

Diversidade de flebotomíneos no Município de Ilhéus, Bahia

Diversity of Phlebotomine Sand Flies in Ilheus, State of Bahia, Brazil

Sílvia Maria Santos Carvalho

Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus-BA, Brasil

Paulo Raimundo Barbosa dos Santos

Núcleo de Entomologia da 6^a Dires, Secretaria de Estado da Saúde, Ilhéus-BA, Brasil

Henrique Lanza

Curso de Enfermagem, Faculdade de Ilhéus, Ilhéus-BA, Brasil

Sinval Pinto Brandão-Filho

Laboratório de Imunoparasitologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Unidade Fiocruz, Recife-PE, Brasil

Resumo

Objetivo: esse estudo visou identificar espécies de flebotomíneos em áreas rural e urbana de Ilhéus-BA, com registros humanos de leishmaniose tegumentar americana, e a possibilidade de infecção natural desses insetos e hamsters sentinelas. **Metodologia:** capturou-se com armadilhas luminosas tipo CDC e capturador tipo Castro, 4.476 flebotomíneos entre julho de 2007 e março de 2009, com 3.384 exemplares identificados morfologicamente, e os demais dissecados; hamsters foram expostos à picada dos insetos e avaliados quanto a suscetibilidade à infecção. **Resultados:** a identificação de espécies mostra a diversidade da fauna. Das 14 encontradas em área rural, as mais abundantes foram *Lutzomyia fischeri* (45,2%), *Lutzomyia whitmani* (41,1%) e *Lutzomyia choti* (9,84%); na urbana, foram nove exemplares distribuídos entre quatro espécies. A dissecção das fêmeas não demonstrou infecção natural, e nenhum dos 42 hamsters revelou leishmanias em meio de cultivo. **Conclusão:** os dados indicam manutenção de ciclo zoonótico de transmissão apenas em área rural.

Palavras-chave: flebotomíneos; leishmaniose tegumentar americana; *Leishmania*.

Summary

Objective: this study aimed to identify species of phlebotomine in the rural and urban areas in Ilheus, State of Bahia, Brazil, cases of American Tegumentary Leishmaniasis in humans, and the possibility of natural infection of sentinel hamsters by those insects. **Methodology:** between July, 2007 and March, 2009, 4,476 phlebotomine were captured with CDC-type light traps and Castro aspirators. 3,384 were morphologically identified, and the others were dissected; hamsters were exposed to insects bite and evaluated according to susceptibility to infection. **Results:** the identification of species shows the diversity of the fauna. From the 14 species found in the rural area, the most prevalent were *Lutzomyia fischeri* (45.2%), *Lutzomyia whitmani* (41.1%) and *Lutzomyia choti* (9.84%); in the urban area nine specimens from four species were found. The dissection of females did not show natural infection and none of the 42 hamsters developed leishmania in culture environment. **Conclusion:** rural data associated with human notification show evidence of the maintenance of the zoonotic transmission cycle.

Key words: sandflies; american tegumentary leishmaniasis; *Leishmania*.

Endereço para correspondência:

Universidade Estadual de Santa Cruz, Departamento de Ciências Biológicas. Rodovia Ilhéus/Itabuna, Km 16, Ilhéus-BA, Brasil.

CEP: 45662-000

E-mail: sissa@uesc.br

Introdução

A ocorrência da leishmaniose visceral americana e da leishmaniose tegumentar americana, zoonoses importantes no Brasil e nas Américas, acompanha a distribuição do inseto vetor, pertencente a subfamília Phlebotominae. Nas Américas, as espécies implicadas pertencem ao gênero *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae), que são insetos holometábolos, com fêmeas que realizam a hematofagia em hospedeiros vertebrados, havendo espécies mais “ecléticas” do que outras, no que concerne às preferências alimentares. A transmissão da enfermidade se dá através da picada desses insetos, capazes de infectar os hospedeiros com parasitos do gênero *Leishmania*.¹

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) está entre as seis doenças infecto-parasitárias mais importantes nas Américas.² Possui ampla distribuição, estendendo-se desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina; excetuando-se o Uruguai e o Chile. No Brasil, já está registrada em todos os estados, com importantes focos no Nordeste, onde a Bahia contribui com expressivo número de casos anualmente.³

A região sul do Estado da Bahia, conhecida desde o início do século XIX pela exploração da cultura do cacau, constitui área endêmica para a LTA.³ O Município de Ilhéus-BA, em particular, figura como importante espaço geográfico em número de notificações, que garantem a endemicidade nessa região. A identificação da espécie de *Leishmania* responsável pela manutenção do ciclo biológico no município ainda é razão para desenvolvimento de estudos. Esse trabalho objetivou investigar a infecção natural em espécies de fêmeas flebotomíneas e a caracterização da fauna em áreas urbana e rural, além da suscetibilidade de hamsters, submetidos à infecção natural nas estações de coleta.

Metodologia

O município de Ilhéus ($14^{\circ} 50'$ latitude sul e $39^{\circ} 06'$ longitude oeste) está situado no litoral sul da Bahia, a 462km de Salvador, capital do estado. Apresenta uma extensão de 1.841km^2 , em área com remanescentes de Mata Atlântica, clima quente e úmido, alta pluviosidade anual, temperatura média de 28°C e uma população estimada em 220.144 habitantes.⁴

Para a realização das atividades deste estudo, as localidades de Santo Antônio (rural) e Teotônio Vilela (urbano), distantes cerca de 20km e 4km do centro da cidade, respectivamente, foram escolhidas. Essa escolha levou em consideração a notificação de casos humanos e a extensa cobertura vegetal. O bairro urbano está assim designado por se caracterizar pela edificação contínua e a existência de equipamentos sociais destinados às funções urbanas básicas, como habitação, trabalho, recreação e circulação; a área rural, no entanto, remete a não urbanização, ou seja, destinado à limitação do crescimento urbano – neste caso, utilizado em atividades agropecuárias e extrativistas.

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) está entre as seis doenças infecto-parasitárias mais importantes nas Américas.

As coletas foram realizadas durante o período de julho de 2007 a março de 2009, uma semana por mês, em noites de lua cheia, dois dias dedicados a cada área. Os insetos foram coletados no intra, peri e extradomicílio, com três armadilhas luminosas do tipo CDC em cada ambiente, instaladas a 1,5m de altura do solo, às 18:00h e retiradas às 06:00h do dia seguinte. Também foram utilizados quatro capturadores manuais tipo tubo de Castro, na tentativa de coletar um número maior de fêmeas para o procedimento de dissecção.

Os flebotomíneos foram transportados para o laboratório do Núcleo de Entomologia da 6^a Dires, Ilhéus-BA, acondicionados em caixa de poliestireno (isopor), dentro de gaiola de náilon acondicionada em saco plástico, contendo um chumaço de algodão embebido em água, para manter a baixa temperatura e a umidade. Os exemplares foram devidamente armazenados em álcool 70%, clarificados em KOH e montados em Berlese para identificação através da sistemática de Young & Duncan.¹

A dissecção das fêmeas foi baseada na técnica utilizada por Arias & Freitas;⁵ onde foram coletadas com o capturador de Castro, mantidas vivas até a chegada em laboratório, separadas em grupos de dez e, cada grupo, anestesiado quando exposto por cerca de cinco minutos à refrigeração a -20°C ; em seguida, eram “lavadas” em solução fisiológica e preparadas para dissecção.

Um hamster sentinela, em gaiola do tipo ratoeira, estrategicamente instalada às 18:00h e retirada às 06:00h do dia seguinte, em noites de lua cheia, a 1,5m de altura do solo em locais de maior captura de flebotomíneos, foi estrategicamente exposto à infecção natural por meio da picada desses insetos. Os hamsters foram acompanhados por até cinco meses, avaliados quanto a alterações do estado fisiológico, observados quanto a possíveis lesões pelo corpo e, em seguida, eutanasiados em câmara de CO₂. Amostras de baço foram inoculadas em meio de cultivo Agar Sangue Base para isolamento de *Leishmania*, como descrito por Walton e colaboradores⁶ e acompanhadas durante um mês para observação de crescimento dos promastigotas. Em adicional, foi realizado o exame parasitológico através da análise de *imprint* de baço e esfregaço de material hepático.

Considerações éticas

Para as capturas domiciliares, as pessoas responsáveis pelas residências, maiores de idade, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Esse estudo foi desenvolvido segundo as normas que regulamentam pesquisas com seres humanos, aprovado pelo Comitê de Ética do Instituto de Pesquisas Aggeu Magalhães, unidade Fiocruz-PE, conduzida dentro dos padrões exigidos pela Declaração de Helsinque. Da mesma forma, por fazer parte do programa nº P.0174-03 e estar de acordo com os princípios éticos

na experimentação animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Cobea), teve a permissão da CEUA – Fiocruz-PE.

Resultados

Foram capturados e identificados nas áreas rural e urbana 3.384 exemplares de insetos flebotomíneos pertencentes às diferentes 16 espécies, no período compreendido entre julho de 2007 a março de 2009. A área urbana da cidade registrou o achado de nove exemplares entre quatro espécies, nenhuma das quais presentes no intradomicílio; a saber: *L. fischeri* (um macho no extradomicílio), *L. longispina* (um macho no extradomicílio), *L. cortelezzii* (duas fêmeas no peridomicílio e uma fêmea e dois machos no extradomicílio), e *L. viannamartinsi* (uma fêmea e um macho no extradomicílio). Os demais exemplares presentes na área rural se distribuíram entre 14 espécies identificadas (Tabela 1). Adicionalmente, 1.092 fêmeas foram capturadas e dissecadas, mas nenhuma apresentou positividade para parasitas do gênero *Leishmania*. Face ao reduzido número de exemplares capturados na área urbana da cidade, não houve dissecção de fêmeas dessa área.

Nenhum dos 42 hamsters sentinelas apresentou alterações fisiológicas ou parasitas originários de fragmentos de baços mantidos em meio de cultivo.

**Tabela 1 - Exemplares de flebotomíneos coletados na área rural do município de Ilhéus-BA.
Brasil, julho de 2007 a março de 2009**

Espécie	Intradomicílio		Peridomicílio		Extradomicílio		Total
	Macho	Fêmea	Macho	fêmea	Macho	Fêmea	
<i>Lutzomyia fischeri</i>	43	19	492	438	207	326	1.525
<i>Lutzomyia whitmani</i>	6	0	247	337	341	456	1.387
<i>Lutzomyia choti</i>	19	28	104	76	44	61	332
<i>Lutzomyia migonei</i>	0	0	0	0	35	28	63
<i>Lutzomyia shannoni</i>	0	0	0	0	0	2	2
<i>Lutzomyia lanei</i>	0	0	0	0	1	0	1
<i>Lutzomyia barretoi</i>	0	0	0	0	1	5	6
<i>Lutzomyia lutziana</i>	0	0	0	0	2	7	9
<i>Lutzomyia edwardsi</i>	0	0	0	0	0	1	1
<i>Lutzomyia longispina</i>	0	0	0	0	8	7	15
<i>Lutzomyia davisi</i>	0	0	0	0	27	0	27
<i>Lutzomyia pessoai</i>	0	0	0	0	1	0	1
<i>Lutzomyia oswaldoi</i>	0	0	0	0	2	0	2
<i>Lutzomyia salesi</i>	0	0	0	0	3	1	4
TOTAL	68	47	843	851	672	894	3.375

O *imprint* realizado com amostras dos baços e o esfregaço a partir do material hepático de hamsters foram negativos para parasitos do gênero *Leishmania*.

Discussão

O Município de Ilhéus, considerado endêmico para ITA, registrou um total de 588 notificações de casos humanos entre os anos 2000 e 2008. O município apresenta características interessantes em relação à fauna de flebotomíneos. Há uma variedade importante de espécies na área rural da cidade, que podem estar associadas a casos humanos notificados, característico de um ciclo zoonótico de transmissão. No entanto, na zona urbana da cidade, o achado de espécies cujas capacidades vetoriais não são comprovadas, aliado à baixa densidade desses exemplares, reforça a impressão de que não há um ciclo de transmissão estabelecido nesse ambiente.⁷

Em geral, as espécies implicadas na transmissão são aquelas que têm a maior densidade populacional na área endêmica em estudo.⁸ Na área rural, 86,3% das capturas representaram as espécies *Lu. fischeri* (45,2%) e *Lu. whitmani* (41,1%) como predominantes. Neste sentido, apresentam evidências indiretas de que sejam as responsáveis pela transmissão nesse ambiente. Em estudo realizado na localidade de Três Braços, Bahia, ficou constatada a alta prevalência da *L. whitmani*, estando comprovadamente relacionada com a transmissão de *Leishmania (Viannia) braziliensis*.⁹ Em se tratando da *L. fischeri*, apesar de ainda não ter sido encontrada infectada naturalmente, sua relação com o habitat humano associado à alta antropofilia, leva-nos, também, a apontá-la como possível vetor secundário da ITA.¹⁰

L. choti já foi notificada como único flebotomíneo presente na área urbana do município de Una, Bahia, onde casos de leishmaniose tegumentar são registrados.¹¹ Em pesquisa realizada em unidade de treinamento militar na Zona da Mata do estado de Pernambuco, suspeita-se de sua participação no ciclo de transmissão, em face da predominância em relação às demais espécies encontradas.¹² Entretanto, não há registros da incriminação dessa espécie como vetor da ITA. Em algumas situações, mesmo em baixa densidade, acredita-se que o ciclo de transmissão seja garantido levando em consideração o potencial vetorial da espécie e o conhecido envolvimento na transmissão

da doença, fato constatado no município de Bonito, MS, envolvendo a *L. whitmani*.¹³

A densidade de distribuição dos flebótomos é fortemente afetada por fatores climáticos, alterações do microambiente – que determina os criadouros – disponibilidade de sangue para o repasto das fêmeas, competição com outras espécies e vários outros fatores direta ou indiretamente ligados às alterações antrópicas do ambiente.¹⁴ A ocupação do espaço pelo homem tende a determinar uma pressão ecológica de modo especialmente agudo, levando à distribuição de populações de *L. whitmani*, em geral em plantações e em abrigos de animais no perídomicílio, do que em ambientes silvestres.^{1,15} Essa evidência pode ser constatada quando observada a distribuição dos exemplares no peri e extradomicílio (Tabela 1), modificados pelo homem, na tentativa de manutenção da sua cultura de subsistência.

Nas análises realizadas até o presente, nenhum flebotomíneo dissecado apresentou infecção natural. O encontro de fêmeas naturalmente infectadas não é comum,¹⁶ mas isso não exclui a possibilidade de haver exemplares infectados em seus *habitats*. Em estudo realizado no estado do Paraná, apenas um exemplar de *L. whitmani* estava infectado, entre as 2.487 fêmeas dissecadas. Apesar de também fazerem uso do PCR na pesquisa do DNA do parasita, nenhum pool desses insetos mostrou positividade.¹⁷ Ao contrário, conforme mencionado na região do município de Três Braços, Zona da Mata da Bahia, onde também se situa o município de Ilhéus, um exemplar de *L. whitmani* foi encontrado naturalmente infectado e categoricamente incriminado como vetor de *Leishmania (Viannia) braziliensis*, única espécie associada à ITA nesta região, mas apresentando formas clínicas múltiplas, nas quais se verifica a leishmaniose cutânea localizada e a disseminada, mas também a forma de espundia ou leishmaniose mucosa, a mais grave da ITA.⁹

Em pesquisa realizada em Imbu, município de Vicência-PE, também não houve êxito no isolamento de parasitas nas 306 amostras analisadas.¹⁸ Da mesma forma, pesquisadores que desenvolveram um estudo em três municípios do estado do Paraná, não demonstraram sucesso quando inocularam flagelados do trato gastrointestinal de *L. whitmani*, pois o hamster não desenvolveu lesão durante o seu acompanhamento, nem mesmo houve desenvolvimento de *Leishmania* em meio de cultivo com gânglios

poplíticos e baço do animal. Porém, na utilização de sentinelas em trabalho realizado no município de Bela Vista-MS, pôde-se encontrar dois dos 36 hamsters com lesões sugestivas de LT, constatando a infecção por *L. amazonensis*.¹⁹

Os estudos sobre a ecoepidemiologia da LTa em Ilhéus terão continuidade, sobretudo para identificar a espécie de *Leishmania* envolvida, tentando constatar se *Leishmania (Viannia) braziliensis* prevalece neste município, e ampliar os estudos sobre a fauna de flebotomíneos, verificando as preferências alimentares das espécies e a infecção natural para a incriminação da(s) espécie(s) envolvida(s) no ciclo zoonótico.

Esperamos também que os resultados preliminares deste estudo possam contribuir para a melhoria da vigilância epidemiológica sobre a LTa neste importante município da Bahia, auxiliando o serviço de saúde municipal e o programa de controle de leishmanioses do Ministério da Saúde.

Agradecimentos

Aos colegas de trabalho do Núcleo de Entomologia da 6^a Dires Sebastião de Souza, Reinaldo Silva, Adevergistro Pereira e Missias da Hora Leite, pela incansável dedicação nos trabalhos em campo.

Referências

- Young DG, Duncan MA. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Memoirs of the American Entomological Institute 1994;54:1-881.
- Lemos JC, Lima SC, Costa MB, Magalhães MJ. Leishmaniose tegumentar americana: fauna flebotomínica em áreas de transmissão no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. Revista on-line Caminhos de Geografia. 2001;2(3):57-73.
- Follador I, Araújo C, Cardoso MA, Tavares-Neto J, Barral A, Miranda JC, et al. Surto de leishmaniose tegumentar americana em Canoa, Santo Amaro, Bahia, Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 1999;497-503.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades. [Acessado durante ano de 2009, para informações de 2000 a 2007]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>.
- Arias JR, Freitas RA. Sobre os vetores da leishmaniose cutânea na Amazônia Central do Brasil. 2. Incidência de flagelados em flebotomos silváticos. Acta Amazônica 1978;8:387-396.
- Walton BC, Shaw JJ, Lainson R. Observations on the in vitro cultivation of *Leishmania braziliensis*. Journal of Parasitology 1977;63(6):1118-1119.
- Carvalho SMS, Guimarães EM, Souza YB, Braga VBF, Vianna LC, Santos PRB, et al. Primeiro relato de *Lutzomyia cortelezzii* (Brètes, 1923) na cidade de Ilhéus, BA. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 2005;38(5):442-443.
- Martinez-Ortega E. Biología de los flebotomos ibericos (Diptera, Psychodidae) em condiciones naturales. Annales Istituto Superiore di Sanità 1986;22(1):73-8.
- Hoch A, Ryan L, Vexenat JA, Rosa AC, Barreto AC. Isolation of *Leishmania braziliensis braziliensis* and other trypanosomatids from Phlebotomine in a mucocutaneous leishmaniasis endemic area, Bahia, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 1986;81Suppl.I:S62.
- Superintendência de Controle de Endemias. Encontro de *Lutzomyia edwardsi* infectada na região da Grande de São Paulo. Revista de Saúde Pública 2005;39(1):137-138.
- Carvalho SMS, D'Afonseca RS, Santos TF, Casteliano GA, Lanza H, Souza YB, et al. Registro da fauna flebotomínea em área de transmissão de leishmaniose tegumentar americana no município de Una, BA. Revista Laes Haes 2009;177:67-69.
- Brandão-Filho SP, Brito MEF, Martins CA, Pereira SIB, Valença HF, Almeida FA, et al. Leishmaniose tegumentar americana em centro de treinamento militar localizado na Zona da Mata de Pernambuco, Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 1998;31(6):575-78.
- Nunes VLB, Galati EAB, Cardozo C, Rocca MEG, Andrade ARO, Santos, MFC, et al. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em área

- urbana do município de Bonito, Mato Grosso do Sul, Brasil. Revista Brasileira de Entomologia 2008;52(3):446-451.
14. Ferro C, Pardo R, Torres M, Morrison AC. Larval microhabitats of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. Journal Medical Entomology 1997;34(6):719-28.
15. Marzochi MA, Marzochi KBF, Schubach AO. Leishmaniose visceral americana. In: Cimerman B, Cimerman S. editor. Parasitologia humana e seus fundamentos gerais. São Paulo: Atheneu;1999. p. 39-64.
16. Silva AC, Gomes AC. Estudo da competência vetorial de *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) para *Leishmania (Viannia) braziliensis*, Vianna, 1911. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 2001;34(2):187-91.
17. Neitzke HC, Scodro RBL, Castro KRR, Sversutti, ACD, Silveira TGV, Teodoro U. Pesquisa de infecção natural de flebotomíneos por *Leishmania*, no Estado do Paraná. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 2008;41(1):17-22.
18. Araújo AIF, Marinho-Júnior JE, Guimarães VCFV, Brito MEF, Brandão-Filho SP. Detecção de infecção natural por *Leishmania* spp em roedores silvestres capturados em área endêmica de Pernambuco, Brasil. [Acessado 16 Fev. 2010]. Disponível em: <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0143-1.pdf>
19. Dorval MEMC. Estudos epidemiológicos em área de leishmaniose tegumentar no município de Bela Vista, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. [Tese de Doutorado]. Brasília (DF): Repositório Institucional da Universidade de Brasília; 2006.

Recebido em 07/10/2009
Aprovado em 16/04/2010