada através do Índice de Diversidade de Shannon-Wiener (H') e equitabilidade (J'). A diversidade de espécies foi maior em armadilhas luminosas ($H' = 1,1252$) quando comparado com as coletas em bases de árvores ($H' = 0,518$) [Fig. 3a]. A equitabilidade também foi maior em armadilhas luminosas ($J' = 0,7347$), comparado as coletas em bases de árvores ($J' = 0,4051$) [Fig. 3b].

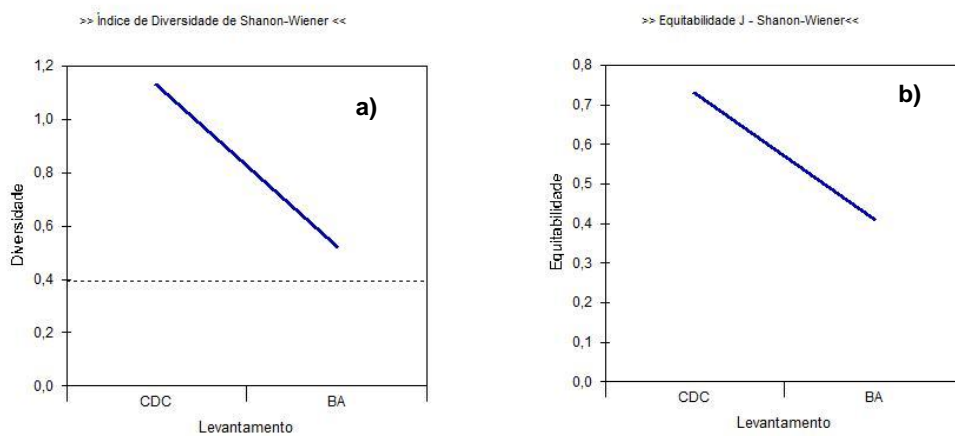


Figura 3: Comparação dos métodos de coletas (CDC e BA): a) Índice de Diversidade de Shannon-Wiener (H') e b) Índice de Equitabilidade (J'), com abundância de espécies nas coletas em armadilha tipo CDC, em 2010 e 2011, Tabatinga-AM.

Quanto ao ambiente florestal, 100% das espécies foram encontradas em áreas de mata. O peridomicílio, no entanto, não mostrou uma diversidade significativa, pois somente sete espécies (*L. umbratilis*, *L. furcata*, *L. ayrozai*, *L. christenseni*, *L. howardi*, *L. yuilli* e *L. walker*) dentre os nove indivíduos fêmeas foram capturados. O chiqueiro mostrou ser no peridomicílio o ambiente de maior número de espécies (*L. umbratilis*, *L. ayrozai*, *L. christenseni*, *L. yuilli* e *L. walker*), apesar de apenas seis espécimes fêmeas. Outro local estudado foi o galinheiro, que

apresentou somente três indivíduos, todos macho de *L. furcata* (2/3) e *L. howardi* (1/3).

4. DISCUSSÃO

A fauna de flebotomíneos encontrada no município de Tabatinga mostrou-se bastante diversificada com 35 espécies coletadas. Estudos realizados na Amazônia brasileira sobre a fauna de flebotomíneos têm comprovado uma elevada diversidade de espécies (Rebêlo & Oliveira-Pereira, 2001; Freitas *et al.*, 2002; Nery *et al.*, 2010).

Quanto à proporção sexual, houve maior ocorrência de machos. Dados semelhantes foram encontrados em outros estudos (Feitosa & Castellón, 2010; Gama Neto *et al.*, 2010; Almeida *et al.*; Franco *et al.*, 2010).

De acordo com Ryan *et al.* (1986), *L. umbratilis* costuma repousar em troncos de árvores de grande porte do nível do chão até a copa das árvores, tal comportamento está condicionado a fatores como umidade e temperatura. Chaniotis *et al.* (1971), observaram que na floresta tropical, o solo e a copa das árvores podem ser vistos como diferentes habitats, com componentes físicos e biológicos distintos. A copa das árvores representa um sítio primário de florescência e frutescência que atrai e abriga muitos vertebrados, tais como, primatas e preguiças. As condições climáticas na copa das árvores são diferentes das do nível do solo, ou seja, há diferenças nos microclimas (temperatura, umidade relativa, intensidade de luz, movimento do ar, níveis de CO₂, etc.). Lainson (1983) e Lainson *et al.* (1986) descrevem um exemplo típico da influência de um desses fatores, sobre ritmo circadiano de *L. umbratilis*: nas primeiras horas da manhã, o aquecimento da copa das árvores influencia os flebótomos a descerem ao nível do solo para

protegerem-se da dessecação; ao entardecer, o resfriamento contínuo favorece o retorno dos flebótomos às copas das árvores, em busca das suas fontes de alimento, principalmente preguiças e tamanduás. Para Ready *et al.* (1986) e Barrett *et al.* (1991), as populações de *L. umbratilis* são mais distribuídas em áreas de alta elevação topográfica (platôs) por conter árvores de grande porte com diâmetro acima de um metro e podem ser vistas repousando em bases de árvores altas, durante o dia. Essas características são compatíveis com área a estudada, onde o período de coletas (mês de agosto) corresponde a períodos de baixas precipitações e altas temperaturas, inclusive ao amanhecer, influenciado no predomínio dessa espécie.

Maior diversidade foi observada utilizando-se armadilhas luminosas (CDC), com 34 espécies coletadas, em contrapartida nas coletas por aspiração em bases de árvores somente 19 espécies foram coletadas. Estudos realizados na Amazônia (Bacia Petrolífera no Rio Urucu, Estação Experimental de Silvicultura Tropical (INPA) e na UFAM, Manaus-AM) utilizando este método de captura demonstraram sua eficiência, sob o ponto de vista qualitativo e quantitativo (Castellón *et al.*, 2000; Lima-Dias *et al.*, 2002; Nery *et al.*, 2010). No entanto, uma das espécies - *L. abonnenci*, só pode ser coletada pelo método de aspiração em base de árvore, levando a concluir que a utilização simultânea de várias metodologias de coleta é necessária para a complementação da coleta.

O predomínio de *L. umbratilis* (IPAE = 1.000) chama atenção por se tratar de uma espécie considerada como principal transmissor da *L. (V.) guyanensis* ao homem no norte do país (Lainson *et al.*, 1976; Arias *et al.*, 1985; Freitas *et al.*, 2002; Young & Duncan 1994) e provavelmente em outras regiões da Amazônia (Nery *et al.*, 2010). Essa espécie habita ambiente de copa e se alimenta do sangue de

tamanduás (*Tamandua tetradactyla*) e de outros mamíferos, mas quando o ambiente é perturbado, ela oportunamente desce da copa para realizar o repasto sanguíneo em humanos (Marcondes, 2001). Lima-Dias *et al.* (2002) realizando estudo para detectar a distribuição vertical dos flebotomos na cidade de Manaus, Estado do Amazonas, verificaram que a espécie *L. umbratilis* tem alta plasticidade quanto a escolha do hábitat, e tem sido coletada nas estratificações 1, 10 e 20 m de altura do solo em ambiente de mata fechada. É uma espécie predominante na floresta de terra firme (Arias & Freitas, 1978) e em nossa investigação essa espécie foi mais abundante em base de árvore – principalmente por machos em base de árvore. Informações semelhantes foram encontradas por Nery *et al.* (2010) e Franco *et al.* (2010) nos municípios de Manaus e Rio Preto da Eva, AM. A alta prevalência dessa espécie utilizando este método de coleta pode ser explicada, dentre outros fatores, por sua biologia que mostra a preferência desse inseto por base de árvore (Lainson *et al.*, 1976; Freitas *et al.*, 2002).

Rangel *et al.* (1999) estudando a distribuição vertical de flebotomos, demonstraram que, tanto ao nível do solo quanto na copa das árvores, a espécie *L. umbratilis* era dominante. Por sua vez, *L. umbratilis* são atraídas por Edentados *Choloepus didactylus* e marsupiais do gênero *Didelphis*, animais arborícolas, que sobem e descem as árvores em busca de alimento. Esta espécie foi encontrada com frequência nos três níveis de estratificação (Genaro *et al.*, 1986).

Resultados semelhantes são descritos por Franco *et al.* (2010), ao demonstrarem que a espécie *L. umbratilis* apresentou a maior frequência e abundância na área estudada (Rio Preto da Eva, AM), também observado por Pessoa *et al.* (2007) que encontraram 78,14% para esta espécie nos municípios de Silves e Itacoatiara, AM. Analisando os flebotomíneos de uma área militar e em

municípios envolvidos na construção do gasoduto em Coari – Amazonas, Gomes (2003) e Gomes *et al.* (2009), também verificaram o predomínio de *L. umbratilis*.

Diferente dos dados encontrados, Silva *et al.* (2007) observaram em Manacapuru, AM, que a espécie mais abundante foi *L. anduzei* (78,6%), seguida de *L. davisii* (58,5%) e *L. umbratilis* com 25,5%. Estudo realizado na Reserva Biológica de Campina em Manaus destaca *L. flaviscutellata*, como a espécie mais representativa, totalizando 64,5% (Silva *et al.*, 2010).

Em 1997, Ferro *et al.* realizaram estudo na periferia da cidade de Letícia (fronteira com Brasil na Amazônia colombiana) e encontraram 29 espécies de flebotomíneos, sendo as mais representativas, *L. antunesi*, *L. yuilli* e *L. walkeri*, esta última mais abundante em peridomicílio.

A segunda espécie mais representativa foi *L. dendrophylla*, coletada em maior número por aspiração em base de árvore. O que é ratificado por Cabanillas *et al.* (1995) que relatam que base de árvores na floresta Amazônica, locais conhecidos como sendo de repouso ou abrigo de flebotomíneos durante o dia, são comumente utilizados por essa espécie. É discutida a infecção por flagelados do gênero *Leishmania* nesta espécie (Freitas *et al.*, 2002).

Entre os flebotomíneos encontrados na Amazônia e coletados em Tabatinga, *L. davisii* [*L. (V.) naiffii*], *L. tuberculata* [*L. (V.) guyanensis*], *L. ayrozai* [*L. (V.) braziliensis* e *L. (V.) naiffii*], *L. furcata* [*L. (L.) deaneii*], *L. paraensis* [*L. (V.) naiffii*] e *L. amazonensis* [*L. (V.) braziliensis*], muito embora tenham uma distribuição restrita a áreas silvestres, são encontradas em ambientes domésticos. São incriminadas como vetores comprovados ou suspeitos na transmissão de leishmanias (Killick-Kendrick 1990; Braga *et al.*, 2003; Williams, 2003). Dessas, *L. davisii* foi a mais representativa com 157 indivíduos, somando 2,7% do total. É uma espécie comum em ambiente de

mata, tanto ao nível do solo quanto em copa de árvore (Aguiar *et al.*, 1985). Essa espécie recentemente foi encontrada naturalmente infectada com *L. (V.) braziliensis* na Serra dos Carajás (Pará), e pode ser uma espécie importante na transmissão da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) na Amazônia brasileira (Souza *et al.*, 2010).

Podemos citar também *L. shannoni* e *L. yuilli*, duas espécies importante do ponto de vista da saúde pública. A primeira foi mais representativa em coletas por aspiração em base de árvore, confirmando os dados de Cabanillas *et al.* (1995) e já foi encontrada infectada com *Leishmania* em vários países da América Central e do Sul (Johnson *et al.*, 1963; Zeledón & Alfaro, 1973; Ferro *et al.*, 1998; Pech-May *et al.*, 2010) além de estar envolvida na transmissão de *Endodrypanum schaudinni*, um parasita intracelular de hemácias, exclusivo de preguiças (Franco & Grimaldi, 1999). Neste estudo, *L. yuilli* foi comumente encontrada em armadilha luminosa, e tem hábitos peridomiciliares, sendo encontrada nos troncos, raízes tabulares e copas das árvores, áreas marginais às florestas e anexos de animais domésticos, e tem sido incriminada como vetor de *L. (V.) panamensis*, causando mais de 50% dos casos de LTA na Colômbia (Lainson & Shaw, 1972; Santamaría *et al.*, 2006; Vergara *et al.*, 2008). Também já foi coletada na cidade colombiana de Letícia (fronteira com a cidade de Tabatinga) com flagelados não identificados (Ferro & Morales, 1998). Essa espécie tem registros em vários Estados do Brasil, sendo encontrada tanto em peridomicílio quanto em intradomicílio (Arias *et al.*, 1985; Pinto *et al.*, 2008).

A ocorrência de *L. sordellii* é verificada em todas as regiões do país (Rangel & Lainson, 2003), sendo encontrada em abrigo de animais domésticos (galinheiros, chiqueiros e currais), domicílios, troncos de árvores, fendas de rochas e grutas de diferentes áreas do Brasil (Gallati *et al.*, 1997; Franco *et al.*, 2010; Brandão-Filho *et*

al., 2011). Essa espécie foi recentemente encontrada na borda da floresta no Pará, infectada com flagelados não identificados (Oliveira *et al.*, 2011).

Merece atenção neste trabalho à espécie *L. antunesi*, considerada tipicamente selvática, mas que já foi encontrada em ambientes associados ao domicílio em Villavicencio na Colômbia, o que indica uma adaptação progressiva a ambientes modificados pelo homem (Vasquez-Trujillo *et al.*, 2008; Silva-Nunes *et al.*, 2008). Encontra-se a descrição de infecção natural por promastigotas no Pará, Guiana Francesa e Colômbia, sugerindo infecção pelo gênero *Leishmania*, sem identificação da espécie (Ryan *et al.*, 1984, Rotureau *et al.*, 2006; Vásquez-Trujillo *et al.*, 2008).

Observou-se também que das 35 espécies coletadas, sete (20%) estiveram presentes tanto na mata quanto em peridomicílio. Dado semelhante aos encontrados por Rebelo *et al.* (2000) na Amazônia Maranhense e por Carvalho *et al.* (2010) em Brasília. Das sete encontradas no peridomicílio, quatro foram representadas por indivíduos fêmea: *L. umbratilis*, *L. ayrozai*, *L. yuilli* e *L. furcata*, todas incriminadas ou suspeitas de transmitirem *Leishmania*. Nosso achado é corroborado por Arias *et al.* (1985), Barreto *et al.* (2000) e Franco *et al.* (2010). Também nesse estudo foi encontrado um exemplar macho de *L. walkeri*, e recentemente, essa espécie foi encontrada naturalmente infectada com *Leishmania* em Pernambuco (Guimarães, 2011), e geralmente encontra-se associada a galinheiros (Paes, 1991; Feitosa *et al.*, 2004; Barbosa *et al.*, 2008). Realizando estudo sobre a composição dos flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose no Maranhão, Araujo *et al.* (2000) concluíram que a alta densidade de flebotomíneos vetores em ambiente peridomiciliar, nada mais é do que o resultado de ação antrópica na floresta. Carvalho *et al.* (2010) relata que neste novo cenário, observa-se a proximidade das

residências com áreas desmatadas e, conseqüentemente, uma maior interação da fauna silvestre com o homem e seus animais de estimação e/ou produção. Estes animais, confinados, passam a ser uma nova fonte de alimentação, fácil e segura, para os flebotomíneos. O registro dessas espécies na área serve de alerta.

Diversos estudos vêm sendo realizados em todo Brasil demonstrando uma variedade de espécies de flebotomíneos, bem como sua distribuição geográfica, sazonalidade, ecologia e epidemiologia (Biancardi *et al.*, 1982; Castellón *et al.*, 1991; Aguiar *et al.*, 1996; Marcondes *et al.*, 2001), revelando a necessidade de uma vigilância entomológica constante. Esses estudos são de grande relevância no Amazonas, um dos estados de abrangência da região amazônica, fato que explica a grande diversidade de espécies, contribuindo para o alto índice da LTA.

Os resultados deste trabalho ampliam o conhecimento acerca da distribuição dos flebotomíneos em outras áreas de mata localizadas na região amazônica, especificamente no Amazonas e em área de fronteira, fornecendo dados que irão auxiliar a escolha, pelos órgãos competentes, dos métodos de controle de doenças negligenciadas como a Leishmaniose que possuem espécies de flebotomíneos vetores potenciais desta antropozoonose.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar, G.M.; Schuback, M.L.V.; Azevedo, A.C.R. 1985. Aspectos da ecologia dos flebótomos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro. II. Distribuição vertical. (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 80(2): 187-194.
- Aguiar, G.M.; Medeiros, W.M.; De Marco, T.S.; Santos, S.C.; Gambardella, S. 1996. Ecologia dos flebotomíneos da Serra do Mar, Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. I- A fauna flebotomínica e prevalência pelo local e tipo de captura (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Caderno de Saúde Pública*, 12(2): 195-206.
- Almeida, P.S.; Nascimento, J.C.; Ferreira, A.D.; Minzão, L.D.; Portes, F.; Miranda, A. M.; Faccenda, O.; Filho, J.D.A. 2010. Espécies de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) coletadas em ambiente urbano em municípios com transmissão de Leishmaniose Visceral do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 54(2): 304–310.
- Araújo, J. C.; Rebêlo, J. M. M.; Carvalho, M. L.,; Barros, V. L. L. 2000. Composição dos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) do município da Raposa-MA, Brasil. Área endêmica de leishmanioses. *Entomología y Vectores*, 7(1):33-47.

- Arias, J.R.; Freitas, R.A. 1977. Flebótomíneos da Amazônia Central do Brasil. I- Resultados obtidos das capturas feitas com iscas humana e eqüina (Diptera: Psychodidae). *Acta Amazônica*, 7(4): 507-27.
- Arias, J. R.; Freitas, R. A. 1978. Sobre os vetores da Leishmaniose cutânea na Amazônia Central do Brasil. II. Incidência de flagelados em flebótomos selváticos. *Acta Amazônica*, Manaus 8 (3): 387-396.
- Arias, J.R.; Miles, M.A.; Naiff, R.D.; Popova, M.M.; Freitas, R.A.; Biancardi, C.B.; Castellon, E.G. 1985. Flagellates infections of Brazilian sandflies (Diptera: Psychodidae): Isolation in vitro and biochemical identification of *Endotrypanum* e *Leishmania*. *American Journal of Tropical Medicine Hygiene*, 34:1098 -1108.
- Barrett, T.; Freitas, R; Naiff, F.M.; Naiff, R.D. 1991. A leishmaniose e seus transmissores em relação à saúde na Amazônia, p. 105-117. In Val, A. L.; Figliolo, R.; Feldberg, (eds), Bases Científicas para estratégias de preservação e Desenvolvimento da Amazônia. Fatos e perspectivas, Editora Manaus, Amazonas.
- Barbosa, M.G.V.; Fé, N.F.; Marcião, A.H.R.; Silva, A.P.T.; Monteiro, W.M.; Guerra, J.A.O. 2008. Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em um foco de leishmaniose tegumentar americana na área periurbana de Manaus, Estado do Amazonas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 41 (5):485-91.

- Biancardi, C.B.; Arias, J.R.; Freitas, R.A. & Castellon, E.G. 1982. *Acta Amazônica*, 12(1): 167-179.
- Barreto, M., M. E. Burbano and P. Barreto, 2000. *Lutzomyia* sand flies (Diptera: Psychodidae) from middle and lower Putumayo department, Colombia, with new records to the country. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 95: 633-639.
- Braga, R.R.; Lainson, R.; Ishikawa, E.A.; Shaw, J.J. 2003. *Leishmania* (*Viannia*) *utingensis* n. sp, a parasite from the sandfly *Lutzomyia* (*Viannamyia*) *tuberculata* in Amazonian Brazil. *Parasitology*, 10: 111-118.
- Brandão Filho, S. P.; Donalisio, M.R.; Silva, F.J.; Valença, H.F.; Costa, P.L.; Shaw, J.J.; Peterson, T. 2011. Spatial and temporal patterns of occurrence of *Lutzomyia* sand fly species in an endemic area for cutaneous leishmaniasis in the Atlantic Forest region of northeast Brazil. *Journal of Vector Ecology*, 36: 71-76.
- Cabanillas, M.R.S., Castellón, E.G.B., Alencar, M.O. 1995. Estudo sobre abrigos naturais dos flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) na Reserva Florestal Ducke Manaus, AM, Brasil. *Bol. Dir. Nac. Malariol. Y San. Amb.* XXXV: 63-75.
- Castellón, E; Araújo, N.; Fé, N. Alves, J. 1991. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Estado de Roraima, Brasil. I. Espécies coletadas nas regiões sul e central. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84 (4): 95-99.

- Castellon, E.G.; Fé, N.F. Buhrnheim P.F.; Fé, F.A. 2000. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) na Amazônia. II. Listagem de espécies coletadas na bacia petrolífera no Rio Urucu, Amazonas, Brasil, utilizando diferentes armadilhas e iscas. *Revista Brasileira de Zoologia*, 12 (2):455-462.
- Carvalho, M. S. L.; Bredt, A.; Meneghin, E. R.S.; Oliveira, C. 2010. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em áreas de ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Distrito Federal, Brasil, 2006 a 2008*. *Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília*, 19(3): 227-237.
- Chaniotis, B. N.; Correa, M. A.; Tesh, R. B.; Johnson, K. M.. 1971. Daily e seasonal man-biting activity of phlebotominae sandflies in Panama. *Journal of Medicine Entomology*, 8: 415-420.
- Dias-Lima, A.; Bermúdez, E.C.; Medeiros, J.F.; Sherlock, I. 2002. Estratificação vertical da fauna de flébotomos (Diptera, Psychodidae) numa floresta primária de terra firme da Amazônia Central, Estado do Amazonas, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*, 18(3):823-832.
- Desjeux, P. 2004. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 27: 305-18.
- Filho, J.D.; Valente, M.B.; Andrade, W.A.; Brazil, R.P. & Falcão, A.L. 2001. Flebotomíneos do Estado do Tocantins, Brasil (Diptera: Psychodidae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 34(4):323-329.

- Ferro, C.; Morales, A. 1998. Flebótomos de Colômbia: estudos realizados por el Laboratório de Entomologia 1966-1997. Em: Toro G, Hernandez CA, Raad J. editores. Instituto Nacional de Salud 1917-1997: una historia un compromiso. Bogotá: Instituto Nacional de Salud, p. 219-33.
- Ferro, C.; Pardo, R.; Díaz, A.; Pérez, L.; Munstermann, L. 1997. Composición de la fauna de flebotomíneos, género *Lutzomyia*, de la periferia de la ciudad de Leticia, Amazonas, Colômbia. Congresso internacional investigacion y salud. *Resumenes*. Bogotá, p.84-85.
- Feitosa, M. A. C.; Castellon, E.G. 2004. Sand fly faune (Díptera:Psychodidae) in Forest fragments around hosing complexes in the Manaus municipality, Amazonas Brazil: II. Horizontal stratification. *Acta Amazônica*, Manaus, v. 34, p. 121-127.
- Feitosa, M. A. C.; Castellón, E. G. 2010. Presença de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no ambiente domiciliar da periferia de Santarém (PA). In: Castellón, EGB; Ronchi-Teles, B.; Ale Rocha, R. (Org.). *Entomologia na Amazônia Brasileira*. Manaus: Editora INPA, v.01, p. 115-134.
- Ferro, C.; Cardenas, E.; Corredor, D.; Morales, A.; Munstermann, L.E. 1998. Life cycle and fecundity analysis of *Lutzomyia shannoni* (Dyar) (Diptera: Psychodidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93: 195-99.

Franco, A. M. R.; Pereira, M. A. S.; Freitas, R. A. 2010. Diversidade da fauna de flebotomíneos em área de assentamento no município de Rio Preto da Eva, Estado do Amazonas. In: In: Castellon, E.G.B.; Ronchi-Teles, B.; Ale-Rocha, R. Org. (Org.). *Entomologia na Amazônia Brasileira*. Manaus: Editora INPA, v. 01, p. 183-205.

Franco, A.M.R; Momen, H.; Naiff, R.D.; Moreira, C.F.S; Deane, M.P.; Grimaldi, JR. G. 1996. Enzyme polymorphism in *Endotrypanum* and numerical analysis of isoenzyme data. *Parasitology* 113: 39-48.

Freitas, R.A.; Naiff, R.D.; Barret, T.V. 2002. Species Diversity and Flagellate Infections in the Sand Fly Fauna near Porto Grande, State of Amapá, Brazil (Diptera: Psychodidae: Kinetoplastida: Trypanosomatidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97: 53-59.

Galati, E.A.B.; Nunes, V.L.B.; Rego, Jr, E.A.; Oshiro, E.T.; Chang, M.R. 1997. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista Saúde Pública*, 31: 378-390.

Genaro, O.; Freitas, R. A.; Naiff, R. D.; Arias, J. R., 1986. Estratificação vertical de vetores da leishmaniose em floresta de terra firme, Amazonas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 19(Sup. 1):79.

- Gomes, L.H. M.; Nery, L.C.R.; Pinheiro, F.G.; Freitas, R.A.; Franco, A.M.R. 2009. Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) em terra firme e planície fluvial na área de influência do gasoduto Coari-Manaus, Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*, 39: 233-236.
- Gomes, L.H.M. 2003. Variação mensal e infecção em *Lutzomyia umbratilis* Ward & Fraiha 1977, *Lutzomyia anduzei* Rozeboom 1942, *Lutzomyia flaviscutellata* Maganbeira 1942 e *Lutzomyia olmeca nociva* Young & Arias 1982 (Diptera: Psychodidae) por tripanosomatídeos (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) em áreas de treinamento militar na Amazônia. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. 101pp.
- Grimaldi, G. Jr.; Tesh, R.B. 1993. Leishmaniasis of the New World: Current concepts and implications for future research. *Clinical Microbiology Reviews*. v.6, n.3, p.230-250.
- Gama Neto, J.L.; Freitas, R.A.; Baima, J.M.; Passos, M.A.B. 2010. Fauna flebotomínica (Diptera: Psychodidae) da Serra do Tepequém, Município de Amajari, Estado de Roraima, Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 1:131-136.
- Guerra, J.A.O.; Prestes, S.R.; Silveira, H.; Coelho, L.I.D.A.R.C.; Gama, P.; Moura, A.; Amato, V.; Barbosa, M.G.V.; Ferreira, L.C.L. 2011. Mucosal Leishmaniasis Caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Viannia) guyanensis* in the Brazilian Amazon. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5: e980.

- Guimarães, V. C. F. V. 2011. Avaliação da infecção natural de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) por *Leishmania* spp. no Município de São Vicente Férrer, Pernambuco. Dissertação de Mestrado, Fundação Oswaldo Cruz Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Pernambuco, Recife. 79 pp.
- Johnson, P.T.; McConnell, E.; Hertig, M. 1963. Natural infections of leptomonad flagellates in Panamanian Phlebotomus sandflies. *Experimental Parasitology* 14:107-122.
- Killick-Kendrick, R.1990. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Medicine Veterinary Entomology*. 4:1-24.
- Lainson, R.Ward, R.D.; Shaw, J.J.1976. Cutaneous leishmaniasis in north Brazil: *Lutzomyia anduzei* as a major vector. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 70:171-172.
- Lainson, R. 1983. The American Leishmaniasis. Some observations on their ecology and epidemiology. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 77(5): 569-596.
- Lainson, R.; Shaw, J. J.; Silveira, F. T.; Braga, R. R.; Ryan, L.; Pova, M. M.; Ishikawa, E. A. Y. 1986. A Leishmania e as leishmanioses. In: Instituto Evandro Chagas: 50 anos de contribuição às ciências Biológicas e a Medicina Tropical. Ministério da Saúde, Fundação Serviços de Saúde Pública e Ed. Globo, Belém, Vol. 2, 1.031 p.

- Lainson, R.; Shaw, J.J. 2005. New World Leishmaniasis – the neotropical *Leishmania* species. In: Cox FEG, Kreier JP, Wakelin D (org.). *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. London, p. 313-49.
- Lainson, R. & Shaw, J.J. 1968. Leishmaniasis in Brazil: I. Observations on enzootic rodent leishmaniasis--incrimination of *Lutzomyia flaviscutellata* (Mangabeira) as the vector in the Lower Amazonian Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 62(3):385-95.
- Marcondes, C.B.; Santos-Neto, L.G.; Lozovei, A.L. 2001. Ecology the phlebotominae sandflies (Diptera: Psychodidae) in Brazilian Atlantic Florest. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 34 (3): 255-260.
- Martins, A. V.; Falcão, A. L & Silva, J. E. 1965. Notas sobre os flebotomos do Território de Rondônia, com a descrição de seis espécies novas (Diptera, Psychodidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 25: 1-20.
- Nery, L. C. R. ; Freitas, R. A. ; Franco, A. M. R. 2010. Fauna de flebotomíneos em fragmento florestal urbano no Amazonas. In: Castellón, E.G.B.; Ronchi-Teles, B.; Ale Rocha, R. (Org.). *Entomologia na Amazônia Brasileira*. Manaus: Editora INPA, v. 01, p. 247-261.
- Oliveira, D. M. S.; Saraiva, E. M.; Ishikawa, E. A. Y.; Sousa, A. A. A.; Silva, E. O. ; Silva, I. M. 2011. Distribution of phlebotomine fauna (Diptera: Psychodidae)

- across an urban-rural gradient in an area of endemic visceral leishmaniasis in northern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 106: 1039-1044.
- Paes, M.G. 1991. Estudo de quatro espécies de *Lutzomyia* França 1924 (Diptera Psychodidae) em área endêmica de Leishmaniose Tegumentar Americana na periferia de Manaus. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, AM, 120pp.
- Pech-May, A.; Escobedo-Ortego, N.F.J.; Berzunza-Cruz, M.; Rebollar-Tellez, E.A. 2010. Incrimination of four sandfly species previously unrecognized as vectors of *Leishmania* parasites in Mexico. *Medical and Veterinary Entomology*, 24:150–161.
- Pessoa, F.A.C.; Medeiros, J.F.; Barret, T.V. 2007. Effects of timber harvest on phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a production forest: abundance of species on tree trunks and prevalence of trypanosomatids. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 102: 593-599.
- Pinto, I. S.; Pires, J. G.; Santos, C. B.; Virgens, T. M.; Leite, G. R.; Ferreira, A. L.; Falqueto, A. Primeiro registro de *Nyssomyia yuilli yuilli* (Young & Porter) e de *Trichopygomyia longispina* (Mangabeira) (Diptera: Psychodidae) no estado do Espírito Santo, Brasil. *Biota Neotropica*, 8 (1): 221-23.
- Rangel, E.; Lainson, R. (org). 2003. *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora da Fiocruz, 368pp.

- Rangel, E.F.; Meneses, C.R.V.; Cupolillo, E.; Azevedo, A.C.R.; Costa, W.A.; Costa, S.M. 1999. Aspectos da ecologia de *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) e a fauna flebotomínica (Diptera: Psychodidae) em área de transmissão da *Leishmania (V) braziliensis* no Rio de Janeiro. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 32 (Suppl. I): 115.
- Rebêlo, J.M.M.; Oliveira-Pereira, Y.N. 2001. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) de matas de terra firme e de várzea, do município de Paragominas, estado do Pará, Brasil. *Acta Amazônica*, 31: 145-154.
- Rebêlo, J. M. M.; Oliveira, S. T.; Barros, V. L. L.; Silva, F. S. 2000. Flebotomíneos da Amazônia maranhense. III – Frequência horária das espécies em áreas de colonização recente. *Entomología y Vectores*, Rio de Janeiro, Vol. 7 (1): 1-18.
- Rebêlo, J. M. M.; Oliveira-Pereira, Y. 2001. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) de matas de terra firme e de várzea, do município de Paragominas, Estado do Pará. *Acta Amazônica*, 31(10): 145-154.
- Ryan, L.; Silveira, F.T.; Lainson, R.; Shaw, J.J. 1984. Leishmanial infections in *L. longipalpis* and *L. antunesi* (Diptera: Psychodidae) on the island of Marajo', Para' State, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 78, 547–548.

- Ryan, L.; Lainson, R.; Shaw, J. J.; Neto, H. F. 1986. ecologia de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) na região amazônica. Inst. Evandro Chagas, Belém, Vol. 1, 307-315p.
- Rotureau, B.; Gaborit, P.; Issaly, J.; Carinci, R.; Fouque, F.; Carme, B. 2006. Diversity and ecology of sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in coastal french guiana. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 75: 62–69.
- Roberts, D.R.; His, B.P. 1979. An Index of Species Abundance for Use with Mosquito Surveillance Data. *Environmental Entomology*, 8: 1007–13.
- Rodrigues, W.C. 2005. DivEs - Diversidade de espécies. Versão 2.0. Software e Guia do Usuário. Available: <http://www.ebras.bio.br>. Acessado em 20 de fevereiro de 2012.
- Saraiva, L.; Andrade Filho, J.D.; Carvalho, D.A.A.; Souza, C.M.; Freitas, C.R.; Lopes, C.R.G.; Moreno, E.C.M.; Melo, M. N. 2011. Phlebotominae fauna (Diptera: Psychodidae) in na urban district of Belo Horizonte, Brazil, endemic for visceral leishmaniasis: Characterization of favored locations as determined by spatial analysis. *Acta Tropica*, Basel, 117: 137-145.
- Silva - Nunes, M; Cavasini, C.E.; Silva, N.S.; Galati, E.A.B. 2008. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar e descrição das populações de flebotomíneos no município de Acrelândia, Acre, Brasil. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 2: 241-51.

- Silva, D. F.; Freitas, R. A.; Franco, A. M. R. 2007. Diversidade e abundância de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) em áreas de mata do nordeste de Manacapuru, AM. *Neotropical Entomology*, 36: 138-144.
- Silva, P.E.S.; Freitas, R.A.; Silva, D.F.; Alencar, R. B. 2010. Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de uma reserva de campina no Estado do Amazonas, e sua importância epidemiológica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 43 (1):78-81.
- Souza, A. A. A.; Silveira, F.T.; Lainson, R.; Barata, I.R.; Silva, M.G.S.; Lima, J.A.N.; Pinheiro, M.S.B.; Silva, F.M.M.; Vasconcelos, L.S.; Campos, M,B.; Ishikawa, E.A.Y. 2010. Fauna flebotomínica da Serra dos Carajás, Estado do Pará, Brasil, e sua possível implicação na transmissão da leishmaniose tegumentar americana. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 1:45-51.
- Tojal da Silva, A. C.; Cupolillo, E.; Volpini, A. C.; Almeida, R.; Romero, G. A. 2006. Species diversity causing human cutaneous leishmaniasis in Rio Branco, state of Acre, Brazil. *Tropical Medicine and International Health*. Oxford, 9: 1388-1398.
- Vásquez-Trujillo, A.; Santamaría-Herreño, E.; González-Reina, A.E.; Buitrago-Álvarez, L.S.; Góngora-Orjuela, A.; Cabrera-Quintero, O.L. 2008. *Lutzomyia antunesi*, probable vector de leishmaniasis cutánea en el área rural de Villavicencio. *Revista Salud Pública*. 10(4):625-632.

- Vergara, D.; Carrillo, L.M.; Bejarano, E.E.; Vélez, I. D. 2008. Primer informe de *Lutzomyia yuilli* Young & Porter, 1972 y *Lutzomyia triramula* (Fairchild & Hertig 1952) (Diptera: Psychodidae) en el departamento de Caldas, Colombia. *Biota Neotropical*, 2008, 8(3): 251-253.
- Williams, P. 2003. Psychodidae. In: Neves, D.P.; Melo, A.L.; Genaro, O.; Linardi, P.M. (eds) *Parasitologia Humana*, p. 311-319.
- Young, D.G.; Duncan, M.A. 1994. Guide of the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Mem Am Entomo Inst*, 54:1-881.
- Zeledón, R.; Alfaro, M. 1973. Isolation of *Leishmania braziliensis* from a Costa Rica sandfly and its possible use as a human vaccine. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 67:416-417.

CAPÍTULO II

LEVANTAMENTO EPIDEMIOLÓGICO DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA E VETORES DE TRIPANOSOMATÍDEOS (KINETOPLASTIDA: TRYPANOSOMATIDAE) EM TABATINGA, AM, BR.

CAPÍTULO II

LEVANTAMENTO EPIDEMIOLÓGICO DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA E VETORES DE TRIPANOSOMATÍDEOS (KINETOPLASTIDA: TRYPANOSOMATIDAE) EM TABATINGA, AM, BR.

Fabiane Veloso Soares, Rui Alves de Freitas, Luanda de Paula Figueira,
Antonia Maria Ramos Franco

RESUMO

Em estudo retrospectivo (2005 a 2011) foram notificados 41 casos autóctones de LTA em Tabatinga, onde 61,7% eram do sexo masculino, com faixa etária de 30 a 39 anos (24,4%) e agricultores (21,9%). A forma clínica predominantemente foi cutânea. Flebotomíneos transmissores de tripanosomatídeos foram capturados no município de Tabatinga, com armadilhas luminosas do tipo CDC e em coletas manuais por aspiração em bases das árvores. Em agosto de 2010 e 2011, foram capturados 4.542 flebotomíneos (♂: 71,9% e ♀: 28,1%) vetores ou suspeitos de transmitirem tripanosomatídeos, pertencentes a 13 espécies. A espécie mais abundante foi *L. umbratilis* com 78,7%, seguida de *L. dendrophyla* com 10,5%, *L. davisii* 3,4%, *L. shannoni* 2,2%, *L. yuilli* 1,6%. Um total de 576 (74%) fêmeas do gênero *Lutzomyia* foram dissecadas, sendo observada infecção natural por tripanosomatídeos em 44 indivíduos. Observou-se no trato digestório dos flebotomíneos a presença de sangue em decomposição em 86,3%; sendo que no que se refere aos ovários, 59% mostravam-se em desenvolvimento. Análise isoenzimática de dez isolados, demonstrou perfis similares a *Leishmania colombiensis* e *Endotrypanum* sp., no entanto, o perfil do locus MDH demonstrou maior similaridade para o gênero *Endotrypanum*. Esta é a primeira investigação da fauna entomologia e tentativa de isolamento de tripanosomatídeos no município de Tabatinga, área de tríplice fronteira com o Brasil.

Palavras-chave: Entomologia, Flebotomíneos, Insetos Vetores, *Lutzomyia*, *Leishmania*, *Endotrypanum*, Amazonas.

1. INTRODUÇÃO

Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) são insetos de importância médica e veterinária, uma vez que são responsáveis pela transmissão de várias doenças, tais como bartonelose, arboviroses e leishmanioses visceral e tegumentar (Forattini, 1973; Young & Duncan, 1994). Na região neotropical, eles são agrupados em três gêneros diferentes: *Brumptomyia* (França & Parrot, 1921), *Warileya* (Hertig, 1948) e *Lutzomyia* (França, 1924). Apenas o último gênero inclui espécies de importância médica para a transmissão da leishmaniose no Novo Mundo.

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é uma zoonose de ampla distribuição mundial, que compromete populações em aproximadamente 90 países, ocasionando uma das seis doenças tropicais mais importantes (Desjeux, 2004).

No Brasil são reconhecidas atualmente pelo menos sete espécies dermatrópicas (*Leishmania (Viannia) guyanensis*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) shawi*, *L. (V.) lindenbergi* e *L. (Leishmania) amazonensis*) de interesse médico na Amazônia Brasileira (Silveira *et al.*, 2002; Lainson & Shaw, 2005; Silveira *et al.*, 2008).

Na Amazônia, os flebotomíneos apresentam uma elevada riqueza de espécies (Young & Duncan, 1994) com altos índices de diversidade local em florestas de terra firme (Barrett *et al.*, 1996).

Estudos têm incriminado os flebotomíneos como hospedeiros e transmissores de inúmeros outros micro-organismos (Ashford, 2001; Shaw *et al.*; Nery *et al.*, 2010; Gouveia *et al.*, 2008), tornando sua identificação de fundamental importância para se avaliar susceptibilidade, sensibilidade a substâncias tóxicas e eventual importância

epidemiológica (Marcondes, 2001). Diversos tripanosomatídeos têm sido isolados de várias espécies de flebotomos em distintas regiões no Mundo (Tabela 1).

O conhecimento da fauna dos flebotomíneos vetores em regiões mais distantes de Manaus (Amazonas), como é o caso do município de Tabatinga ainda é escasso. Para os poucos casos de LTA ocorridos nesse município, até o momento não se tem conhecimento dos possíveis vetores. Deste modo, a identificação das áreas de risco à transmissão das leishmanioses faz-se necessária para a atuação das vigilâncias ambiental e epidemiológica na prevenção desta doença. Este estudo teve como objetivo descrever as características epidemiológicas da leishmaniose tegumentar notificada em Tabatinga e identificar possíveis espécies de flebotomíneos vetores da doença nessa região.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo: O estudo foi realizado no município de Tabatinga (4° 15' 9" S, 69° 56' 17" O), Estado do Amazonas, Brasil, área de fronteira com a Colômbia e Peru (Fig. 1), distante 1.105 km de Manaus, localizado à margem esquerda do Rio Solimões. O município possui 3.239 km², altitude 60 m. Sua população é de 52.279 habitantes (IBGE, 2010) e o clima é equatorial, com temperatura média de 25°C. Apresenta uma estação chuvosa entre os meses de novembro e abril, e uma estação seca entre maio e outubro.

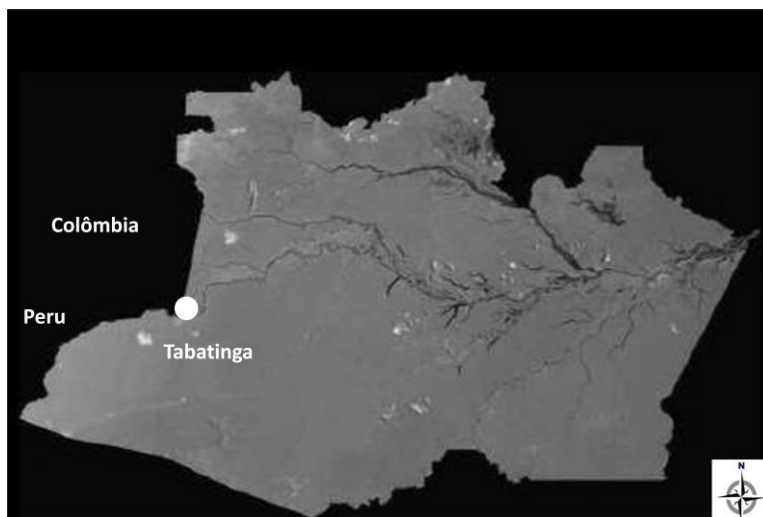


Figura 1. Mapa Satelital com localização do município de Tabatinga, Amazonas - BR, área de fronteira com a Colômbia e Peru. Fonte: Miranda & Coutinho, 2004.

Em Tabatinga, o diagnóstico de leishmaniose é realizado no Laboratório de Fronteiras (LAFRON) localizado no centro da cidade. Os casos confirmados laboratorialmente/epidemiologicamente são encaminhados para tratamento pela equipe do Serviço de Vigilância Epidemiológica do município.

Variáveis epidemiológicas: A partir dos dados fornecidos pela Secretaria Municipal de Saúde de Tabatinga, realizou-se um estudo retrospectivo dos casos humanos de LTA notificados no município, entre 2005 a 2011, a fim de identificar: sexo, idade, ocupação, escolaridade e tipo de lesão. O instrumento utilizado para obtenção das informações são aquelas constantes da ficha de notificação do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) arquivadas na Vigilância Epidemiológica da Secretaria Municipal de Saúde – Tabatinga.

Captura de Flebotomíneos: As coletas foram realizadas ao longo da Estrada do Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária - INCRA, Geodésica II, entre os km 4 e 8 (Fig. 2). Nestas áreas pode-se observar a existência de assentamentos

com plantações de banana e mandioca para subsistência. O critério de seleção dos locais de captura foi baseado na ocorrência de casos humanos de LTA.

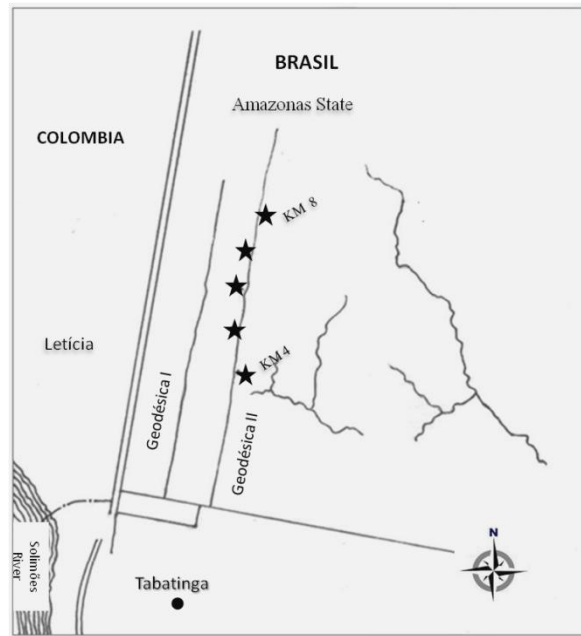


Figura 2. Área de estudo - município de Tabatinga, Amazonas – BR. Localização das áreas de coleta ao longo da Estrada do INCRA, Geodésica II, entre os kms 4 e 8 (★).

O levantamento da fauna flebotomínica foi realizado durante 15 dias nos meses de agosto nos anos de 2010 e 2011, totalizando 30 dias. Os flebotomíneos foram coletados utilizando-se 10 armadilhas luminosas do tipo CDC (CDC “miniature” - Hausherr’ Machine Works, New Jersey, EUA) instaladas em áreas de mata de terra firme e no peridomicílio a um metro do solo, durante a noite das 18:00h às 6:00h do dia seguinte. Também foram feitas coletas por aspiração em base de árvores com armadilha do tipo CDC modificada no momento da retirada das armadilhas luminosas entre 8h e 8h30. Foram selecionadas árvores com caules acima de 100 cm de circunferência e presença de buracos, facilitando o encontro destes insetos.

Posteriormente os insetos foram triados, condicionados em etanol e identificados segundo a chave taxonômica de Young & Duncan (1994). As fêmeas foram dissecadas para observação e isolamento de flagelados.

Dissecção de flebotomíneos e infecção natural por flagelados: Logo após a coleta os insetos foram imediatamente conduzidos ao laboratório local para o procedimento de dissecção das fêmeas vivas e para a detecção e isolamento de flagelados (Arias & Freitas, 1977). A dissecção de flebotomíneos e isolamento parasitário foram realizados de acordo com o procedimento a seguir: as fêmeas retiradas da gaiola de náilon foram lavadas em solução detergente a 2% e depois transferidas para solução de salina estéril; foram retirados os dois últimos tergitos abdominais e logo depois o aparelho digestivo; o conteúdo do tubo digestivo foi analisado em microscópio ótico para a ocorrência e localização dos protozoários; quando positivo era feito aspirado e semeado em meio de cultura bifásico NNN (Naiff *et al.*, 1988). As fases das mudanças observadas nos ovários estão de acordo com Christophers & Mer (Forattini, 1973), onde 1 = sem visualização de oócitos; 2 = oócitos nas fases II e III de desenvolvimento e 3 = oócitos nas fases IV e V de desenvolvimento.

Os parasitos isolados foram mantidos em meio de cultivo bifásico NNN (Novy & MacNeal, 1904; Nicolle, 1908), acrescidos de fase líquida de Schneider (Sigma) (Hendricks *et al.*, 1978) completo suplementado por 10% de soro fetal bovino inativado (SFBi/Cultilab) e repicados em intervalos semanais. Os isolados foram amplificados e criopreservados em nitrogênio líquido, sendo depositados no criobanco de parasitos do INPA/CSAS para a posterior identificação dos flagelados.

Isolados em cultivo foram amplificados para análise de eletroforese de enzimas em gel de agarose (Figueira *et al.*, 2008). Os seguintes loci enzimáticos foram analisados: malato desidrogenase (MDH, E.C.1.1.1.37), enzima málica (ME, E.C.1.1.1.40), glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH, E.C.1.1.1.49), 6-fosfogluconato desidrogenase (6PGDH, E.C.1.1.1.44), glicose-fosfato isomerase (GPI, E.C.5.3.1.9), fosfoglicomutase (PGM, E.C.1.4.1.9) e isocitrato desidrogenase (IDH, E.C.1.1.1.42) utilizando substrato com NADP.

A taxa de infecção natural (TIN) para tripanosomatídeos foi obtida pelo cálculo percentual da razão entre o número de fêmeas infectadas e o número de fêmeas dissecadas por espécie (Freitas *et al.*, 2002, Rodas & Poletto, 2001).

3. RESULTADOS

Características epidemiológicas da LTA: Entre o período de janeiro de 2005 e dezembro de 2011 (Fig. 3) foram notificados 41 casos de LTA em moradores de Tabatinga. Deste total, 61,7% eram do sexo masculino. A idade dos indivíduos variou entre menores de 10 a 79 anos, sendo mais representativa a faixa etária de 30 a 39 anos (24,4%). Quanto à ocupação principal, as mais frequentes foram a de agricultor (n=9; 21,9%), seguida de estudante e militar com 17,1% cada uma. A forma clínica dos casos de LTA foi predominantemente cutânea (100%) (Quadro). Como um considerável número das fichas de notificação não apresentava informações sobre o local de moradia (urbano ou rural), o tipo de entrada (caso novo ou recidiva), os métodos de diagnóstico e o tratamento utilizado, não foi possível realizar uma análise mais detalhada dos dados.

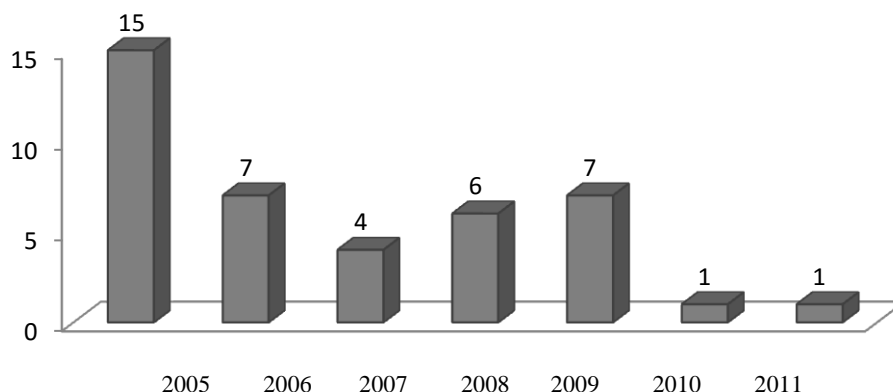


Figura 3. Número de casos de Leishmaniose tegumentar no período de 2005 a 2011, no município de Tabatinga, AM, BR. Fonte: SINAN, 2011.

Quadro - Características epidemiológicas dos pacientes com Leishmaniose Tegumentar, no período de 2005 a 2011, no município de Tabatinga, AM.

SEXO	%	N= 41	FORMA			OCUPAÇÃO	%	N= 41
			DIAGNÓSTICADA	%	N= 41			
M	61,7	29	Cutânea	100	41	Agricultor	21,9	09
F	38,3	12				Estudante	17,1	07
ESCOLARIDADE			FAIXA ETÁRIA			Militar	17,1	07
De 1 a 3 anos	24,4	10	Até 10 anos	12,2	05	Autônomo	12,2	05
De 4 a 7 anos	24,4	10	11 - 19 anos	19,6	08	Func Público	4,9	02
De 8 a 11 anos	21,9	09	20 - 29 anos	21,9	09	Vigia	2,4	01
De 12 e mais	7,3	03	30 - 39 anos	24,4	10	Madeireiro	4,9	02
Não se aplica	2,4	01	40 - 49 anos	7,3	03	Caseiro	2,4	01
Ignorado	19,6	08	50 - 59 anos	7,3	03	Padeiro	2,4	01
			60 - 69 anos	4,9	02	Eletricista	2,4	01
			70 - 79 anos	2,4	01	Não se aplica	12,2	05

Fauna de flebotomíneos vetores: Foram coletados 4.589 flebotomíneos, abrangendo 13 espécies e, dentre estas sete (53,8%), têm hábito de picar o homem, principalmente as dos subgêneros *Nyssomyia* e *Psychodopygus* (Young & Arias, 1992) (Tabela 1). Um total de 71,7% (3.291) era macho e 28,3% (1.298) fêmeas,

distribuídos no gênero *Lutzomyia*, incriminadas na literatura como vetores comprovados ou suspeitos na transmissão de leishmanias ao homem, bem como outros tripanosomatídeos, nas diferentes regiões do Brasil e do Mundo. Dentre essas espécies, a mais representativa foi a *L. umbratilis*, representada por 77,9% dos espécimes capturados. Seguem na ordem de importância *L. dendrophyla* 10,4%, *L. davisii* 3,4%, *L. shannoni* 2,2%, *L. yuilli* 1,6%. As demais espécies representam juntas 4,5 % da amostra total (Tabela 2).

Tabela 2. Flebotomíneos incriminados como transmissores de tripanosomatídeos, capturados em área silvestre e peridomicílio* no município de Tabatinga, Amazonas, Brasil (períodos de agosto de 2010 e 2011).

ESPÉCIES	MÉTODOS DE COLETA								TOTAL GERAL
	SILVESTRE				PERIDOMICÍLIO				
	CDC		BA		CDC		TOTAL		
♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀		
<i>L. umbratilis</i> *	189	173	2422	791		2	2611	966	3577
<i>L. dendrophyla</i> *	56	7	365	50			421	57	478
<i>L. davisii</i>	68	88		1			68	89	157
<i>L. shannoni</i>	9		84	9			93	9	102
<i>L. yuilli</i>		73				1		74	74
<i>L. sordelli</i>	36	22					36	22	58
<i>L. tuberculata</i> *		27	4	6			4	33	37
<i>L. ayrozai</i>	19	12				1	19	13	32
<i>L. antunesi</i>		2	21	7			21	9	30
<i>L. furcata</i>	2	15	5		2		9	15	24
<i>L. walkeri</i>	6	6				1	6	7	13
<i>L. paraensis</i>	2	3					2	3	5
<i>L. amazonensis</i>		1	1				1	1	2
Total	387	429	2902	864	2	5	3291	1298	4589

CDC – Armadilha luminosa; BA – Base de árvore; *Coletas apenas no ano de 2010.

Quanto ao ambiente florestal, todos os representantes das espécies foram encontrados em área silvestre (Fig. 4). Somente sete indivíduos foram capturados no peridomicílio (chiqueiro e galinheiro) [Fig. 5], distribuídos entre as espécies *L. umbratilis* (02), *L. ayrozai* (01), *L. yuilli* (01), *L. furcata* (02) e *L. walkeri* (01).



Figura 4. Coleta de flebotomíneos em ambiente silvestre (Km 4, 5 e 6) no município de Tabatinga, AM, com armadilhas luminosas do tipo CDC e em base de árvore.

Tabela 1. Levantamento de espécies de flebotomíneos naturalmente infectados por tripanosomatídeos já descritos na literatura.

Espécie comprovada/ Provável Vetor	Local de transmissão conhecido ou suspeito	Tripanosomatídeos	Autor
<i>L. umbratilis</i>	PA, BR	<i>Trypanosoma</i> spp.	Lainson <i>et al.</i> , 1979.
	Manaus - AM, BR	NI	Pinheiro <i>et al.</i> , 2002; Lainson <i>et al.</i> , 1981; Ward & Fraiha, 1977; Arias & Freitas, 1978.
	PA, BR	<i>Leishmania (Viannia) guyanensis</i>	Arias <i>et al.</i> , 1987.
	Amapá, BR	<i>L. (V.) guyanensis</i>	Franco <i>et al.</i> , 2010.
	Amazônia Colombiana	<i>L. (V.) guyanensis</i>	Ready <i>et al.</i> , 1985; Ryan <i>et al.</i> , 1987; Arias <i>et al.</i> , 1985; Freitas <i>et al.</i> , 2002.
	Mato Grosso, BR	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Rangel <i>et al.</i> , 1999.
<i>L. dendrophyla</i>	PA, BR	<i>Trypanosoma</i> spp.	Lainson & Shaw <i>et al.</i> , 1979; Ryan <i>et al.</i> , 1987.
	Amapá, BR	<i>L. (V.) guyanensis</i>	Franco (dados não publicados).
<i>L. davisi</i>	PA, BR	<i>Leishmania (V.)</i> sp.	Lainson & Shaw, 1987.
		<i>L. (V.) naiffi</i>	Lainson & Shaw, 1989; Lainson <i>et al.</i> , 1990; Souza <i>et al.</i> , 2010.
	Rondônia, BR	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Grimaldi <i>et al.</i> , 1991.
<i>L. shannoni</i>	Panamá	NI	Johnson <i>et al.</i> , 1963.
	Costa Rica	NI	Zeledón & Alfaro, 1973.
	Amazônia Brasileira	NI	Arias & Freitas, 1978.
	Florida, USA	NI	Perkins, 1982.
	Guatemala	<i>L. (Leishmania) mexicana</i>	Rowton <i>et al.</i> , 1991;
	México	<i>L. (L.) mexicana</i> ; NI	Pech-May <i>et al.</i> , 2010; Sanchez -García <i>et al.</i> , 2010
	PA, BR	<i>Endotrypanum schaudinni</i> <i>L. (V.) panamensis</i>	Arias <i>et al.</i> , 1985; Franco & Grimaldi, 1999; Killick & Kendrick, 1990.

	Rondônia, BR	NI	Gil <i>et al.</i> , 2003
L. yuilli	Colômbia	<i>L. (V.) panamensis</i>	Lainson & Shaw, 1972; Santamaria <i>et al.</i> , 2006
	Letícia, CO	NI	Ferro & Morales, 1998.
	AM, PA, RO, AC, BR	<i>Leishmania</i> sp.	Arias <i>et al.</i> , 1985; Gama-Neto <i>et al.</i> , 2011.
	PA, BR	NI	Lainson & Shaw, 1979; 1987.
L. sordelli	PA, BR	NI	Oliveira <i>et al.</i> , 2011.
	Pernambuco, BR	<i>Leishmania</i> spp.	Guimarães, 2011.
	Rondônia, BR	NI	Gil <i>et al.</i> , 2003.
L. tuberculata	PA, BR	NI, <i>Leishmania</i> sp.	Lainson & Shaw, 1987.
		<i>L. (V.) guyanensis</i>	Lainson & Shaw, 1987; Killick-kendrick, 1990; Lainson & Shaw, 1979;
		<i>L. (V.) utingensis</i>	Braga <i>et al.</i> , 2003.
L. ayrozai	AM, PA - BR	<i>Leishmania</i> sp., <i>L. (V.) naiffi</i> , <i>L. (V.) braziliensis</i>	Arias <i>et al.</i> , 1985; Lainson & Shaw, 1989; Lainson <i>et al.</i> , 1990; Rebelo & Oliveira-Pereira, 2001.
L. antunesi	PA, BR	<i>Leishmania</i> sp.	Lainson & Shaw, 1979; Ryan <i>et al.</i> , 1984; 1987.
		<i>L. (V.) lindenberg</i>	Silveira <i>et al.</i> , 1991; 2002.
	Guiana Francesa	<i>Leishmania</i> sp.	Rotureau <i>et al.</i> , 2006.
	Colômbia	<i>Leishmania</i> spp.	Vásquez-Trujillo <i>et al.</i> , 2008.
L. furcata	PA, BR	<i>L. (L.) deanei</i>	Miles <i>et al.</i> , 1980.
		NI	Lainson & Shaw, 1979.
L. walkeri	Pernambuco, BR	<i>Leishmania</i> spp.	Guimarães, 2011
L. paraensis		<i>Leishmania</i> sp., <i>L. (V.) naiffi</i>	Lainson & Shaw, 1979; Lainson <i>et al.</i> , 1973; Arias <i>et al.</i> , 1985; Rangel & Lainson, 2003.
	PA, BR	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Deane & Lainson, 1985.
L. amazonensis	PA, BR	<i>L. (V.) braziliensis</i>	Lainson e Shaw, 1973; 1979; Fraiha <i>et al.</i> , 1980.

NI = flagelados não identificados



Figura 5. Coleta de flebotomíneos em ambientes peridomiciliares (Km 4) no ano de 2010 no município de Tabatinga, AM, com armadilhas luminosas do tipo CDC. a) galinheiro e b) chiqueiro.

No que se refere ao método de captura, foram coletados 823 (18%) flebotomíneos em armadilhas luminosas tipo CDC e 3.766 (82%) por aspiração em base de árvores. As espécies *L. umbratilis*, *L. dendrophyla*, *L. davisii*, *L. shannoni*, *L. yuilli*, *L. tuberculata*, *L. ayrozai*, *L. antunesi*, *L. furcata*, *L. walkeri* e *L. amazonensis*, foram comuns tanto em armadilha luminosa tipo CDC quanto em aspiração em base de árvore. Já as espécies *L. sordelli* e *L. paraensis*, bem como os espécimes encontrados no peridomicílio (*L. umbratilis*, *L. ayrozai*, *L. yuilli*, *L. furcata* e *L. walkeri*) foram capturados somente em armadilha luminosa do tipo CDC.

Infecção natural por tripanosomatídeos em flebotomíneos: Foram dissecadas 576 (74,3%) fêmeas, assim distribuídas: *L. umbratilis* (462/80,2%), *L. dendrophyla* (42/7,2%), *L. davisii* (09/1,5%), *L. shannoni* (07/1,2%), *L. yuilli* (08/1,3%), *L. sordelli* (04/0,6%), *L. tuberculata* (20/3,4%), *L. ayrozai* (02/0,3%), *L. antunesi* (07/1,2%), *L. furcata* (09/1,5%), *L. walkeri* (02/0,3%), *L. paraensis* (03/0,5%) e *L. amazonensis* (01/0,1%), sendo observada infecção natural por tripanosomatídeos em 44 (7,6%)

espécimes de *L. umbratilis* (34/77,2%), *L. dendrophyla* (9/20,4%) e *L. tuberculata* (1/2,4%).

Destas espécies, a *L. umbratilis* foi coletada tanto em base de árvore (30 indivíduos) como em armadilha luminosa tipo CDC (quatro indivíduos), sendo 32 indivíduos coletados em ambiente silvestre e dois indivíduos em peridomicílio; todos os espécimes de *L. dendrophyla* (9) foram coletados somente em base de árvore e em ambiente silvestre; o único exemplar de *L. tuberculata* foi capturado em armadilha luminosa tipo CDC também em ambiente silvestre.

O conteúdo estomacal de 86,3% (38/44) das fêmeas positivas apresentou sangue em decomposição, 9,2% (4/44) sangue fresco e 4,5% (2/44) com ausência de sangue. Quanto aos ovários, 59% (26/44) mostravam-se 2, seguido de 31,9% (14/44) considerados 1 e 9,1% (4/83) considerados 3. Variada carga parasitária foi observada no trato digestório dos insetos dissecados. A maioria (93,2%) apresentou de um a cinco flagelados por campo (+), seguido de 4,5% de seis a 20 flagelados (++) e 2,3% de 21 a 40 flagelados por campo (+++).

A taxa de infecção natural encontrada em *L. umbratilis* foi de 7,3%, *L. dendrophyla* de 21,4% e *L. tuberculata* de 5%. Das 44 amostras positivas e cultivadas em meio de cultivo bifásico NNN apenas 10 cresceram em cultivo, sendo expandidas em meio líquido Schneider completo. Dentre essas 10, oito são *L. umbratilis* (sete coletadas em BA e uma em CDC) e as outras duas são *L. dendrophyla* (coletadas em BA). As 34 restantes ou sofreram contaminação por micro-organismos e/ ou não ocorreu desenvolvimento parasitário.

Análise Isoenzimática: Foram observadas formas promastigotas (Fig. 6) na dissecação dos 44 flebotomíneos e em cultivo nas dez amostras isoladas. O resultado

da análise bioquímica (eletroforese de isoenzimas em gel de agarose) demonstra similaridade dos perfis isoenzimáticos das amostras, quando comparados com perfis de zimodemas de *Endotrypanum* sp. (Franco *et al.*, 1996).

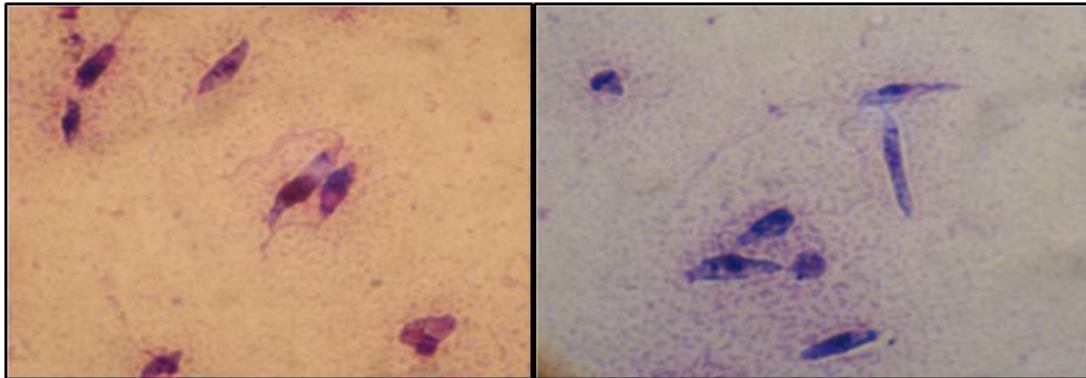


Figura 6. Formas promastigotas de tripanosomatídeos isolados em cultivo do trato digestório de *Lutzomyia* spp (aumento 1000x).

Os 10 isolados não desenvolveram lesões cutâneas em animais de experimentação (*Mesocricetus auratus*/hamster) por pelo menos seis meses de observação. As duas espécies no qual foram feitos os isolamentos (Tabela 3), a *L. umbratilis* e *L. dendrophyla* apresentavam sangue em decomposição e sangue fresco quando dissecadas.

Tabela 3. Origem e identificação de *Leishmania* sp. e cepas de referência utilizadas neste estudo para identificação preliminar das amostras isoladas de flebotomíneos.

No. Estoque	Designação ^a	Espécies ^b	Origem Geográfica
Cepas de Referência			
1245	IHAR/CO/85/CL500	<i>L. colombiensis</i>	Colômbia, Santander
1545	MCEB/BR/84/M8408	<i>L. shawi</i>	BR, PA, Serra dos Carajás
1367	MCOE/BR/82/1367	<i>L. lainsoni</i>	BR, RO, BR 364
Z23	MHOM/BR/75/M4147	<i>L. guyanensis</i>	BR, PA, Monte Dourado
562	MHOM/PA/71/LS94	<i>L. panamensis</i>	Panamá, Zona do Canal
EZ01	MCHO/BR/89/RO9627 ^d	<i>Endotrypanum</i> sp.	BR, RO
EZ12	MCHO/BR/88/M11602 ^c	<i>E. schaudinni</i>	BR, PA
Isolados neste estudo			
5789	IUMB/BR/2010/IM5789		BR, AM, Tabatinga
5790	IUMB/BR/2010/IM5790		
5791	IUMB/BR/2010/IM5791		
5792	IUMB/BR/2010/IM5792		
5794	IDEND/BR/2010/IM5794		
5803	IUMB/BR/2010/IM5803		
5804	IDEND/BR/2010/IM5804		
5805	IUMB/BR/2010/IM5805		
5813	IUMB/BR/2010/IM5813		
5905	IUMB/BR/2011/IM5905		

^a: designação: hospedeiros [M=Mammalia: HOM: *Homo sapiens*; CHO: *Choloepus* sp.; I= *insecta*; UMB= *Lutzomyia umbratilis*; DEND= *Lutzomyia dendrophyla*; BR= país de origem (Brasil) / Ano de isolamento/código original utilizado pelo INPA];

^b: identificação do estoque foi estabelecida através da análise de isoenzimas de acordo com o padrão isoenzimático e análise numérica (Momen, 1984; Cupolillo *et al.*, 1994).

Os perfis bioquímicos foram comparados com diversas espécies do gênero *Leishmania* (Fig. 7), mas apesar da semelhança com a *L. (V.) colombiensis* – que também não desenvolve lesões em animais experimentais, apresenta no locus MDH apenas uma única banda (Rodriguez-Bonfante *et al.*, 2003), ao contrário do observado em *Endotrypanum* para a maioria dos zimodemas (Franco *et al.*, 1996).

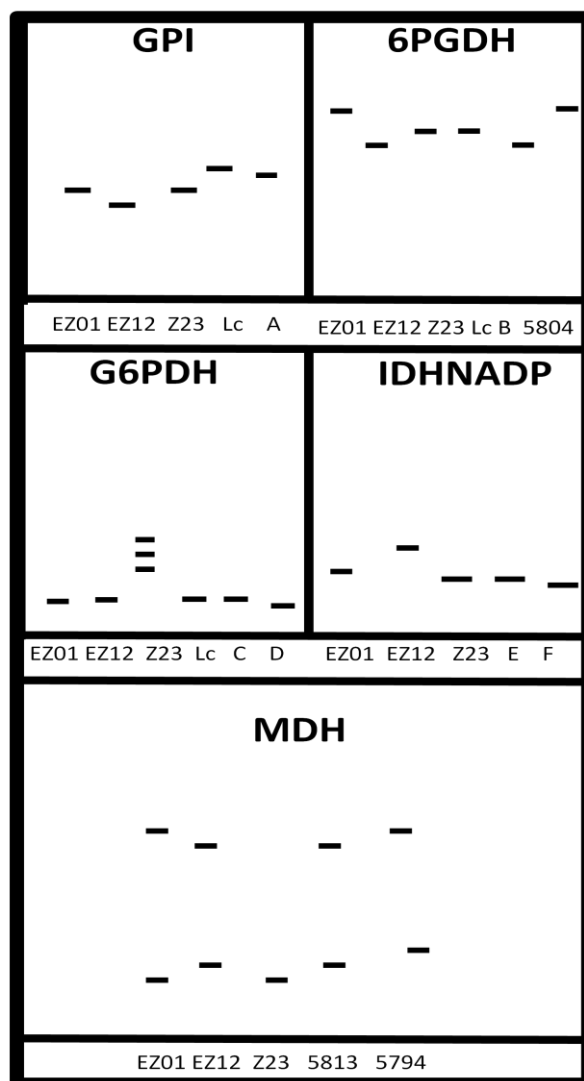


Figura 7. Zimograma de isolados de tripanosomatídeos de Tabatinga, enzimas: GPI, 6PGDH, G6PDH, IDH-NADP e MDH. EZ01 (*Endotrypanum* sp.), EZ12 (*E. schaudinni*), Z23 (*L. (V.) guyanensis*), L. c. (*L. (V.) colombiensis*), A (IM5790, IM5792, IM5794, IM5803, IM5804, IM5813), B (IM5789, IM5790, IM5792, IM5794, IM5803), C (IM5789, IM5790, IM5813), D (IM5792, IM5794, IM5803), E (IM5789, IM5805), F (IM5813, IM5794, IM5792, IM5790, IM5803), IM5804 (*L. dendrophyla*), IM5813 (*L. umbratilis*) e 5794 (*L. dendrophyla*).

4. DISCUSSÃO

Verifica-se a ocorrência de casos de leishmaniose cutânea no município de Tabatinga, estado do Amazonas, Brasil, predominando em indivíduos do sexo

masculino. Apesar de serem desconhecidos os fatores que favorecem o aumento de casos no sexo masculino, a sua maior exposição, bem como o predomínio da idade correspondente a adultos jovens e a atividade laboral podem estar influenciando nesta maior ocorrência. Corrobora com nossos dados, o estudo de Guerra *et al.* (2011) onde analisando amostras biológicas de pacientes com leishmaniose cutânea de 16 municípios do Amazonas observaram que 82,6% dos pacientes eram do sexo masculino com idade média de 47,5 anos. Dentre os isolados estudados, uma era procedente do município de Tabatinga, sendo identificado como *L. (V.) braziliensis*. Esse perfil encontrado em Tabatinga é semelhante aquele observado em outros municípios ou Estados no que diz respeito a esta endemia, indicando predomínio de transmissão extradomiciliar (Martins *et al.*, 2004; Ampuero *et al.*; Chagas *et al.*; Tojal da Silva *et al.*, 2006; FVS, 2011). No entanto, episódios de casos em crianças, sugerem que possa estar ocorrendo também transmissão peridomiciliar em Tabatinga, embora com menor frequência.

Considerando-se as características da região estudada, bem como o desconhecimento da população a respeito da doença, é de se esperar que esteja ocorrendo subnotificação de casos, portanto, o número de casos de LTA pode ser maior do que o notificado.

Quanto aos dados entomológicos, o presente estudo registra pela primeira vez a ocorrência de vetores potenciais de *Leishmania* e outros tripanosomatídeos no município de Tabatinga, onde várias espécies foram coletadas e identificadas sendo algumas delas incriminadas como transmissoras e/ou suspeitas de transmitirem a leishmaniose em diferentes regiões do Brasil e do mundo.

Das mais de 400 espécies de *Lutzomyia* já identificadas no Brasil, 122 podem ser encontrados na Amazônia, dessas 25 têm como característica o comportamento

antropofílico, no qual estão incluídas as principais espécies transmissoras de leishmanioses (Young & Duncan, 1994; Rangel & Lainson, 2003).

Observamos que a abundância de flebotomíneos coletados em Tabatinga deu-se nas coletas por aspiração em base de árvores. Como já se esperava esse é considerado um método útil para a coleta de grandes quantidades de indivíduos, apesar da menor diversidade. As espécies *L. umbratilis*, *L. dendrophyla*, *L. antunesi* e *L. shannoni* foram pouco atraídas por armadilhas de luz, corroborando com estudo de Nery *et al.* (2010). Difere desse resultado, o encontrado por Barrett *et al.* (1996) em Tefé-AM, onde as espécies acima citadas foram observadas em menor quantidade nas coletas em base de árvore.

Os resultados obtidos são semelhantes aos obtidos por pesquisas realizadas em outros municípios do Amazonas, como em Itacoatiara (Pessoa *et al.*, 2007), Coari (Gomes *et al.*, 2009) e Rio Preto da Eva (Franco *et al.*, 2010) nas quais *L. umbratilis* é a espécie mais abundante. Essa espécie é predominante em florestas primárias de terra firme, habita em ambiente de copa e se alimenta do sangue de tamanduás (*Tamandua tetradactyla*) e preguiças (*Choloepus didactylus*, *Bradypus* sp.), mas quando o ambiente é perturbado, ela oportunamente desce da copa para realizar o repasto sanguíneo em humanos (Marcondes, 2001). É de grande interesse epidemiológico na região amazônica, pois é um vetor potencial de *L. (V.) guyanensis*, sendo responsável pelos casos de leishmaniose cutânea nessa região (Lainson *et al.*, 1981; Rebêlo *et al.*, 1999). No Amazonas essa espécie é apontada como principal vetor de LTA (Naiff, 1988; Guerra *et al.*, 2011), tendo sido notificados 1.268 casos da doença no ano de 2010 e 1.204 só no primeiro semestre de 2011 (SINAN, 2011).

Diferem desses resultados os observados por Fé *et al.* (1998) em São Gabriel da Cachoeira e por Silva *et al.* (2007) em Manacapuru, ambos no Amazonas, quando estudando os flebotomíneos da região encontraram com maior frequência *L. ayrozai* (vetor de *L. (V.) naiffi* e *L. (V.) braziliensis*) e *L. anduzei* (vetor secundário de *L. (V.) guyanensis*). Castellón *et al.* (1994) reportaram em seu trabalho realizado na estrada Manaus - Humaitá, que em geral dentre as espécies coletadas, a mais comum foi *L. antunesi*.

A segunda espécie mais abundante em nosso estudo foi *L. dendrophyla*. Essa espécie já foi encontrada com infecção por *Trypanosoma* sp. no Pará (Lainson *et al.*, 1979; Ryan *et al.*, 1987) e no Amapá seus flagelados foram identificados por eletroforese de isoenzimas como sendo *L. (V.) guyanensis* (Franco, dados não publicados), mas Freitas *et al.* (2002) não sugerem que *L. dendrophyla* seja um hospedeiro natural deste parasita. Não há muitos registros na literatura sobre infecção natural nessa espécie.

Já as espécies *L. ayrozai*, *L. davisii* e *L. paraensis*, cuja distribuição geográfica abrange toda a Amazônia, estão envolvidas na transmissão de *L. (V.) naiffi*, protozoário também isolado de tatu (*Dasypus novencinctus*) [Lainson & Shaw, 1989, Rebêlo & Oliveira-Pereira, 2001]. Grimaldi *et al.* (1991) em estudos realizados em Rondônia, isolaram *L. (V.) braziliensis* de *L. davisii*.

L. shannoni foi encontrada naturalmente infectada com flagelados em vários países como Panamá (Johnson *et al.*, 1963) e Costa Rica (Zeledón & Alfaro, 1973). Estudos em laboratório indicam que pelo menos três espécies de *Leishmania* (*L. (L.) mexicana*, *L. (V.) panamensis* e *L. (L.) chagasi*) podem se desenvolver em *L. shannoni* (Ferro *et al.*, 1998). Na Guatemala (Rowton *et al.*, 1991) e México está incriminada como transmissora de *L. (L.) mexicana* (Pech-May *et al.*, 2010). Essa

espécie também está envolvida na transmissão de patógenos não humanos, sendo considerada provável vetor de *E. schaudinni*, um parasito exclusivo de preguiças (Franco & Grimaldi, 1999). Na Florida (Perkins, 1982) e no México (Sanchez-García *et al.*, 2010) essa espécie foi encontrada infectada com protozoários flagelados. Em Rondônia Gil *et al.* (2003) encontraram 11 espécies também com flagelados, e a *L. shannoni* estava entre essas.

Uma espécie que chama bastante atenção, apesar de pouco representada aqui é *L. yuilli*, com sua reconhecida importância médica na transmissão de *Leishmania* para humanos na Colômbia, tendo sido encontrada naturalmente infectada com *L. (V.) panamensis* (Lainson & Shaw 1972; Santamaría *et al.*, 2006), indicando participação ativa na transmissão dessa espécie, que causa mais de 50% dos casos de LTA no país (Vergara *et al.*, 2008). Em 1998, Ferro & Morales também encontraram essa espécie infectada com flagelados não identificados na cidade de Letícia - CO, fronteira com Tabatinga-AM, Brasil.

Além da Colômbia, sua distribuição é conhecida para o Brasil, Bolívia (Vergara *et al.*, 2008), Equador, Peru e Venezuela (Young & Duncan, 1994; Aguiar *et al.*, 2003). Embora não esteja relacionada à transmissão de leishmanioses no Brasil, essa espécie tem registros de ocorrência nos Estados do Amapá, Amazonas, Acre, Bahia, Espírito Santo, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e São Paulo onde fêmeas já foram encontradas naturalmente infectadas por formas flageladas semelhantes à *Leishmania* sp., tanto em peridomicílio quanto em intradomicílio, no entanto, o parasito não foi identificado (Arias *et al.*, 1985; Barreto *et al.*, 2000; Pinto *et al.*, 2008; Gama-Neto *et al.*, 2011).

Outras espécies suspeitas na transmissão de *Leishmanias* são *L. furcata* e *L. tuberculata* (Lainson & Shaw, 1989; Braga *et al.*, 2003). A primeira é considerada

como provável vetor de *L. (L.) deanei* (Miles *et al.*, 1980) e no Pará, *L. tuberculata* foi encontrada com uma espécie desconhecida de *Leishmania*, assinalada no subgênero *Viannia* (Lainson & Shaw, 1987). Mais tarde Braga *et al.* (2003) caracterizou como *L. (V.) utingensis*, mas ainda não foi encontrada em humanos. Estudos realizado por Silva *et al.* (2010) na cidade de Manaus também relatam a presença dessas espécies em reserva de campina, dando ênfase na sua importância.

L. antunesi é considerada altamente antropofílica, com exemplares encontrado naturalmente infectados na Ilha do Marajó no Pará (Ryan *et al.*, 1984;1987), sugerindo infecção pelo gênero *Leishmania*. Essa espécie também foi observada no município de Acrelândia (Acre), sendo predominante nas coletas realizadas por Silva-Nunes *et al.* (2008) sugerindo sua atuação como vetor principalmente em ambiente peridomiciliar. Há suspeitas de sua participação como vetor de *L. (V.) lindenbergi* em foco identificado em Belém (Silveira *et al.*, 1991; 2002). Na Guiana Francesa já foi encontrada com *Leishmania* sp. (Rotureau *et al.*, 2006) e na Colômbia com *Leishmania* spp. (Vásquez-Trujillo *et al.*, 2008).

Em Pernambuco, Guimarães (2011) descreve o primeiro relato de infecção natural em *L. sordelli* e *L. walkeri* com *Leishmania* spp. Cortez *et al.* (2007) encontraram *L. walkeri* em peridomicílio no Rio Grande do Norte. Estudos sobre a distribuição destas espécies, contudo, não estão associados a aspectos comportamentais consistentes que as incriminem na transmissão da doença. Investigações s realizadas em Rondônia e no Pará também referem a infecção natural por flagelados não identificados em *L. sordelli* (Gil *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, 2011).

Outra espécie antropofílica abundante na região amazônica é a *L. amazonensis*, coletada na Serra dos Carajás (PA) apresentou infecção natural por promastigotas provavelmente do gênero *Leishmania* (Lainson & Shaw, 1973; 1979), sugerindo seu potencial na transmissão de *L. (V.) braziliensis* no norte do país (Fraiha *et al.*, 1980).

Com relação à incidência de flebotomíneos em área silvestre ou peridomicílio, obteve-se maior riqueza e abundância em áreas de mata, resultado confirmado em outros estudos (Rêbello *et al.*, 2000; Franco *et al.*, 2010). No peridomicílio predominaram as espécies *L. umbratilis*, *L. yuilli*, *L. ayrozai*, *L. furcata* e *L. walkeri*.

Neste levantamento no município de Tabatinga, *L. umbratilis* foi à espécie mais abundante em base de árvore e, do total de indivíduos dissecados 34 estavam parasitadas totalizando uma taxa de infecção de 7,3% (34/462), sendo 10 amostras isoladas em cultivo.

A infecção natural é um dos critérios mais importantes para incriminar uma espécie de *Lutzomyia* como vetor de *Leishmania* (Killick-Kendrick, 1990). No entanto, é de extrema importância que não exista a presença de sangue fresco ou em processo de digestão para que a mesma seja indicada como transmissora. Em recente estudo na área de Salobo, na Serra dos Carajás, Pará, 11.259 (73,5%) flebotomíneos foram dissecados e examinados para pesquisa de flagelados do gênero *Leishmania*, sendo encontradas 19 infecções naturais, destes oito foram isolados e em dois exemplares de *L. davisii* revelou a presença de *L. (V.) braziliensis* (Souza *et al.*, 2010). Neitzke *et al.* (2008) no Paraná, analisaram 2.487 exemplares e verificaram uma fêmea com flagelados, ou seja, infecção de 0,04%.

Nery *et al.* (2010), estudando *L. umbratilis* num fragmento florestal urbano da cidade de Manaus encontraram uma taxa de 8.6%. Lainson *et al.* (1981),

encontraram no norte do Pará uma taxa de infecção de 1,7%. Pinheiro (2008) e Gomes *et al.* (2010) estudando leishmaniose em área de treinamento militar no Amazonas, constataram uma taxa de infecção de 1,66% e 1,96%, respectivamente. Franco *et al.* (2010) analisando a fauna de flebotomíneos em área de assentamento em Rio Preto da Eva (AM) observaram uma taxa de 3,89% para esta espécie. Ready *et al.* (1985) realizando um estudo piloto de controle de *L. umbratilis* na área periurbana da cidade de Manaus (bairro de São José) registraram uma taxa de infecção por *L. (V.) guyanensis* de 7% e Freitas *et al.* (2002), em investigações no Amapá assinalaram uma taxa de infecção nestes insetos de 26,5%.

O município de Tabatinga é uma região que pode ser considerada como área potencial para a circulação de leishmanias, devido a ocorrência de diversos vetores potenciais para a sua transmissão. Outros marcadores moleculares serão utilizados com o intuito de se identificar todos os isolados obtidos neste estudo. Tabatinga possui todas as condições (ambientais, presença de hospedeiros e reservatórios) para que o agente etiológico da LTA circule entre estes elos epidemiológicos, pois é evidente que o parasita circule também em humanos como os registros epidemiológicos mostram. Apesar da subnotificação dos casos humanos ainda torna-se necessário avaliar as espécies de *Leishmania* que estão envolvidas e o quadro epidemiológico da região.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar, G.M.; Schuback, M.L.V.; Azevedo, A.C.R. de. 1985. Aspectos da ecologia dos flebótomos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro. II. Distribuição vertical (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 80(2): 187-194.
- Ampuero, J.; Macêdo, V.; Marsden, P. 2006. Características clínicas da leishmaniose tegumentar em crianças de 0 a 5 anos em uma área endêmica de *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 39: 22-6.
- Arias, J.R.; Freitas, R.A. 1977. Flebótomíneos da Amazônia Central do Brasil. I- Resultados obtidos das capturas feitas com iscas humana e equina (Diptera: Psychodidae). *Acta Amazônica*, 7(4): 507-27.
- Arias, J.R.; Miles, M.A.; Naiff, R.D.; Popova, M.M.; Freitas, R.A.; Biancardi, C.B.; Castellon, E.G. 1985. Flagellates infections of Brazilian sandflies (Diptera: Psychodidae): Isolation in vitro and biochemical identification of *Endotrypanum e Leishmania*. *American Journal of Tropical Medicine Hygiene*, 34:1098 -1108.
- Barreto, M., M. E. Burbano and P. Barreto, 2000. *Lutzomyia* sand flies (Diptera: Psychodidae) from middle and lower Putumayo department, Colombia, with new

- records to the country. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 95: 633-639.
- Barrett, T.V.; Freitas, R.A.; Albuquerque, M.I.C.; Guerrero, J.H.C. 1996. Report on a collection of *Lutzomyia* sandflies (Diptera: Psychodidae) from the middle Solimões (Amazonas, Brazil). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 91: 27-35.
- Braga, R.R.; Lainson, R.; Ishikawa, E.A.; Shaw, J.J. 2003. *Leishmania* (*Viannia*) *utingensis* n. sp, a parasite from the sandfly *Lutzomyia* (*Viannomyia*) *tuberculata* in Amazonian Brazil. *Parasitology*, 10: 111-118.
- Castellón, E. G.; Arias, J.R.; Freitas, R. A.; Naiff, R. D. 1994. Os flebotomíneos da região Amazônica, estrada Manaus Humaitá, estado do Amazonas, Brasil (Diptera: Psychodidae; Phlebotominae). *Acta Amazônica*, 24(1/2): 91-102.
- Chagas, A.C.; Pessoa, F.A.C.; Medeiros, J.F.; Py-Daniel, V.; Mesquita, E.C.; Balestrassi, D.A. 2006. Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) em uma vila de exploração de minérios - Pitinga, município de Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 9: 186-92.
- Censo Populacional 2010. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (29 de novembro de 2010). Página visitada em 11 de dezembro de 2010.
- Cortez, A.M., Silva, V.P.M. , Queiroz, P.V.S., Andrade, H.T.A, Loiola, M.I.B., Ximenes, M.F.F.M. 2007. Vertical stratification and development aspects of

phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in an area of Atlantic Forest tree. *Journal of Vector Ecology*. 32: 336-341.

Desjeux, P. 2004. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 27: 305-18.

Ferro, C.; Morales, A. 1998. Flebótomos de Colômbia: estudos realizados por el Laboratório de Entomologia 1966-1997. Em: Toro G, Hernandez CA, Raad J. editores. Instituto Nacional de Salud 1917-1997: una historia un compromiso. Bogotá: Instituto Nacional de Salud, p. 219-33.

Ferro, C.; Cardenas, E.; Corredor, D.; Morales, A.; Munstermann, L.E. 1998. Life cycle and fecundity analysis of *Lutzomyia shannoni* (Dyar) (Diptera: Psychodidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93: 195-99.

Figueira, L.P.; Zanotti, M.; Pinheiro, F.G.; Franco, A.M.R. 2008. Isoenzymatic characterization of human isolates of *Leishmania* sp (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) from the municipalities of Rio Preto da Eva and Manaus, State of Amazonas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 41: 512-514.

Franco, A.M.R.; Grimaldi Jr, G. 1999. Characterization of *Endotrypanum* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), a unique parasite infecting the Neotropical tree sloths (Edentata). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94: 261-268.

- Franco, A. M. R.; Pereira, M. A. S.; Freitas, R. A. 2010. Diversidade da fauna de flebotomíneos em área de assentamento no município de Rio Preto da Eva, Estado do Amazonas. In: In: Castellon, E.G.B.; Ronchi-Teles, B.; Ale-Rocha, R. Org. (Org.). *Entomologia na Amazônia Brasileira*. Manaus: Editora INPA, v. 01, p. 183-205.
- Franco, A.M.R; Momen, H.; Naiff, R.D.; Moreira, C.F.S; Deane, M.P.; Grimaldi, JR. G. 1996. Enzyme polymorphism in *Endotrypanum* and numerical analysis of isoenzyme data. *Parasitology* 113: 39-48.
- Fraiha, H.; Ward, R.D.; Quintana, J. 1980. Taxonomia de *Psychodopygus Amazonensis* (ROOT, 1934) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Revista da FSESP – v: XXV/nº 1/80*.
- Freitas, R.A.; Naiff, R.D.; Barret, T.V. 2002. Species Diversity and Flagellate Infections in the Sand Fly Fauna near Porto Grande, State of Amapá, Brazil (Diptera: Psychodidae: Kinetoplastida: Trypanosomatidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97: 53-59.
- Forattini, O. P. 1973. *Entomologia Médica*. IV. Psychodidae. Leishmaniose. Bartonelose. Edgard Blucher, São Paulo. 658p.
- Foster, W. A. 1972. Studies on leishmaniasis in Ethiopia. IV. Resting and breeding sites, flight behaviour and seasonal abundance os *Phlebotomus longipes* (Diptera: Psychodidae). *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 66: 313-327.

Fundação de Vigilância em Saúde (FVS). Casos de Leishmaniose no estado do Amazonas. Informe Técnico, 2011.

Gomes, L.H. M.; Nery, L.C.R.; Pinheiro, F.G.; Freitas, R.A.; Franco, A.M.R. 2009. Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) em terra firme e planície fluvial na área de influência do gasoduto Coari-Manaus, Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*, 39: 233-236.

Gomes, L.H. M.; Pinheiro, F.G.; Franco, A.M.R. 2010. Infecção E SAZonalidade de vetores de Leishmaniose em área de treinamento militar no Amazonas. In: In: Castellon, E.G.B.; Ronchi-Teles, B.; Ale-Rocha, R. Org. (Org.). *Entomologia na Amazônia Brasileira*. Manaus: Editora INPA, v. 01, p. 207-219.

Gama Neto, J.L.; Freitas, R.A.; Baima, J.M.; Passos, M.A.B. 2010. Fauna flebotomínica (Diptera: Psychodidae) da Serra do Tepequém, Município de Amajari, Estado de Roraima, Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 1:131-136.

Gil, L.H.S.; Basano, S.A.; Souza, A.A.; Silva, M.G.S.; Barata, I.; Ishikawa, E.D.; Camargo, L.M.A.; Shaw, J.J. 2003. Recent observations on the sand fly (Diptera: Psychodidae) fauna of the state of Rondônia, western Amazônia, Brazil: the importance of *Psychodopygus davisi* as a vector of zoonotic cutaneous leishmaniasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 751-755.

- Guerra, J.A.O.; Prestes, S.R.; Silveira, H.; Coelho, L.I.D.A.R.C.; Gama, P.; Moura, A.; Amato, V.; Barbosa, M.G.V.; Ferreira, L.C.L. 2011. Mucosal Leishmaniasis Caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Viannia) guyanensis* in the Brazilian Amazon. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5: e980.
- Grimaldi J.r., G.; Momen H, Naiff RD, Mcmhon-Pratt D, Barrett TV 1991. Characterization and classification of leishmanial parasites from humans, wild mammals, and sand fl ies in the Amazon Region of Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 44: 645-661.
- Guimarães, V. C. F. V. 2011. Avaliação da infecção natural de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) por *Leishmania* spp. no Município de São Vicente Férrer, Pernambuco. Dissertação de Mestrado, Fundação Oswaldo Cruz Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Pernambuco, Recife. 79 pp.
- Johnson, P.T.; McConnell, E.; Hertig, M. 1963. Natural infections of leptomonad flagellates in Panamanian Phlebotomus sandflies. *Experimental Parasitology* 14:107-122.
- Killick-Kendrick, R.1990. Phlebotomine vectors of the leishmaniases: a review. *Medicine Veterinary Entomology*. 4:1-24.
- Lainson, R.; Shaw, J.J. 2005. New World Leishmaniasis – the neotropical *Leishmania* species. In: Cox FEG, Kreier JP, Wakelin D (org.). *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. London, p. 313-49.

Lainson, R.; Shaw, J.J.; Ward, R.D.; Ready, P.D.; Naiff, R.D. 1979. Leishmaniasis in Brazil: XIII. Isolation of *Leishmania* from armadillos (*Dasypus novemcinctus*) and observations on the epidemiology of cutaneous leishmaniasis in north Para State. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 73:239-242.

Lainson, R.; Shaw, J.J.; Ready, P.D.; Miles, M.A., póvoa, M. 1981. Leishmaniasis in Brazil. XVI. Isolation and identification of *Leishmania* species in North Pará State, with particular reference to *Leishmania braziliensis guyanensis* causative agent of "pian bois". *Trans. Roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 75: 530-536.

Lainson, R.; Shaw, J.J. 1989. *Leishmania (Viannia) naiffi* sp. n., a parasite of the armadillo, *Dasypus novemcinctus* (L.) in Amazonian Brazil. *Ann Parasitol Human Comp* 61: 3-9.

Lainson, R.; Shaw, J.J. 1987. Evolution, classification and geographical distribution, In W Peters, R Killick-Kendrick (eds). *The leishmaniasis in biology and medicine*. Academic Press, London, 2: 1-120

Lainson, R.; Shaw, J. J. 1972. Leishmaniasis of the New World: Taxonomic problems. *British medical bulletin*, London, 28: 44-48.

Marcondes, C.B.; Santos-Neto, L.G.; Lozovei, A.L. 2001. Ecology the phlebotominae sandflies (Diptera: Psychodidae) in Brazilian Atlantic Florest. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 34 (3): 255-260.

- Martins, L.M.; Rebêlo, J.M.M.; Santos, M.C.F.V.; Costa, J.M.L.; Silva, A.R.; Ferreira, L.A. 2004. Ecoepidemiologia da leishmaniose tegumentar no Município de Buriticupu, Amazônia do Maranhão, Brasil, 1996 a 1998. *Cad Saúde Pública*, 20: 735-43.
- Naiff, R.D.; Talhari, S.; Barrett, T. 1988. Isolation of *Leishmania guyanensis* from lesions of nasal mucosa. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 83:529-530.
- Neitzke, H.C.; Scodro, R.B.L.; Castro, K.R.R.; Sversutti, A.C.D.; Silveira, T.G.V.; Teodoro, U. 2008. Pesquisa de infecção natural de flebotomíneos por *Leishmania*, no Estado do Paraná. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 41: 17-22.
- Nery, L. C. R. ; Freitas, R. A. ; Franco, A. M. R. 2010. Fauna de flebotomíneos em fragmento florestal urbano no Amazonas. In: Castellón, E.G.B.; Ronchi-Teles, B.; Ale Rocha, R. (Org.). *Entomologia na Amazônia Brasileira*. Manaus: Editora INPA, v. 01, p. 247-261.
- Nicolle, G.L. 1908. Culture du parasite du Bouton d'Orient. *C.R. Acad. Sci.*, 146: 842-843.
- Novy, F.G., MacNeal, W.J. 1904. On the cultivation of *Trypanosoma brucei*. *J. Infect. Dis.*, 1: 1-30.

- Oliveira, D. M. S.; Saraiva, E. M.; Ishikawa, E. A. Y.; Sousa, A. A. A.; Silva, E. O. ;
Silva, I. M. 2011. Distribution of phlebotomine fauna (Diptera: Psychodidae)
across an urban-rural gradient in an area of endemic visceral leishmaniasis in
northern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 106: 1039-1044.
- Pech-May, A.; Escobedo-Ortego, N.F.J.; Berzunza-Cruz, M.; Rebollar-Tellez, E.A.
2010. Incrimination of four sandfly species previously unrecognized as vectors of
Leishmania parasites in Mexico. *Medical and Veterinary Entomology*, 24:150–
161.
- Pessoa, F.A.C.; Medeiros, J.F.; Barret, T.V. 2007. Effects of timber harvest on
phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a production forest:
abundance of species on tree trunks and prevalence of trypanosomatids.
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 102: 593-599.
- Pinto, I. S.; Pires, J. G.; Santos, C. B.; Virgens, T. M.; Leite, G. R.; Ferreira, A. L.;
Falqueto, A. 2008. Primeiro registro de *Nyssomyia yuilli yuilli* (Young & Porter) e
de *Trichopygomyia longispina* (Mangabeira) (Diptera: Psychodidae) no estado do
Espírito Santo, Brasil. *Biota Neotropica*, 8 (1): 221-23.
- Pinheiro, F.G.; Luz, S.L.B.; Franco, A.M.R. 2008. Infecção natural por
trypanosomatídeos (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) em *Lutzomyia umbratilis*
(Diptera: Psychodidae) em áreas de leishmaniose tegumentar americana no
Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*, 38: 165-172.

- Perkins, P.V. 1982. The identification and distribution of phlebotomine sand flies in the United States with notes on the biology of two species from Florida (Diptera: Psychodidae) [Ph.D. dissertation]. University of Florida: Gainesville, FL.
- Rangel, E.; Lainson, R. (org). 2003. *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora da Fiocruz, 368pp.
- Rangel, E.F.; Meneses, C.R.V.; Cupolillo, E.; Azevedo, A.C.R.; Costa, W.A.; Costa, S.M. 1999. Aspectos da ecologia de *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) e a fauna flebotomínica (Diptera: Psychodidae) em área de transmissão da *Leishmania (V) braziliensis* no Rio de Janeiro. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 32 (Supl. I): 115.
- Rebêlo, J.M.M.; Oliveira-Pereira, Y.N. 2001. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) de matas de terra firme e de várzea, do município de Paragominas, estado do Pará, Brasil. *Acta Amazônica*, 31: 145-154.
- Rebêlo, J. M. M; Oliveira, S. T.; Barros, V. L. L.; Silva, F. S. 2000. Flebotomíneos da Amazônia maranhense. III – Frequência horária das espécies em áreas de colonização recente. *Entomología y Vectores*, Rio de Janeiro, Vol. 7 (1): 1-18.
- Rebêlo, J.M.M.; Araújo, J.A.C.; Carvalho, M.L.; Barros, V.L.L.; Silva, F.S.; Oliveira, S.T. 1999. Flebótomos (Diptera, Phlebotominae) da Ilha de São Luis, zona do

- Golfão Maranhense, Brasil. *Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 32: 247-253.
- Ryan, L.; Silveira, F.T.; Lainson, R.; Shaw, J.J. 1987. Leishmaniasis in Brazil. XXIV. Natural flagellate infections of sandflies in Pará State, with particular reference to the role of *Psychodopygus wellcomei* as the vector of *Leishmania braziliensis braziliensis* in the Serra dos Carajás. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 81: 353-59
- Ryan, L.; Silveira, F.T.; Lainson, R.; Shaw, J.J. 1984. Leishmanial infections in *Lu. longipalpis* and *L. antunesi* (Diptera: Psychodidae) on the island of Marajo', Pará State, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 78, 547-548.
- Rodas, L.A.C.; Poletto, D.W. 2001. Leishmaniose Visceral Americana. Superintendência de Controle de Endemias-SUCEN, Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretária de Estado de Saúde de São Paulo. <http://www.sucem.sp.gov.br/doencas/index.htm>. Acesso em 31/01/2012.
- Rotureau, B.; Gaborit, P.; Issaly, J.; Carinci, R.; Fouque, F.; Carne, B. 2006. Diversity and ecology of sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in coastal french guiana. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 75: 62-69.
- Rowton, E.; Mata, M.; Rizzo, N.; Navin, T.; Porter, C. 1991. Vectors of *Leishmania braziliensis* in the Petén, Guatemala. *Parasitology*, 33: 501-504.

Saraiva, L.; Andrade Filho, J.D.; Carvalho, D.A.A.; Souza, C.M.; Freitas, C.R.; Lopes, C.R.G.; Moreno, E.C.M.; Melo, M. N. 2011. Phlebotominae fauna (Diptera: Psychodidae) in an urban district of Belo Horizonte, Brazil, endemic for visceral leishmaniasis: Characterization of favored locations as determined by spatial analysis. *Acta Tropica*, Basel, 117: 137-145.

Sánchez-García, L.; Berzunza-Cruz, M.; Becker-Fauser, I.; Rebollar-Téllez, E.A. 2010. Sand flies naturally infected by *Leishmania (L.) mexicana*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 104: 406–411.

Santamaría, E.; Ponce, N.; ZIPA, Y.; Ferro, C. 2006. Presencia en el peridomicilio de vectores infectados con *Leishmania (Viannia) panamensis* en dos focos endémicos en el occidente de Boyacá, piedemonte del valle del Magdalena medio, Colombia. *Biomédica* 26:82-94.

Silveira, F.T.; Souza, A.A.A.; Lainson, R.; Shaw, J.J.; Braga, R.R.; Ishikawa, E.A.Y. 1991. Cutaneous leishmaniasis in the Amazon region, natural infection of the sandfly *Lutzomyia ubiquitalis* (Psychodidae: Phlebotominae) by *Leishmania (Viannia) lainsoni* in Pará State, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 86: 127-30.

Silveira, F.T.; Ishikawa, E.A.; Souza, A.A.; Lainson, R. 2002. 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. *Parasitology*, 9:43-50.

- Silveira, F.T.; Mülher, S.R.; Souza, A.A.A.; Lainson, R.; Gomes, C.M.; Laurent, M.D.; Corbett, C.E.P. 2008. Revisão sobre a patogenia da leishmaniose tegumentar americana na Amazônia, com ênfase à doença causada por *Leishmania (V.) braziliensis* e *Leishmania (L.) amazonensis*. *Rev Parasit Med* 22:9-20.
- Silva - Nunes, M; Cavasini, C.E.; Silva, N.S.; Galati, E.A.B. 2008. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar e descrição das populações de flebotomíneos no município de Acrelândia, Acre, Brasil. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 2: 241-51.
- Silva, D. F.; Freitas, R. A.; Franco, A. M. R. 2007. Diversidade e abundância de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) em áreas de mata do nordeste de Manacapuru, AM. *Neotropical Entomology*, 36: 138-144.
- Silva, P.E.S.; Freitas, R.A.; Silva, D.F.; Alencar, R. B. 2010. Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de uma reserva de campina no Estado do Amazonas, e sua importância epidemiológica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 43 (1):78-81.
- Souza, A. A. A.; Silveira, F.T.; Lainson, R.; Barata, I.R.; Silva, M.G.S.; Lima, J.A.N.; Pinheiro, M.S.B.; Silva, F.M.M.; Vasconcelos, L.S.; Campos, M,B.; Ishikawa, E.A.Y. 2010. Fauna flebotomínica da Serra dos Carajás, Estado do Pará, Brasil, e sua possível implicação na transmissão da leishmaniose tegumentar americana. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 1:45-51.

- Tojal da Silva, A. C.; Cupolillo, E.; Volpini, A. C.; Almeida, R.; Romero, G. A. 2006. Species diversity causing human cutaneous leishmaniasis in Rio Branco, state of Acre, Brazil. *Trop. Med. Int. Health*, 11: 1388-1398.
- Vásquez-Trujillo, A.; Santamaría-Herreño, E.; González-Reina, A.E.; Buitrago-Álvarez, L.S.; Góngora-Orjuela, A.; Cabrera-Quintero, O.L. 2008. *Lutzomyia antunesi*, probable vector de leishmaniasis cutánea en el área rural de Villavicencio. *Revista Salud Pública*. 10(4):625-632.
- Vergara, D.; Carrillo, L.M.; Bejarano, E.E.; Vélez, I. D. 2008. Primer informe de *Lutzomyia yuilli* Young & Porter, 1972 y *Lutzomyia triramula* (Fairchild & Hertig 1952) (Diptera: Psychodidae) en el departamento de Caldas, Colombia. *Biota Neotropical*, 2008, 8(3): 251-253.
- Young, D.G.; Arias, J.R. 1984. The *microps* group of *Lutzomyia* França with descriptions of two new species from South America (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Memória do Instituto Oswaldo Cruz*, 79: 425-431.
- Young, D.G.; Duncan, M.A. 1994. Guide of the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Mem Am Entomo Inst*, 54:1-881.

Zeledón, R.; Alfaro, M. 1973. Isolation of *Leishmania braziliensis* from a Costa Rica sandfly and its possible use as a human vaccine. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 67:416-417.

CAPÍTULO III

**PRIMEIRO REGISTRO DE *LUTZOMYIA (TRICHOPYGOMYIA) WITOTO* YOUNG &
MORALES, 1987 (DIPTERA: PSYCHODIDAE) NO BRASIL**

CAPÍTULO III

PRIMEIRO REGISTRO DE *LUTZOMYIA (TRICHOPYGOMYIA) WITOTO* YOUNG & MORALES, 1987 (DIPTERA: PSYCHODIDAE) NO BRASIL

Fabiane Veloso Soares, Rui Alves de Freitas, Antonia Maria Ramos Franco

RESUMO

Em pesquisa realizada no município de Tabatinga-Amazonas, Brasil, 44 flebotomíneos foram identificados como *Lutzomyia witoto*, onde 63,6% eram do sexo masculino e 36,4% do sexo feminino. Foram coletados com armadilhas luminosas tipo CDC e base de árvores com CDC modificado, nos Km 4 e 5 da estrada do Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária, em área de vegetação primária de floresta de terra firme. A identificação dos espécimes foi feita com as chaves taxonômicas disponíveis. Espécime macho desta espécie foi descrita por Young & Morales na Colômbia em 1987, e até este momento esta espécie só tinha sido encontrado na Colômbia e no Equador. Este é o primeiro registro de *L. witoto* para o Brasil.

Palavras-chave: Phlebotominae, *Lutzomyia*, Tabatinga.

1. INTRODUÇÃO

Os flebotomíneos são considerados importantes vetores de Leishmania, atingindo os seres humanos em todo mundo (Kakarsulemankhel, 2004). São classificados com base na distribuição geográfica, em dois principais grupos a saber, Velho Mundo e Novo Mundo. Flebotomíneos do Velho Mundo incluem três gêneros *Phlebotomus*, *Chinius* e *Sergentomyia* enquanto o Novo Mundo inclui os gêneros

Brumptomyia, *Lutzomyia* e *Warileya* (Lane, 1993). Apenas três espécies de flebotomíneos foram nomeados em 1905 e desde então, 700 espécies de flebotomíneos foram identificados (Zahraei-Ramazani *et al.*, 2006; Llango, 2011).

Cerca de 460 espécies do gênero *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) tem sido registrado nas Américas (Young e Duncan, 1994). No Brasil este gênero é o mais estudado devido a sua importância vetorial na transmissão dos agentes causadores das leishmanioses (Vergara *et al.*, 2008). Das 330 espécies identificadas, aproximadamente 122 (36,9%) são encontradas na região amazônica; destas, 25 (20,5%) apresentam características antropófilas (Rebêlo *et al.*, 1996; 1999; Gil *et al.*, 2003; Rangel & Lainson, 2003).

Fazem parte desse gênero, 15 subgêneros, 11 grupos de espécies e duas espécies com descrição deficiente (Young & Duncan, 1994; Rebêlo *et al.*, 1999; Gil *et al.*, 2003). Dentre os subgêneros descritos, *Trichopygomyia* Barretto 1962 apresenta sete espécies registradas no estado do Amazonas: *Lutzomyia dasypodogeton* (Castro, 1939), *L. longispina* (Mangabeira, 1942), *L. ratcliffei* (Arias, Ready & Freitas, 1983), *L. rondoniensis* (Martins, Falcão & da Silva, 1965), *L. trichopyga* (Floch & Abonnenc, 1945), *L. waglei* (Causey & Damasceno, 1945) e *L. conviti* (Ramirez Perez, Martins & Ramirez, 1976) (Castellón *et al.*, 1994; Rangel & Lainson, 2003; Pinheiro *et al.*, 2010).

Nas pesquisas da fauna de flebotomíneos no município de Tabatinga – Amazonas, foi registrado pela primeira vez no Brasil a ocorrência de *Lutzomyia (Trichopygomyia) witoto* Young e Morales 1987.

2. MATERIAS E MÉTODOS

A presente investigação foi realizada nos km 4 e 5 da estrada do Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA), Geodesica II, município de Tabatinga (4° 15 '9 "S, 69 ° 56' 17" W), Estado do Amazonas - BR, fronteira com a Colômbia (Fig. 1a) em área de vegetação primária de terra firme, utilizando-se armadilhas luminosas (CDC “miniature” – Center of Disease Control, Hausherr Machine Works, New Jersey, EUA), instaladas durante a noite, a um metro do solo, entre 18:00-07:00 h, em agosto de 2010 e 2011.

Os flebotomíneos também foram coletados por aspiração em base de árvores com CDC modificado. Os insetos foram transferidos para tubos Eppendorf (1,5 ml) contendo 70% de álcool etílico e levados ao laboratório do INPA, onde foi feita identificação. Cada inseto foi processado e dissecado seguindo as técnicas convencionais (Young & Duncan, 1994).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 44 indivíduos de *L. witoto* capturados em Tabatinga, 63,6% (28) eram machos e 36,4% (16) fêmeas. Exemplar macho desta espécie foi descrito por Young & Morales em 1987. Os autores realizaram coletas utilizando armadilhas luminosas do tipo CDC em áreas de floresta no km 8 N, na cidade de Letícia, a 96 m do nível do mar, Departamento (Estado) do Amazonas, na Colômbia (Fig. 1b). O espécime foi coletado em tronco oco de árvore.

L. witoto foi novamente encontrado na Colômbia, Departamento de Putumayo, nas cidades de Puerto Leguízamo, Pto. Caicedo, Pto. Villagarzón, sendo desta vez

uma fêmea coletada no bairro de San Isidro, em Pto. Caicedo (Barreto *et al.*, 2000). Nesse mesmo país, Cabrera *et al.* (2009) coletaram quatro indivíduos de *L. witoto* (3 fêmeas) no Departamento de Guaviare, em El Retorno, Caño Veredas Azul e Villalinda (Fig 2).

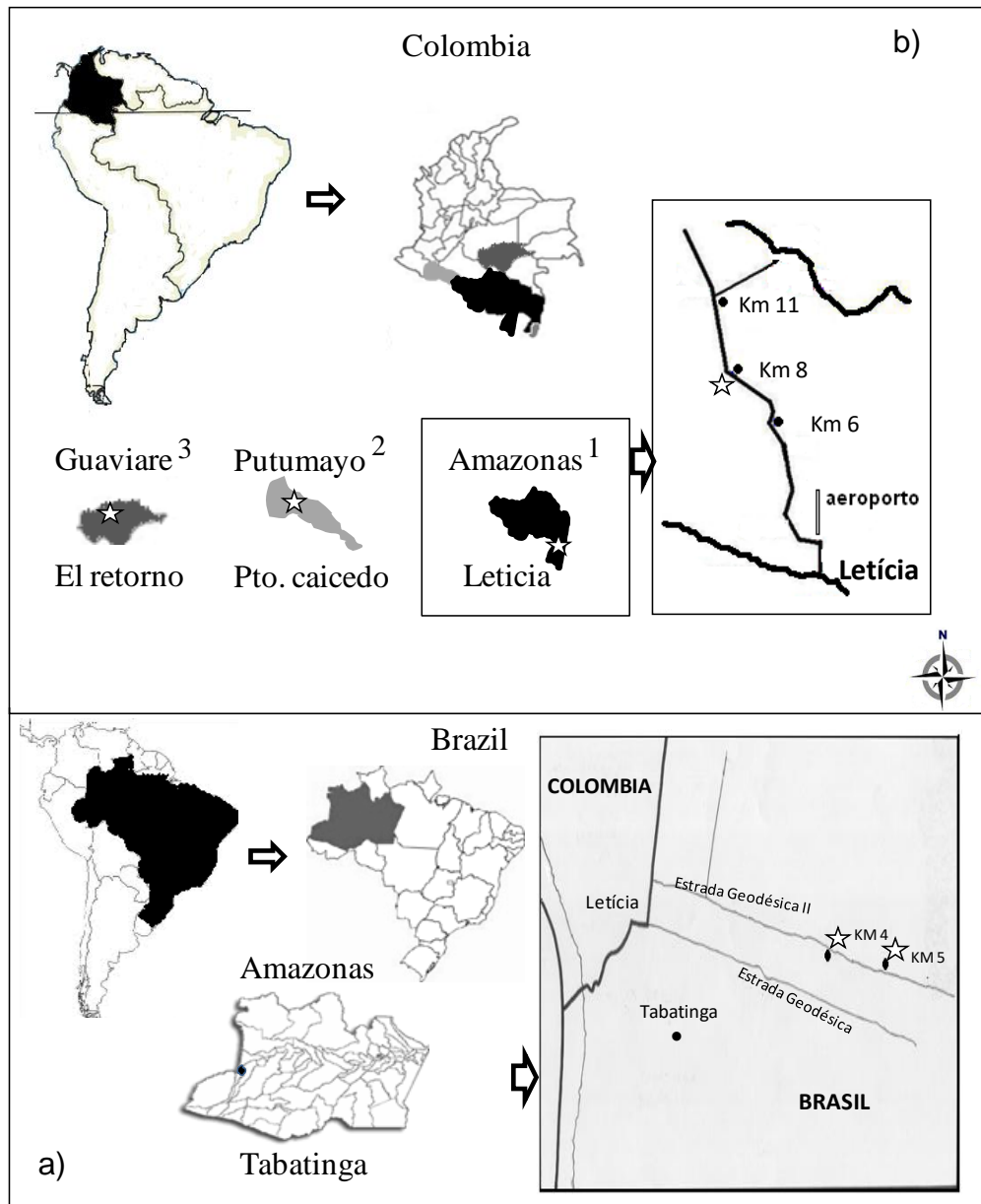


Fig. 1. a) Localização da área de estudo no município de Tabatinga, Amazonas – BR, área de fronteira com a Colômbia. b) Locais de registro de *Lutzomyia (trichopygomyia) witoto* na Colômbia (Leticia, Pto. Caicedo e El Retorno). ☆ = Local. Fonte: 1: Young e Morales (1987); 2: Barreto *et al.* (2000); 3: Cabrera *et al.* (2009).

Em 2010, Jones *et al.* realizando estudos da fauna de flebotomíneos em Tiputini Biodiversity Station, Universidad San Francisco de Quito, localizado na Província de Orellana, aproximadamente 300 Km do leste de Quito, coletou exemplares machos, registrando o primeiro encontro desta espécie no Equador.

O presente estudo mostra a presença de uma outra espécie do subgênero *Trichopygomyia* no Brasil. Este é o primeiro relato de *L. witoto* para o Estado do Amazonas e para o Brasil (Fig. 2). A fêmea desta espécie está em processo de descrição.

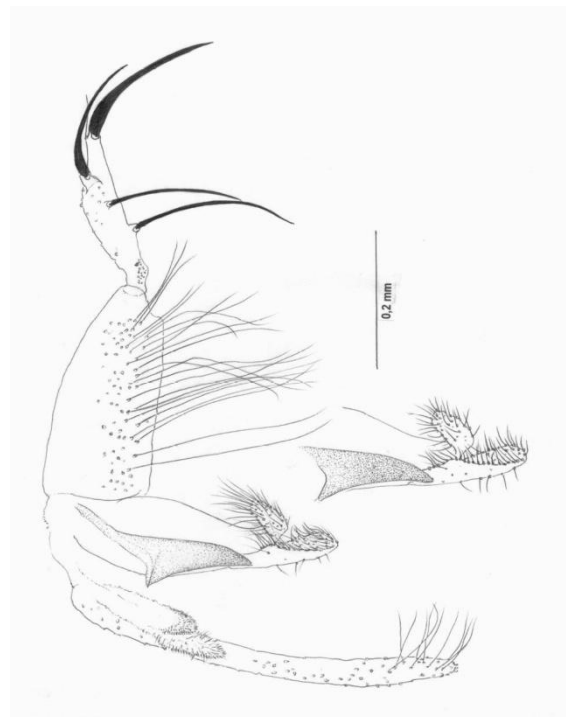


Fig. 2. Genitália do macho de *Lutzomyia (Trichopygomyia) witoto* Young e Morales 1987.

Lâminas permanentes foram preparadas e espécimes foram depositadas na Coleção de Invertebrados do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, Amazonas, Brasil.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barreto, M., M. E. Burbano and P. Barreto, 2000. *Lutzomyia* sand flies (Diptera: Psychodidae) from middle and lower Putumayo department, Colombia, with new records to the country. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 95: 633-639.
- Cabrera, O.L., L. Mosqueira, E. Santamaría and C. Ferro, 2009. Flébotomos (Diptera: Psychodidae) del departamento de Guaviare, Colombia, con nuevos registros para el país. Biomédica, 29:73-86.
- Ilango, K., 2011. Spatial and Temporal Distribution of Phlebotomine Sand Flies in Relation to Leishmaniasis in India. In: Entomology (Ecology & Biodiversity), Tyagi, B.K. and V. Veer (Ed.). Scientific Publishers, India, pp: 99-103.
- Jones, L. A., L. W. Conhstaedt, L. Beati, R. Terán, R. León and L. E. Munstermann, 2010. New records of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) from ecuador. Proceedings of the Entomological Society of Washington, 112: 47–53.
- Kakarsulemankhel, J.K., 2004. Composition of the *Phlebotominae*, fauna (Diptera, Psychodidae) in Balochistan, Pakistan. J. Bio Sci, 4: 391-392.
- Lane, R.P., 1993. Sandflies (Phlebotominae). Medical Insects and Arachnids. Chapman and Hall, London, UK., pp: 92-96.
- Pinheiro, F.G., R. A. Freitas, L.C. Rocha and A.M.R. Franco, 2010. Primeiro Registro de *Lutzomyia (Trichopygomyia) conviti* Ramirez Perez, Martins & Ramirez (Diptera: Psychodidae) no Brasil. Neotropical Entomology, 39: 676-677.

- Rangel, E. F. and R. Lainson, 2003. Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro, Editora Fiocruz, 368p.
- Vergara, D., L.M. Carrillo, E.E. Bejarano and I.D. Vélez, 2008. Primer informe de *Lutzomyia yuilli* Young & Porter, 1972 y *Lutzomyia triramula* (Fairchild & Hertig 1952) (Diptera: Psychodidae) en el departamento de Caldas, Colombia. Biota Neotropica, 8: 251-253.
- Young, D.G. and M. A. Duncan, 1994. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Florida, Memoirs of the American Entomological Institute 54, Associated Publishers, 881p.
- Young, D. G. and A. Morales, 1987. New species and records of phlebotomine sandflies from Colombia (Diptera, Psychodidae). Journal of Medical Entomology 24: 651-665.
- Zahraei-Ramazani, A.R.; Yaghoobi-Ershadi, M.R.; Mokhtari, A.R.; Akhavan, A.A.; Abdoli, H. and M.H.Arandian. 2006. Composition of the Phlebotomine Fauna (Diptera, Psychodidae), in Isfahan City, Central Iran: First Record of *Sergentomyia Baghdadis*, *S. clydei* and *S. dendata*. J. Entomol, 3: 319-24.

CAPÍTULO IV

PRIMEIRO REGISTRO DE *LUTZOMYIA (TRICHOPHOROMYIA) HOWARDI*

YOUNG 1979 (DIPTERA: PSYCHODIDAE) NO AMAZONAS, BRASIL

CAPÍTULO IV

PRIMEIRO REGISTRO DE *LUTZOMYIA (TRICHOPHOROMYIA) HOWARDI* YOUNG 1979 (DIPTERA: PSYCHODIDAE) NO AMAZONAS, BRASIL

Fabiane Veloso Soares, Rui Alves de Freitas, Antonia Maria Ramos Franco

RESUMO

Em um levantamento da fauna de flebotomíneos nas áreas de fronteira do município de Tabatinga, Amazonas, BR, um total de 5.741 flebotomíneos foram capturados e 94 espécimes identificados como *Lutzomyia howardi* (Young). Foram coletados com armadilhas luminosas tipo CDC e em base de árvores na estrada do INCRA, Tabatinga, em área de vegetação primária de terra firme. A identificação dos espécimes foi segundo os critérios taxonômicos disponíveis. Até o momento esta espécie só tinha sido encontrada na Colômbia, Peru e Brasil. Este é o primeiro relato da presença de *L. howardi* no estado do Amazonas, BR.

Palavras-chave: *Lutzomyia howardi*, Tabatinga, *Trichophoromyia*.

1. INTRODUÇÃO

Os flebótomos são distribuídos em quase todas as regiões de fauna do mundo, representados por várias espécies. Eles são mais abundantes na região Neotropical, com o maior número de espécies e densidade que variam com a estação meteorológica (Rangel & Lainson, 2003). São reconhecidos os seguintes gêneros: *Phlebotomus* e *Sergentomyia*, ambos encontrados no Velho Mundo e *Lutzomyia*, *Brumptomyia* e *Warileya* no Novo Mundo (Foratini, 1973; Zahraei-Ramazani *et al.*, 2008).

O gênero *Lutzomyia* contém a maioria dos flebotomíneos nas Américas, com cerca de 400 taxa descritos (Young & Duncan, 1994). Após os registros de Young e Duncan, mais de uma dezena de espécies têm sido descritas até o momento (Nery *et al.*, 2010).

No Brasil, esse gênero é o mais estudado devido ao seu papel como vetor na transmissão dos agentes causadores da leishmaniose (Rebelo *et al.*, 1996). Neste gênero, estão incluídos 15 subgêneros, 11 grupos de espécies e duas outras espécies com descrição deficiente (Young & Duncan, 1994).

Dentre os 15 subgêneros, o *Trichophoromyia* Barretto 1962 inclui numerosas espécies que são amplamente distribuídas na bacia amazônica. Só no Amazonas são registradas 13 espécies desse subgênero: *Lutzomyia auraensis* (Mangabeira, 1942), *L. brachipyga* (Mangabeira, 1942), *L. castanheirai* (Damasceno, Causey & Arouck, 1945), *L. dunhami* (Causey & Damasceno, 1945), *L. eurypyga* (Martins, Falcão & Silva, 1963), *L. gibba* (Young & Arias, 1994), *L. lopesi* (Damasceno, Causey & Arouck, 1945), *L. meirai* (Causey & Damasceno, 1945), *L. melloi* (Causey & Damasceno, 1945), *L. octavioi* (Vargas, 1949), *L. rostrans* (Summers, 1912), *L. ruii* (Arias & Young, 1982) e *L. ubiquitousalis* (Mangabeira, 1942) (Rangel & Lainson, 2003).

A floresta amazônica, devido à sua grande variedade de nichos ecológicos fornece uma alta diversidade de espécies de flebotomíneos, muitos dos quais ainda não descritos ou não há registros de sua ocorrência na Amazônia Brasileira, especialmente nas áreas de fronteira do estado do Amazonas, BR. Do gênero *Lutzomyia*, 5.741 espécimes de flebotomíneos foram capturados na cidade de Tabatinga, Amazonas - BR, área de fronteira com a Colômbia e Peru, sendo registrado pela primeira vez no estado do Amazonas a ocorrência de *Lutzomyia (Trichophoromyia) howardi* Young 1979.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado nos km 4 e 5 da estrada do Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA), Geodesica II, município de Tabatinga (4° 15 '9 "S, 69 ° 56' 17" W), Estado do Amazonas - BR, fronteira com a Colômbia e Peru (Fig. 1), em área de vegetação primária de terra firme, utilizando-se armadilhas luminosas (CDC "miniature" – Center of Disease Control, Hausherr Machine Works, New Jersey, EUA), instaladas durante a noite, a um metro do solo, entre 18:00-07:00 h, em agosto de 2010 e 2011.

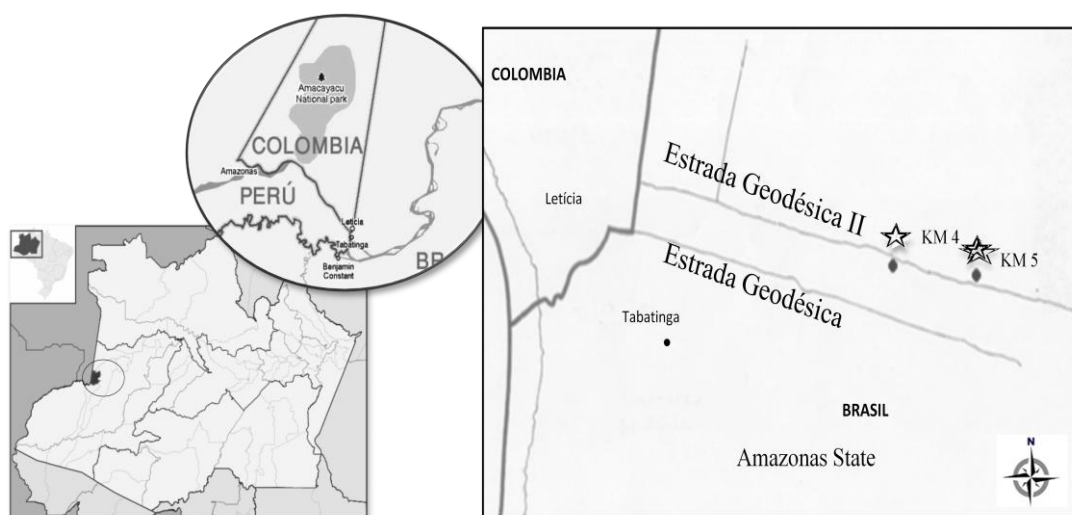


Fig. 1: Áreas de coletas (☆) de *Lutzomyia (Trichophoromyia) howardi* no Estado do Amazonas, Brasil (Tabatinga, AM - área de tríplice fronteira).

Os flebotomíneos também foram coletados por aspiração em base de árvores com CDC modificado. Os insectos foram transferidos para tubos Eppendorf (1,5 ml) contendo 70% de álcool etílico e levados ao laboratório do INPA, onde foi feita identificação. Cada inseto foi processado e dissecado seguindo as técnicas convencionais (Young & Duncan, 1994).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 94 indivíduos de *L. howardi* capturados em Tabatinga, 62,7% (59) eram machos e 37,3% (35) fêmeas. Exemplar macho desta espécie foi descrito por Young em 1979. O autor realizou coletas utilizando armadilhas luminosas do tipo CDC em áreas de floresta no km 17 W, na cidade de Letícia, a 96 m do nível do mar, Departamento (Estado) do Amazonas, na Colômbia.

Em 2000, *L. howardi* foi novamente encontrada por Barreto *et al.*, na Colômbia, no Departamento de Putumayo, na cidade de Puerto Leguízamo, em área de floresta secundária no bairro Salato Grande, sendo desta vez duas fêmeas e um macho. Nesse mesmo ano Cáceres *et al.* registra a espécie no Peru. Somente em 2002 a fêmea foi descrita por Barreto *et al.*, nesta mesma região. Estudo epidemiológico realizado por Wolff *et al.* (2003) para avaliar o risco de infecção por *Leishmania* na comunidade nativa Tikuna, zona de floresta tropical úmida, localizada às margens do rio Pupuña na bacia de Putumayo, no Departamento do Amazonas – Colômbia, foi encontrado um exemplar macho da espécie.

No Brasil a espécie foi registrada pela primeira vez no Estado do Mato Grosso em 2007 por Missawa & Maciel durante pesquisas entomológicas da Fundação Nacional de Saúde e Secretaria Estadual de Saúde. Este é o primeiro relato de *L. howardi* no Estado do Amazonas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barreto, M., M. E. Burbano and P. Barreto, 2000. *Lutzomyia* sand flies (Diptera: Psychodidae) from middle and lower Putumayo department, Colombia, with new records to the country. Mem. Inst. Osw Cruz, Rio de Janeiro, 95: 633-639.
- Barreto, M., Burbano, M.E. and Young, D.G. 2002. Description of *Lutzomyia* (*Trichophoromyia*) *pabloi* n. sp. and the female of *L. howardi* (Diptera: Psychodidae) from Colombia. J. Med. Entomol, 39: 601-604.
- Cáceres, A.G., Galati, E.A.B., Pinto, J., Paredes, R., Rátégui, R., Pérez, J., Cheverría, L., Yáñez, H. and V. Zorrilla. 2000. Psychodidae (Diptera) del Perú I: Phlebotominae en Huánuco, Pasco y Cusco, su relacion con la enfermedad de Carrión y La Leishmaniosis Tegumentaria. Ver. Peru. Biol. 07: 27–43.
- Foratini, O. P., 1973. *Entomologia Médica*. 4^a ed., São Paulo: Edgar Blücher.
- Missawa, N. A. and G. B. M.L. Maciel. 2007. List of species in the genus *Lutzomyia*, França, 1924 (Psychodidae, Phlebotominae) from the State of Mato Grosso. Rev da Soc Bras de Med Trop., 40:11-14.
- Nery, L. C. R., Freitas, R.A. and A.M.R. Franco. 2010. Fauna de flebotomíneos em fragmento florestal urbano no Amazonas. Entomologia na Amazônia Brasileira. Manaus, Editora INPA, 362p.
- Rangel, E. F. and R. Lainson, 2003. Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro, Editora Fiocruz, 368p.

- Rêbelo, J. M. M.; Mendes, W. A.; Costa, J. M. L. and N. Cavaleiro. 1996. Lista preliminar das espécies do gênero *Lutzomyia*, França, 1924 (Psychodidae, Phlebotominae) do Estado do Maranhão, Brasil. Cad. Saúde Pública, 12: 545-549.
- Wolff, M., Sierra, D., Murcia, L.M. and Vélez, B. I.D. 2003. Phlebotominae Fauna (Diptera: Psychodidae) in the Department of Amazonas, Colombia. Neo Entomol, 32: 523-26.
- Young D. G. 1979 - A review of the bloodsucking psychodid flies of Colombia (Diptera, Phlebotominae and Sycoracinae). 266 pp. Agricultural Experiment Stations, Institute of Food and Agricultural Sciences University of Florida, Gainesville (Florida) (United States of America).
- Young, D.G. and M. A. Duncan, 1994. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Florida, Mem of the Am Entomol Ins54, Associated Publishers, 881p.
- Zahraei-Ramazani, A.R.; Yaghoobi-Ershadi, M.R.; Akhavan, A.A.; Abdoli, H.; Jafari, R.; Jalali-Zand, A.R.; Arandian, M.H.; Shareghi, N. and M. Ghanei. 2008. Some Ecological Aspects of Phlebotominae Sand flies (Diptera: Psychodidae) in an Endemic focus of Anthroponotic Cutaneous Leishmaniasis of Iran. J. Entomol, 5: 17-23.

4. DISCUSSÃO GERAL

É provável que mudanças ambientais possam estar associadas a novos riscos para a saúde humana. Os flebotomíneos, dípteros psicodídeos, são insetos que estão envolvidos na transmissão das leishmanioses, e apresentam padrões distintos de riqueza e abundância de espécies, que muito diferem de acordo com a sua distribuição geográfica, sendo algumas destas restritas a ambientes silvestres ou adaptáveis a ambientes antropizados. Na Amazônia o desmatamento e a ocupação desordenada da floresta criam as condições para que os ciclos de transmissão de muitos agentes patogênicos se modifiquem.

A fauna de flebotomíneos encontrada em Tabatinga mostrou-se bastante diversificada com 35 espécies coletadas, ficando dentro do observado para a região Amazônica (Nery *et al.*; Franco *et al.*, 2010). O predomínio de *L. umbratilis* chama atenção por ser a principal espécie transmissora de *L. (V.) guyanensis* ao homem no norte do país (Lainson *et al.*, 1976; Arias *et al.*, 1985; Freitas *et al.*, 2002) e provavelmente em outras regiões da Amazônia (Nery *et al.*, 2010).

Entre os flebotomíneos encontrados na Amazônia e coletados em Tabatinga, *L. davis* [*L. (V.) naiffi*], *L. tuberculata* [*L. (V.) guyanensis*], *L. ayrozai* [*L. (V.) braziliensis* e *L. (V.) naiffi*], *L. furcata* [*L. (L.) deane*], *L. paraensis* [*L. (V.) naiffi*] e *L. amazonensis* [*L. (V.) braziliensis*], embora tenham uma distribuição restrita a áreas silvestres, são encontrados em ambientes domésticos e incriminados como vetores comprovados ou suspeitos na transmissão de leishmanias (Killick-Kendrick, 1990; Braga *et al.*, 2003).

Quanto aos ambientes analisados, o ambiente silvestre mostrou maior riqueza de espécies (35) e abundância de espécimes (5.732). Já no peridomicílio, sete

espécies foram encontradas, destas quatro (*L. umbratilis*, *L. ayrozai*, *L. yuilli* e *L. furcata*), são incriminadas ou suspeitas de transmitirem *Leishmania*, dados confirmados por Arias *et al.* (1985), Barreto *et al.* (2000) e Franco *et al.* (2010).

A forma clássica de o homem adquirir a infecção por *Leishmania* pertencentes aos subgêneros *Leishmania* e *Viannia* depende do contato direto dos indivíduos com o ambiente florestal, uma vez que seus vetores têm os biótopos e as atividades aí localizados. Exceção diz respeito a Uta pela *L. (V.) peruviana*, parasita adaptado ao ambiente extraflorestal. No Estado do Amazonas, onde o agente conhecido tem sido identificado como sendo *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) naiffi* e *L. (V.) amazonensis*, a característica selvática da leishmaniose tegumentar também não deixou qualquer dúvida. Todavia, o conhecimento acerca desta doença está mais localizado as áreas próximas a capital do estado do Amazonas, ocorrendo principalmente em locais onde acontece o desmatamento e invasão da população humana, ou mesmo áreas de assentamentos rurais onde o quadro epidemiológico tem sofrido contínuas alterações.

Em relação ao estudo retrospectivo (2005 a 2011), dos casos de LTA notificados em Tabatinga, foi observada a prevalência da doença em indivíduos do sexo masculino, adultos jovens e agricultores. Este perfil de ocorrência é encontrado no país, onde a LTA atinge predominantemente indivíduos do sexo masculino em idade produtiva. O registro da doença, em geral, está associado a áreas rurais, sobretudo em indivíduos que realizam atividades agrícolas (FUNASA, 2002; Guerra *et al.*, 2011).

A taxa de infecção natural (TIN) encontrada em *L. umbratilis* foi de 7,3%, *L. dendrophyla* de 21,4% e *L. tuberculata* de 5%. Para *L. umbratilis* tem sido registrada taxas que variam de 1,66%, 1,96%, 10,9% até 26,5% (Arias & Freitas, 1978; Freitas

et al., 2002; Pinheiro, 2008; Gomes *et al.*, 2010). Das 44 amostras positivas, somente 10 puderam ser isoladas em cultivo (*L. umbratilis* e *L. dendrophyla*). Na Amazônia há uma maior dificuldade de isolamento do parasito devido à grande contaminação de culturas favorecida pela elevada umidade e temperatura. Outro fator que pode contribuir para o baixo rendimento do crescimento em meio de cultura pode ser a diversidade das espécies e as dificuldades de algumas espécies de protozoários flagelados em se adaptar aos meios de cultura (Silva *et al.*, 2006).

A eletroforese de isoenzimas é considerada padrão ouro para identificar *Leishmania* (Cupollilo, 1994). O resultado da análise bioquímica (eletroforese de isoenzimas em gel de agarose) demonstra similaridade dos perfis isoenzimáticos das amostras, quando comparados com perfis de zimodemas de *Endotrypanum* sp. (Franco *et al.*, 1996). Este por sua vez, é um parasito exclusivamente de preguiças-reais da floresta tropical (Shaw, 1992), portanto, não causa infecção em humanos. Parasitos desse gênero possuem características intermediárias entre as de *Leishmania* e de *Trypanosoma*. Nos flebotomíneos e em cultivo, por exemplo, desenvolvem-se como os parasitos do gênero de *Leishmania*, enquanto que infectando as hemácias de preguiças são morfologicamente semelhantes ao *Trypanosoma* (Franco *et al.*, 1996).

Este é o primeiro levantamento da fauna de flebotomíneos e de vetores de tripanosomatídeos no município de Tabatinga, fornecendo a indicação de um total de 35 espécies coletadas, onde 13 são potenciais transmissores de leishmaniose e/ou de outros protozoários tripanosomatídeos. Este estudo também possibilitou o encontro de duas espécies de flebotomos que ainda não haviam sido encontrados no estado do Amazonas (*L. howardi*) e no Brasil (*L. witoto*). Este estudo também contribuiu para demonstrar a distribuição de casos desta zoonose nos últimos sete

anos no município, verificando-se a discutível redução do número de casos nos últimos anos, devido à subnotificações da doença. Silva-Nunes *et al.* (2008) também relatam que o número de casos de LTA pode ser maior que o notificado, dependendo das características da região estudada, principalmente em áreas rurais.

Considerando que cada área possui particularidades relacionadas ao ambiente, espécies de vetores e parasitos, o presente estudo amplia o conhecimento da distribuição, diversidade e infecção natural por tripanosomatídeos na região do Amazonas.

5. CONCLUSÕES GERAIS

Do exposto, podemos concluir que:

- 1. Quanto à fauna de flebotomíneos do município de Tabatinga, não podemos deixar de mencionar que até o momento, não houve estudo que descrevesse acerca desses insetos nesta região, portanto, este refere-se às primeiras informações sobre a fauna local;
- 2. No estudo retrospectivo de casos de Leishmaniose no município de Tabatinga, a maioria dos pacientes eram do sexo masculino, adultos jovens e exerciam atividades rurais;
- 3. Os dados obtidos evidenciaram uma fauna flebotomínica diversificada e abundante. Assim, das 35 espécies de flebotomíneos coletados na área de estudo, muitas se apresentam antropofílicas (com maior ou menor intensidade). À presença de várias espécies de flebotomíneos já incriminadas ou com potencial para atuarem como vetores de *Leishmania* podem variar em função do número de casos de leishmanioses humanas na localidade.
- 4. A pesquisa da infecção natural dos flebotomíneos capturados em Tabatinga, apontou a infecção natural da espécie *L. umbratilis* e *L. dendrophyla* por *Endotrypanum* sp.
- 5. Duas espécies ainda não encontradas no estado do Amazonas e no Brasil foram coletadas no município de Tabatinga, *L. howardi* e *L. witoto*.

- 6. O predomínio de *Lutzomyia umbratilis* tanto em área silvestre como em peridomicílio, pode indicar a espécie como principal vetor envolvido na transmissão da LTA também nessa região, bem como a presença de várias outras espécies incriminadas na transmissão de leishmaniose em área de peridomicílio serve de alerta para as autoridades da saúde.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Estas informações marcam o início do estudo dos flebotomíneos e da circulação de tripanosomatídeos nessa região. A partir das espécies encontradas, tem-se uma noção da composição da fauna, ampliando o conhecimento acerca da distribuição de espécies que reconhecidamente atuam como vetor das leishmanioses e de outros tripanosomatídeos.

Recomendam-se estudos mais aprofundados que contemplem também o isolamento e caracterização das espécies de *Leishmania* presentes em amostras de pacientes de casos autóctones e de vetores, visando incriminar definitivamente a espécie responsável pela LTA e por sua transmissão neste município.

Recomenda-se à Secretaria Municipal de Saúde (SEMSA) investir em atividades educativas junto à população ali residente; orientar os agentes de endemias e agentes comunitários de saúde para informar sobre os horários de atividades do vetor, bem como para a construção dos abrigos dos animais distantes do domicílio.

Espera-se assim obter resultados cada vez mais conclusivos sobre a dinâmica da LTA nessa região.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arias, J.R.; Freitas, R.A. 1977. Flebótomíneos da Amazônia Central do Brasil. I- Resultados obtidos das capturas feitas com iscas humana e eqüina (Diptera: Psychodidae). *Acta Amazônica*, 7(4): 507-27.
- Arias, J.R.; Miles, M.A.; Naiff, R.D.; Popova, M.M.; Freitas, R.A.; Biancardi, C.B.; Castellon, E.G. 1985. Flagellates infections of Brazilian sandflies (Diptera: Psychodidae): Isolation in vitro and biochemical identification of *Endotrypanum* e *Leishmania*. *American Journal of Tropical Medicine Hygiene*, 34:1098 -1108.
- Braga, R.R.; Lainson, R.; Ishikawa, E.A.; Shaw, J.J. 2003. *Leishmania* (*Viannia*) *utingensis* n. sp, a parasite from the sandfly *Lutzomyia* (*Viannomyia*) *tuberculata* in Amazonian Brazil. *Parasitology*, 10: 111-118.
- Brasil. Ministério da Saúde do Brasil. 2006. *Secretaria Executiva Sistema Integrado de Saúde das Fronteiras*. Relatório de Acompanhamento do Projeto.
- Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde – FUNASA. 2000. *Manual de Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana*, 5 ed. Brasília. p. 150.
- Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde – FUNASA. 2010. *Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana*. 2 ed. Atualizada. Brasília.

Camargo, L.M.A.; Barcinski, M.A. 2003. Leishmanioses, feridas bravas e kalazar. *Ciênc Cult* 55: 34-37.

Coimbra Jr., C.E.; Santos, R.V. 1994. Epidemiologic profile of Amazonian Amerindians from Brazil, with Special emphasis on the Xavante from Mato Grosso and on Groups from Rondônia. A report to the World Bank. ENSP, Fiocruz, RJ.

Cupolillo, E., et al. 1994. A general classification of New World *Leishmania* using numerical zymotaxonomy. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 50, p. 296-301.

Desjeux, P. 2004. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 27: 305-18.

Dourado, M.I.C. *et al.* 1989. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana e suas relações com a lavoura e o garimpo, em localidade do estado da Bahia (Brasil). *Revista de Saúde Pública*, S. Paulo, 23(1): 2-8.

França, E.R. 1999. *Dermatologia*. 1ª ed. Recife: Janssen-Cilag, p. 135-143.

Franco, A. M. R.; Pereira, M. A. S.; Freitas, R. A. 2010. Diversidade da fauna de flebotomíneos em área de assentamento no município de Rio Preto da Eva, Estado do Amazonas. In: In: Castellon, E.G.B.; Ronchi-Teles, B.; Ale-Rocha, R.

Org. (Org.). *Entomologia na Amazônia Brasileira*. Manaus: Editora INPA, v. 01, p. 183-205.

Franco, A.M.R.; Momen, H.; Naiff, R.D.; Moreira, C.F.S; Deane, M.P.; Grimaldi, JR. G. 1996. Enzyme polymorphism in *Endotrypanum* and numerical analysis of isoenzyme data. *Parasitology* 113: 39-48.

Freitas, R.A.; Naiff, R.D.; Barret, T.V. 2002. Species Diversity and Flagellate Infections in the Sand Fly Fauna near Porto Grande, State of Amapá, Brazil (Diptera: Psychodidae: Kinetoplastida: Trypanosomatidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97: 53-59.

Fundação de Vigilância em Saúde (FVS). *Leishmaniose Tegumentar Americana*. Informe Técnico, 2007.

Fundação Nacional de Saúde (Brasil). *Textos de Epidemiologia para vigilância ambiental em saúde/coordenação*. Brasília, 2002.

Gadelha, C.A.G.; Costa, L. 2005. A política nacional de integração e desenvolvimento das fronteiras: o programa de desenvolvimento da faixa de fronteira – *PDFF*. In Oliveira, T.C.M. de (org.). *Território sem limites. Estudos sobre fronteiras*. Campo Grande, MS: UFMS. p. 25-46.

Grimaldi, Jr. G.; Tesh, R.B.; McMahon-Pratt, D. 1989. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the New world. *Am J Trop Med Hyg* 41: 687-725.

Guimarães, V. C. F. V. 2011. Avaliação da infecção natural de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) por *Leishmania* spp. no Município de São Vicente Férrer, Pernambuco. Dissertação de Mestrado, Fundação Oswaldo Cruz Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Pernambuco, Recife. 79 pp.

Gomes, L.H. M.; Pinheiro, F.G.; Franco, A.M.R. 2010. Infecção e sazonalidade de vetores de Leishmaniose em área de treinamento militar no Amazonas. In: In: Castellon, E.G.B.; Ronchi-Teles, B.; Ale-Rocha, R. Org. (Org.). *Entomologia na Amazônia Brasileira*. Manaus: Editora INPA, v. 01, p. 207-219.

Guerra, J.A.O.; Talhari, S.; Paes, M.G.; Garrido, M.; Talhari, J.M. 2003. Aspectos clínicos e diagnósticos da leishmaniose tegumentar americana em militares simultaneamente expostos à infecção na Amazônia. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36(5): 587-590.

Guerra, J. A. O.; Ribeiro, J. A. S.; Coelho, L. I. A. R. C.; Barbosa, M. G. V.; Paes, G. P. 2006. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar na comunidade São João, Manaus, Amazonas, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública* 22: (11) 2319-27.

Guerra, J.A.O.; Prestes, S.R.; Silveira, H.; Coelho, L.I.D.A.R.C.; Gama, P.; Moura, A.; Amato, V.; Barbosa, M.G.V.; Ferreira, L.C.L. 2011. Mucosal Leishmaniasis Caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Viannia)*

- guyanensis* in the Brazilian Amazon. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5: e980.
- Killick-Kendrick, R.1990. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Medicine Veterinary Entomology*. 4:1-24.
- Lainson, R. 1983. The American Leishmaniasis. Some observations on their ecology and epidemiology. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 77(5): 569-596.
- Lainson, R.; Shaw, J.J. 1989. *Leishmania (Viannia) naiffi* sp. n., a parasite of the armadillo, *Dasypus novemcinctus* (L.) in Amazonian Brazil. *Ann Parasitol Human Comp* 61: 3-9.
- Lainson, R.Ward, R.D.; Shaw, J.J.1976. Cutaneous leishmaniasis in north Brazil: *Lutzomyia anduzei* as a major vector. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 70:171-172.
- Machado, L.O. 1987. A Amazônia brasileira como exemplo de uma combinação geoestratégica e cronoestratégica. *Tubbinger Geographische Studien*, 95: 189-204.
- Marzochi, K.B.F.1994. Dengue in Brazil- situation, transmission and control – A proposal for ecological control. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 89: 235-245.

Naiff, M.F. Estudo demográfico da Leishmaniose Tegumentar na Amazônia e mapeamento geográfico dos agentes etiológicos na região. 1998. 71 f. Dissertação (Mestrado) Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

Naiff Jr., R. D.; Pinheiro, F. G. ; Naiff, M. F. F.; Souza, I. S.; Castro, L. M.; Menezes, M. P.; Franco, A. M. R. 2009. Estudo de uma série de casos de Leishmaniose Tegumentar Americana o município de Rio Preto da Eva, Amazonas, Brasil. *Revista de Patologia Tropical*, v. 38, n.2, p.103-114.

Nery, L. C. R.; Freitas, R. A. ; Franco, A. M. R. 2010. Fauna de flebotomíneos em fragmento florestal urbano no Amazonas. In: Castellón, E.G.B.; Ronchi-Teles, B.; Ale Rocha, R. (Org.). *Entomologia na Amazônia Brasileira*. Manaus: Editora INPA, v. 01, p. 247-261.

Nogueira, L. S. C.; Sampaio, R. N. R. 2001. Estudo hospitalar da leishmaniose tegumentar americana (LTA): epidemiologia e tratamento. Investigação Clínica, Laboratorial e Terapêutica. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, Rio de Janeiro, v. 76, n. 1, pag. 51-62.

Oliveira, M. M. 2006. A mobilidade humana na tríplice fronteira: Peru, Brasil e Colômbia. *Estudos Avançados*. vol.20, n.57, pp. 183-196.

Organización Mundial de la Salud. *Lucha contra las leishmaniasis*. Ginebra; 1990.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Leishmaniasis: disease information.

Disponível em: <<http://www.who.int/leishmaniasis/resources/en/>>. Acesso em: 8 janeiro 2011.

Peiter, P. C. 2005. *A Geografia da Saúde na Faixa de Fronteira Internacional do Brasil na Passagem do Milênio*. Tese de doutorado, Rio de Janeiro, Instituto de Geociências, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ. 132p.

Peiter, P.C. 2007. Condiciones de vida, situación de La salud y disponibilidad de servicios de salud en La frontera de Brasil: un enfoque geográfico. *Cuaderno de Salud Publica*, v.23, n.2, p.237-50.

Pessoa, S.B.; Barretto, M.P. 1948. *Leishmaniose tegumentar americana*. Rio de Janeiro, Ministério da Educação e Saúde.

Pinheiro, F.G.; Luz, S.L.B.; Franco, A.M.R. 2008. Infecção natural por tripanosomatídeos (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) em *Lutzomyia umbratilis* (Diptera: Psychodidae) em áreas de leishmaniose tegumentar americana no Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*, 38: 165-172.

Reis, S. R. ; Franco, A. M. R. 2010. A Leishmaniose Tegumentar Americana no Estado do Amazonas, Brasil: Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose Canina. *Revista CFMV (Brasília)*, v. 50, p. 35-39.

Revista Veja. 2008. O triângulo do pó. Edição 2077 de 10 de setembro de 2008, p. 58-59 (http://veja.abril.com.br/100908/p_058.shtml). Acesso em 23/06/2011.

Sampaio, S.; Rivitti, E. 2001. Dermatologia. 2.ed.São Paulo: Artes Médicas.

SEMSA-TBT. Secretaria Municipal de Saúde de Tabatinga. 2011. Informe Técnico. Vigilância Epidemiológica. Casos de Leishmaniose Tegumentar no município.

SESSP. Secretaria de Saúde de São Paulo. Informe Técnico Institucional. 2004. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana no município de Ubatuba, litoral de São Paulo, Brasil, 1993-2003. *Revista de Saúde Pública*, v. 38, n. 2, p.331-2.

Sistema de Informação de Agravos e Notificações (SINAN). Informe técnico, 2011.

Veronesi, R. Foccacia, R. 2002. Tratado de Infectologia. 2ed. Ed Atheneu, Rio de Janeiro, p.1496-1497.

World Health Organization. The Leishmaniasis. Geneva, 1990. (Technical Report Series, 701).