

Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) no Município de Três Lagoas, área de transmissão intensa de leishmaniose visceral, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil

Survey of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Três Lagoas Municipality, Mato Grosso do Sul State, Brazil, an area of intense transmission of American visceral leishmaniasis

Flebótomos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) en el Municipio de Três Lagoas, área de transmisión intensa de leishmaniasis visceral, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil

Gloria Maria Gelle de Oliveira

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Três Lagoas, Mato Grosso do Sul, Brasil

Ernesto Antonio Figueiró Filho

Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil

Geórgia Medeiros de Castro Andrade

Secretaria Municipal de Saúde de Três Lagoas, Três Lagoas, Mato Grosso do Sul, Brasil

Laura Abrahão de Araújo

Secretaria Municipal de Saúde de Três Lagoas, Três Lagoas, Mato Grosso do Sul, Brasil

Myrna Lícia Gelle de Oliveira

Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil

Rivaldo Venâncio da Cunha

Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil

Instituto Cerrado-Pantanal, Fundação Oswaldo Cruz, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil

RESUMO

O estudo objetivou identificar a fauna flebotomínica urbana e rural; determinar sua distribuição espaço-temporal; investigar a infecção natural por *Leishmania* dos flebótomos fêmeas; verificar o impacto da aplicação de inseticidas sobre a população vetorial; correlacionar dados entomológicos, epidemiológicos e biogeográficos para compreensão das condições favoráveis à ocorrência da doença; e fornecer informações para o controle da leishmaniose nessa área. As coletas foram efetuadas um dia por mês, entre agosto de 2000 e dezembro de 2006, com armadilhas do tipo CDC. Foram capturados 4.277 espécimes, pertencentes a 14 espécies de flebotomíneos (76,61% no peridomicílio), sendo 3.071 machos e 1.206 fêmeas. *Lutzomyia longipalpis*, a espécie mais frequente (87,02%), teve índice de constância padronizado igual a 1,0. Os padrões temporo-espaciais de distribuição dessa espécie ratificaram seu importante papel na transmissão da leishmaniose visceral americana. Infecção por flagelados sugestivos de *Leishmania* spp. foi encontrada em 1,18% das fêmeas dissecadas de *Lu. longipalpis*. Análises estatísticas mostraram correlação significativa ($p < 0,05$) entre o número de vetores, precipitação e umidade. O teste de regressão linear demonstrou associação significativa entre o número de *Lu. longipalpis* capturados e os casos de leishmaniose visceral americana humana e canina ($p < 0,001$). A população de vetores foi reduzida em 2002, com a aplicação de inseticidas, mas elevou-se nos anos subsequentes, devido à irregularidade das borrifacções. Estratégias que poderão ser utilizadas no controle da doença nessa área são sugeridas na conclusão.

Palavras-chave: Entomologia; Psychodidae; Insetos Vetores; *Leishmania*; Leishmaniose; Vigilância Epidemiológica.

INTRODUÇÃO

Os flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) são considerados importantes para a saúde pública em todo o mundo, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais. As espécies do gênero *Phlebotomus* encontradas no Velho Mundo, e as do gênero *Lutzomyia*,

nas Américas, são consideradas vetores de inúmeros patógenos de vertebrados, inclusive *Leishmania* spp. zoonótica ou antroponozoonótica, a qual afeta as populações de aproximadamente 90 países, sendo considerada uma das seis doenças tropicais mais importantes em todo o mundo¹. Diversos estudos têm incriminado os flebotomíneos como hospedeiros e transmissores de inúmeros outros micro-organismos^{2,3,4,5}. Cabe lembrar que a picada destes insetos pode causar irritação considerável e reações alérgicas em pessoas sensíveis⁶.

Nas Américas, a leishmaniose visceral, forma mais grave da doença e que pode ser fatal se não tratada adequadamente, é endêmica em vários países e denominada leishmaniose visceral americana (LVA). O agente etiológico é *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi*

Correspondência / Correspondence / Correspondencia:

Gloria Maria Gelle de Oliveira

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Departamento de Enfermagem e Biotecnologia, Campus de Três Lagoas

Av. Ranulpho Marques Leal, 3884. Distrito Industrial

CEP: 79620-080 Três Lagoas-Mato Grosso do Sul-Brasil

Tel.: + 55 (67) 3509-3747

E-mail: gloriagelle@gmail.com / gmgol@cptl.ufms.br

(Cunha & Chagas, 1937), seus hospedeiros naturais são canídeos silvestres (raposas) e, possivelmente, roedores e marsupiais; nos ambientes domiciliares e peridomiciliares das áreas urbanas e rurais são os cães^{7,8,9}. No Brasil, a transmissão tem sido atribuída, principalmente, a *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912)^{7,8}, porém outras espécies de flebotomíneos são consideradas potenciais transmissoras da doença¹⁰. No Pará, *Lutzomyia antunesi* (Coutinho, 1939) pode ser um vetor alternativo da LVA⁸. Em Mato Grosso do Sul, na região de Corumbá e Ladário, *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) é a espécie predominante e simpátrica a *Lutzomyia forattinii* (Galati, Rego, Nunes & Teruya, 1985); ambas tem sido consideradas transmissoras do agente da leishmaniose visceral¹¹. Outra espécie da fauna flebotomínica da Serra da Bodoquena, *Lutzomyia almerioi* (Galati & Nunes, 1999), apresentou infecção natural por *L. (L.) chagasi* e *Leishmania (Viannia) sp.*, alta densidade e acentuado antropofilia, sugestivos da possibilidade de envolvimento na transmissão da doença nessa região^{12,13,14,15,16,17}.

Apesar dos avanços obtidos nas últimas décadas no mapeamento da distribuição geográfica das doenças transmitidas por vetores, com o uso de sensoriamento remoto por satélite, de sistema de posicionamento global por satélite (GPS) e de sistemas de informações georreferenciadas^{18,19,20,21}, a ocorrência e expansão dos vetores da LVA não têm sido sistematicamente monitoradas e documentadas. A presente investigação teve como objetivo principal conhecer aspectos da ecoepidemiologia da fauna flebotomínica em Três Lagoas, Estado de Mato Grosso do Sul, contribuindo com a melhoria dos

conhecimentos sobre a ocorrência da LVA nesta localidade, e fornecer informações para a vigilância epidemiológica e controle do vetor e da doença.

MATERIAIS E MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDO

O Município de Três Lagoas (52° 33' 44" W, 19° 36' 56" S) situa-se no extremo leste do Estado de Mato Grosso do Sul, Região Centro-Oeste do Brasil (Figura 1). A altitude média no núcleo urbano é de 319 m acima do nível do mar. Possui clima tropical quente e úmido, precipitação média anual de 1.500 mm e duas estações bem definidas: verão chuvoso e inverno seco²². O trimestre de maior precipitação compreende o período de novembro a janeiro. As temperaturas médias mensais variam entre 29,3° C no verão e 18,1° C no inverno²³. Seu território localiza-se na bacia do rio Paraná e apresenta biomas naturais importantes, como o cerrado (vegetação predominante) e faixas de mata ciliar, que se alternam perpendicularmente às margens do rio Paraná e do reservatório da Usina Hidrelétrica de Jupiá; as paisagens são diferenciadas, com ampla diversidade de espécies da flora e fauna. A sua área territorial é 10.206 km² (2,85% da área total do Estado) e a população é de 85.914 habitantes (densidade populacional de 8,4 hab/km²), 94% dos quais residem na área urbana. A economia é baseada principalmente na pecuária, complementada pelo extrativismo vegetal e turismo; passa, atualmente, por um acelerado processo de industrialização, em vias de se tornar um importante polo industrial no Estado²².

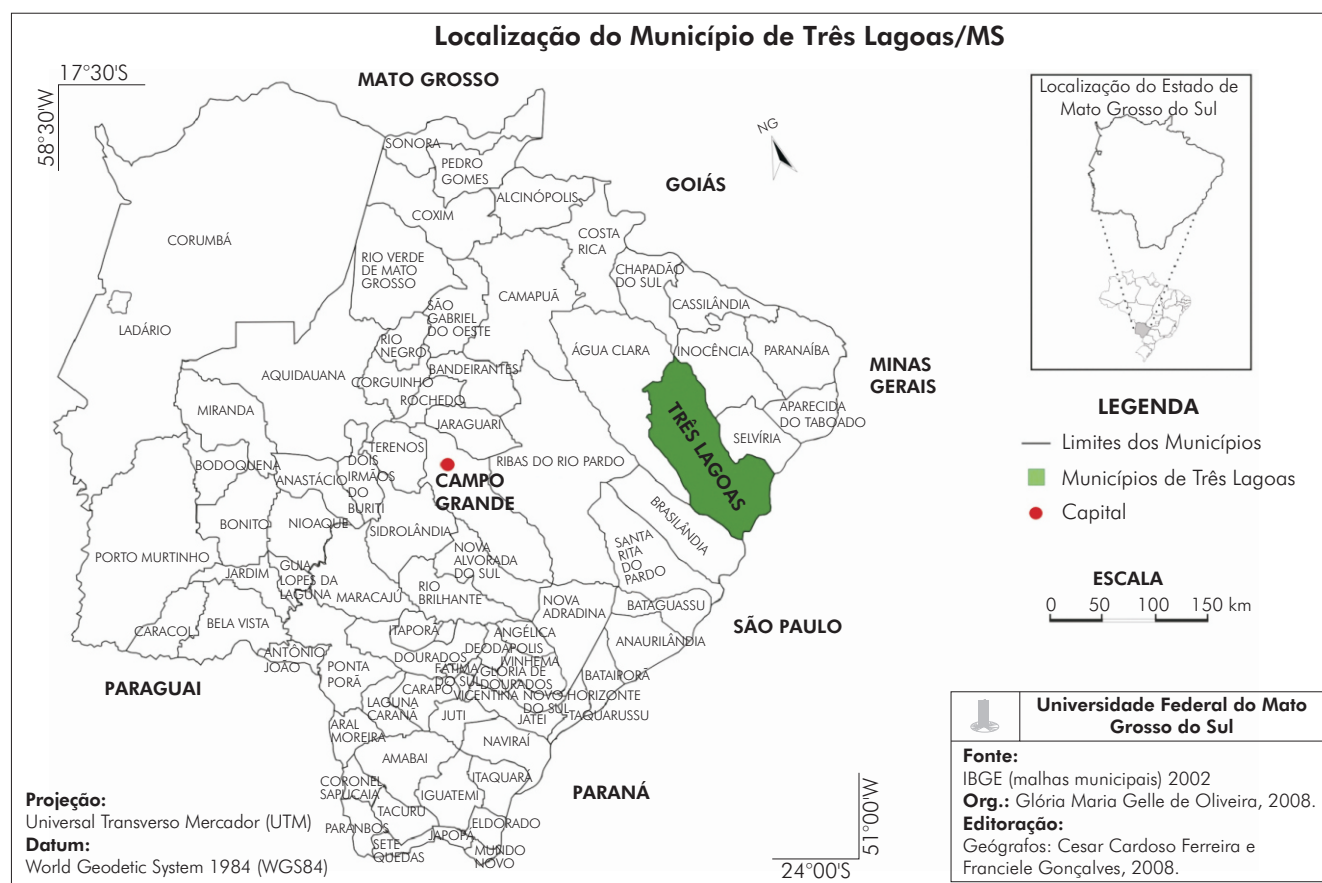


Figura 1 – Localização geográfica da área estudada: Município de Três Lagoas, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil

CAPTURA E IDENTIFICAÇÃO DOS FLEBOTOMÍNEOS

O levantamento da fauna flebotomínica foi realizado entre agosto de 2000 e dezembro de 2006. Foram empregadas armadilhas automáticas luminosas do tipo CDC, instaladas em duplas, em peri e intradomicílio, a 50-70 cm acima do nível do solo, ao entardecer (18 h) e recolhidas ao amanhecer (6 h), uma vez por mês, em locais previamente selecionados²⁴. O critério de seleção dos locais de captura foi baseado na ocorrência de casos humanos e/ou caninos de LVA. Foram escolhidas, por sorteio, duas residências nas proximidades (aproximadamente 200 m) dos locais com registro da doença, e onde as condições ambientais fossem favoráveis aos criadouros dos vetores. No extradomicílio foram escolhidas áreas de silvicultura e cerrado propícias à proliferação de flebotomíneos. Os espécimes coletados em cada mês eram agrupados e considerados representativos do mês correspondente.

Após a captura, os flebotomos foram entorpecidos com éter e separadas, aleatoriamente, cinco fêmeas, por data de coleta, para pesquisa de formas evolutivas de *Leishmania*. Os demais espécimes foram acondicionados em frascos de vidro com tampa plástica contendo álcool 70%, etiquetados com o nome, código da área e data de coleta e enviados ao laboratório do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) da Secretaria Municipal de Saúde (SMS) de Três Lagoas. Em seguida, efetuaram-se os processos de clarificação, montagem e identificação dos flebotomíneos, usando-se, para esta última, a nomenclatura de Young e Duncan²⁵ posteriormente adaptada à proposta por Galati²⁶. Adotou-se o sistema de abreviaturas para gênero e subgênero proposto por Marcondes²⁷. O material-testemunha foi encaminhado ao Laboratório Regional de Entomologia de Dourados/Secretaria de Estado da Saúde de Mato Grosso do Sul (SES/MS) para confirmação dos dados e depósito.

A presença de flagelados foi investigada por meio de dissecação de fêmeas capturadas, em solução salina a 0,85% e anticontaminantes²⁴ e o intestino observado ao microscópio de contraste de fase (400x); posteriormente, o material corado com Giemsa era novamente observado. O número, o sexo e as espécies de flebotomíneos capturados foram registrados em tabelas mensais pelo CCZ/SMS de Três Lagoas.

DADOS CLIMÁTICOS

Os dados climáticos para o período de estudos (temperatura e precipitação médias mensais, umidade relativa do ar e velocidade dos ventos) foram obtidos junto ao Instituto Nacional de Meteorologia (INMET)²³.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise da abundância relativa (%) de espécies, foram utilizados os dados das capturas efetuadas entre agosto de 2000 e dezembro de 2006. A diversidade de espécies encontrada no Município foi calculada por meio da utilização do índice de Fisher-Williams^{28,29}. A razão sexual (machos: fêmeas) no intra e no peridomicílio foi

comparada utilizando-se o teste do Qui-Quadrado. A correlação não paramétrica de Spearman foi aplicada entre o número de espécimes encontrados, as precipitações médias mensais e temperaturas médias compensadas mensais, medidas ao longo do período de estudo. Para testar a proporção entre indivíduos infectados por *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* e o número de flebotomíneos capturados, foi empregado um modelo linear simples para realizar uma análise de regressão logística. O índice de constância de *Lu. longipalpis* foi calculado por meio da fórmula: $C = P \times 100 / N$, onde P representa o número de coletas com a espécie estudada e N o número total de coletas realizadas^{28,29}. A distribuição mensal dos flebotomíneos capturados foi testada para normalidade por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o programa BioEstat, v 5.0³⁰.

RESULTADOS

Dentre os pontos monitorados em Três Lagoas, 86,8% foram positivos para flebotomíneos.

De agosto de 2000 a dezembro de 2006, foi coletado um total de 4.277 espécimes: 3.071 machos (71,81%) e 1.206 fêmeas (28,19%) pertencentes a quatro subtribos, sete gêneros e 14 espécies. As duas espécies pertencentes à subtribo Brumptoyiina foram *Brumptomyia avellari* (Costa Lima, 1932) e *Brumptomyia brumpti* (Larrousse, 1920); da subtribo Lutzomyiina, *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912); da subtribo Psychodopygina, *Bichromomyia flaviscutellata* (Mangabeira, 1942), *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939), *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912), *Psathyromyia punctigeniculata* (Floch & Abonnenc, 1944), *Psathyromyia campograndensis* (Oliveira, Andrade-Filho, Falcão & Brazil), *Psathyromyia lutziana* (Costa Lima, 1932) e da subtribo Sergentomyiina, *Micropygomyia peresi* (Mangabeira, 1942), *Evandromyia evandroi* (Costa Lima & Antunes, 1936), *Evandromyia termitophila* (Martins, Falcão & Silva, 1964), *Evandromyia carmelinoi* (Ryan, Fraiha, Lainson & Shaw, 1986), *Evandromyia lenti* (Mangabeira, 1938) (Figura 2 e Tabela 1).

A razão M/F capturados foi de 2,5 e variou de acordo com cada espécie de flebotomo (Tabela 1); o número de machos de *Lutzomyia longipalpis* foi cerca de três vezes superior ao das fêmeas. O índice de diversidade de espécies (Fisher-Williams) foi de 1,56. De acordo com o teste de Kolmogorov-Smirnov, houve uma distribuição normal da densidade populacional dos flebotomíneos durante o período de investigação ($p < 0,01$), com uma média mensal de 59 ± 19 . Excepcionalmente, nos meses de março de 2002, abril, maio, agosto e outubro de 2005 e março de 2006, um número relativamente elevado de vetores foi capturado. Nesses meses foram registrados baixos níveis de precipitação, porém os índices pluviométricos mais elevados nos meses precedentes, umidade relativa acima de 70%, temperaturas entre 22 e 28,5° C e baixa velocidade dos ventos, que podem ter favorecido esse aumento populacional.

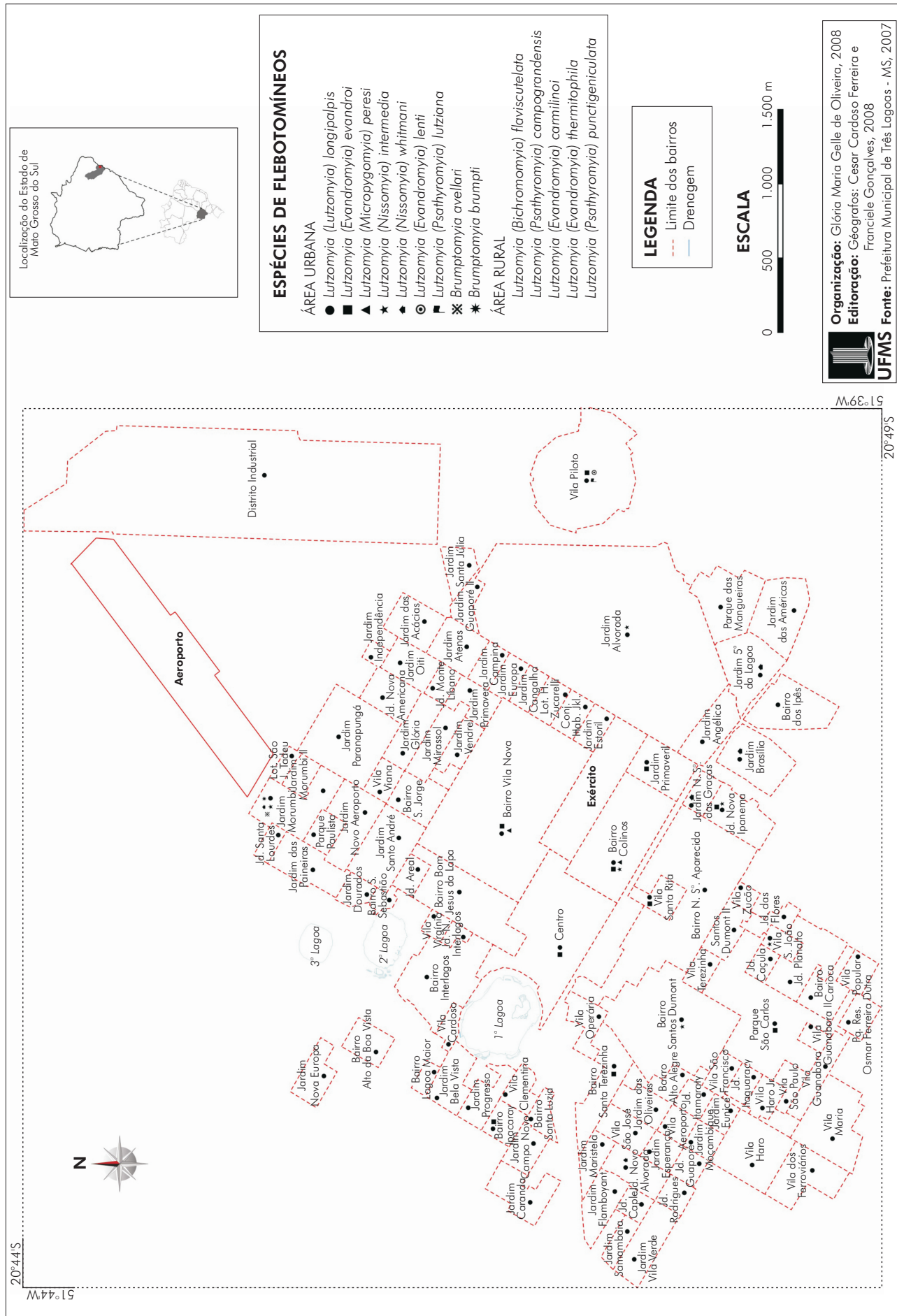


Figura 2 – Distribuição espacial das espécies de flebotomíneos por bairros no Município de Três Lagoas, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil

Tabela 1 – Composição e frequência de espécies, número de machos (♂), número de fêmeas (♀), razão sexual e distribuição dos flebotomíneos coletados em Três Lagoas (agosto de 2000 a dezembro de 2006)

Espécie	Nº de ♂	Nº de ♀	Razão sexual (♂/♀)	Intra/Peridomiciliar	Extradomiciliar	Total Nº	%
<i>Br. avelari</i>	8	–	–	8	–	8	0,20
<i>Br. brumpti</i>	2	–	–	2	–	2	0,05
<i>Pa. campograndensis</i>	–	1	–	–	1	1	0,02
<i>Ev. carmilinoi</i>	6	–	–	–	6	6	0,15
<i>Ev. evandroi</i>	159	106	1,5 : 1	197	68	265	6,20
<i>Bi. flaviscutellata</i>	7	15	0,5 : 1	–	22	22	0,40
<i>Ny. intermedia</i>	22	3	7,3 : 1	21	4	25	0,60
<i>Ev. lenti</i>	17	13	1,3 : 1	30	–	30	0,70
<i>Lu. longipalpis</i>	2.715	1.007	2,7 : 1	3.459	263	3.722	87,02
<i>Pa. lutziana</i>	5	2	2,5 : 1	7	–	7	0,16
<i>Mi. peresi</i>	32	6	5,3 : 1	38	–	38	0,90
<i>Pa. punctigeniculata</i>	7	5	1,4 : 1	–	12	12	0,28
<i>Ev. termitophila</i>	–	5	–	–	5	5	0,12
<i>Ny. whitmani</i>	91	43	2,1 : 1	21	113	134	3,40
Total	Nº	3.071	1.206	2,5 : 1	3.783	494	4.277
	%	71,81	28,19	88,44	11,56		100,00

Do total de flebotomíneos, 88,44% foram coletados em peri e intradomicílio, em ambientes profundamente alterados pela atividade antrópica, e 11,56% em áreas rurais. A espécie mais abundante foi *Lutzomyia longipalpis* e correspondeu a 87,02% dos espécimes capturados (Tabela 1), com 3.459 exemplares (92,93%) no intra e no peridomicílio e 263 (7,06%) no extradomicílio (áreas remanescentes de cerrado e hortos florestais); o índice de constância foi $C = 1$ e a espécie esteve presente em todos os bairros e meses de coletas.

Em relação ao comportamento das espécies (endo e exofilia), 2.898 exemplares (76,61%) foram capturados no peridomicílio, sendo 2.087 machos (72,02%) e 811 fêmeas (27,98%); 885 (23,39%) no intradomicílio: machos 689 (77,85 %) e 196 fêmeas (22,15%). Esses dados mostraram que os flebotomíneos foram mais abundantes na área peridoméstica e que a predominância dos machos em todos os ambientes pesquisados foi estatisticamente significativa ($\chi^2 = 16,632$; $p = 0,0002$). As espécies mais frequentes no ambiente intra e peridomiciliar foram, em ordem decrescente, *Lu. longipalpis*, *Ev. evandroi* e *Mi. peresi*.

Na área urbana de Três Lagoas, foram capturados flebotomíneos em todos os bairros pesquisados (Figura 2); em 87,71% destes, foram registrados 8.437 casos caninos acumulados de leishmaniose visceral (média de 1.205,3 casos/ano) e 284 casos humanos notificados em 64,21% dessas localidades. No período estudado, a média anual foi 40,6 casos de LVA humana e houve um

total de 27 óbitos (taxa de letalidade/ano = 9,50%), sendo o Município classificado como "de transmissão intensa" (média de casos humanos $n = 4,4$) pelo Ministério da Saúde do Brasil¹⁵. As localidades consideradas de transmissão intensa de LVA e onde a abundância relativa de *Lu. longipalpis* também foi mais elevada são mostradas na figura 3. O teste de regressão linear resultou em associação estatisticamente significativa entre o número de vetores, casos caninos e humanos de LVA ($p < 0,05$).

Um total de 928 fêmeas de *Lu. longipalpis* selecionadas ao acaso, dentre as coletadas em peri, intra e extradomicílio, foram dissecadas e em apenas 11 (1,18%) encontrou-se positividade para flagelados. As lâminas coradas com Giemsa mostraram a presença de formas flageladas sugestivas de *Leishmania* spp.

A sazonalidade dos flebotomíneos ao longo do período de estudo está representada nas figuras 4, 5 e 6, nas quais foram plotados: o número total de espécimes coletados mensalmente em todos os pontos de captura, a precipitação total mensal e a temperatura média compensada mensal em Três Lagoas. O teste de correlação de Spearman evidenciou correlação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre o número de flebotomíneos capturados e as taxas de precipitação nos anos de 2000, 2003, 2004 e 2006 ($p < 0,05$); em relação às temperaturas médias mensais, a correlação não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$) para os anos estudados, exceto para 2006 ($p = 0,0397$; $p < 0,05$).

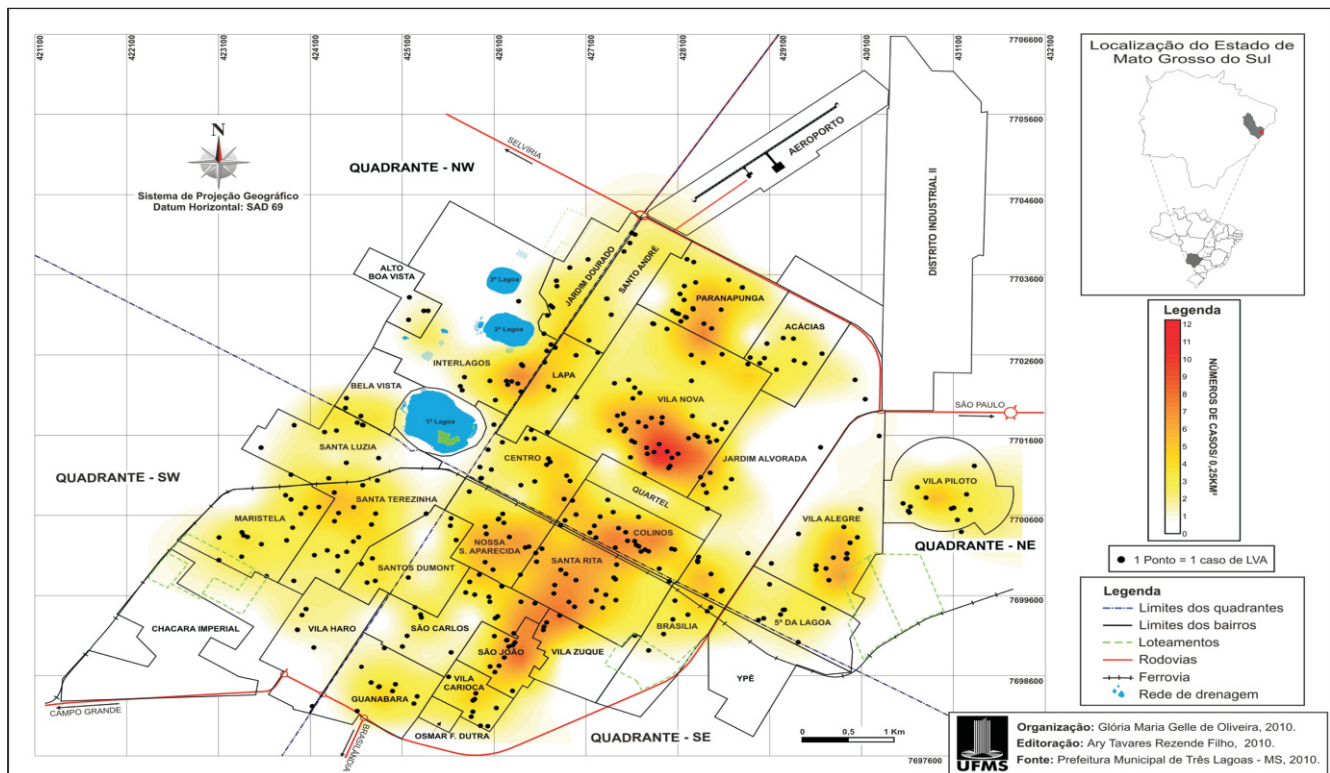
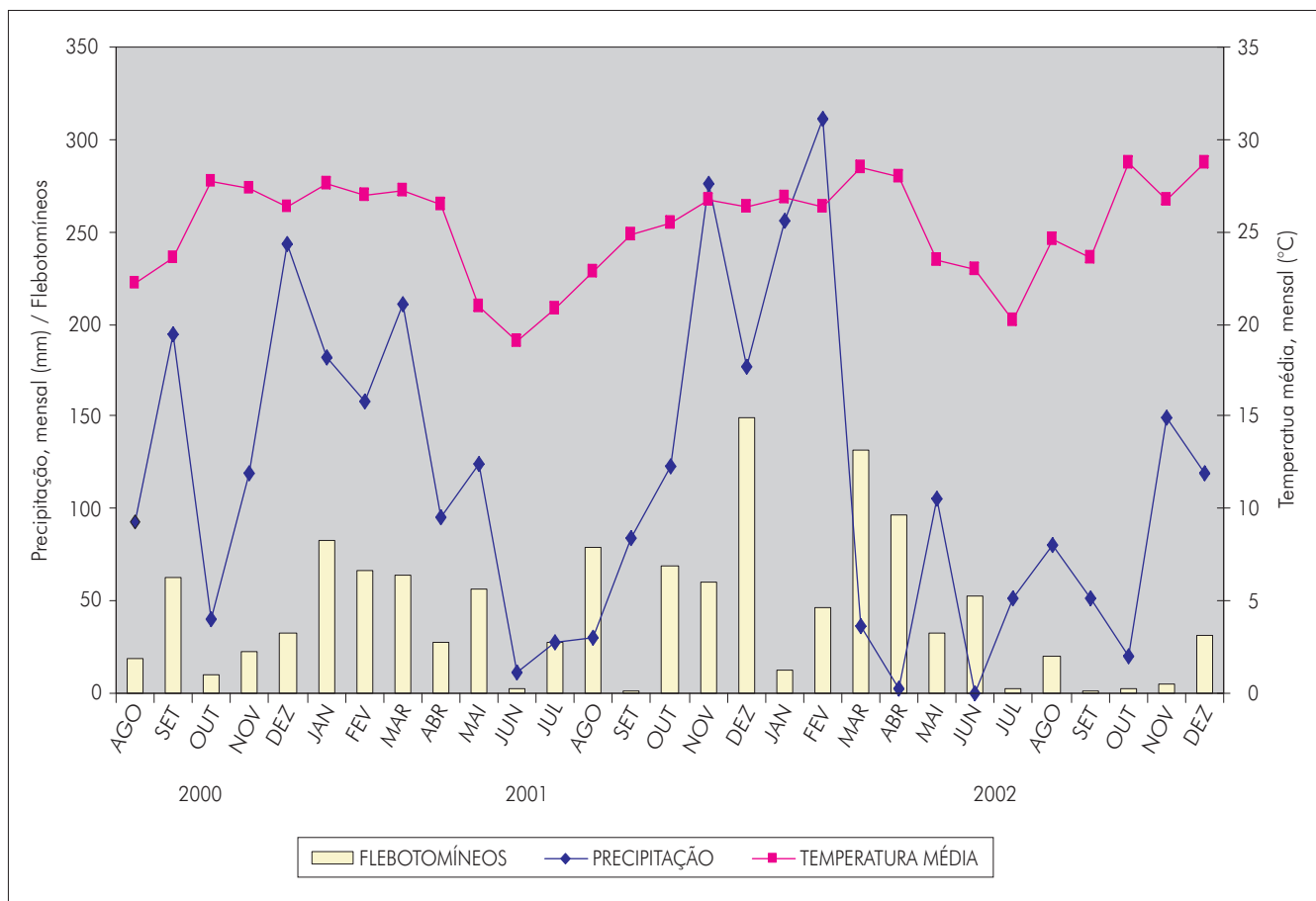
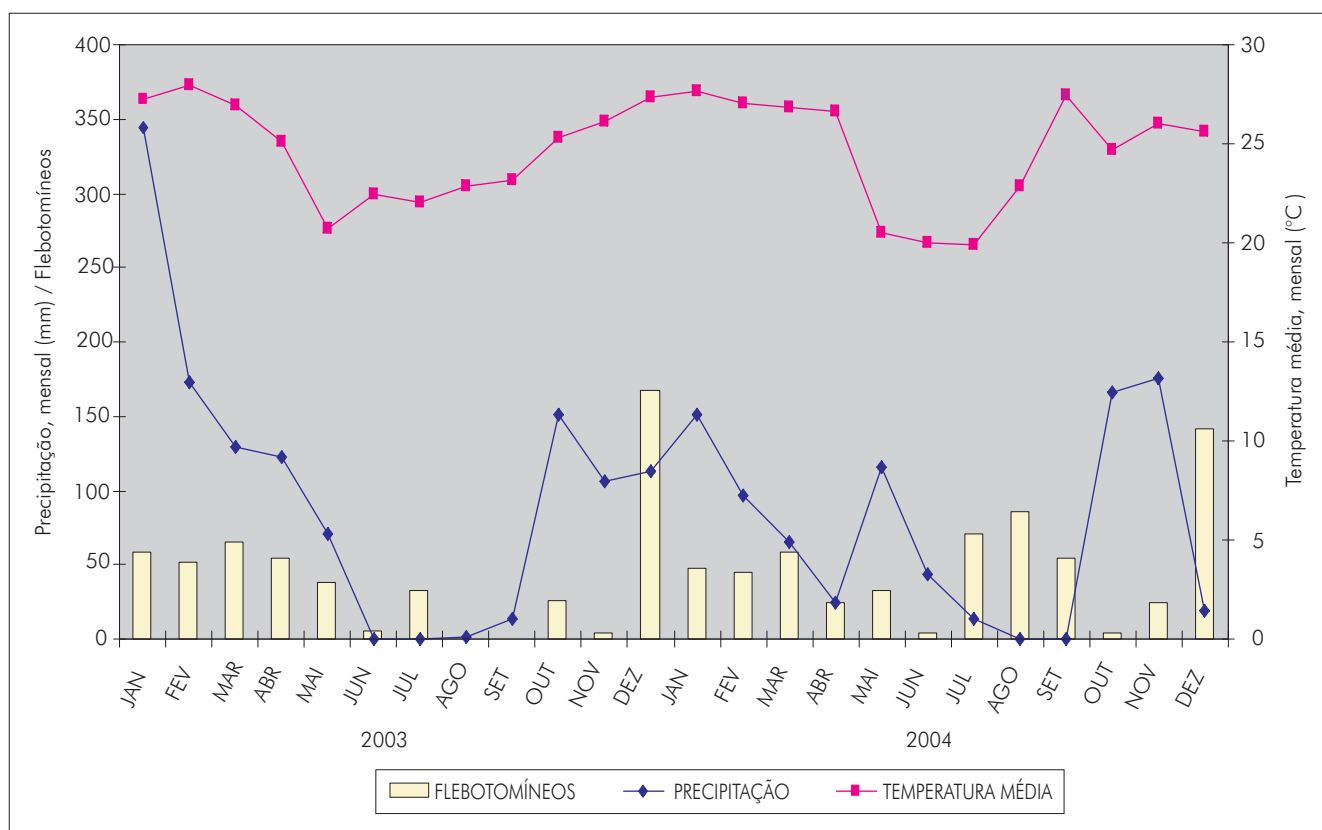


Figura 3 – Distribuição espacial dos casos humanos de LVA e densidade dos flebotomos na área urbana de Três Lagoas, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, 2000 a 2006



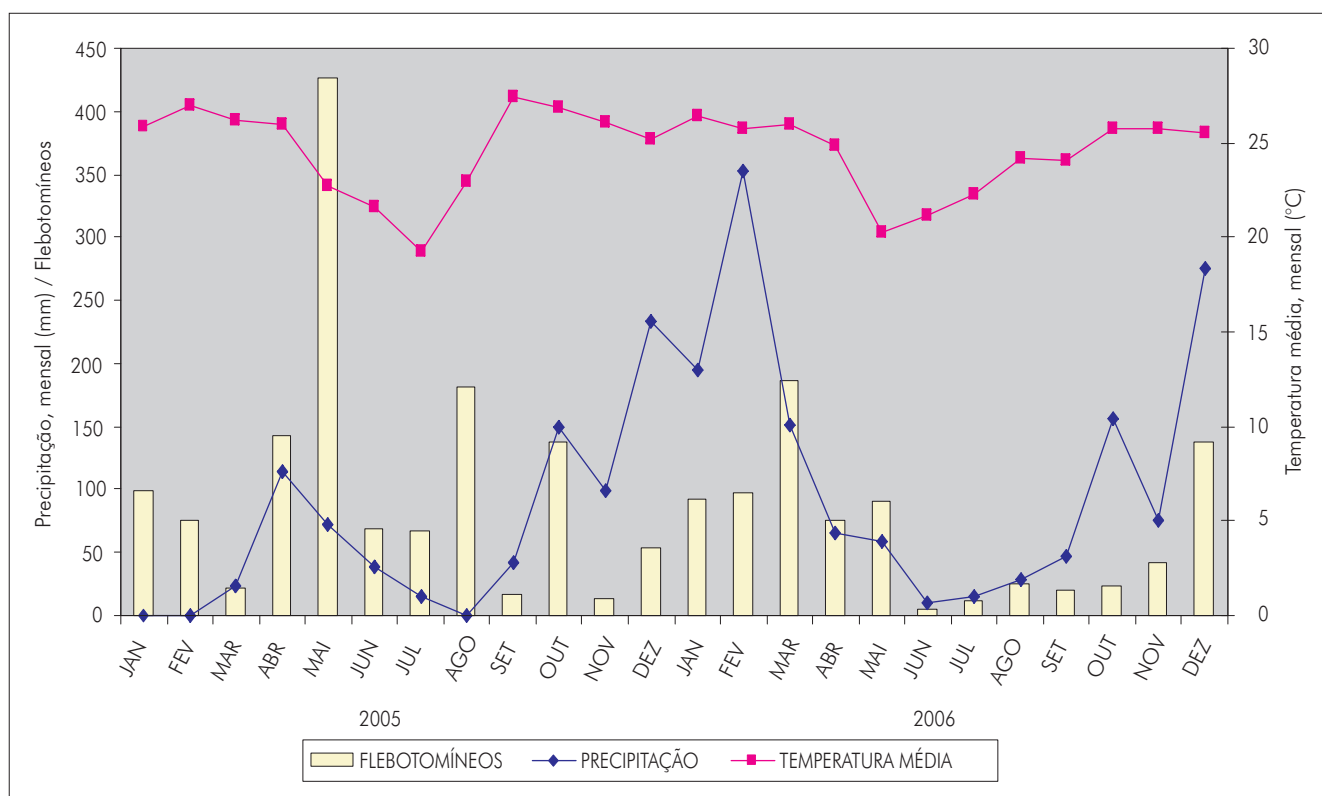
Fontes: Dados climatológicos: INMET²³, 2008. Dados sobre vetores: CCZ/SMS de Três Lagoas, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, 2007.

Figura 4 – Sazonalidade dos flebotomíneos de acordo com as variações de temperatura e precipitação pluviométrica (2000-2002)



Fontes: Dados climatológicos: INMET²³, 2008. Dados sobre vetores: CCZ/SMS de Três Lagoas, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, 2007.

Figura 5 – Sazonalidade dos flebotomíneos de acordo com as variações de temperatura e precipitação pluviométrica (2003-2004)



Fontes: Dados climatológicos: INMET²³, 2008. Dados sobre vetores: CCZ/SMS de Três Lagoas, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, 2007.

Figura 6 – Sazonalidade dos flebotomíneos de acordo com as variações de temperatura e precipitação pluviométrica (2005-2006)

DISCUSSÃO

O presente estudo entomológico é a primeira descrição da fauna flebotomínica no Município de Três Lagoas, no qual 14 espécies foram coletadas e identificadas. Os resultados obtidos são semelhantes aos registrados em outras pesquisas sobre vetores de leishmanioses realizadas em diversas regiões brasileiras, nas quais *Lu. longipalpis* foi a espécie mais abundante^{31,32,33,34,35,36,37}.

O índice mais elevado de abundância observado nessa investigação foi a de *Lu. longipalpis* (1,0). Sua predominância no ambiente doméstico e peridoméstico na zona urbana (87,02%), especialmente na região central e bairros com maior prevalência de casos humanos e caninos de LVA, é um forte indicativo do comportamento antropofílico dessa espécie, evidencia seu importante papel na transmissão local da leishmaniose visceral e os seus hábitos alimentares ecléticos. Isto pode levar à ocorrência de surtos da doença em cães e humanos e, por essa razão, esse vetor tem sido considerado o mais importante da LVA na maior parte do Brasil^{34,35,36,37,38}.

Alguns flebotomíneos de importância médica têm demonstrado habilidade para adaptar-se e explorar ambientes alterados, contribuindo para a endemicidade de *Leishmania* spp.^{39,9}. No Município estudado, pouco resta da vegetação original, que foi substituída por pastagens, canaviais e hortos florestais. A área urbana foi quase totalmente desmatada para construção de habitações e do parque industrial, estando no momento muito antropizada. Postula-se que a predominância de algumas espécies em ambientes profundamente alterados pela ação humana seja um fator de alta magnitude para transmissão da leishmaniose⁴⁰.

Em Mato Grosso do Sul, *Lu. longipalpis* foi coletado em 92,3% dos municípios pesquisados com transmissão de LVA⁴¹. Porém, pesquisas realizadas nas cavernas e florestas da serra da Bodoquena; em Corumbá e Ladário, na região do Pantanal sul-mato-grossense; e em Bonito, apontam *Lu. cruzi* como a espécie mais abundante nessas áreas, dentre os possíveis vetores de leishmaniose visceral. Tais fatos poderiam ser explicados por diferenças na cobertura vegetal, condições climáticas e pelo grau de alterações ambientais antrópicas específicas de cada localidade^{13,26,14,42,15,16,17}.

Evandromyia evandroi, a segunda espécie mais numerosa na área estudada, habitualmente é encontrada nas mesmas áreas geográficas de ocorrência de *Lu. longipalpis*; *Mi. peresi* foi terceira dentre as três mais frequentes. *E. evandroi* e *Mi. peresi* encontram-se em franco processo de domiciliação e não estão associadas à transmissão de leishmanias ao homem e aos animais. *Ny. whitmani* e *Ny. intermedia* apresentaram frequências menores, porém são incriminadas como vetores de leishmanias tendo sido capturadas em peri e intradomicílio. Isto pode ser um indicativo de alta antropofilia e do grande potencial invasivo dessas espécies. A ocorrência simpátrica de *Lu. longipalpis* e outras espécies consideradas possíveis vetores de

leishmanioses também foi registrada em diversas localidades brasileiras nos Estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Maranhão, Rio Grande do Norte, entre outros, por inúmeros pesquisadores^{31,32,33,34,35,43,15,40}.

A proporção de machos foi mais elevada em relação às fêmeas (2,7:1). Isto parece decorrer os seguintes fatos: os machos eclodem antes das fêmeas; os criadouros são próximos das moradias, de condições precárias, com rachaduras que acumulam lodo e fornecem abrigo durante o dia; a umidade do solo, que prolonga a vida aos flebotomos; e a abundante presença de animais domésticos (principalmente cães e aves) no peridomicílio, que os atrairiam pelo odor (caioromônios) ou liberação de CO₂. Os machos, então, liberariam feromônios atraindo as fêmeas para a cópula^{44,45,46}. Essas observações sugerem uma proximidade dos machos junto aos hospedeiros por mais tempo do que as fêmeas e pode explicar a razão sexual maior em favor dos machos nas coletas. Por outro lado, as fêmeas, por seus hábitos hematófagos, são os agentes transmissores de *Leishmania* e sua estratégia reprodutiva consistiria em voar para fora de seus abrigos e buscar um local para o repasto sanguíneo, ocorrendo, então, o acasalamento e a disputa por locais de criadouros^{7,8}.

Em Três Lagoas, verificou-se que *Lu. longipalpis* esteve presente, praticamente, em todos os meses durante o período do estudo. Ao longo do tempo, esta espécie apresentou um padrão anual de abundância irregular, provavelmente pela intermitência das condições climáticas, com picos de aumento populacional, seguindo com algum atraso os períodos chuvosos (até mesmo pequenos volumes de precipitação no outono/inverno) e temperaturas entre 22 e 28° C na maior parte do ano. Embora a temperatura pareça ser o fator climático menos importante, o número absoluto de mosquitos foi maior logo após os períodos nos quais ocorreu combinação de temperaturas médias mais altas, precipitação de chuvas mais regular e, consequentemente, umidade relativa mais elevada (Figuras 4, 5 e 6).

A correlação entre a densidade populacional dos flebotomíneos e os fatores abióticos já está bem estabelecida, uma vez que esses fatores interferem com o ciclo evolutivo dos flebotomíneos e alteram seus sítios reprodutivos. Inúmeros autores consideram as precipitações e a umidade relativa do ar fatores favoráveis ao crescimento populacional desses vetores, devido ao desenvolvimento da vegetação e incremento na quantidade de matéria orgânica e de locais favoráveis à instalação de criadouros^{44,32,47}.

Observou-se um declínio, tanto do número total de flebotomíneos capturados em 2002, como da diversidade de espécies, após a aplicação domiciliar, em toda a área urbana, de inseticida piretróide, a partir do mês de junho. Em 2003 e anos subsequentes, o número de vetores voltou a crescer, devido à irregularidade das borrafações, que passaram a ocorrer apenas nas residências com casos confirmados de LVA humana ou canina, fato motivado

pela escassez de inseticida. Outros fatores, como condições climáticas e fisiográficas desfavoráveis, podem também ter contribuído para a redução observada nos meses mais frios e secos do ano.

A densidade dos vetores e a infecção natural por *Leishmania* spp., o baixo nível socioeconômico da população, com taxa de pobreza igual a 32,88%²², a quantidade expressiva de moradias pobres com más condições sanitárias e coleta precária de lixo, a baixa densidade ou ausência de animais silvestres, o grande número de animais domésticos (principalmente, cães e galinhas) que acumulam detritos no ambiente peridoméstico e o enorme fluxo migratório causado pelo recente ciclo de industrialização podem ser determinantes favoráveis para a instalação e transmissão da LVA na área estudada. Elas criam diferentes nichos ecológicos propícios à proliferação e concentração de flebotomíneos^{44,48}.

Por outro lado, diferentes comportamentos antrópicos no manejo do ambiente familiar, como a remoção da vegetação e de materiais orgânicos da área peridoméstica, podem explicar a menor densidade vetorial em residências onde a limpeza das habitações e quintais é mais acurada. Nossas constatações, verificadas *in loco*, são concordantes com os estudos de Dujardin⁴⁹, Monteiro et al⁴³ e outros autores.

O número de humanos e cães portadores de LVA nas localidades pesquisadas foi estatisticamente associado à abundância de *Lu. longipalpis* ($p < 0,05$).

O índice de positividade das fêmeas de flebotomíneos para formas promastigotas de *Leishmania* spp. foi igual a 1,18%; esse valor, embora baixo, é concordante com estudos nacionais e internacionais que encontraram taxas entre 1% e 2%^{42,15,50,5}. Na natureza, a prevalência da infecção por *Leishmania* na população global de flebotomíneos pode ser inferior a 0,1%, mesmo em áreas endêmicas e de alta transmissão. No intuito de aumentar a eficiência da transmissão, o parasita manipula de modo adaptativo o comportamento alimentar dos vetores, especialmente *Lu. longipalpis*, estimulando a persistência dos insetos para picarem e se alimentarem em múltiplos hospedeiros; mas isso ocorre somente se as leishmanias tiverem produzido formas infectantes e um gel adesivo filamentosso de proteoglicanos na porção anterior do tubo digestivo dos flebótomos⁵¹.

Os estudos da dispersão espacial e temporal das populações de vetores de leishmanioses no Município de Três Lagoas e seus habitats preferenciais, indicando as áreas vulneráveis ou propícias à transmissão da doença, permitiram a obtenção de informações que podem subsidiar ações de prevenção e controle no campo da saúde pública. A posse desses dados possibilita à vigilância entomo-epidemiológica acompanhar de forma contínua o comportamento dos vetores e o estado de saúde da população, de modo que, dispondo das informações necessárias, possa detectar ou prever alterações, direcionar e orientar de modo eficaz a aplicação de medidas preventivas contribuindo para a melhoria das condições de saúde da comunidade.



Survey of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Três Lagoas Municipality, Mato Grosso do Sul State, Brazil, an area of intense transmission of American visceral leishmaniasis

ABSTRACT

The objectives of this study were to survey urban and rural sandfly species; to investigate the spatiotemporal distribution of sandflies in the studied area; to determine the levels of natural infection of female sandflies with *Leishmania*; to determine the impact of the application of insecticides on the vector population; to correlate entomological, epidemiological, and biogeographic data to identify conditions that are favorable to the occurrence of leishmaniasis; and to provide information for the control of leishmaniasis in the studied area. Specimen collection was carried out once a month between August 2000 and December 2006, using CDC traps. In total, 4,277 specimens were captured (3,071 males and 1,206 females), comprising 14 sandfly species. Of these specimens, 76.61% were found in peridomestic areas. *Lutzomyia longipalpis*, the most frequent species (87.02%), had a standardized constancy index of 1.0. The spatiotemporal distribution pattern of this species confirmed its important role in the transmission of American visceral leishmaniasis. Infection by flagellates suggestive of *Leishmania* spp. was found in 1.18% of dissected *Lu. longipalpis* females. Statistical analyses showed a significant correlation ($p < 0.05$) between the number of sandflies and the precipitation and humidity levels. Linear regression tests showed a significant association between the number of *Lu. longipalpis* captured and the cases of human and canine American visceral leishmaniasis in a given area ($p < 0.001$). The vector population was reduced in 2002 by the application of insecticides; however, it increased in subsequent years due to the irregularity of spraying. Strategies that can be used for disease control in this area are suggested in the conclusion.

Keywords: Entomology; Psychodidae; Vector Insects; *Leishmania*; Leishmaniasis; Epidemiological Surveillance.

Flebótomos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) en el Municipio de Três Lagoas, área de transmisión intensa de leishmaniasis visceral, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil

RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo identificar la fauna flebotomínica urbana y rural; determinar su distribución espacio-temporal; investigar la infección natural por *Leishmania* de los flebótomos hembras; verificar el impacto de la aplicación de insecticidas sobre la población vectorial; correlacionar datos entomológicos, epidemiológicos y biogeográficos para comprensión de las condiciones favorables a la ocurrencia de la enfermedad; y suministrar informaciones para el control de la leishmaniasis en esa área. Las colectas se realizaron un día por mes, entre agosto de 2000 y diciembre de 2006, con trampas tipo CDC. Fueron capturados 4.277 especímenes, pertenecientes a 14 especies de flebótomos (76,61% en peridomicilio), siendo 3.071 machos y 1.206 hembras. *Lutzomyia longipalpis*, la especie más frecuente (87,02%), tuvo un índice de constancia estándar igual a 1,0. Los estándares temporo-espaciales de distribución de esa especie ratificaron su importante papel en la transmisión de la leishmaniasis visceral americana. Fue hallada infección por flagelados sugestivos de *Leishmania* spp. en 1,18% de las hembras disecadas de *Lu. longipalpis*. Análisis estadísticos mostraron una correlación significativa ($p < 0,05$) entre el número de vectores, precipitación y humedad. El test de regresión lineal demostró asociación significativa entre el número de *Lu. longipalpis* capturado y los casos de leishmaniasis visceral americana humana y canina ($p < 0,001$). La población de vectores fue reducida en 2002, con la aplicación de insecticidas, pero se elevó en los años siguientes, debido a la irregularidad de las aspersiones. Son sugeridas en la conclusión, estrategias que podrán ser utilizadas en el control de la enfermedad.

Palabras clave: Entomología; Psychodidae; Insectos Vectores; *Leishmania*; Leishmaniasis; Vigilancia Epidemiológica.



REFERÊNCIAS

- Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2004;27(5):305-18.
- Ashford RW. Phlebotomus fever. In: Encyclopedia of arthropod transmitted Infections. Wallingford: CABI Publishing; 2001. p. 397-401.
- Birtles RJ. Carrion's disease. In: Encyclopedia of arthropod transmitted. Wallingford: CABI Publishing; 2001. p. 104-6.
- Gouveia C, Asensi MD, Zahner V, Rangel EF, Oliveira SMP. Study on the bacterial midgut microbiota associated to different Brazilian populations of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae). Neotrop Entomol. 2008 Sep-Oct;37(5):597-601.
- Shaw JJ, Travassos de Rosa A, Souza A, Cruz AC. Os flebotomíneos brasileiros como hospedeiros e vetores de determinadas espécies. In: Rangel EF, Lainson R, organizadores. Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. p. 337-51.
- El-Badry A, Al-Juhani A, El-Kheir I, Al-Zubiany S. Distribution of sand flies in El-Nekheil province, in Al-Madinah Al-Munawwarah region, western of Saudi Arabia. Parasitol Res. 2008 Jun;103(1):151-6.
- Lainson R, Rangel EF. Ecologia das leishmanioses: *Lutzomyia longipalpis* e a ecoepidemiologia da leishmaniose visceral americana (LVA) no Brasil. In: Rangel EF, Lainson R, organizadores. Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. p. 311-36.
- Lainson R, Rangel EF. *Lutzomyia longipalpis* and the ecoepidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – A review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2005 Dec;100(8):811-27.
- Travi BL, Osório Y, Becerra MT, Adler GH. Dynamics of *Leishmania chagasi* infection in small mammals of the undisturbed and degraded tropical dry forests of northern Colombia. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1998 May-Jun;92(3):275-8.
- Carvalho MR, Lima BS, Marinho-Junior JF, Silva FJ, Valença HF, Almeida FA, et al. A fauna de flebotomíneos envolvida em área de incidência de leishmaniose visceral americana na Zona da Mata de Pernambuco, Brasil. Cad Saude Publica 2007; 23(5):1227-32.
- Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Leishmaniose Visceral. In: Guia de Vigilância Epidemiológica [Internet]. 6. ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2005. p. 467-501 [citado 2008 dez 18]. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br>.
- Aguiar GM, Medeiros WM. Distribuição regional e habitats das espécies de flebotomíneos do Brasil. In: Rangel EF, Lainson R, organizadores. Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. p. 207-55.
- Galati EAB, Nunes VLB, Rego Jr FA, Oshiro ET, Rodrigues M. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae), em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. Rev Saude Publica. 1997 ago;37(4):378-90.

- 14 Galati EAB, Nunes VLB, Boggiani PC, Dorval MEC, Cristaldo G, Rocha HC, et al. Phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in forested areas of the Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006 Mar;101(2):175-93.
- 15 Pita-Pereira D, Cardoso MAB, Alves CR, Brazil RP, Britto CFPC. Detection of natural infection in *Lutzomyia cruzi* and *Lutzomyia forattinii* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) by *Leishmania infantum chagasi* in an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil using PCR multiplex assay. *Acta Trop*. 2008 Jul;107(1):66-9.
- 16 Santos SO, Arias J, Ribeiro AA, Hoffmann MF, Freitas RA, Malacco MAF. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American Visceral Leishmaniasis. *Med Vet Entomol*. 1998 Jul;12(3):315-7.
- 17 Savani ESM, Galati EAB, Nunes VLB, Castilho TM, Camargo COM, D'Ária SRN, et al. Natural infection in sand fly vector in cutaneous and visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Arch Inst Pasteur Tunis*. 2005;82:48-9.
- 18 Barcellos C, Ramalho WM, Gracie R, Magalhães MAFM, Fontes MF, Skaba D. Georreferenciamento de dados de saúde na escala submunicipal: algumas experiências no Brasil. *Epidemiol Serv Saude*. 2008 mar;17(1):59-70.
- 19 Cox JSTH. The role of geographic information systems and spatial analysis in area-wide vector control programmes. In: Vreysen MJB, Robinson AS, Hendrichs J, editors. *Area-Wide Control of Insect Pests*. Dordrecht: Springer; 2007. p. 199-209.
- 20 Kalluri S, Gilruth P, Rogers D, Szczur M. Surveillance of vector-borne infectious diseases using remote sensing techniques: a review. *PLoS Pathog*. 2007 Oct;3(10):1361-71.
- 21 Martins MS, Bavia ME, Silva AB, Cardim LL, Silva CEP, Carneiro DDMT. Técnicas de geoprocessamento aplicadas ao estudo de risco ambiental da leishmaniose visceral em área urbana de Feira de Santana, Bahia. *Anais do 13º Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto*; 2007 abr 21-26; Florianópolis. Florianópolis: INPE; 2007. p. 2825-32.
- 22 Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo demográfico 2007. [Internet]. Rio de Janeiro: IBGE [citado 2009 set 09]. Disponível em: www.ibge.gov.br.
- 23 Instituto Nacional de Meteorologia. Mapa dos dados climáticos do município de Três Lagoas/MS no período de 01/01/90 a 31/12/06. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento; 2008.
- 24 Vilela ML, Rangel EF, Lainson R. Métodos de coleta. In: Rangel EF, Lainson R, organizadores. *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. p. 353-67.
- 25 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). *American Entomological Institute*; 1994. 881 p.
- 26 Galati EAB. Classificação de Phlebotominae. In: Rangel EF, Lainson R, organizadores. *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. p. 23-51.
- 27 Marcondes CB. A proposal of generic and subgeneric abbreviations for phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the world. *Entomol News*. 2007 Sep;118(4):351-6.
- 28 Silveira Neto S, Nakano O, Barbin D, Vila Nova NA. 1976. *Manual de ecologia dos insetos*. Piracicaba: Agrônômica Ceres; 1976. 419 p.
- 29 Southwood TRE. *Ecological methods, with particular reference to the study of insect populations*. New York: Chapman and Hall Publishers; 1984. 524 p.
- 30 Ayres M, Ayres Jr M, Ayres DL, Santos AS. *BioEstat 5.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas* [CD-ROM]. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; 2007. 364 p.
- 31 Barata RA, Silva JCF, Costa RT, Fortes-Dias CL, Silva JC, Paula EV, et al. Phlebotomine sand flies in Porteirinha, an area of American Visceral Leishmaniasis transmission in the State of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004;99(5):481-7.
- 32 Dias ES, França-Silva JC, Silva JC, Monteiro EM, Paula KM, Gonçalves CM, et al. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de um foco de leishmaniose tegumentar no Estado de Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007;40(1):49-52.
- 33 Martin MCB, Rebelo JMM. Dinâmica espaço-temporal de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) do município de Santa Quitéria, área de cerrado do Estado do Maranhão, Brasil. *Iheringia Ser Zool*. 2006 set;96(3):283-8.
- 34 Missawa NA, Dias ES. Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the municipality of Várzea Grande: an area of transmission of visceral leishmaniasis in the State of Mato Grosso, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007 Dec;102(8):913-8.
- 35 Missawa NA, Lorosa ES, Dias ES. Preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) em área de transmissão de leishmaniose visceral em Mato Grosso. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008 jul-ago;41(4):365-8.
- 36 Nunes VLB, Galati EAB, Cardoso 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. *Rev Bras Entomol*. 2008 set;52(3):446-51.
- 37 Oliveira AG, Galati EAB, Oliveira O, Oliveira GR, Espíndola IAC, Dorval MEC, et al. Abundance of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) and urban transmission of visceral leishmaniasis in Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006 Dec;101(8):869-74.

- 38 Silva EAE, Andreotti R, Honer MR. Behavior of *Lutzomyia longipalpis*, the main vector of american visceral leishmaniasis, in Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul. Rev Soc Bras Med Trop. 2007 Jul-Aug;40(4):420-5.
- 39 Marinho RM, Fonteles RS, Vasconcelos GC, Azevedo PCB, Moraes JLP, Rebelo JMM. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em reservas florestais da área metropolitana de São Luís, Maranhão, Brasil. Rev Bras Entomol. 2008;52(1):112-6.
- 40 Ximenes MFFM, Silva VPM, Queiroz VS, Rego MM, Cortez AM, Batista LMM, et al. Flebotomíneos (Diptera; Psychodidae) e leishmanioses no Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil: reflexos do ambiente antrópico. Neotrop Entomol. 2007 jan-fev;36(1):128-37.
- 41 Vigilância em Saúde. Relatório Anual da leishmaniose visceral em Mato Grosso do Sul [Internet]. Campo Grande: Secretaria de Estado da Saúde de Mato Grosso do Sul; 2008 [citado 2008 out 29]. Disponível em: <http://www.ses.ms.gov.br>.
- 42 Nascimento JC, Paiva BR, Malafronte RS, Fernandes WD, Galati EAB. Natural infection of phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in a visceral leishmaniasis focus in Mato Grosso do Sul, Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2007 Mar-Apr;49(2):119-22.
- 43 Michalsky EM, França-Silva JC, Barata RA, Lara e Silva FO, Loureiro AMF, Fortes-Dias CL, et al. Phlebotominae distribution in Janaúba, an area of transmission for visceral leishmaniasis in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009 Feb;104(1):56-61.
- 44 Alvar J, Yactayo S, Bern C. Leishmaniasis and poverty. Trends Parasitol. 2006 Dec;22(12):552-7.
- 45 Kelly DW, Dye C. Pheromones, kairomones and the aggregation dynamics of the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. Anim Behav. 1997;53(4):721-31.
- 46 Ward RD, Hamilton JGC, Dougherty M, Falcão AL, Feliciangeli MD, Perez JE, et al. Pheromone disseminating structures in tergides of male phlebotomines (Diptera; Psychodidae). Bull Entomol Res. 1993;83:437-45.
- 47 Resende MC, Camargo MCV, Vieira JRM, Nobi RCA, Porto NMN, Oliveira CDL, et al. Seasonal variation of *Lutzomyia longipalpis* in Belo Horizonte, State of Minas Gerais. Rev Soc Bras Med Trop. 2006 Jan-Feb;39(1):51-5.
- 48 Departamento de Vigilância Epidemiológica. Relatório anual das doenças transmitidas por vetores. Três Lagoas: Secretaria da Saúde; 2007.
- 49 Dujardin JC. Risk factors in the spread of leishmaniasis: towards integrated monitoring? Trends Parasitol. 2006 Jan;22(1):4-6.
- 50 Ranasinghe S, Rogers ME, Hamilton JG, Bates PA, Maigon RD. A real-time PCR assay to estimate *Leishmania chagasi* load in its natural sand fly vector *Lutzomyia longipalpis*. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2008 Sep;102(9):875-82.
- 51 Ready PD. *Leishmania* manipulates sandfly feeding to enhance its transmission. Trends Parasitol. 2008 Apr;24(4):151-3.

Recebido em / Received / Recibido en: 8/7/2010
Aceito em / Accepted / Aceito en: 13/9/2010