LAIZA BONELA GOMES

ESTUDO DA FAUNA FLEBOTOMÍNICA E DOS ASPECTOS AMBIENTAIS RELACIONADOS À TRANSMISSÃO DAS LEISHMANIOSES NO MUNICÍPIO DE JUATUBA, MG, BRASIL – 2015 A 2016

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Epidemiologia
Comitê de orientação:
Danielle Ferreira de Magalhães Soares (orientadora)
Edelberto Santos Dias (co-orientador)

BELO HORIZONTE
ESCOLA DE VETERINÁRIA – UFMG
2017

Gomes, Laiza Bonela, 1991-
G194e Estudo da fauna flebotomínica e dos aspectos ambientais relacionados à transmissão das leishmanioses no município de Juatuba, MG, Brasil – 2015 a 2016 / Laiza Bonela Gomes. – 2017.
88 p. : il.

Orientadora: Danielle Ferreira de Magalhães Soares
Co-orientador: Edelberto Santos Dias
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária
Inclui bibliografia

1. Leishmaniose – Teses. 2. Flebotomíneo – Teses. 3. Entomologia veterinária – Teses. 4. Epidemiologia – Teses. I. Soares, Danielle Ferreira de Magalhães. II. Dias, Edelberto Santos. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. IV. Título.

CDD – 595.7

UFMG UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

FOLHA DE APROVAÇÃO

LAIZA BONELA GOMES

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração EPIDEMIOLOGIA.

Aprovada em 31 de Janeiro de 2017, pela banca constituída pelos membros:

Profª. Danielle Ferreira de Magalhães Soares
Presidente - Orientador

Profª. Camila de Valgas e Bastos Castro
Escola de Veterinária - UFMG

Drª. Fabiana de Oliveira Lara e Silva
Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

Drª. Eliane Gonçalves Paiva Lopes
Doutorado - UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Escola de Veterinária
Av. Antônio Carlos, 6627 -
Caixa Postal 567 – CEP 30123-970
Belo Horizonte – Minas Gerais
Telefone: (31) 3409-2057/2059(fax)
www.vet.ufmg.br
E-mail cap@vet.ufmg.br

Escola de Veterinária
UFMG

Dedico este trabalho à minha família, cerne da minha vida: aos meus amados pais Kleber e Silvana e à minha irmã, Luiza.

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, que com seu infinito amor tem me guiado, iluminado e transformado meu coração diariamente para que eu pudesse conquistar os frutos de Seu incondicional amor por mim ainda aqui na Terra. Agradeço também à minha mãe Virgem Maria, por seu amor, sua docilidade, seu colo e principalmente por ser presente de maneira tão sublime e sutil em todos meus momentos dessa jornada, sobretudo os momentos de lágrimas.

Aos meus pais, que além de me proporcionarem o dom da vida, me ensinaram o valor que possui um bom caráter. Encorajaram-me a jamais desistir e me ensinaram valores que os livros nunca poderão ensinar, sendo o maior deles, o amor. Eu os amo incondicionalmente.

À minha irmã, companheira integral de vida, de sonhos, de luta, de vitória. Todo amor por ela do mundo e toda admiração por ser fonte de sabedoria, paciência, doação e escuta. Amo você.

Aos meus familiares, pela convivência sempre harmoniosa, agradável e feliz. Sou grata a Deus pela minha avó querida, pelos meus tios e tias maravilhosos e pelos meus primos, sempre fantásticos e cheios de sorriso. Sou apaixonada por vocês.

Aos meus amigos verdadeiros, do SESI, do EJC SIL, da GOSPA MIRA, que nobremente aprenderam a me amar como sou. A eles toda gratidão, por reconhecerem a dimensão de meu coração, por me edificarem, por me fazerem ser melhor a cada dia. Um agradecimento especial ao Arthur, a Jayanna e ao Henrique, por me darem suporte na fase final dessa conquista. Amor, amor e amor.

À minha orientadora, Danielle, que nesses dois anos de trabalho, fez muito além de simplesmente orientar. Soube amar, soube cuidar, respeitar. Possuo infinita admiração pela sua trajetória profissional e sua inteligência, mas, sobretudo pelo ser humano maravilhoso e sensível que você é. Nos tempos de hoje, a sensibilidade é uma das maiores virtudes que alguém pode ter. Muito obrigada por me fazer crescer e por compartilhar comigo seus conhecimentos e suas experiências profissionais. Muito obrigada por me ensinar TANTO sobre a vida, sobre gentileza, sobre caráter, sobre retidão. Acredito que na vida nada seja coincidência, mas sim providência. Você foi a orientadora providente que Deus gentilmente me permitiu ter para que através disso, eu pudesse concretizar e viver todos os anseios do meu coração. Gratidão e amor!

Ao Edelberto, por ter me acolhido em seu espaço e por ter se disponibilizado a me acompanhar nessa trajetória. Obrigada por todos ensinamentos, obrigada por compartilhar conhecimento com uma ainda aprendiz. Meu caminho futuro, certamente é longo, mas sei que até aqui foram muitas as graças e conquistas e você indiscutivelmente, fez parte de muitas delas. A você Edelberto, a minha gratidão. Obrigada!

A todos os colaboradores do Laboratório de Leishmanioses do Centro de Pesquisas René Rachou, que me receberam e muito me ensinaram, em especial à Fabiana Lara, por todas contribuições técnicas, pela paciência, pelo olhar doce e sorriso sincero, que sempre me enchiam de esperança, força e alegria. Agradeço também à Andreza Maia, uma alma boa e disposta a ajudar, que se tornou uma grande amiga. Obrigada querida, você é uma profissional maravilhosa, competente e humilde. Esse trabalho não seria possível sem sua doação, parceria e boa vontade.

Às minas de Juacity, ou às minas da UFMG ou podem ser chamadas também de minas do meu coração. Tanto faz. O que importa é que a vida nos uniu pelo profissional, mas foi através de nossa afinidade, nossa amizade, nossa empatia que estivemos e permanecemos juntas, até o dia de hoje. Aline, Paloma e Sara: A escrita está embargada pela emoção de pensar em vocês. Obrigada queridas... Fui abençoada quando Deus me presenteou com uma equipe tão incrível para trabalhar. Estivemos juntas nos momentos mais difíceis, mas também nos momentos de riso fácil. Aline, obrigada pelo olhar terno e postura reta, sensata, sábia; Paloma, obrigada por ser minha amiga de fé, de luta, de história, de dor, de alegria. Obrigada por ser essa mulher de coração maior do mundo e por ser esse porto seguro quando meu coração precisa acalmar; Sara, um obrigada MUITO especial a você. Obrigada minha amiga, por dividir comigo todos seus conhecimentos, obrigada por ser generosa com minhas dificuldades, obrigada por ser ombro amigo quando eu preciso, obrigada por me compreender em minhas diferenças, obrigada por ser parceira em todos os momentos. Saiba que eu te admiro demais, você é uma pessoa maravilhosa. Meninas, eu amo vocês. Obrigada por tudo que representam em minha vida!

À prof. Consolação Magalhães, que ainda na PUC abriu meus olhares e também muitas portas para que eu pudesse me encontrar na área da Epidemiologia. Obrigada por ter acreditado em mim. Obrigada por ter confiado em mim. Tenho profunda admiração pela profissional competente, assim como pela pessoa maravilhosa que você é. Saudade e gratidão!

Ao prof. Pedro Lithg por ter sido o primeiro a me receber na UFMG e grande incentivador da minha carreira acadêmica. Muito obrigada por ter me recebido com tanta generosidade sem ao menos conhecer exatamente quem eu era. Obrigada por suas contribuições e ensinamentos. Exemplo de inteligência e sensatez. Muita admiração por você.

Ao prof. Rafael Nicolino, por sua genialidade, profissionalismo e inteligência. Obrigada por se doar ao nosso trabalho e sobretudo, pela generosidade em ensinar. Obrigada pela paciência, obrigada por todas as contribuições. Admiração e gratidão!

À Prefeitura Municipal de Saúde de Juatuba/Secretaria Municipal de Saúde/Vigilância Ambiental/Serviço de Controle de Zoonoses pelo apoio, colaboração e estrutura. Obrigada por participarem deste caminho conosco.

Aos amigos e parceiros da UFMG que fizeram do caminho ser mais leve, mais bonito. Obrigada Joana, Glenda, Mayara, Begalli, Helena, Suzane, Elen, Bruna, Felipe e Lívia. Em especial todo agradecimento à Gabriela e ao Gustavo, que me ajudaram prontamente durante toda execução do trabalho, obrigada também pela amizade e prontidão. Vocês dois são fantásticos. Obrigada por tudo.

Aos moradores de Juatuba que nos receberam tão bem, fazendo com que nos sentíssemos membros de suas próprias famílias. Toda gratidão a vocês que tanto nos ensinaram.

Ao Ministério da Saúde, pelo financiamento do projeto.

A todos que torceram e acreditaram em mim, muito obrigada!

"*Nem olhos viram, nem ouvidos ouviram, nem jamais penetrou em coração humano o que Deus tem preparado para aqueles que o amam.*" (1 Coríntios 2:9)

SUMÁRIO

RESUMO **16**
ABSTRACT **17**
1.INTRODUÇÃO **18**
2.OBJETIVOS **20**
3.REVISÃO DE LITERATURA **20**
3.1 Epidemiologia das leishmanioses 20
3.1.1 Leishmaniose Tegumentar 20
3.1.2 Leishmaniose Visceral 21
3.1.2.1 Agente etiológico 23
3.1.2.2 Reservatórios 24
3.2 Biologia, ecologia e sazonalidade de flebotomíneos 24
3.3 Leishmaniose Visceral Canina 27
3.4 Fatores de risco para Leishmaniose Visceral 28
3.5 Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV) 30
3.6 Geoprocessamento 32
4. MATERIAL E MÉTODOS **34**
4.1 Delineamento do estudo 34
4.1.1 Caracterização do município 34
4.1.2 Escolha das áreas estudadas 35
4.2 Estudo de flebotomíneos 36
4.2.1 Seleção das residências amostradas 36
4.2.2 Captura de flebotomíneos 37
4.2.3 Ficha de características ambientais 39
4.3 Triagem, acondicionamento, preparo, montagem e identificação de flebotomíneos 39
4.3.1 Triagem e acondicionamento flebotomíneos 39
4.3.2 Preparação para montagem de flebotomíneos: Clarificação 40
4.3.3 Montagem em lâminas dos flebotomíneos destinados à fauna 40
4.3.4 Montagem em lâminas das fêmeas destinadas à análise molecular para posterior identificação 41
4.3.5 Identificação dos espécimes 41
4.4 Estudo da infecção natural dos flebotomíneos 41
4.4.1 Extração de DNA das fêmeas capturadas para detecção da infecção natural 41
4.4.2 Detecção de infecção natural dos flebotomíneos por Leishmania spp.. 41
4.4.3 Análise dos produtos amplificados pela PCR 42
4.4.4 Sequenciamento SSUrRNA para determinação da espécie de Leishmania spp.. 42
4.4.5 Cálculo da Taxa de Infecção Natural 42

4.5 Dados climáticos 43
4.6 Inquérito sorológico canino 43
4.7 Análise Estatística 43
4.7.1 Análise Estatística Espacial 44
4.8 Aspectos Éticos 44
4.9 Apoio Financeiro 44
5.RESULTADOS 44
5.1 Estudo de flebotomíneos 44
5.1.1 Fauna 44
5.1.2 Comportamento dos flebotomíneos quanto a endofilia e exofilia 47
5.1.3 Detecção molecular de infecção natural por Leishmania spp. nas fêmeas de flebotomíneos 48
5.2 Influência das variáveis climáticas na população de flebotomíneos 50
5.3 Inquérito sorológico canino 52
5.4 Estudo espacial 52
5.4.1 Análise de Kernel 52
5.4.2 Análise de cluster - Função K 56
5.4.3 Lógica Fuzzy - Avaliação espacial entre os casos de LV canina e a densidade vetorial de Lutzomyia longipalpis 57
6. DISCUSSÃO 61
7. CONCLUSÕES 66
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS 67
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 68
10. ANEXOS 78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos flebotomíneos capturados no Satélite e Vila Maria Regina, Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016..... 45

Tabela 2 - Distribuição mensal dos flebotomíneos no Satélite e Vila Maria Regina, Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016..... 46

Tabela 3 - Distribuição dos flebotomíneos machos e fêmeas capturados no peridomicílio e intradomicílio nas áreas estudadas em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016..... 47

Tabela 4 - Distribuição da espécie *Lutzomyia longipalpis* de acordo com o sexo e localização da armadilha nos domicílios, capturada em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016..... 48

Tabela 5 - Detecção de DNA (SSUrRNA) de *Leishmania infantum* em flebotomíneos capturados no município de Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março 2016..... 49

Tabela 6 - Alinhamento das sequências das amostras positivas das fêmeas confirmando a presença de DNA de *Leishmania infantum* depositadas no BLAST..... 50

Tabela 7 - Distribuição dos cães domiciliados do Satélite e Vila Maria Regina segundo resultado sorológico para leishmaniose visceral canina, Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de março de 2015 a abril de 2016..... 52

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Particularidades dos aspectos ambientais encontrados nos pontos de captura de maior densidade vetorial e nos pontos de menor densidade vetorial no município de Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de março de 2015 a abril de 2016..... 59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Localização de Juatuba em relação aos municípios limítrofes da Região Metropolitana de Belo Horizonte..... 34

Figura 2 - Imagem vista por cima do município de Juatuba, Minas Gerais, Brasil..... 35

Figura 3 - Imagens do bairro Satélite, Juatuba, Brasil, Minas Gerais..... 35

Figura 4 - Imagens do bairro Vila Maria Regina, Juatuba, Brasil, Minas Gerais..... 36

Figura 5 - Exemplo de residências selecionadas de acordo com os critérios definidos. A – Presença bananeiras B- Presença de galinheiro C- Presença de árvores frutíferas, sombreamento e matéria orgânica..... 37

Figura 6 - Pontos de captura entomológica nas Áreas de estudo 1(Satélite) e 2(VMR) no mapa de divisão censitária do município de Juatuba, Brasil, Minas Gerais..... 38

Figura 7 - Armadilha luminosa tipo HP®. A – Intradomicílio B- Peridomicílio..... 39

Figura 8 - Esquema de direcionamento dos espécimes capturados no município de Juatuba, MG, Brasil, no período de abril de 2015 a março de 2016..... 40

Figura 9 - Coleta sanguínea através de venopunção cefálica..... 43

Figura 10 - Distribuição dos flebotomíneos capturados no Satélite e Vila Maria Regina, Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016..... 46

Figura 11 - Porcentagem de vetores da LTA, da LV e demais espécies capturadas no Satélite e Vila Maria Regina, Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016..... 46

Figura 12 - Porcentagem de flebotomíneos capturados no ambiente de peridomicílio e intradomicílio no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de Abril de 2015 a Março de 2016..... 47

Figura 13 - Distribuição dos flebotomíneos segundo gênero capturados no ambiente de peridomicílio e intradomicílio no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016..... 48

Figura 14 - Produtos de amplificação de DNA de flebotomíneos obtidos com iniciadores do gene genérico para *Leishmania* (SSUrRNA), visualizados após eletroforese em gel de agarose a 2% corado pelo brometo de etídio..... 49

Figura 15 - Índices de temperatura média mensal e densidade populacional mensal de flebotomíneos de abril de 2015 a março de 2016, no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil..... 51

Figura 16 - Índices de umidade relativa do ar mensal e densidade populacional de flebotomíneos mensal de abril de 2015 a março de 2016, no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil..... 51

Figura 17 - Índices de precipitação total mensal e densidade populacional de flebotomíneos mensal de abril de 2015 a março de 2016, no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil..... 51

Figura 18 - Distribuição espacial dos imóveis com a densidade de cães sororreagentes para LV no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016..... 53

Figura 19 - Distribuição espacial das residências de captura vetorial mostrando a densidade de flebotomíneos total no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016..... 54

Figura 20 - Distribuição espacial das residências de captura vetorial de acordo com a densidade de *Lutzomyia longipalpis* no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016..... 55

Figura 21 - Imagem em *zoom* do mapa de setores censitários de Juatuba mostrando os pontos de coleta vetorial e a densidade de *Lutzomyia longipalpis* no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba,

Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016..... 55

Figura 22 - Distribuição espacial das residências de captura vetorial mostrando a densidade dos vetores da Leishmaniose tegumentar americana no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016..... 56

Figura 23 - Imagem em *zoom* do mapa de setores censitários de Juatuba mostrando os pontos de coleta vetorial e a densidade dos vetores da Leishmaniose tegumentar americana no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016..... 56

Figura 24 - Gráfico da função K do Satélite mostrando significância da presença de *cluster* entre cães sororreagentes em Juatuba, Minas Gerais, Brasil..... 57

Figura 25 - Gráfico da função K do Vila Maria Regina mostrando significância da presença de *cluster* entre cães sororreagentes em Juatuba, Minas Gerais, Brasil..... 57

Figura 26 - Mapa dos setores censitários do bairro Satélite através do *Google Earth* utilizando a lógica *Fuzzy* para a expectativa de sobreposição de áreas, no município de Juatuba, Minas Gerais, Brasil..... 58

Figura 27 - Mapa dos setores censitários do bairro Vila Maria Regina através do *Google Earth* utilizando a lógica *Fuzzy* para a expectativa de sobreposição de áreas, no município de Juatuba, Minas Gerais, Brasil..... 58

Figura 28 - Presença de patos e galinhas no peridomicílio nos pontos de captura de maior densidade vetorial..... 60

Figura 29 - Presença de bananeiras, ocos de árvores e lenhas no peridomicílio e vegetação arbórea, pavimentação de terra e lotes vagos no entorno dos pontos de captura de maior densidade vetorial..... 60

Figura 30 - Peridomicílio com brita e grama, presença de galinheiro com poucas galinhas e no entorno dos pontos de menor densidade vetorial, presença de pavimentação de asfalto..... 60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA: Área de abrangência

BH: Belo Horizonte

BLAST: Basic Local Alignment Search Tool

CDC: Center for Disease Controle and Prevention

CEUA: Comitê de Ética no Uso de Animais

COEP: Comitê de Ética em Pesquisa

CPqRR: Centro de Pesquisas René Rachou

DMSO: Dimetil-Sulfóxido

DNA: Deoxyribonucleic Acid

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

GPS: Global Positioning System

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICC: Inquérito Censitário Canino

LnPCR: *Leishmania* Nested PCR

LV: Leishmaniose Visceral

LT: Leishmaniose Tegumentar

LTA: Leishmaniose Tegumentar Americana

LVC: Leishmaniose Visceral Canina

LVH: Leishmaniose Visceral Humana

MG: Minas Gerais

MS: Ministério da Saúde

OMS: Organização Mundial da Saúde

PCLV: Programa de Controle da Leishmaniose Visceral

RMBH: Região Metropolitana de Belo Horizonte

SCZ: Serviço de Controle de Zoonoses

SES: Secretaria Estadual de Saúde

SINAN: Sistema de Informação de Agravos de Notificação

SMS: Secretaria Municipal da Saúde

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TR-DPP: Teste Rápido Imunocromatográfico – Dual Path Platform

UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais

UTM: Universal Transversa de Marcator

VMR: Vila Maria Regina

WHO: World Health Organization

RESUMO

O estudo foi realizado em Juatuba, Minas Gerais, cujos dados anteriores de casos das leishmanioses humana e canina apontam para um perfil complexo dessa doença no município. Objetivou-se estudar a fauna flebotomínica, os aspectos epidemiológicos, climáticos e ambientais relacionados à transmissão das leishmanioses no município, além de correlacionar as variáveis de estudo com a prevalência de leishmaniose visceral canina (LVC). Foi realizado um estudo epidemiológico prospectivo de coleta sistemática de flebotomíneos e inquérito sorológico canino no período de abril de 2015 a março de 2016. O estudo entomológico foi realizado em duas áreas de estudo, a saber: Área 1 – Satélite, contemplou os bairros Satélite I e II e Área 2- Vila Maria Regina (VMR), contemplou os bairros VMR I e II. Foram instaladas 24 armadilhas luminosas em 12 residências distribuídas nas duas áreas de estudo. Em cada ponto de captura foram instaladas duas armadilhas, localizadas no intradomicílio e peridomicílio. As coletas se deram de maneira sistemática, na última semana de cada mês, durante 12 meses. Para análise dos aspectos climáticos, utilizou-se a correlação simples de *Spearman* para cada par de variáveis e para análise espacial foram utilizados a estimativa de Kernel, a função K e a lógica *Fuzzy*. Para determinar a taxa de prevalência de LVC, foram coletadas amostras de sangue de cães das duas áreas estudadas para realização do teste diagnóstico de triagem TR-DPP e teste diagnóstico sorológico confirmatório ELISA. Em relação ao estudo entomológico, foram capturados 431 flebotomíneos, sendo 69% machos e 74% do total provenientes do peridomicílio. A espécie *Lutzomyia longipalpis* foi capturada em maior número (44%). Em relação à infecção natural, das 89 fêmeas submetidas a análise por PCR, 5,6% apresentaram positividade à infecção por *Leishmania* spp.. Dessas, 100% das fêmeas apresentaram-se infectadas por *Leishmania infantum* e pertenciam ao VMR. Em relação aos fatores climáticos, a variável temperatura média apresentou correlação positiva ($p<0,05$) com a variação da densidade vetorial mensal e a umidade relativa apresentou correlação negativa ($p<0,05$). A variável precipitação mensal apresentou correlação negativa em relação à densidade vetorial mensal, sem significância estatística. O inquérito canino foi realizado em 1.752 cães, 1163 foram do Satélite e 589 do VMR, com a taxa de prevalência de 4,12% e 7,13%, respectivamente, com diferença significativa entre as áreas. As duas áreas do município apresentaram condições ambientais favoráveis para a manutenção das leishmanioses, sobretudo da LVC, com o encontro de *Lu. longipalpis*, presença da infecção canina e detecção de *Le. infantum* em vetores, indicando que a interface parasito-reservatório-vetor está ativa nas áreas estudadas. As ações de vigilância e controle devem ser direcionadas principalmente ao VMR, uma vez que apresentou sítios de reprodução vetorial e as análises indicaram ser uma área mais favorável ao acometimento da leishmaniose visceral, devido a maior densidade vetorial, maior positividade canina, presença da infecção vetorial por *Le. infantum* e condições ambientais com elevada presença de fatores de risco.

Palavras-Chave: entomologia, psychodidae, zoonoses, cães, leishmaniose cutânea, leishmaniose visceral.

ABSTRACT

The study was conducted in Juatuba, Minas Gerais, whose previous data from human and canine leishmaniasis point to a complex profile of this disease in the municipality.The main objective was to study the phlebotominae fauna, the epidemiological, climatic and environmental aspects related to the transmission of leishmaniasis, in the city and to correlate the study variables with the prevalence of canine visceral leishmaniasis (CVL). A prospective epidemiological study of systematic sampling of phlebotomine and canine serological survey was carried out from April 2015 to March 2016. The entomological study was carried out in two study areas,namely: Area 1 - Satelite I and II; Area 2 - Vila Maria Regina (VMR) contemplated the neighborhoods VMR I and II. Twenty-four light traps were installed in 12 residences distributed in the two study areas. At each capture point, two traps were installed, located in the intradomicile and peridomicile. The collections were done systematically, in the last week of each month, for 12 months. For the analysis of the climatic aspects, we used the simple Spearman correlation for each pair of variables and for spatial analysis we used Kernel estimation, K function and Fuzzy logic. To determine the prevalence rate of CVL, blood samples were collected from dogs distributed in two study areas, to perform the TR-DPP screening test and the ELISA confirmatory serological diagnostic test. In relation to the entomological study, 431 sandflies were captured, being 69% male and 74% of the total coming from the peridomicile. The species Lutzomyia Longipalpis *was captured in greater numbers (44%). Regarding the natural infection, of the 89 females submitted to PCR analysis, 5.5% presented positivity to the infection by Leishmania* sp. *Of those, 100% of the females were infected with* Leishmania infantum *and belonged to the VMR. Regarding climatic factors, the mean temperature variable presented a positive correlation ($p < 0.05$) with the monthly vector density variation and the relative humidity presented negative correlation ($p < 0.05$). The monthly precipitation variable presented a negative correlation in relation to the monthly vector density, with no statistical significance. The canine survey was performed in 1.752 dogs, 1163 were from Satelite and 589 from VMR, with a prevalence rate of 4.12% and 7.13%, respectively, being this significant difference between the areas. The two areas of the municipality presented favorable environmental conditions for the maintenance of leishmaniasis, especially CVL, with* Lu. longipalpis, *presence of canine infection and* Le. infantum *detection in vectors, indicating that the parasite-reservoir-vector interface is active in the studied areas. Surveillance and control actions should be directed mainly to the VMR, since it presented vectorial breeding sites and the analyzes indicated to be an area more favorable to the affection of visceral leishmaniasis, due to greater vector density, greater canine positivity, presence of vector* Le. infantum *and environmental conditions with high presence of risk factors.*

Keywords: entomology, psychodidae, zoonoses, dogs, leishmaniasis visceral, leishmaniasis cutaneous.

1. INTRODUÇÃO

As leishmanioses são um complexo de doenças de grande interesse na saúde pública, causadas por protozoários do gênero *Leishmania* (WHO, 1988) e estão presentes em quatro continentes, sendo endêmica em 98 países. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), há uma estimativa de que 350 milhões de pessoas estejam em risco de contrair alguma forma clínica das leishmanioses (PAHO, 2015).

Existem duas formas clínicas básicas conhecidas das leishmanioses, são a leishmaniose tegumentar e a leishmaniose visceral. Cada uma possui suas respectivas espécies de *Leishmania* envolvidas e seus vetores incriminados na transmissão dos protozoários (WHO, 2015).

As leishmanioses encontram-se em fase de franca expansão geográfica. Análises de estudos epidemiológicos realizados nas últimas décadas demonstram mudanças no perfil de transmissão da doença, que antes era considerada zoonose de animais silvestres e agora está presente em zonas rurais desmatadas e regiões periurbanas. Destaca-se a crescente urbanização da forma visceral, principalmente para grandes centros urbanos (BRASIL, 2009).

Os vetores das leishmanioses são insetos pertencentes à ordem Díptera, família Psychodidae, sub-família Phlebotominae. No Velho Mundo pertencem ao gênero *Phlebotomus* e no Novo Mundo (Américas), ao gênero *Lutzomyia* (Lewis, 1971). Nas Américas o gênero *Lutzomyia* é o mais importante, com mais de 400 espécies identificadas, mas destas, pouco mais de 50 estão envolvidas na transmissão da *Leishmania* (PAHO, 2015).

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é considerada pela OMS, uma das doenças infectoparasitárias endêmicas de maior relevância em saúde pública no Brasil, além de possuir ampla distribuição geográfica (BRASIL, 2010). No Brasil, participam do ciclo da LTA uma diversidade de agentes, de reservatórios e de vetores que apresentam diferentes padrões na transmissão da doença. Há um conhecimento ainda limitado sobre alguns aspectos, o que a dificulta o controle da doença. É uma das afecções dermatológicas que merece mais atenção no país, devido à sua magnitude e também pelo envolvimento psicológico gerado pela ocorrência de deformidades, gerando impactos no campo social e econômico (BRASIL, 2007).

Os mais frequentes gêneros de *Leishmania* responsáveis pela LTA no Brasil são *Leishmania (Viannia) guyanensis*, *Le. (Viannia) braziliensis*, e *Le. (Le.) amazonensis* (Vale e Furtado, 2005). As espécies de flebotomíneos que foram incriminadas como vetores da LTA são *Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia* (Lutz e Neiva, 1912), *Lu. (Nyssomyia) whitmani* (Antunes e Coutinho, 1939), *Lu. (Pintomyia) fisheri* (Pinto,1926), *Lu. (Pintomyia) pessoai* (Coutinho e Barreto, 1940), *Lu. migonei* (França, 1920) *e Lu. (Nyssomyia) flaviscutellata* (Mangabeira Filho, 1942) (Lainson e Rangel, 2003). No entanto, as espécies *Lu. flaviscutellata*, *Lu. whitmani*, *Lu. umbratilis*, *Lu. intermedia*, *Lu. wellcomei* e *Lu. migonei* são consideradas de maior importância no Brasil (BRASIL, 2007). Em relação aos reservatórios naturais, há várias espécies de animais silvestres envolvidos, como roedores, marsupiais e canídeos silvestres (BRASIL, 2009; Quaresma *et al*., 2012). Animais domésticos como cães, gatos e equídeos podem atuar como hospedeiros acidentais (Gontijo, 2002).

A leishmaniose visceral (LV) ou calazar é uma zoonose endêmica de grande importância na saúde pública. De acordo com a OMS, estima-se que no mundo mais de 500.000 casos novos de LV surgem a cada ano e que o Brasil contribui com cerca de 90% dos registros de leishmaniose visceral humana (LVH), sendo considerada endêmica em 72 países (BRASIL, 2014). A LV é uma doença de notificação compulsória, de caráter sistêmico, caracterizada por febre, perda de peso, astenia, hepatoesplenomegalia, anemia, dentre outros sintomas, sendo considerada uma doença fatal, se não tratada (Desjeux, 2004; BRASIL, 2014). A LV é causada

pelo protozoário *Le. (Le.) infantum*, seu principal vetor é o flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* (Deane, 1958; Lainson e Rangel, 2005) e o principal reservatório no ambiente doméstico e peridoméstico é o cão (*Canis familiaris*). Dessa maneira, o vetor e o reservatório contribuem com o ciclo de manutenção da doença (França- Silva *et al*., 2005).

A atividade dos flebotomíneos é crepuscular e noturna. O flebotomíneo *Lu. longipalpis*, vetor responsável pela LV, abriga-se em locais úmidos e sombrios, desenvolvendo-se em solo com matéria orgânica em decomposição. Apenas as fêmeas são hematófagas, com hábitos alimentares oportunistas, podendo se alimentar em diferentes espécies de mamíferos tais como suínos, cães, equinos, bovinos e roedores, além de aves domésticas, como as galinhas, que são a fonte preferencial desses insetos (Aguiar *et al*.,1987; Barata *et al.*, 2005; Missawa, Lorosa e Dias, 2008). A busca por fontes de alimentação é uma resposta comportamental que afeta a reprodução e a densidade populacional das espécies. Fêmeas requerem sangue de vertebrados para a maturação de seus ovos. Dessa maneira, dependendo do grau de adaptação às condições ambientais modificadas pelo homem, algumas espécies podem ser mais facilmente encontradas em ambientes peridomiciliares que outras. A espécie *Lu. longipalpis* tem se adaptado facilmente aos diversos tipos de ambiente, podendo picar o ser humano tanto no intradomicílio como no peridomicílio (Young e Arias, 1992; Barata *et al*., 2005; Rangel e Vilela, 2008; Dias *et al*., 2011).

A epidemiologia da LV é complexa e dinâmica, no qual muitos fatores ambientais são considerados de risco para a doença. Alguns estudos demonstraram que lixo exposto (não aterrado), o não recolhimento de lixo pelo sistema público, a presença de galinheiro, de cães na residência bem como roedores, patos e passarinhos, são fatores de risco para a infecção por *Le. infantum* (Moreno *et al*., 2005; Borges *et al*., 2009; Coura-Vital *et al*., 2013a). Além disso, a presença de vegetação, raízes e troncos de árvores e matéria orgânica no solo, são também considerados fatores de risco para a doença, uma vez que esses elementos são possíveis abrigos e criadouros do vetor (Camargo-Neves *et al*., 2001).

O Programa de Controle e Vigilância da leishmaniose visceral (PCV-LV) tem como objetivo central orientar ações de prevenção e controle voltados à tríade envolvida na epidemiologia da LV, hospedeiro (homem), reservatório (cão) e vetor (flebotomíneo). O presente estudo atuou em um dos pilares do programa, a vigilância e o monitoramento entomológico, tendo como base o protocolo preconizado pelo Ministério da Saúde (MS) (BRASIL, 2014), uma vez que a urbanização do vetor *Lu. longipalpis* é atualmente um dos maiores obstáculos enfrentados pelos programas de controle (PAHO, 2015).

O presente estudo foi desenvolvido no município de Juatuba que está localizado na porção central do estado de Minas Gerais (MG), posicionado a 45 km de Belo Horizonte (BH), integrando a região metropolitana da capital. Estudos realizados no município anteriormente apontaram para a possibilidade de um perfil complexo e dinâmico das leishmanioses em Juatuba, sobretudo pela presença recorrente da LTA em humanos e da LV canina, que tem mantido altas taxas de prevalência ao longo dos anos. Nenhuma pesquisa em relação à fauna vetorial havia sido desenvolvida anteriormente, por isso fez-se necessário maior conhecimento da biologia vetorial e do comportamento das espécies de flebotomíneos frente aos eventos e aspectos ambientais e climáticos particulares do município.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudar aspectos epidemiológicos e ambientais relacionados à transmissão das leishmanioses no município de Juatuba, MG – Brasil, 2015 – 2016.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar as espécies de flebotomíneos presentes nas áreas estudadas;

- Estudar o comportamento das espécies de flebotomíneos com relação à endofilia e a exofilia;

- Identificar os flebotomíneos infectados por meio de exame molecular e caracterizar as espécies circulantes de *Leishmania* spp. nas áreas estudadas;

- Caracterizar molecularmente a(s) espécie(s) de *Leishmania* nos flebotomíneos infectados;

- Estabelecer a flutuação mensal das espécies de flebotomíneos e correlacioná-la com variáveis climáticas (temperatura, umidade relativa do ar e pluviosidade);

- Determinar a soroprevalência da LV em cães das áreas estudadas submetidos ao inquérito sorológico no ano de 2015;

- Avaliar a relação espacial entre os casos positivos caninos de LV com a distribuição espacial dos vetores capturados nos meses estudados;

- Comparar as áreas de estudo em relação à densidade vetorial, prevalência canina para LV e características ambientais com a presença de fatores de risco.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Epidemiologia das leishmanioses

3.1.1 Leishmaniose Tegumentar

A LT é uma doença infecciosa, não contagiosa, causada por diferentes espécies de protozoários do gênero *Leishmania*, que acomete pele e mucosas. A LT constitui um problema de saúde pública em 88 países, distribuídos em quatro continentes (Américas, Europa, África e Ásia), com registro anual de 1 a 1,5 milhões de casos, sendo considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), como uma das seis mais importantes doenças infecciosas, pelo seu alto coeficiente de detecção e capacidade de produzir deformidades (BRASIL, 2007).

A LT tem distribuição mundial de caráter difuso e no Continente Americano há registros de casos desde o extremo sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina com exceção do Chile e Uruguai (BRASIL, 2010). A doença acomete a cada ano milhares de indivíduos, causando desde as infecções subclínicas, até as formas mucosas graves e mutilantes.

Estima-se 12 milhões de pessoas doentes e são esperados 2 milhões de novos casos a cada ano (Shaw, 1994).

No Brasil, a LTA ocorre em ambos os sexos em todas as faixas etárias, entretanto a idade média no país predominantemente acometida é acima de 10 anos, representando 90% dos casos e o sexo masculino compreende 74% dos casos (BRASIL, 2007). As principais espécies vetoras envolvidas na transmissão da LTA no país, são: *Lu. flaviscutellata, Lu. whitmani, Lu. umbratilis, Lu. intermedia, Lu. wellcome e Lu. migonei* (BRASIL, 2010), sendo a *Lu. intermedia* a espécie mais adaptada ao ambiente sinantrópico (Lainson e Rangel, 2003).

Nas últimas décadas, análises epidemiológicas têm sugerido mudanças no padrão de transmissão da doença, inicialmente considerada zoonose de animais silvestres, que acometia ocasionalmente pessoas em contato com as florestas. Posteriormente, a doença começou a ocorrer em zonas rurais, desmatadas e em regiões periurbanas. Observa-se a existência de três perfis epidemiológicos: a) Silvestre – em que ocorre a transmissão em áreas de vegetação primária (zoonose de animais silvestres); b) Ocupacional ou lazer – em que a transmissão está associada a exploração desordenada da floresta e derrubada de matas para construção de estradas, extração de madeira, desenvolvimento de atividades agropecuárias (antropozoonose) e c) Rural ou periurbana – em áreas de colonização (zoonose de matas residuais) ou periurbana, em que houve adaptação do vetor ao peridomicilio (zoonose de matas residuais e/ou antropozoonose) (BRASIL, 2010).

No Brasil, o primeiro registro de possível caso da doença foi em 1895 com o chamado "botão da Bahia", porém somente em 1909 o protozoário foi isolado em úlceras cutâneas, com a chamada "úlcera de bauru". O papel do flebotomíneo na transmissão da doença se deu somente em 1922. Desde então, a transmissão da doença vem sendo descrita em muitos municípios. Os atuais registros de LTA no Brasil indicam que de 2010 a 2015 foram notificados 124.840 casos, sendo a maioria proveniente da região Nordeste. Em relação à região Sudeste, o estado de MG é o que possui maior número de registros, sendo notificados em 2015, 1.230 casos de LTA (MS, 2016). No município de Juatuba, foram notificados 45 casos de LTA no período de 2001 a 2015, segundo o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) (SINAN, 2016).

A LTA é uma das afecções dermatológicas que mais necessita de atenção, devido sua magnitude, risco de deformidades e envolvimento psicológico que impactam diretamente no campo social e econômico. Além disso é uma doença de ampla dispersão, estando distribuída em todas as regiões brasileiras (BRASIL, 2007).

3.1.2 Leishmaniose Visceral

A LV é causada por parasitos da Ordem Kinetoplastida, Família Trypanosomatidae, gênero *Leishmania* (Ross, 1903). No mundo são descritos dois padrões epidemiológicos das doenças. Na África e no Sul da Ásia, a LV é uma antroponose, onde a doença é transmitida pelo vetor de homem a homem e seu agente etiológico é a *Le. (Le.) donovani*, transmitida por vetores do gênero *Phlebotomus* (Alvar *et al*., 2004; WHO, 2015). Na Europa e nas Américas a LV é uma zoonose, sendo o homem considerado hospedeiro acidental da doença e os reservatórios da LV pertencem a um grupo específico de mamíferos da família *Canidae*, sobretudo cães, raposas e lobos, podendo envolver outros animais como reservatórios secundários, como marsupiais e roedores (BRASIL, 2014). No meio urbano, os cães são os principais reservatórios do parasito, exercendo importante papel na epidemiologia de transmissão da doença para humanos e na manutenção do parasito nos focos endêmicos (Lainson e Shaw, 1978; Silva *et al*., 2001). Os cães e raposas podem apresentar intenso parasitismo cutâneo, o que permite a infecção dos flebotomíneos (Deane e Deane, 1954). O agente etiológico da LV

é a *Le. (Le.) infantum*, transmitida por vetores do gênero *Phlebotomus* e *Lutzomyia* (Deane, 1958; Alvar *et al*., 2004). No Brasil, a LV é transmitida por flebotomíneos da espécie *Lu. longipalpis*(Lutz e Neiva, 1912). O vetor *Lu. cruzi* também foi identificado em focos de transmissão no país (BRASIL, 2014).

No mundo cerca de 98 países são endêmicos para as leishmanioses e há cerca de 0,5 milhões de novos casos de LV e 1,5 milhões de novos casos de LTA anuais no mundo (WHO, 2014). Aproximadamente 90% dos casos notificados de LV no mundo ocorrem em Bangladesh, Índia, Nepal, Brasil e Sudão (WHO, 2015). Nas Américas, cerca de 90% dos casos humanos de LV foram registrados no Brasil sendo que em 22 dos 27 estados da federação já ocorreram casos autóctones (Werneck, 2010; WHO, 2015).

A LV no Brasil estava inicialmente associada a áreas rurais, mas devido às diversas alterações no ambiente como, desmatamentos, urbanização e denso processo migratório, ocorreu a expansão da doença das áreas endêmicas, levando à sua urbanização, principalmente nas regiões Sudeste e Centro Oeste do país (Monteiro *et al*., 2005). O primeiro caso registrado da doença no Brasil ocorreu em 1913, em um paciente proveniente de Boa Esperança, Mato Grosso (Alencar *et al*., 1991). O início da urbanização da LV no Brasil se deu em Teresina no estado do Piauí, com mais de 1000 casos relatados de 1981 a 1986 (Costa *et al*., 1990). O perfil epidemiológico atual da doença está associado à sua ocorrência em grandes cidades (Rangel e Vilela, 2008).

Na Região Metropolitana de Belo Horizonte (RMBH), o primeiro caso autóctone de LV confirmado foi em 1989, no município de Sabará. A urbanização na ocorrência das leishmanioses na RMBH pode ser explicada pelo aumento de áreas periféricas, ao intenso desmatamento e à ação antrópica, ao crescente número de cães e também a capacidade de expansão rápida das doenças, sobretudo quando em áreas não endêmicas (Bevilacqua *et al*., 2001; Luz, 2001). A maior parte das notificações é proveniente da capital e dos municípios Contagem, Nova Lima, Ibirité, Santa Luzia, Vespasiano, Juatuba, Sabará e Ribeirão das Neves (Luz *et al*., 2001).

BH é classificada como área endêmica para LV (Quaresma *et al*., 2009). O primeiro caso de LV foi confirmado em 1994, na região Leste do município, desde então, houve rápida disseminação da doença, com registros de casos nas regiões limítrofes. Atualmente a LV ocorre em todas as regiões da cidade (Oliveira *et al*., 2001; PBH, 2015) e demonstra expansão para áreas de altitudes mais elevadas, tanto para os casos de LVC quanto de LVH (Menezes, 2011).

Juatuba é classificada como área de transmissão esporádica, de acordo com os critérios de classificação de áreas para vigilância e controle da LV do MS (Borges, 2011). Estudos realizados *a priori* verificaram alta prevalência de LVC na maioria dos bairros, sobretudo em áreas de baixa densidade populacional canina (Borges *et al*., 2014; Lopes *et al*., 2016). Além disso, constatou-se que o município apresenta condições ambientais favoráveis à manutenção da LV com predomínio de peridomicílio e arredores com presença abundante de vegetação, matéria orgânica, diversidade de animais e deficiência de saneamento básico (Lopes, *et al*., 2016).

No período de 2001 a 2015, quatro casos de LV foram registrados no município, sendo que o último caso notificado foi em 2012 (SINAN, 2016), residente do bairro Vila Maria Regina (Comunicação Pessoal)[1]. A proximidade de Juatuba com municípios endêmicos, associada às condições climáticas, à presença de características ambientais favoráveis, assim como a falta de

[1] Informação fornecida pela Coordenação do Serviço de Controle de Zoonoses, Prefeitura Municipal de Juatuba, Secretaria Municipal de
Saúde, Divisão de Vigilância à Saúde, Serviço de Controle de Zoonose; Janeiro de 2016.

controle quanto ao trânsito de cães de outras localidades, representam fatores que contribuem para o risco de expansão e manutenção da LV no município.

3.1.2.1 Agente etiológico

A LV é uma doença antropozoonótica causada por protozoários do gênero *Leishmania*, que são parasitos intracelulares obrigatórios das células do sistema mononuclear fagocítico pertencentes à ordem Kinetoplastida e família Trypanosomatidae, são eles: *Le. (Leishmania) donovani* e *Le. (Leishmania)infantum* (= *Le. (Leishmania)chagasi*) todos pertencentes ao complexo *Le.* (*Leishmania) donovani* (Lainson e Shaw, 1987; Lainson e Shaw, 2005). No Novo Mundo, a *Le.* (*Leishmania*) *infantum* é o agente etiológico comumente isolado em pacientes com LV. Estudos utilizando técnicas bioquímicas e moleculares consideram a *Le. chagasi* e a *Le. infantum* uma única espécie, sendo consideradas sinonímias (Maurício *et al*., 2000), no entanto levando em consideração que a denominação *Le. infantum* tem prioridade cronológica sobre *Le. chagasi*, neste trabalho, utilizaremos a denominação específica *Le. infantum*.

A classificação taxonômica do parasito causador da LV *Le.* (*Leishmania*) *chagasi* foi proposta por Cunha e Chagas em 1937 (BRASIL, 2014):

- Reino: Protista (Haeckel, 1866)
- Sub-reino: Protozoa (Goldfuss, 1817)
- Filo: Sarcomastigophora (Honigberg & Balamuth, 1963)
- Subfilo: Mastigophora (Deising, 1866)
- Classe: Zoomastigophorea (Calkins, 1909)
- Ordem: Kinetoplastida (Honigberg, 1963, emend. Vickerman, 1976)
- Sub-ordem: Trypanosomatina (Kent, 1880)
- Família: Trypanosomatidae (Dofein, 1901, emend. Grobben 1905)
- Gênero: *Leishmania* (Ross, 1903)
- Sub-gênero: *Leishmania* (Saf 'yanova, 1982)
- Espécie: *chagasi* (Cunha & Chagas, 1937).

O gênero *Leishmania* é dividido em dois subgêneros, *Leishmania* e *Viannia*, e compreende 22 espécies patogênicas ao homem, das quais 15 têm sido identificadas nas Américas (PAHO, 2013). Existem duas formas principais durante o ciclo de vida do parasito, sendo, promastigotas, que são formas flageladas e extracelulares, presentes no trato digestivo do inseto vetor e nos meios de cultura, e as amastigotas que são formas não-flageladas e intracelulares obrigatórias, encontradas em monócitos e macrófagos dos hospedeiros vertebrados (Secundino *et al*., 2005). Durante o processo de repasto sanguíneo, os flebotomíneos inoculam na pele do hospedeiro juntamente com a saliva, as formas promastigotas do parasito. As células do sistema mononuclear fagocítico do hospedeiro incorporam estas formas, que se transformam em amastigotas e começam a se multiplicar, infectando novas células quando a célula hospedeira primária se rompe. Ao se alimentar em um hospedeiro infectado, o flebotomíneo ingere os macrófagos contendo as formas amastigotas, que após atingirem o tubo digestivo se transformam em promastigotas e se multiplicam progressivamente, passando por mudanças morfológicas e fisiológicas até se transformarem em formas promastigotas metacíclicas, que são as formas infectantes para o hospedeiro vertebrado no momento do segundo repasto sanguíneo realizado pelo flebotomíneo (Lainson e Rangel, 2003).

A *Le. (Leishmania) infantum* (Nicole, 1908) encontrada em parte do continente asiático, africano e europeu é o agente etiológico de uma antrozooponose de canídeos silvestres (raposas e chacais), tendo o cão como principal reservatório doméstico do protozoário, podendo atingir acidentalmente o homem, principalmente crianças, idosos e pessoas imunossuprimidas

(Control..., 2010). Para se elucidar a dinâmica e distribuição da doença, é necessário conhecer amplamente todos os aspectos envolvidos na tríade epidemiológica de transmissão da LV.

3.1.2.2 Reservatórios

O pesquisador Shaw (1988) reconhece dois tipos principais de hospedeiros envolvidos na transmissão da LV. O primeiro, denominado hospedeiro primário (reservatório), além de hospedar o parasito no ambiente silvestre seria ainda responsável por sua manutenção, independente da coexistência com outro hospedeiro. O segundo, conhecido como hospedeiro secundário, diferente do primário, seria uma espécie que apenas hospeda o parasito, porém é incapaz de manter o ciclo enzoótico indefinidamente (Silva, 2015).

O cão (*Canis familiaris*) é considerado hospedeiro primário, ou seja, reservatório e principal fonte de infecção na área urbana do Brasil para a LV, sendo apontado por Deane (1956) não só como reservatório doméstico da doença, mas como elo fundamental na manutenção da cadeia epidemiológica da LV. A enzootia canina tem precedido a ocorrência de casos humanos e a infecção em cães tem sido mais prevalente que no homem (BRASIL, 2014). Além disso, sua importância vem sendo observada em algumas cidades brasileiras, pelo aumento do número de casos humanos, já que estes tem correlação com a ampliação da ocorrência de casos de LVC (Bevilaqua *et al*., 2001; França-Silva *et al*., 2003; Monteiro *et al*., 2005).

No ambiente silvestre, os reservatórios são os canídeos silvestres (*Lycalopex vetulus* e *Cerdocyon thous*) e os marsupiais (*Didelphis albiventris*), sendo que ao contrário dos cães, a grande maioria das infecções naturais em animais silvestres parece assintomática (Quinnell e Courtenay, 2009; Guia..., 2009). A infecção natural em roedores (Freitas, 2010) e gatos (Costa *et al*., 2010) também tem sido descritas no Brasil, no entanto, pouco se sabe sobre a importância epidemiológica destes animais como reservatórios urbanos da doença. Particularmente em gatos, a maioria dos estudos detectam baixas cargas parasitárias, não sendo detectada infecção por métodos parasitológicos (Silva *et al*., 2008).

Somente o encontro de DNA de *Leishmania* em uma espécie não é o suficiente para incriminá-la como reservatório da doença. Muitos são os fatores envolvidos e devem ser considerados, como por exemplo, o desenvolvimento e multiplicação do parasito bem como prevalência a do mesmo no hospedeiro, além da capacidade de infectar o flebotomíneo, dentre outros (Silva *et al*., 2005).

3.2 Biologia, ecologia e sazonalidade de flebotomíneos

Os flebotomíneos são insetos dípteros medindo de 2 a 3 mm, de intensa pilosidade pelo corpo, holometábolos, possuindo fases de ovo, larva (quatro estádios), pupa e adulto. A duração de cada estádio larval vai variar de acordo com a espécie, disponibilidade de alimentação e condições climáticas (Lainson e Rangel, 2003). Ao longo dos anos, intensas pesquisas foram desenvolvidas a respeito das formas imaturas dos flebotomíneos, no entanto os criadouros naturais dos flebotomíneos são muito difíceis de serem encontrados e identificados (Lainson e Rangel, 2003; Feliciangeli, 2004), o que limita o raio de ação profilático ao vetor, sendo por isso, atualmente destinado somente à sua forma adulta. Um estudo realizado na Vila Pitinga, município de Presidente Figueiredo, em Manaus investigou sítios de reprodução em micro habitats através das técnicas de peneiramento por flutuação, exame direto e gaiolas de emergência. Os resultados revelaram criadouros em cinco habitats diferentes, sendo, base de árvores, solo florestal, solo abaixo de troncos caídos, solo abaixo de raízes e bases de palmeiras. A abundância das amostras imaturas foi significativamente maior em bases de árvores do que em áreas abertas não próximas às bases arbóreas (Alencar *et al*., 2011). Em outro estudo

realizado por Sangiorgi *et al.* (2012) em Cavunge na Bahia, foi pesquisada a presença de criadouros em ambientes específicos, através da coleta de amostra de solo em cinco casas. Em todas as amostras coletadas, encontraram-se formas imaturas de flebotomíneos. Os criadouros naturais identificados foram solo coberto por fezes de galinhas, troncos e raízes de árvores, solo entre cavidades rochosas e rachaduras em torno de tanques de água e em locais de pouca luminosidade no interior de residências (cavidades nas paredes, chão e em jarros de argila).

A alimentação dos flebotomíneos, além de compreender a hematofagia necessária para as fêmeas na maturação dos ovos e demais funções vitais, compreende também para ambos os sexos, os carboidratos, advindos de néctares de flores, frutos, e plantas. O carboidrato é utilizado principalmente como fonte de energia, mas possui funções relacionadas à maturação dos ovários além de participar no desenvolvimento das leishmânias no tubo digestivo (Lainson e Rangel, 2003).

A atividade dos flebotomíneos é crepuscular e noturna. Eles se abrigam em locais úmidos e sombrios, desenvolvendo-se em solo com matéria orgânica em decomposição. Apenas as fêmeas são hematófagas, com hábitos alimentares oportunistas, podendo se alimentar em diferentes espécies de mamíferos e aves encontrados no peridomicílio, tais como suínos, cães, galinhas, equinos, bovinos e roedores. Os vetores da LTA e da LV se adaptam facilmente a variadas temperaturas e podem picar o homem tanto no intra como no peridomicílio (Barata *et al.*, 2005; Dias *et al*.; 2011). Segundo Deane e Deane (1955), ao observarem a influência das variáveis climáticas na população de *Lu. longipalpis*, eles constataram que no período chuvoso há um incremento da densidade populacional do vetor além de favorecer a sobrevivência da espécie. De acordo com o MS o período de maior transmissibilidade da LV no Brasil ocorre durante e logo após a estação chuvosa, quando está previsto o aumento da densidade populacional do inseto (BRASIL, 2009). No entanto, segundo Salomón *et al.* (2015) cada área geográfica possui um contexto próprio que define a dinâmica de risco de determinada localidade, dessa forma a abundância vetorial irá depender não somente das variações climáticas, como também de fatores bióticos e abióticos e da plasticidade biológica das espécies, não devendo assim ser os dados extrapolados como características da espécie, pois para cada localidade há um cenário particular.

Um estudo realizado em 1997, estabeleceu uma colônia de *Lu. lenti* através de fêmeas capturadas em galinheiros da área rural de Betim, Minas Gerais, por meio de armadilhas luminosas do tipo CDC. A colônia apresentou um tempo médio de ciclo completo de 40 dias na temperatura de 26º a 28ºC e umidade relativa de aproximadamente 85%. A alimentação das fêmeas era realizada em camundongos. Os achados deste estudo sugeriram ser a espécie *Lu. lenti* refratária à infecção por *Leishmania* (Brazil *et al*., 1997).

Estudos realizados no norte de MG têm demonstrado altos índices na presença de flebotomíneos. Em um estudo conduzido por Monteiro *et al.* (2005) em Montes Claros, MG, foi realizado pesquisa entomológica durante doze meses através de armadilhas luminosas, tipo CDC em dez bairros do município. As armadilhas foram dispostas de maneira sistemática sendo duas em cada residência. Ao total foram capturados 1043 exemplares, sendo 69,7% machos. A espécie *Lu. longipalpis* foi capturada em maioria (74%). Em relação ao comportamento dos flebotomíneos, 65% foram capturados no peridomicílio. Outro estudo de levantamento entomológico e infecção natural realizado em Janaúba, MG, selecionou 15 distritos, sendo um domicílio em cada um deles, durante o período de 24 meses, utilizando duas armadilhas luminosas do tipo HP[2] em cada ponto. Foram capturados 14.591 flebotomíneos, sendo 74% machos de oito espécies e a espécie *Lu. longipalpis* foi encontrado em maior número. Os

[2] Pugedo, *et al*. HP: um modelo aprimorado de armadilha luminosa de sucção para a captura de pequenos insetos.Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.38,n.1, p.70-72, 2005.

primeiros meses do ano foram os de maior densidade populacional vetorial, associado ao período de baixos índices pluviométricos, alta umidade e baixa velocidade de vento, no entanto nenhuma correlação estatística significativa foi encontrada entre a densidade vetorial e as variáveis climáticas. Em relação à infecção natural, foram detectadas fêmeas de *Lu. longipalpis* infectadas por *Le. infantum*, sendo a taxa de infecção natural do município de 3,9% (Michalsky *et al*., 2009; Michalsky *et al.*, 2011).

Em um estudo realizado em área peri-urbana de Divinópolis, MG, seis armadilhas luminosas HP¹ foram instaladas durante o período de dois anos. Foram capturados 824 espécimes, sendo distribuídos em 21 espécies. Do total, 58,5% foram machos, sendo a espécie *Lu. aragaoi* a mais prevalente (Margonari *et al*., 2010).

Em Paracatu, MG, foram selecionados dez distritos para pesquisa entomológica utilizando duas armadilhas luminosas tipo HP¹ em cada ponto de captura, sendo uma no intradomicílio e outra no peridomicílio, durante doze meses. Foram capturados 665 espécimes, sendo 89,5% de *Lu. longipalpis*. As fêmeas, embora predominantes no ambiente de intradomicílio, foram capturadas em menor número em relação aos machos. Neste estudo foram capturados também vetores da LTA, *Lu. whitmani* (1,2%), *Lu. intermedia* (0,8%) e *Lu. pessoai* (0,3%). A maior densidade populacional de *Lu. longipalpis* foi capturada em dezembro, quando pluviosidade e umidade estiveram em seus valores máximos. O pico de flebotomíneos foi precedido pelo pico máximo no valor da temperatura média, ocorrido em setembro (Dias *et al*., 2011).

Rêgo *et al*. (2014) realizaram um estudo em Xacriabá, reserva indígena de MG, para investigação entomológica. A captura foi realizada durante seis meses, através de 40 armadilhas tipo HP¹, em 20 casas selecionadas aleatoriamente. Além disso, foram selecionadas quatro trilhas e instaladas cinco armadilhas em cada uma das trilhas da área nativa, para amostragens sistemáticas bimensais. Foram capturados 8.046 espécimes, pertencentes a 28 espécies e 11 gêneros. Do total, 67,2% foram fêmeas. A espécie *Lu. longipalpis* foi encontrada em maioria (51,1%). Os meses de maior densidade vetorial foram novembro e setembro. As espécies foram capturadas em maioria durante a estação chuvosa, com diferença estatística significativa em relação à densidade vetorial na estação seca.

Em estudo conduzido por Lana *et al*. (2015) no município de Jaboticatubas, MG, foi realizada captura entomológica durante doze meses através de armadilha luminosa HP¹, no peridomicílio de dez casas da área urbana. Foram capturados 3.104 flebotomíneos, pertencentes a dois gêneros *Brumptomyia* e *Lutzomyia*, com relação geral machos/fêmeas de 2,3. Três pontos de captura compreenderam 86% de toda coleta flebotomínica do estudo. As espécies *Lu. whitmani* e *Lu. lenti*, foram encontradas em maior número, sendo 33,8% e 23,9%, respectivamente. Foi encontrada correlação positiva entre densidade populacional flebotomínica e as variáveis climáticas, temperatura média, umidade relativa e precipitação pluviométrica, sendo a correlação estatisticamente significativa para precipitação e temperatura.

Com relação à capital de MG, alguns estudos foram realizados ao longo dos anos. Margonari *et al*. (2006) realizaram levantamento entomológico nas nove regionais de BH, através de armadilhas do tipo CDC em três casas de cada regional, totalizando 27 pontos de captura. Foram encontradas espécies vetoras da LTA (*Lu. whitmani*, *Lu. pessoai* e *Lu. intermedia*) e da LV (*Lu. longipalpis*). A espécie *Lu. longipalpis* foi pouco capturado, mesmo em áreas de alta prevalência de LV canina e humana. No entanto, foi encontrado alto percentual da espécie *Lu. intermedia*, sugerindo os autores ser essa uma provável espécie transmissora da LV na região de BH apoiada em hipóteses de Lainson e Rangel (2003) que consideram a possibilidade do vetor *Lu. intermedia*, ser um transmissor da LV em áreas específicas. Outra pesquisa em BH, conduzida por Lara-Silva *et al.* (2015) realizaram um estudo em dois distritos do município de BH, MG, de captura entomológica durante 24 meses. Foram selecionadas nove

casas por distrito, sendo instaladas duas armadilhas luminosas tipo HP[1] em cada casa, uma no intra, outra no peridomicílio. Durante o período, foram capturados 5.194 flebotomíneos, sendo o vetor *Lu. longipalpis* a espécie mais prevalente. A proporção de machos e fêmeas de *Lu. longipalpis* foi de 9:1 e 88% capturado no peridomicílio. Duas espécies transmissoras da LTA (*Lu. whitmani* e *Lu. intermedia*) também foram capturadas, porém em menor número. A população de *Lu. longipalpis* aumentou após o pico de chuva (outubro, novembro, dezembro) no município. Foi encontrada correlação positiva entre a densidade populacional vetorial e as três variáveis climáticas (precipitação pluviométrica, umidade e temperatura), no entanto foi estatisticamente significativa somente para precipitação pluviométrica e temperatura.

3.3 Leishmaniose Visceral Canina

A LVC é uma doença sistêmica severa de evolução lenta. As manifestações clínicas são dependentes do tipo de resposta imunológica expressa pelo animal infectado (Ferrer, 1999; BRASIL, 2014). O quadro clínico mais clássico é caracterizado por lesões cutâneas como eczema, descamação e úlceras rasas em orelhas, focinho e espelho nasal, onicogrifose, esplenomegalia, alopecia, linfoadenopatia, apatia, hiperqueratose, dentre outros (BRASIL, 2014). No entanto, cães infectados podem permanecer sem sinais clínicos por anos, ou por toda a vida (Moreno *et al*., 2002; BRASIL, 2014).

Os testes diagnósticos utilizados para avaliação sorológica dos cães do Brasil até outubro de 2011 foram o Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) e a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) (BRASIL, 2014). A partir da Nota Técnica Conjunta 01/2011- CGDT-CGLAB/DEVIT/SVS/MS, o protocolo foi substituído gradativamente em todo país. Atualmente encontra-se vigente no Brasil o Teste Rápido Imunocromatográfico *Dual Path Platform* (TR-DPP®), utilizado como triagem e o ELISA, como confirmatório. A mudança objetivou solucionar ou minimizar alguns problemas enfrentados, tais como a redução do número de animais falso negativos e falso positivos, a agilidade na retirada de animais infectados e a diminuição da sobrecarga dos laboratórios de saúde pública. Dessa forma, buscou-se minimizar ou eliminar a intermitência no fornecimento de kits de ELISA por parte do laboratório produtor (MS, 2011).

O controle da população de reservatórios caninos preconizado pelo MS é feito mediante a realização dos inquéritos sorológicos que podem ser do tipo censitário, amostral ou por demanda, portanto vários estudos têm demonstrado a soroprevalência da LVC. Geralmente, encontram-se diferentes valores de prevalência de LVC entre os municípios em que são realizados os inquéritos sorológicos caninos. França-Silva *et al.* (2003) realizaram um estudo de inquérito sorológico censitário canino no ano de 1994 em Montes Claros, MG, área endêmica para LV. Foram avaliados 35.293 cães, representando 97,5% da população total do município. A prevalência para LVC encontrada foi de 9,7%.

Uma pesquisa realizada em área urbana do município de Paracatu, MG, testou sorologicamente cães de 28 distritos durante um período de seis meses. A prevalência para LV encontrada foi de 4,2% (Dias *et al*., 2011). Um estudo semelhante, realizado por Barata *et al*. (2013) em área urbana de Governador Valadares, MG durante o período de quatro anos, testou todos os cães domiciliados (n=16.529 cães), distribuídos em 35 distritos. A taxa de prevalência canina foi alta, correspondendo a 30,2%.

Em Juatuba, MG, dois trabalhos foram realizados anteriormente para estudar a LVC em bairros do município. No estudo conduzido por Borges *et al.* (2014), 957 cães foram examinados aleatoriamente por inquérito amostral, encontrando uma taxa média de soroprevalência para LVC de 11,01%. Este estudo realizou também análise espacial de *cluster*. No *cluster* primário foi observado um aumento no risco de infecção canina de 2,80 vezes em

cães reagentes e 2,97 vezes em cães com resultado indeterminado na sorologia para LVC. Nessa área de *cluster* primário estiveram presentes imóveis georreferenciados dos bairros Satélite 1 e 2, Centro, Bela Vista e Cidade Nova 1. Segundo os resultados da prevalência canina nestes bairros, foram observados valores igual ou superior a 15%, com exceção do Cidade Nova 1 (5%). O risco de infecção para LVC foi explicado pela prevalência alta encontrada nos bairros presentes no *cluster* e às características socioambientais favoráveis à manutenção da doença (Borges *et al*., 2014). Um outro estudo conduzido por Lopes *et al.* (2016), avaliou a dinâmica de transmissão da LV em uma coorte prospectiva para verificar fatores relacionados à transmissão da *Leishmania infantum* e a incidência no município. O resultado mostrou que a incidência de LVC foi de 206/1000 cães por ano (IC: 178 – 238).

Estudo realizado em dois distritos de BH, MG, avaliou sorologicamente 1.408 cães por inquérito censitário, sendo a taxa de prevalência encontrada de 3,6% (Lara-Silva *et al*., 2015).

São apresentadas ainda, variações de prevalência entre áreas urbanas e rurais. O estudo de Amora *et al.* (2006) realizado em área endêmica do Rio Grande do Norte, Brasil, objetivou estabelecer os fatores relacionados a ocorrência da LVC. Foram analisados 198 cães, sendo 136 provenientes de 107 residências urbanas e 62 provenientes das 31 propriedades rurais existentes nos sítios visitados. Foram identificados 45% de cães soropositivos na área rural e 34% na área urbana, sem diferença estatística entre eles. No entanto, a investigação apontou que apesar da urbanização da LV, essa enfermidade ainda conserva algumas características rurais.

3.4 Fatores de risco para Leishmaniose Visceral

O ambiente característico e propício à ocorrência da LV é aquele de nível socioeconômico baixo, pobreza e criação de diferentes espécies de animais, muito presentes no ambiente rural e na periferia de grandes cidades. No entanto, estas características vêm se modificando, principalmente, nos estados das regiões Sudeste e Centro-Oeste, onde a LV se encontra urbanizada (Amora *et al.*, 2006; BRASIL, 2014).

Camargo-Neves *et al.* (2001) em Araçatuba, São Paulo, no período de 1998 a 1999, confirmaram 15 casos de LVH sendo 40% dos acometidos em crianças até quatro anos de idade. A prevalência geral canina foi de 12% e o estudo entomológico mostrou grande variabilidade na distribuição dos flebotomíneos. Foi encontrada alta densidade do vetor em domicílios específicos, onde foram detectados além da presença do cão, também particularidades ambientais como presença de vegetação, raízes e troncos de árvores e a matéria orgânica no solo (representando os possíveis abrigos e criadouros do vetor) e a presença de outros animais domésticos, como galinhas, coelhos (representando outras fontes de alimento para o vetor).

Moreno *et al*. (2005) realizaram um estudo seccional de base populacional utilizando-se métodos moleculares e sorológicos para identificar a infecção por *Le. infantum* no município de Sabará, área urbana de MG, com o objetivo de identificar os determinantes da infecção humana, através de dois modelos. Os fatores de risco encontrados para a infecção humana por LV foram, criação de pássaros, não ter o lixo coletado, lixo acumulado e/ou queimado e a família conhecer o vetor, sendo alguns destes achados semelhantes ao encontrado nos estudos de Camargo-Neves (2001) e similar ao encontrado por Borges *et al*., (2009).

Esses autores realizaram um estudo do tipo caso-controle em BH, MG com o objetivo de analisar o risco de se contrair LV e a presença de animais em residências. O estudo foi feito por meio de visitas domiciliares, aplicação de questionário e registro de imagens. Foram visitados 246 domicílios e observaram uma associação entre a presença de cães infectados e a ocorrência de casos humanos, aumentando o risco de contrair a doença em 2,17 vezes, quando comparadas com indivíduos que não possuíam os animais. Moradores com um cão em suas residências tiveram aumento no risco de contraírem LV de 1,87 vezes, enquanto que para proprietários de

dois cães, o risco foi de 3,36 vezes, quando comparados a pessoas que não possuíam cães. Os fatores de risco relacionados às residências que foram presença de galinheiro, umidade, lixo, terrenos baldios, cultivo de plantas frutíferas e arborização ao redor do domicílio, além da presença de outros animais, como roedores, pássaros, patos e gatos.

Um estudo realizado por Borges (2011) no município de Juatuba, MG, encontrou que cães de porte grande e limpeza esporádica(quinzenal) do peridomicílio, foram fatores de risco para a soropositividade para LVC, semelhante ao encontrado em outros estudos de fatores de risco, no Brasil, o que corrobora também com os achados de que presença de lixo, matéria orgânica e ausência de limpeza frequente são fatores que incrementam o risco da infecção por LV.

Alves (2012) avaliou os fatores de risco demográficos, socioeconômicos e ambientais para a incidência de infecção por *Le. infantum* em humanos na cidade de Teresina, Piauí. Em áreas sem intervenção do programa de controle da LV, a presença de fornos ou depósito no peridomicílio, o menor número de pessoas e o menor tempo de residência no domicílio atual, estiveram associados a incidências mais altas de infecção. Em áreas com intervenção do programa, o menor tempo de posse do cão e o baixo nível de escolaridade também se mostraram associados à maior incidência.

Um estudo realizado por Coura-Vital *et al.* (2013b) em BH, MG, concluiu que o risco de infecção humana e canina está associado à presença de casos anteriores de LVC nos domicílios, com aumento de 1,4 vezes. Esse risco pode aumentar em 3,6 vezes em domicílios com paredes não rebocadas. Segundo os autores, medidas de gestão ambiental devem ser adotadas em imóveis com casos prévios de LVC, pois estas casas são mais propensas a manter o ciclo de transmissibilidade da doença.

Uma revisão realizada por Salomón *et al.* (2015) definiu os conceitos de "micro-escala", "meso-escala" e "macro-escala", onde o micro-escala se referiu a paisagens urbanas, ambientes pouco heterogêneos, na qual a presença e dispersão do vetor esteve associado mais fortemente a micro-habitats (peridomicílios, acúmulo de matéria orgânica, maior número de plantas) do que aos macro-habitats (alta cobertura vegetal e intensa cobertura arbórea). O meso-escala se referiu a quando o vetor coloniza a cidade, transformando a distribuição de forma heterogênea, onde o espaço geográfico possui áreas de alta densidade, áreas de baixa densidade e áreas sem a presença do vetor. Em relação à macro-escala, a dispersão do vetor está relacionada a tendências econômicas, como construção de rodoviárias, desmatamento progressivo, crescimento urbano e mudanças climáticas devido às intervenções humanas. Essa divisão pode auxiliar no estabelecimento de ações de prevenção e controle destinadas ao vetor de maneira direcionada ao diagnóstico de cada área em questão.

Outras associações foram encontradas por Vianna *et al*. (2016) na região Noroeste de BH. A região compreende 9.233 famílias e destas, os agentes de saúde selecionaram 153, baseado na presença do histórico de cão positivo para LV e características descritas na literatura. Essa amostra contemplou quatro diferentes níveis de receptividade ao risco de infecção por LV. Desses domicílios, 40 foram selecionados aleatoriamente para estudo entomológico e analisados de acordo com os níveis de risco para a infecção. Os resultados mostraram que os domicílios de nível 3 (presença de caso humano e/ou canino para LV; presença de frutas, matéria orgânica, fezes de animal, presença de árvores, presença de mais de uma espécie de animal, presença de áreas sombreadas e presença de rachaduras na parede) são considerados vulneráveis à presença do vetor. Nos domicílios de nível um, onde aparentemente não havia receptividade aos fatores de risco para a doença, os casos de LV foram desencadeados através da vizinhança, que possuía níveis altos de receptividade no risco para LV.

De maneira geral, outros autores apontam também que a presença de cães infectados, a proximidade a áreas de cobertura verde, as condições sanitárias e habitacionais precárias e a

densidade populacional do vetor, são fatores associados ao risco de infecção para LVH (Margonari *et al*., 2006; Araújo *et al*., 2013).

3.5 Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV)

O PCLV tem como objetivos centrais a redução da taxa de letalidade, a redução do grau de morbidade, assim como a diminuição do risco de transmissão da doença. Para atingir esses objetivos, o PCLV no Brasil se baseia na detecção precoce e tratamento de casos humanos, no controle do reservatório canino e no controle do agente transmissor (controle vetorial) (BRASIL, 2014).

Além dos objetivos centrais citados inicialmente, a vigilância epidemiológica do PCLV objetiva identificar as áreas vulneráveis e/ou receptivas para transmissão da LV; avaliar a autoctonia referente ao município de residência; investigar o local provável de infecção; conhecer a distribuição e monitorar a dispersão do vetor; condições necessárias para que os profissionais da rede de saúde possam diagnosticar e tratar precocemente os casos, para adoção de medidas preventivas, de controle e destino adequado do reservatório canino (BRASIL, 2014).

A vigilância epidemiológica voltada aos casos de LVH consiste em diagnosticar e tratar precocemente os casos, investigá-lo epidemiologicamente além de sugerir como medida protetiva individual o uso de mosquiteiros de malha fina, telagem de portas e janelas, uso de repelentes e não exposição em períodos crepuscular e noturno em ambientes que sejam favoráveis à presença do vetor (BRASIL, 2014).

Em relação ao reservatório canino, as ações da vigilância epidemiológica estão voltadas para a realização de inquérito sorológico censitário canino, eutanásia de cães sororreagentes, controle populacional canino, uso de telas em canis e abrigos, uso individual de coleiras impregnadas com deltametrina a 4% e vacinação antileishmaniose visceral canina (BRASIL, 2014).

A vigilância entomológica de casos humanos e caninos é um dos pilares do PCLV que visa como produto final, indicar ações de prevenção e controle a serem adotadas. No PCLV, as investigações entomológicas objetivam levantar informações de caráter quantitativo e qualitativo sobre os flebotomíneos transmissores da LV. Existem muitos tipos de metodologias para a realização de um estudo entomológico, como: coleta manual com tubo de sucção tipo Castro; coleta manual com capturador motorizado; coleta com armadilha adesiva; coleta com armadilhas luminosas (modelo CDC ou similar) e armadilhas com animais ou com feromônios (BRASIL, 2014).

É responsabilidade das Secretarias Estaduais de Saúde (SES) capacitar profissionais, fornecer assessoria técnica para a definição de estratégias, executar as ações de investigação entomológica e avaliar o controle químico. Essas ações devem ser executadas em parceria com as Secretarias Municipais de Saúde (SMS), que deverão colaborar e/ou realizar integralmente as ações de vigilância entomológica, buscando sempre um trabalho integralizado para otimizar os recursos e gerar efetividade nas ações de combate ao vetor (BRASIL, 2014).

Segundo o manual do MS, para o levantamento entomológico, deve-se utilizar armadilhas luminosas. Cada armadilha deverá ser instalada no peridomicílio, preferencialmente, em abrigos de animais. As armadilhas deverão ser expostas uma hora após o crepúsculo até o período matutino seguinte durante três noites consecutivas. Os domicílios selecionados deverão ser aqueles sugestivos para a presença do vetor, tais como: presença de peridomicilio com plantas (árvores, arbustos), acúmulo de matéria orgânica e/ou presença de animais domésticos (cães, galinhas, porcos, cavalos, cabritos, entre outros). As condições socioeconômicas e o tipo

de moradia são critérios que podem ser levados em consideração para a seleção do ponto de coleta. Sugere-se que as captura sejam por no mínimo, dois anos (BRASIL, 2014).

Para medidas preventivas dirigidas ao vetor, preconiza-se manejo ambiental, através da limpeza de quintais, terrenos e praças públicas, a fim de alterar as condições do meio, que propiciem o estabelecimento de criadouros de formas imaturas do vetor (BRASIL, 2014).

Para o controle vetorial, o PCLV recomenda a borrifação química por meio da utilização de inseticidas de ação residual, no âmbito da proteção coletiva. Esta medida é dirigida ao inseto adulto e tem como objetivo evitar e/ou reduzir o contato entre o inseto transmissor e a população humana, diminuindo o risco de transmissão da doença. O controle químico é recomendado em áreas com registro do primeiro caso autóctone de LVH e em áreas com transmissão moderada a intensa, caso a curva de sazonalidade do vetor seja conhecida. A aplicação do inseticida deverá ser realizada no período do ano em que foi verificado o aumento da densidade vetorial. No entanto sem o conhecimento da sazonalidade do vetor, deve-se realizar o primeiro ciclo de tratamento ao final do período chuvoso e o segundo ciclo, 3 a 4 meses após o primeiro ciclo. A borrifação deve ser feita sempre nas paredes internas e externas do domicílio, incluindo o teto. Além disso, deve-se borrifar os abrigos de animais e anexos, quando estes possuírem paredes. Os produtos químicos utilizados geralmente são a cipermetrina e a deltametrina (BRASIL, 2014).

A avaliação das ações de borrifação para o controle dos flebotomíneos é de fundamental importância, para se verificar o impacto das mesmas, além de analisar se essas ações estão sendo eficazes e bem aceitas pela população. Um estudo realizado por Santana-Filho *et al.* (2012) em BH, MG objetivou caracterizar as recusas de borrifação em quatro regiões do município, no período de 2006 a 2008, relacionando essas recusas ao aparecimento de casos de LV, no mesmo local e período. Do total de 33.579 residências visitadas para o controle químico vetorial, 28,7% aceitaram a borrifação interna e externa do domicílio, 61,7% aceitaram somente a borrifação no peridomicílio, 0,42% concordaram somente com a borrifação interna e 6,4% recusaram qualquer tipo de borrifação no imóvel. Foram notificados 27 casos de LVH nas áreas e no período de estudo. Os achados indicaram que mais da metade dos casos de LVH estiveram presentes nos quarteirões onde o controle vetorial químico não possuiu boa aceitação, além disso, afirmaram que a recusa da borrifação por parte da população representa um limitador e dificultador para a realização do PCLV. Um estudo realizado por Silva (2015) em BH, MG, escolheu duas áreas de abrangência (AA) e cada AA foi subdividida em três trechos, com intervenção de controle diferenciados para cada um deles. O trecho 1 foi área controle, com realização de inquérito censitário canino (ICC), eliminação dos cães sororreagentes e identificação das condições sanitárias do domicílio; o trecho 2 além da realização do ICC, eliminação dos cães sororreagentes e identificação das condições sanitárias, foi realizada borrifação residual nas residências; o trecho 3, foram realizadas as mesmas ações do trecho 2, porém ao invés de borrifação residual, foi realizado manejo ambiental direcionado. Em todas as áreas foram instaladas armadilhas luminosas do tipo HP. Como resultado, o estudo encontrou que o manejo ambiental provocou uma redução estatisticamente significativa na população de flebotomíneos, enquanto que a borrifação mostrou apenas uma tendência na diminuição dos insetos vetores.

Outro estudo de avaliação das ações do PCLV foi o de Oliveira *et al*. (2003) que observaram que houve uma correlação positiva entre o percentual de cobertura para inquérito canino e borrifação com a incidência de casos humanos. Outros trabalhos avaliando a efetividade do controle vetorial e da eliminação de cães soropositivos na incidência de infecção por LV mostraram que uma proteção maior é conferida nas áreas em que estas duas medidas de controle são realizadas em conjunto (Oliveira *et al*., 2003; Werneck *et al*., 2008).

Em relação à susceptibilidade dos flebotomíneos a produtos químicos, o uso de inseticidas é um fator que pode alterar a biodiversidade da fauna flebotomínica, do tamanho da população, além da proporção das espécies em relação à dominância (Teodoro *et al*., 1999). Esse é um importante fator a se considerar em um estudo entomológico, visto que os municípios utilizam alguns produtos químicos rotineiramente no controle ao mosquito *aedes aegypti*. Um estudo realizado na Colômbia investigou a sensibilidade de uma cepa experimental de *Lu. longipalpis* a três inseticidas de uso na saúde pública, sendo o malation, a deltametrina e a lambdaciolatrina, através da metodologia do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC). Os resultados mostraram que o flebotomíneo *Lu. longipalpis* é muito sensível ao Malation, sendo esse o inseticida com maior potencial de ação gerando alta mortalidade em um menor tempo, quando comparado aos outros dois inseticidas (Marceló *et al*., 2014).

Dentre as diversas medidas de prevenção e controle da LV, o MS inclui também, atividades de educação em saúde, que devem estar inseridas em todos os serviços que desenvolvem as ações de controle, requerendo o envolvimento efetivo das equipes multiprofissionais. Estas atividades consistem em levar conhecimento à população, através da divulgação da ocorrência da LV na região, alerta sobre os sinais clínicos da doença, os serviços para o diagnóstico e tratamento, capacitação de equipes englobando o conhecimento técnico, as medidas de controle que competem ao poder público e medidas de proteção relacionadas às atitudes e práticas da população, como por exemplo, a importância do cuidado permanente com o manejo ambiental do intradomicílio e do peridomicílio (BRASIL, 2014).

Baseada nas limitações e dificuldades do controle da doença, a metodologia proposta para a vigilância e adoção de medidas, consiste em uma melhor definição das áreas de risco. O enfoque do MS pretende incorporar os estados e municípios sem ocorrência de casos humanos ou caninos da doença, nas ações de vigilância, visando evitar ou minimizar os problemas referentes a este agravo em áreas sem transmissão conhecida. Nas áreas onde já se conhece a transmissão da LV, as medidas de controle serão distintas e adaptadas para cada área a ser trabalhada em questão. Para o sucesso dessas ações, é fundamental que as medidas empregadas no controle da doença sejam realizadas de forma integrada (BRASIL, 2014).

3.6 Geoprocessamento

O geoprocessamento é um termo amplo aplicado a muitas tecnologias de processamento e manipulação de dados geográficos através de programas computacionais (Pina, 1994). É também um conjunto de técnicas que permite a exibição das informações em um determinado espaço geográfico. É uma ferramenta de grande valia para estudos epidemiológicos, pois permite a análise da dinâmica da dispersão das doenças e suas relações com o ambiente, a avaliação de situações que ocorrem em populações e a identificação de grupos em maior risco de adoecimento. Essa análise permite ainda o planejamento, o monitoramento, e a avaliação de ações de saúde realizadas (Medronho *et al*., 2009).

A aplicação do geoprocessamento na área da saúde pública tem sido comumente relatada, sobretudo em pesquisas epidemiológicas. Além disso, a avaliação de doenças endêmicas em relação aos elementos envolvidos no ciclo de transmissão, tais como determinantes históricos, ambientais e sociais, tem-se tornado mais facilitada através da utilização dessas técnicas de análise estatística espacial (Sabroza *et al*., 1992; Thomson e Connor, 2000).

Estudos de análise espacial permitem a visualização da distribuição da doença, e como ela se relaciona com o ambiente geográfico e social em que está inserido. Estudos realizados em Teresina demonstraram que a ocorrência de LV se associava com locais com baixas condições socioeconômicas (Almeida e Werneck, 2014). Oliveira *et al*. (2001) em Belo Horizonte

demonstraram que casos humanos da doença estavam ocorrendo onde havia maior concentração de casos caninos.

Diversos autores destacaram o papel da análise espacial no combate à LV. A avaliação de áreas de risco pode ser um importante instrumento na priorização de locais para se realizar intervenções de maneira mais eficaz. Além disso, esse tipo de análise permite aprimoramento da vigilância da doença, bem como do PCLV, pois auxilia no planejamento correto das ações, otimizando, portanto, os recursos financeiros e humanos disponíveis (Oliveira *et al.,* 2001; Araújo *et al.*, 2013).

Uma técnica amplamente utilizada no geoprocessamento é a estimativa Kernel. A estimativa Kernel é uma técnica de interpolação exploratória que gera uma superfície de densidade para a identificação visual de "áreas quentes". Entende-se a ocorrência de uma área quente como uma concentração de eventos que indica de alguma forma a aglomeração em uma distribuição espacial. É uma técnica estatística, de interpolação, não paramétrica, em que uma distribuição de pontos ou eventos é transformada numa "superfície contínua de risco" para a sua ocorrência. Esse procedimento permite filtrar a variabilidade de um conjunto de dados, sem, no entanto, alterar de forma essencial as suas características locais (Bailey e Gatrell, 1995).

Outra técnica que pode ser utilizada é a análise da Função K, que é uma função de densidade de probabilidade que considera a variância das distâncias entre aglomerações ou dispersões dos eventos ocorrerem (Oxford, 2008). A análise trabalha com um valor observado e esperado para a Função K a partir de simulações, criando um envelope, com limites superiores e inferiores da Função K esperada, baseando-se na variação do número médio de outros pontos em torno de um ponto qualquer, à medida que se modifica o raio de consideração. Caso a Função K observada pelos dados em estudo forem maiores que os limites superiores da Função K esperada, os casos estão se apresentando aglomerados no espaço, e caso a Função K observada seja menor que os limites inferiores da Função K esperada, o padrão é de dispersão dos casos (ESRI, 2016).

A Lógica *Fuzzy* ou lógica difusa é também uma ferramenta do geoprocessamento que é utilizada como uma técnica de sobreposição de camadas, com a finalidade de escolha de um local mais provável de ocorrência de um fenômeno espacial e os modelos de adequação. Nesta lógica, o raciocínio exato corresponde a um caso limite do raciocínio aproximado, sendo interpretado como um processo de composição de relações nebulosas. A Lógica *Fuzzy* trata especificamente situações em que os limites entre as classes não são claros, portanto, define possibilidades dos eventos ocorrerem simultaneamente (Gomide e Gudwin, 1994; Tanscheit, 2004).

De acordo com Barbosa *et al.*, (2014), o uso de ferramentas de análise espacial contribui positivamente na tomada de decisões, pois auxilia na avaliação de evidências epidemiológicas. No entanto, o georreferenciamento de dados tabulares possui uma limitação na utilização de técnicas de análises espaciais, uma vez que o endereço, ou seja, as coordenadas geográficas do evento são fundamentais na construção dos mapas e nem sempre esses dados são obtidos com precisão nos pelos programas de saúde. Muitas vezes os sistemas de saúde possuem informações por bairros e distritos somente, prejudicando o georreferenciamento em escalas locais (King *et al*., 2004). Apesar das limitações, o geoprocessamento tem sido utilizado de forma abrangente em pesquisas epidemiológicas, principalmente pesquisas sobre vetores e doenças parasitárias (Thomson e Connor, 2000).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento do estudo

Estudo epidemiológico prospectivo de coleta sistemática de flebotomíneos e inquérito sorológico canino para LV em duas áreas do município de Juatuba, durante o período de abril de 2015 a março de 2016.

4.1.1 Caracterização do município

Juatuba possui área de Unidade Territorial de 99,543 Km² e densidade populacional de 223,18 hab./Km2 (IBGE, 2015). Faz divisa com os municípios de Esmeraldas, Betim, Mateus Leme, Florestal, Igarapé e São Joaquim de Bicas (Figura 1). Situa-se às margens da BR-262 e MG-050 e a 18 km da Rodovia Fernão Dias - BR 381. É o 6º município em índice de crescimento econômico na RMBH e o 9º em MG (Lopes, 2013). Em relação à sua vegetação, apresenta áreas de cultivo, pastagem, campos, cerrado e matas. A região é caracterizada por um relevo marcado por declives acentuados de aspectos montanhosos (Figura 2). O clima de Juatuba, segundo a classificação de Koppen, é do tipo Aw – tropical chuvoso, com estiagem no inverno e temperatura média em todos os meses superior a 18ºC.

As precipitações em torno de 1.557 mm anuais registram seus índices mais elevados (cerca de 91% do total) de outubro a março. As altitudes predominantes no município situam-se entre 752 e 850 metros, diminuindo de oeste para leste e a nordeste, em direção ao vale do rio Paraopeba (IBGE, 2015).

Segundo dados da Secretaria Municipal de Saúde de Juatuba, no período de 2008 a 2015 foram notificados 17 casos de LTA no município, sendo um deles oriundo do bairro Satélite e dois provenientes do bairro VMR. Em relação à LVH no mesmo período, 04 casos foram notificados, sendo que o penúltimo caso da doença registrado no município em 2011 ocorreu no bairro VMR.

Figura 1: Localização de Juatuba em relação aos municípios limítrofes da RMBH.
Fonte: IBGE, 2010.

Figura 2: Imagem vista por cima do município de Juatuba, Minas Gerais, Brasil.
Fonte: http://www.achetudoeregiao.com.br/mg/juatuba.htm

4.1.2 Escolha das áreas estudadas

Foram escolhidas duas áreas de estudo baseadas em três critérios de inclusão: a) alta prevalência de LV canina (Borges *et al*. 2014, Lopes *et al*. 2016), b) histórico de casos humanos de LTA e LV, c) características socioeconômicas, ambientais e ecológicas semelhantes, como a diversidade de animais, árvores frutíferas e matéria orgânica acumulada. O inquérito censitário sorológico canino e a captura sistemática de flebotomíneos foram realizados nessas áreas de eleição do município de Juatuba, onde: Área 1- Satélite = bairros Satélite I e II (Anexos 1 e 2) e Área 2 - Vila Maria Regina (VMR) = bairros Vila Maria Regina I e II (Anexos 3 e 4) (Figuras 3 e 4). Segundo dados de Borges (2011), a Área 1 era composta por 86 quarteirões, 998 residências e 516 cães enquanto que a Área 2 compreendia 99 quarteirões, 751 residências e 389 cães.

Figura 3: Imagens do bairro Satélite, Juatuba, Brasil, Minas Gerais.
Fonte: Arquivo pessoal

Figura 4: Imagens do bairro Vila Maria Regina, Juatuba, Brasil, Minas Gerais.
Fonte: Arquivo pessoal.

4.2 Estudo de flebotomíneos

4.2.1 Seleção das residências amostradas

Foram selecionadas 12 residências, sendo seis dessas situadas no Satélite e as outras seis no VMR, segundo critérios epidemiológicos e ambientais. Como critérios de inclusão foram selecionadas residências com histórico recente de positividade canina para LV, bem como com condições ambientais que favoreciam a presença de flebotomíneos. Essas residências, consideradas como favoráveis à presença do vetor apresentaram as seguintes características: a) presença de matéria orgânica, b) ocorrência de áreas com umidade e sombreamento, c) presença de galinheiro, d) presença de árvores frutíferas (Figura 5 a,b,c).

Além disso, o morador da residência deveria assinar o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) para que a pesquisa pudesse ser realizada (Anexo 6).

Figura 5: Exemplo de residências selecionadas de acordo com os critérios definidos. A – Presença bananeiras B- Presença de galinheiro C- Presença de árvores frutíferas, sombreamento e matéria orgânica.
Fonte: Arquivo pessoal

4.2.2 Captura de flebotomíneos

As capturas entomológicas sistemáticas para o levantamento da fauna flebotomínica foram realizadas através de 24 armadilhas luminosas do tipo HP[1]. As capturas ocorreram durante três noites consecutivas na última semana de cada mês, em doze residências situadas nas duas áreas de estudo de Juatuba (Figura 6) durante o período de abril de 2015 a março de 2016 (Anexo 7).

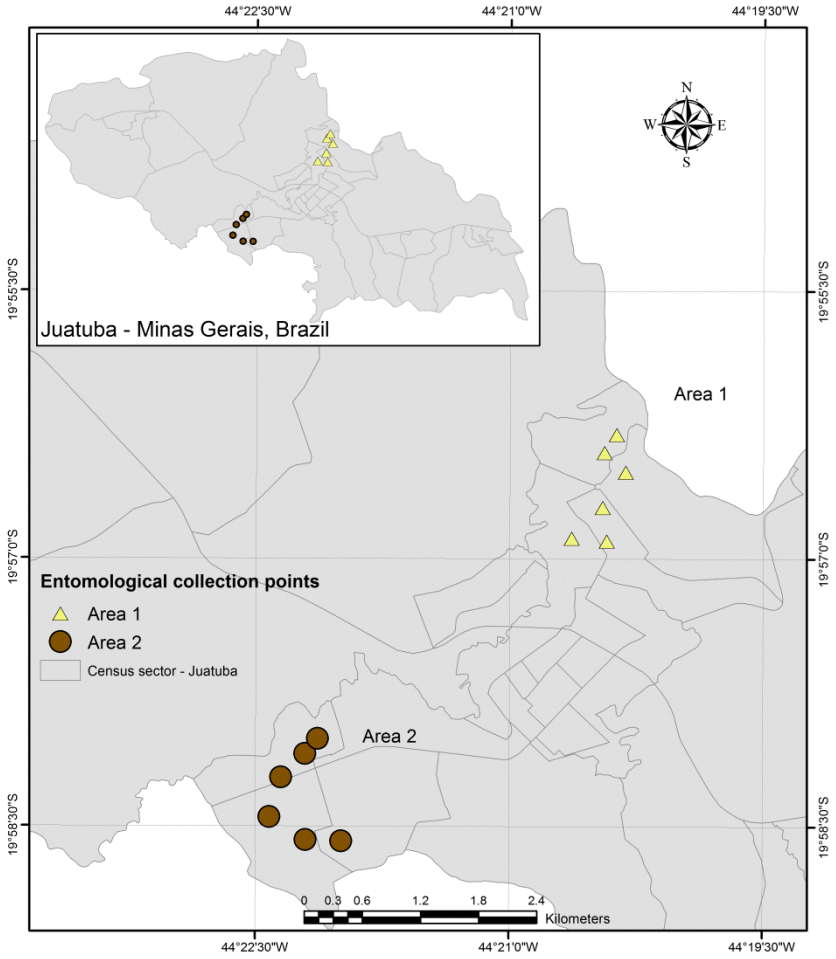


Figura 6: Pontos de captura entomológica nas Áreas de estudo 1 (Satélite) e 2 (VMR) no mapa de divisão censitária do município de Juatuba, Brasil, Minas Gerais.

Foram dispostas duas armadilhas por residência, sendo uma no ambiente de intradomicílio e a outra no peridomicílio (próximo à criação de animais, árvores frutíferas e matéria orgânica), no qual ficaram expostas das 17:00h às 08:00h da manhã do dia seguinte, perfazendo um total de 15 horas de coleta ininterrupta (Figura 7 a,b). As armadilhas foram instaladas de maneira sistemática e de forma pareada para fornecer subsídios para os estudos de endofilia e exofilia. Em épocas chuvosas, além de instalar junto das armadilhas um prato superior de proteção, eram acoplados também sacos pretos ao redor dos sacos coletores para proteger os insetos capturados de se molharem com a água da chuva.

A metodologia deste estudo foi respaldada a partir de instruções fornecidas pelo Manual de Vigilância e Controle da LV do MS. Foram seguidas todas as instruções e critérios sugeridos pelo programa (BRASIL, 2014).

Figura 7: Armadilha luminosa tipo HP®. A – Intradomicílio B- Peridomicílio
Fonte: Arquivo pessoal.

4.2.3 Ficha de características ambientais

Foi preenchida em cada residência uma ficha detalhada de observação ambiental, contendo variáveis relacionadas aos fatores de risco para a presença de flebotomíneos, a saber: presença e intensidade de patos, galinhas, bananeiras e troncos e ocos de árvores, tipo de solo, características do entorno como presença de lotes vagos, abundância de vegetação e o tipo de pavimento da rua.

4.3 Triagem, acondicionamento, preparo, montagem e identificação de flebotomíneos

4.3.1 Triagem e acondicionamento flebotomíneos

Após a captura, os sacos desacoplados das armadilhas que continham o material entomológico foram levados ao congelamento no *freezer* a -20ºC, durante 2 horas, para morte dos insetos e posterior triagem dos mesmos. Ao término do tempo de congelamento foi realizado o processo de triagem das armadilhas no qual era feita a distinção dos flebotomíneos dos demais insetos. Esse processo foi realizado mensalmente, utilizando como auxílio o microscópio estereoscópico (Anexo 8).
Os espécimes de flebotomíneos machos da 1º, 2º e 3º noites de coleta e as fêmeas da 1º noite de coleta foram destinados ao estudo de fauna e acondicionados em tubos de hemólise contendo álcool 70%, mantidos em temperatura ambiente. As fêmeas da 2º e 3º noite de coleta de cada mês foram armazenadas em microtubos de criopreservação com Dimetil-sulfóxido (DMSO) 6% e mantidas sob refrigeração a -20ºC, para posterior análise molecular (Figura 8) (Anexo 9).

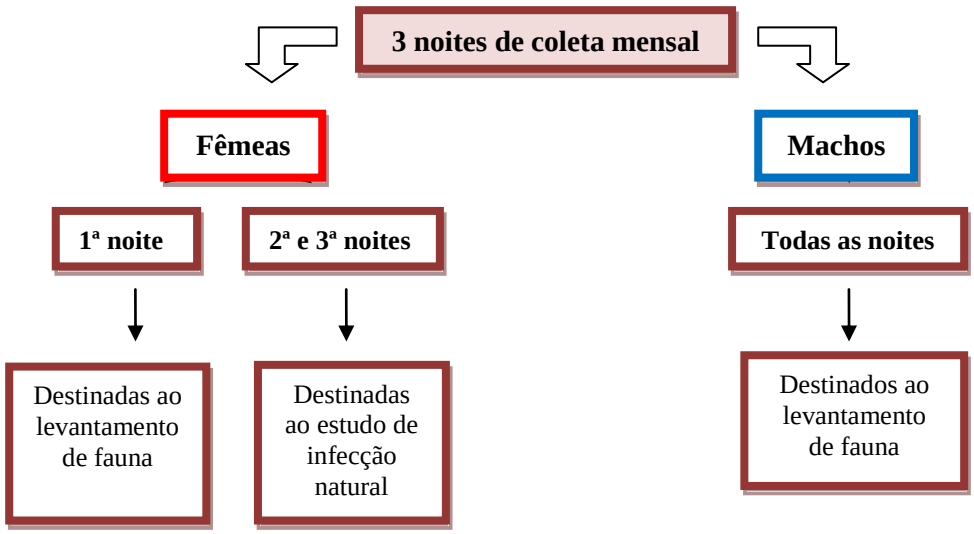


Figura 8: Esquema de direcionamento dos espécimes capturados no município de Juatuba, MG, Brasil, no período de abril de 2015 a março de 2016.
Fonte: Adaptado da dissertação de Lopes, 2014.

4.3.2 Preparação para montagem de flebotomíneos: Clarificação

Somente os flebotomíneos destinados à fauna, fizeram parte deste processo. A clarificação dos flebotomíneos capturados foi realizada segundo o protocolo de Langeron (1949). Inicialmente, em uma placa devidamente identificada os flebotomíneos ficavam submersos no reagente hidróxido de potássio a 10% durante o tempo de 2 a 3 horas, passando para o seguinte reagente, ácido acético a 10% durante 20 minutos, sendo o passo subsequente três passagens em água destilada, no tempo de 15 minutos total em cada passagem. Para a finalização do processo de clarificação, os flebotomíneos eram retirados da água destilada e colocados em uma placa de petri, imersos no reagente lactofenol, durante o tempo de 24 horas. O procedimento completo durava em torno de 30 horas e tinha como objetivo preparar os flebotomíneos para posterior montagem em lâminas, a fim de se facilitar a visualização de estruturas internas no microscópio.

4.3.3 Montagem em lâminas dos flebotomíneos destinados à fauna

Todos os flebotomíneos machos e as fêmeas oriundas da 1º noite de coleta de cada mês foram montados em lâminas. A montagem realizada foi específica para cada sexo (machos montados com a cabeça virada para frente, tórax e abdômen na horizontal; fêmeas montadas com a cabeça virada para trás, tórax em posição horizontal e abdômen a parte ventral voltada para cima, em posição vertical). No processo de montagem foram utilizadas lâminas, lamínulas, estiletes entomológicos, líquido de Berlese e microscópio estereoscópico.

As etapas *4.3.1* a *4.3.3* foram realizadas no Laboratório de Leishmanioses da Escola de Veterinária da UFMG.

4.3.4 Montagem em lâminas das fêmeas destinadas à análise molecular para posterior identificação

As fêmeas capturadas para detecção da infecção natural foram descongeladas e dissecadas. Foram retirados os últimos três segmentos abdominais e a cabeça de cada uma para montagem em lâminas utilizando-se estiletes entomológicos, lamínulas, líquido de Berlese e microscópio estereoscópico. O restante do flebotomíneo foi novamente acondicionado em microtubos e congelado a -20ºC devidamente rotulados e identificados para posterior análise molecular.

4.3.5 Identificação dos espécimes

Os flebotomíneos montados em lâminas foram identificados através do uso de descrições específicas, chaves taxonômicas e comparações com exemplares da coleção de flebotomíneos do Laboratório de Leishmanioses do Centro de Pesquisas René Rachou – Fiocruz em BH. A classificação adotada foi a de Young e Duncan (1994). Após esse processo, as lâminas foram devidamente rotuladas com a espécie identificada, data de captura, gênero (macho ou fêmea) do flebotomíneo, ponto de captura e número da armadilha.

As amostras que não puderam ser identificadas devido a caracteres ausentes ou incompletos foram consideradas *Lutzomyia* spp. ou *Brumptomyia* spp., dependendo do gênero em questão. As espécies *Lu. sallesi* e *Lu. cortelezzii* foram identificadas somente nos flebotomíneos machos. As fêmeas foram identificadas como complexo *cortelezzii*, devido à similaridade morfológica que as mesmas possuem (Gallati *et al*., 1989).

4.4 Estudo da infecção natural dos flebotomíneos

4.4.1 Extração de DNA das fêmeas capturadas para detecção da infecção natural

A extração de DNA das fêmeas de flebotomíneos foi realizada individualmente para a detecção da infecção por *Leishmania* spp.. As fêmeas foram dissecadas para a confirmação da espécie e colocadas em microtubos para a extração de DNA. A extração de DNA para detecção de infecção natural foi realizada através do Kit de Extração Gentra Puregene (QIAGEN, USA) e armazenada a -20º C para posterior utilização (Anexo 10).

4.4.2 Detecção de infecção natural dos flebotomíneos por Leishmania spp..

As amostras de DNA extraídas das fêmeas de flebotomíneos foram analisadas através da técnica "Nested PCR" (LnPCR) dirigida ao gene SSUrRNA de *Leishmania*, que amplifica um fragmento conservado em todas as espécies de *Leishmania* (Van Eys *et al*.,1992).

Foi realizada inicialmente a amplificação de um fragmento de aproximadamente 603pb, utilizando-se os iniciadores R1 (5´ GGT TCC TTT CCT GAT TTA CG 3´) e R2 (5´ GGC CGG TAA AGG CCG AAT AG 3´), seguida de amplificação de um fragmento de aproximadamente 353pb, a partir do produto amplificado da primeira reação, utilizando-se os iniciadores R3 (5´ TCC CAT CGC AAC CTC GGT T 3´) e R4 (5´ AAA GCG GGC GCG GTG CTG 3´).

A primeira reação foi preparada para um volume final de 25 µl contendo 10µl de DNA da amostra a ser testada. Em tubos contendo 1 ml de H_2O foram diluídos 25 µl de produto da primeira reação, para serem utilizados como molde na segunda PCR. Esta foi preparada para um volume final de 25 µl contendo 10µl do produto amplificado diluído. As duas reações foram preparadas utilizando o kit PCR Beads (GE Healthcare).

A amplificação foi processada em termociclador automático, da seguinte forma: desnaturação inicial a 94ºC por cinco minutos, seguida de 30 ciclos de desnaturação a 94ºC por

30 segundos, anelamento a 60ºC por 30 segundos e extensão a 72ºC por 30 segundos, para a primeira reação. Na segunda reação a temperatura de anelamento foi elevada para 65ºC, mantendo-se as outras condições. A etapa de extensão final foi feita a 72ºC por cinco minutos, para ambas as reações.

Em todas as reações foram utilizadas 20 ng de DNA extraído de cultura de *Le. infantum*, como controle positivo. Como controle negativo (sem DNA) a amostra de DNA foi substituída por volume equivalente de H_2O destilada estéril.

4.4.3 Análise dos produtos amplificados pela PCR

Os produtos amplificados na etapa anterior foram analisados através de eletroforese em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio e examinado em exposição à luz ultravioleta (UV) utilizando o capturador de imagens L-PIX EX (Loccus biotecnologia).

4.4.4 Sequenciamento SSUrRNA para determinação da espécie de Leishmania spp..

Para a identificação das espécies de *Leishmania* infectantes no vetor foi realizado o sequenciamento do produto de aproximadamente 353pb, amplificado na segunda reação da LnPCR. Para isso, todas as bandas correspondentes, com intensidade considerável, foram extraídas do gel e purificadas utilizando o kit comercial QIAquick PCR Purification (QIAGEN), de acordo com as especificações do fabricante. O produto purificado foi eluído em 20 µl de H_2O destilada estéril e utilizado como molde para amplificação anterior ao processo de sequenciamento.

A reação de PCR para o sequenciamento foi preparada para um volume final de 10 µl, formados por 4 µl do PREMIX (BigDye® Terminator v3.1 Cycle), 1 µl do iniciador R3 e R4 na concentração de 3,2 pmol e 5 µl do produto purificado na etapa anterior. A mistura será amplificada em um termociclador Eppendorf Master Cycler Gradient ® com o seguinte programa: 94ºC por três minutos, seguido de 25 ciclos de 96ºC por um segundo, 65ºC por 5 segundos e 60ºC por quatro minutos. O sequenciamento propriamente dito foi realizado, posteriormente, em sequenciador automatizado Megabace.

A análise bioinformática (edição, alinhamento e a busca de sítios de restrição) das sequências obtidas foi realizada utilizando-se o programa computacional Basic Local Alignment Search Tool (*BLAST*). As sequências editadas foram alinhadas com sequências depositadas no GenBank para *Le. braziliensis*, *Le. amazonensis* e *Le. infantum*.

As etapas *4.3.4*, *4.3.5* e 4.4 foram realizadas no Laboratório de Leishmanioses do CPqRR/Fiocruz-MG.

4.4.5 Cálculo da Taxa de Infecção Natural

A taxa de infecção natural por *Leishmania* spp. das fêmeas capturadas, foi realizada utilizando-se o cálculo simples de porcentagem para o número de amostras positivas de cada espécie de flebotomíneo e o número de espécimes total capturados no período de estudo.

4.5 Dados climáticos

Os dados climáticos mensais de temperatura (°C), umidade relativa do ar (%) e pluviosidade (mm^3), referentes ao período de estudo foram obtidos junto ao Distrito Meteorológico mais próximo do município de Juatuba (5º Distrito do Instituto Brasileiro de Meteorologia, BH, MG). Foi utilizada a correlação simples de *Spearman* para cada par de variáveis, no intuito de analisar e avaliar a influência das variáveis climáticas em relação à densidade populacional dos vetores, utilizando o software Prism 6 com 95% de confiança.

4.6 Inquérito sorológico canino

O inquérito sorológico censitário foi realizado na população canina das duas áreas de estudo, no primeiro semestre de 2015. Para a obtenção do soro, foram coletados aproximadamente 3 ml de sangue dos cães através de venopunção cefálica ou jugular (Figura 9), centrifugados a 3.000 rpm por 5 minutos. Para o diagnóstico da LVC foram utilizados o TR-DPP como triagem e o ELISA como confirmatório, com o uso dos kits de BioManguinhos®/ Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), de acordo com o preconizado pelo MS. A amostra do cão era considerada como reagente quando o resultado do DPP e ELISA apresentassem reatividade. Os critérios de inclusão para a coleta sanguínea foram cães domiciliados com idade mínima de 4 meses e a concordância do tutor do animal mediante assinatura do TCLE (Anexo 5). Para a medida da frequência da LVC no município de Juatuba foi calculado o coeficiente de prevalência (Medronho *et al.*, 2009).

Figura 9: Coleta sanguínea através de venopunção cefálica.
Fonte: Arquivo pessoal

4.7 Análise Estatística

Para as análises envolvendo as densidades vetoriais entre as áreas estudadas, entre os gêneros capturados, em relação à endofilia e à exofilia, além da diferença da taxa de prevalência

para LVC entre os bairros, utilizou-se o teste de qui-quadrado com 95% de confiança, através do software EpiInfo 7.

4.7.1 Análise Estatística Espacial

Todas as residências do inquérito sorológico canino e de captura de flebotomíneos foram georreferencidas através do endereço utilizando o sistema de posicionamento global (GPS) referenciado pela projeção do Marcador Transversal Universal (UTM). Foram utilizadas três técnicas de geoprocessamento, sendo elas a análise de Kernel, a análise de *cluster* – Função K e a lógica *Fuzzy*.

- Análise de Kernel: Os mapas de densidade foram feitos pela análise de Kernel que calcula a densidade de casos por Km² e foi realizada para o número de cães positivos, vetores da LV, vetores da LTA e densidade vetorial total. Foi utilizado o pacote de geoprocessamento ArcGis 10.4.
- Análise de *cluster* - Função K: A Função K foi realizada através do pacote de geoprocessamento ArcGis 10.4 (Spatial Statistics Toolbox) e foram utilizados os dados de entrada da posição geográfica real de cada caso de LVC. Para cada área foi realizada uma análise em separado, com 999 permutações da Função K esperada.
- Lógica *Fuzzy*: Foi analisada a densidade populacional do intra e do peridomicílio em relação à abundância do vetor da LV (*Lu. longipalpis*), associado à positividade canina para LV em cada um dos 12 pontos de captura, utilizando a lógica *Fuzzy* (Spatial Analyst Toolbox).

Todas as análises relacionadas aos casos caninos e de densidade vetorial de cada área foram trabalhadas de maneira independente para se evitar o viés espacial, uma vez que a pesquisa sorológica canina e entomológica não foram realizadas em toda área geográfica do município.

4.8 Aspectos Éticos

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – COEP (CAAE – 38073114.6.0000.5149) e Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA (protocolo 92/2014) da UFMG. Os proprietários dos cães foram informados sobre os objetivos do projeto e assinaram voluntariamente o TCLE, assim como os moradores das residências de captura sistemática de flebotomíneos.

4.9 Apoio Financeiro

Projeto financiado pelo MS "Chamamento Público" Nº 20/2013: Estudos e Pesquisas Aplicadas em Vigilância em Saúde. Número do projeto:1721798500001130 -51.

5. RESULTADOS

5.1 Estudo de flebotomíneos

5.1.1 Fauna

A fauna de flebotomíneos capturados durante os 12 meses de estudo foi constituída de 431 espécimes, distribuídas em 14 espécies, pertencentes a dois gêneros, sendo *Lutzomyia* e *Brumptomyia*. Foram capturados 298 machos (69,1%) e 133 fêmeas (30,9%). A espécie

encontrada em maioria foi o vetor *Lu. longipalpis* (190 exemplares), representando 44,08% do total capturado (Tabela 1). Os espécimes fêmeas pertencentes ao complexo *cortelezzii* não foram separadas por espécie devido à similaridade morfológica entre elas, tornando-as indistinguíveis. Somente os machos do complexo puderam ser separados em *Lu. cortelezzii* e *Lu. sallesi*.

Tabela 1 – Distribuição dos flebotomíneos capturados no Satélite e Vila Maria Regina, Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016.

Espécies		Número de flebotomíneos			Porcentagem relativa
		Machos	Fêmeas	Total	
B. brumpti		2	0	2	0,5
B. cardosoi		2	0	2	0,5
B. nitzulescui		1	0	1	0,2
Brumptomyia spp.		2	3	5	1,2
complexo *cortelezzii*		0	45	45	10,4
Lu. aragaoi		4	0	4	0,9
Lu. cortelezzii		24	0	24	5,6
Lu. evandroi		0	4	4	0,9
*Lu. intermedia**		3	0	3	0,7
Lu. lenti		48	33	81	18,8
Lu. longipalpis*		**169**	**21**	**190**	**44, 1**
*Lu. pessoai***		14	8	22	5,2
Lu. sallesi		1	0	1	0,2
Lu. sordelli		1	0	1	0,2
Lutzomyia spp.		12	2	14	3,2
Lu. termitophila		0	1	1	0,2
*Lu. whitmani**		15	16	31	7,2
Total	Número	298	133	431	-
	%	69,1	30,9	-	100.0

B = Brumptomyia ; *Lu = Lutzomyia*
* espécies incriminadas como vetores das leishmanioses
** espécie incriminada como provável vetor da LTA

Três dos doze pontos de captura entomológica contemplaram 65% do total capturado (armadilha D, E e F), sendo o ponto F de maior densidade vetorial (39,4%) em praticamente, todos os meses de estudo. Os meses de captura flebotomínica em maiores níveis foram agosto e outubro de 2015 (Tabela 2). Em relação à distribuição dos flebotomíneos nas duas áreas de estudo, 73% (315) foram capturados no VMR e 27% (116) no Satélite (Figura 10). Quanto à densidade dos vetores da LTA e da LV, o VMR apresentou maior percentual quando comparado ao Satélite, com densidade de 7,7% (33) e 38,7% (167) para LTA e LV, respectivamente (Figura 11).

Tabela 2 – Distribuição mensal dos flebotomíneos capturados,no Satélite e Vila Maria Regina, Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016.

Ano	Mês	Número de espécimes por armadilha					
		D	E	F	Outras	Total	%
2015	Abril	4	0	29	1	34	7,9
	Maio	2	2	2	9	15	3,49
	Junho	1	4	1	11	17	3,9
	Julho	1	2	8	14	25	5,8
	Agosto	3	11	31	15	60	13,9
	Setembro	2	8	11	17	38	8,8
	Outubro	24	1	27	11	63	14,6
	Novembro	2	2	22	16	42	9,7
	Dezembro	7	9	9	23	48	11,1
2016	Janeiro	6	4	6	14	30	6,9
	Fevereiro	0	7	24	12	43	9,8
	Março	3	7	0	6	16	3,7
Total		55	57	**170**	149	431	100

*(Armadilhas D, E e F correspondem aos pontos de captura entomológica de maior densidade vetorial)

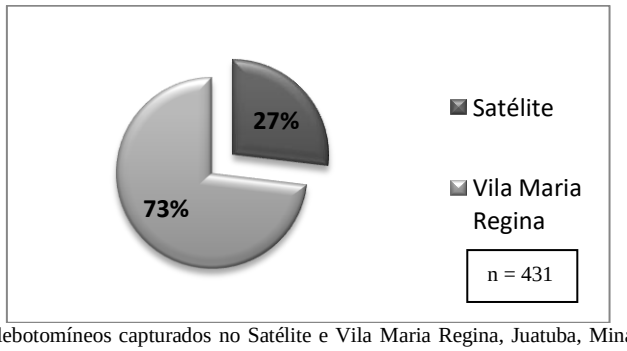


Figura 10: Distribuição dos flebotomíneos capturados no Satélite e Vila Maria Regina, Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016.

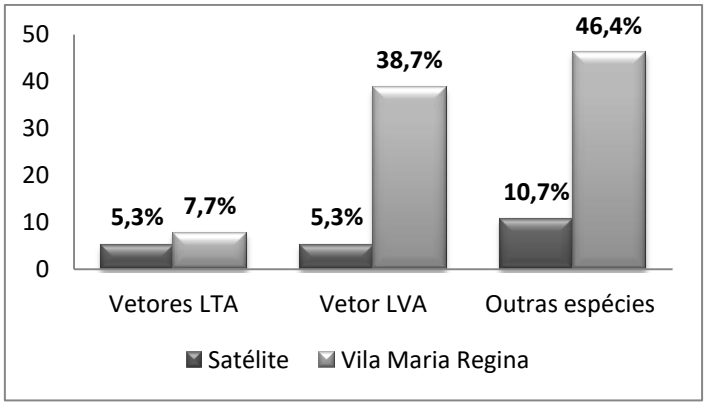


Figura 11: Porcentagem de vetores da LTA, da LV e demais espécies capturadas no Satélite e Vila Maria Regina, Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016. (Vetores LTA: *Lu. whitmani*, *Lu. intermedia* e *Lu. pessoai*; Vetor LV*: Lu. longipalpis*).

5.1.2 Comportamento dos flebotomíneos quanto a endofilia e exofilia

Em relação ao comportamento de endofilia e exofilia dos flebotomíneos, a maioria foi capturado no ambiente de peridomicílio 74% (319) e 26% (112) no intradomicílio (Figura 12). A diferença de densidade de flebotomíneos capturadas nas áreas estudadas foi estatisticamente significativa, apresentando o VMR maior densidade de flebotomíneos no peridomicílio e intradomicílio (Tabela 3). Ao se comparar gênero e localização das armadilhas, verificou-se que a maior parte de machos foi encontrada no peridomicílio (p<0,001) em comparação com o intradomicílio (Figura 13).

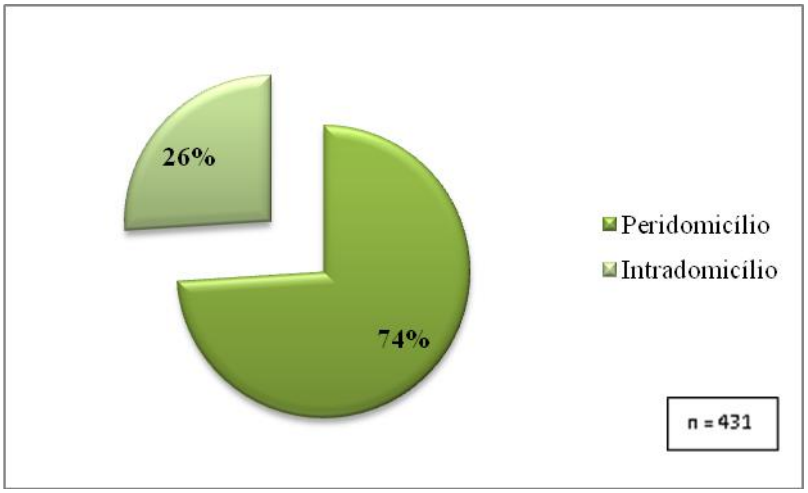


Figura 12: Porcentagem de flebotomíneos capturados no ambiente de peridomicílio e intradomicílio no Satélite e Vila Maria Regina, Juatuba, Minas Gerais, Brasil, durante o período de abril de 2015 a março de 2016.

Tabela 3: Distribuição dos flebotomíneos machos e fêmeas capturados no peridomicílio e intradomicílio nas áreas estudadas em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016.

Áreas de captura	Flebotomíneos				Total (nº e %)
	Machos (nº e %)		Fêmeas (nº e %)		
	Peri	Intra	Peri	Intra	
Satélite	52 (44,8)	24 (20,6)	22 (18,9)	18 (15,5)	116 (26,9)
Vila Maria Regina	188 (59,7)	34 (10,8)	57 (18,1)	36 (11,4)	**315 (73,1)***
Total	240 (55,7)	58 (13,5)	79 (18,3)	54 (12,5)	431 (100)

*(p=0,003)

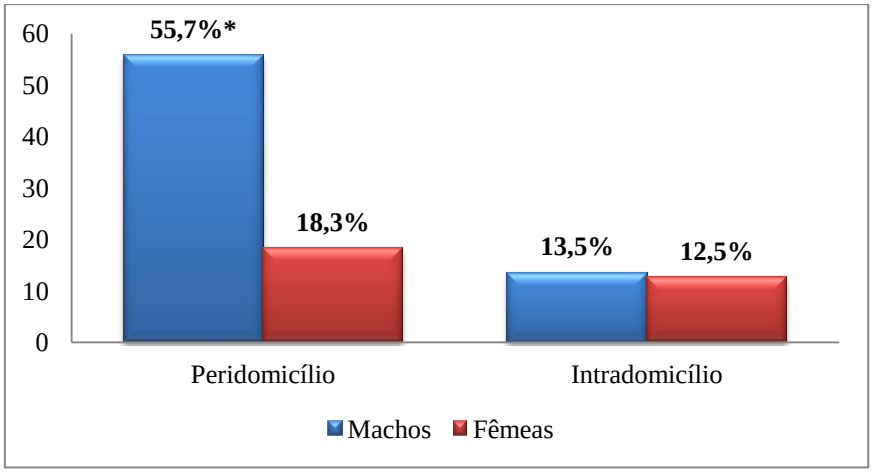


Figura 13: Distribuição dos flebotomíneos segundo gênero capturados no ambiente de peridomicílio e intradomicílio no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016. *(p<0,001).

Quando se analisa especificamente a população de *Lu. longipalpis*, 85,8% da população foi capturada no peridomicílio. O número de machos comparado ao número de fêmeas encontrados no peridomicílio foi significativamente maior (p<0,05) (Tabela 4).

Tabela 4: Distribuição da espécie *Lutzomyia longipalpis* de acordo com o gênero e localização da armadilha nos domicílios, capturada em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016.

Localização armadilha	Gênero (nº e %)		Total (nº e %)
	Macho	Fêmea	
Peridomicílio	**149 (88,2)***	14 (66,7)	163 (85,8)
Intradomicílio	20 (11,8)	7 (33,3)	27 (14,2)
Total	169 (100)	21 (100)	190 (100)

(*O número de machos foi significativamente maior no peridomicílio comparado com o número de fêmeas; qui quadrado= 5,42 e p= 0,007).

5.1.3 Detecção molecular de infecção natural por *Leishmania* spp. nas fêmeas de flebotomíneos

Entre as 91 fêmeas encaminhadas para detecção da infecção natural, duas pertenciam ao gênero *Brumptomyia* e 89 ao gênero *Lutzomyia*, dessa forma a detecção de DNA foi realizada nos 89 exemplares pertencentes ao gênero *Lutzomyia*, uma vez que o gênero *Brumptomyia* não possui importância médica. No estudo de infecção natural, o DNA de *Leishmania* spp. foi detectado em cinco exemplares (5,6%), sendo dois exemplares pertencentes ao complexo *cortelezzii*, dois a *Lu. lenti* e um *Lu. longipalpis*, sendo possível demonstrar o fragmento de 353 pares de base através da técnica de *Ln*PCR (Figura 14). A Tabela 5 resume as taxas de infecção por *Leishmania* e a identificação das amostras de *Lutzomyia* testadas.

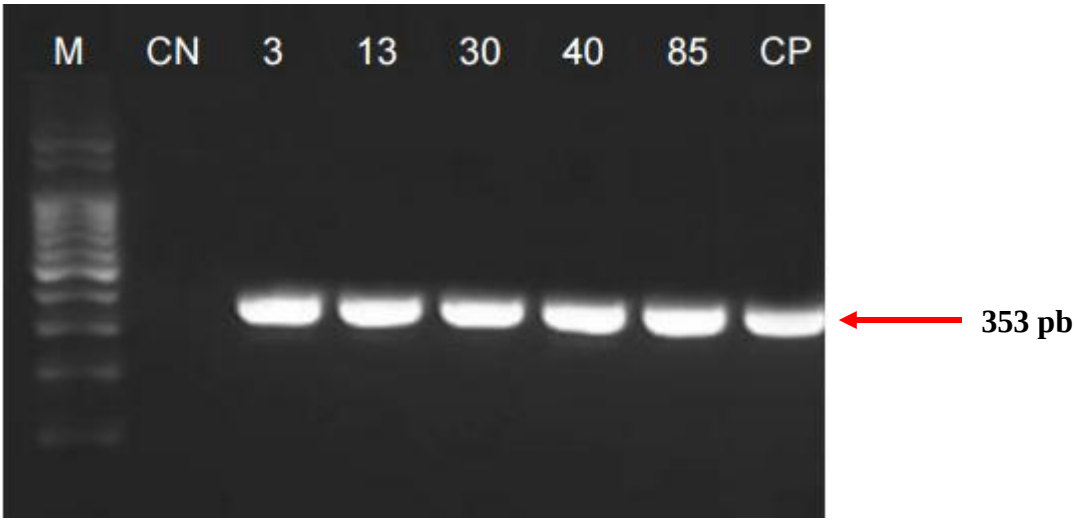


Figura 14: Produtos amplificados de DNA de *Leishmania* spp. obtidos com iniciadores genéricos para *Leishmania* spp. (SSUrRNA), visualizados após eletroforese em gel de agarose a 2% corado pelo brometo de etídio. Canaletas: M-Marcador de peso molecular 100pb; Amostras positivas: 3, 13, 30, 40 e 85; CP-Controle positivo da Reação (*Leishmania chagasi* MHOM/BR/PP75); CN-Controle negativo da Reação (sem DNA).

Tabela 5: Detecção de DNA (SSUrRNA) de *Leishmania infantu*m em flebotomíneos capturados no município de Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril 2015 a março 2016.

Espécie de flebotomíneos	Nº exemplares examinados PCR	Nº exemplares positivos	Espécie de *Leishmania*	Taxa Infecção Natural
Complexo *cortelezzii*	38	**2**	*Le. infantum*	**5,3%**
Lu. evandroi	2	0	-	0%
Lu. lenti	23	**2**	*Le. infantum*	**8,7%**
Lu. longipalpis	10	**1**	*Le. infantum*	**10%**
Lu. pessoai	5	0	-	0%
Lu. termitophila	1	0	-	0%
Lu. whitmani	10	0	-	0%
Total	89	**5**	-	-

Lu = Lutzomyia ; *Le= Leishmania*

Através do alinhamento das sequências de DNA das amostras positivas para *Leishmania* spp. com as depositadas no Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), foi confirmada a sequência de DNA das espécies depositadas no GenBank de *Le. infantum* em 100% (5) das amostras positivas (Tabela 6).

Tabela 6: Alinhamento das sequências das amostras positivas das fêmeas confirmando a presença de DNA de *Leishmania infantum* depositadas no BLAST.

Amostras (nº identificação)	Espécie de flebotomíneo	Espécie de *Leishmania*	E value	Identidade	Acesso
3	complexo *cortelezzii*	*Le. infantum*	5e-146	100%	KT762398.1
13	*Lutzomyia lenti*	*Le. infantum*	4e-122	100%	KT762398.1
30	complexo *cortelezzii*	*Le. infantum*	1e-100	100%	KT762398.1
40	*Lutzomyia longipalpis*	*Le. infantum*	2e-122	100%	KT762398.1
85	*Lutzomyia lenti*	*Le. infantum*	4e-122	100%	KT762398.1

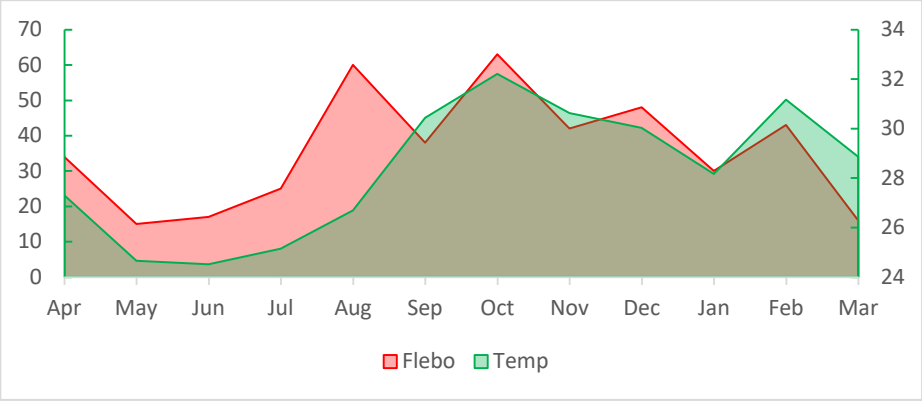
5.2 Influência das variáveis climáticas na população de flebotomíneos

Durante os 12 meses do período de estudo, segundo os dados obtidos no INMET, a temperatura variou de 24ºC a 32ºC, com a média anual de 28,2ºC +/- 2,6ºC. A umidade relativa do ar apresentou uma variação de 47 a 71%, com média de 60,3 +/- 7,3%. Em relação aos dados de precipitação pluviométrica, os valores oscilaram ao longo do ano, apresentando média de 104,8 +/- 95 mm anual.

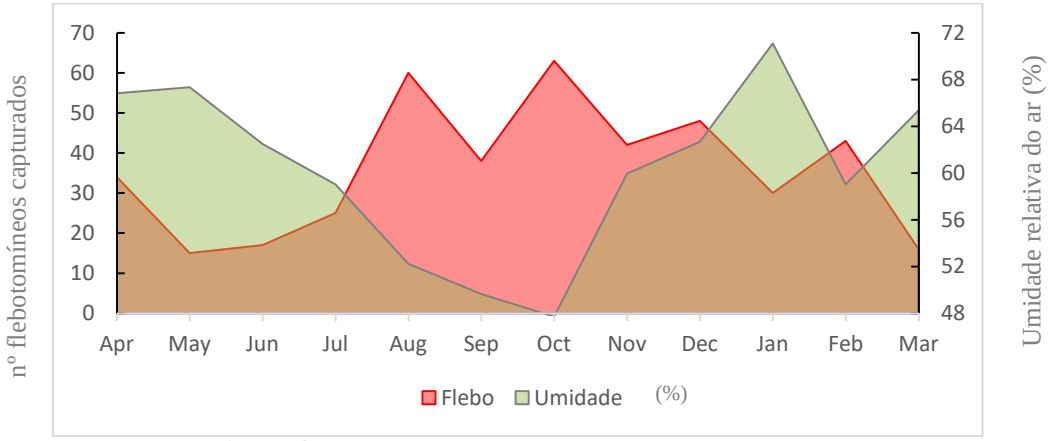
As análises utilizaram a densidade populacional total capturada mensalmente, correlacionando com os valores obtidos dos dados climáticos mensais. Foi encontrada correlação positiva estatisticamente significativa (p=0,02) entre a variável climática temperatura média e as densidades populacionais mensais, com o coeficiente de correlação de 0.6573 (IC= 0.1150 a 0.8978).

Foram encontradas correlações negativas entre as densidades populacionais mensais e demais variáveis climáticas, com o coeficiente de correlação de -0,02 (IC= -0.6003 a 0.5728) para precipitação pluviométrica e -0,62 (IC= -0.8857 a -0.05618) para umidade relativa do ar. No entanto, foi verificada uma diferença estatisticamente significativa somente para umidade (p=0,03).

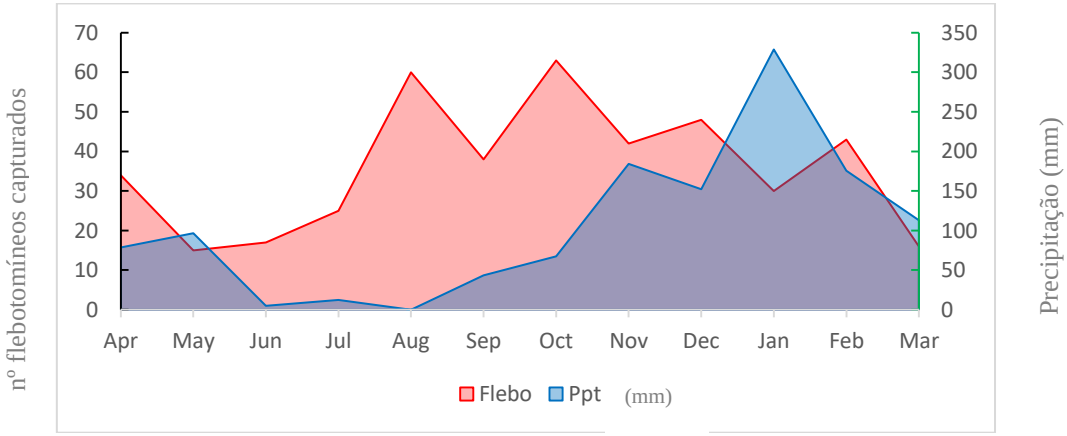
Na Figura 15 observa-se o comportamento da densidade vetorial em resposta à variável climática temperatura média, que esteve com os índices mais elevados nos meses de setembro a novembro de 2015, tendo um pico novamente em fevereiro de 2016. Em relação à umidade relativa do ar, os meses que registraram índices mais elevados foram maio/15 e janeiro/16 e seu menor valor registrado no mês de outubro de 2015. Esses dados mostram que os picos de densidade populacional ao longo do ano (agosto e outubro/15) não coincidiram com os meses de elevada umidade, mas sim com o de nível inferior (Figura 16). Em relação à pluviosidade, os meses que apresentaram índices mais elevados foram novembro/15 e janeiro/16, não coincidindo com o pico de densidade flebotomínica (Figura 17).



(Flebo=densidade populacional flebotomíneos; Temp= temperatura média mensal).
Figura 15: Índices de temperatura média mensal e densidade populacional mensal de flebotomíneos de abril de 2015 a março de 2016, no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil.



(Flebo=densidade populacional flebotomíneos; Umidade= umidade relativa do ar).
Figura 16: Índices de Umidade relativa do ar mensal e densidade populacional de flebotomíneos mensal de abril de 2015 a março de 2016, no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil.



(Flebo=densidade populacional flebotomíneos; Ppt= precipitação total).
Figura 17: Índices de Precipitação total mensal e densidade populacional de flebotomíneos mensal de abril de 2015 a março de 2016, no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil.

5.3 Inquérito sorológico canino

No inquérito sorológico canino de 2015 foram testados nas duas áreas de estudo, 1.752 cães para a determinação da prevalência da LVC (Tabela 7). A taxa de prevalência para os bairros Satélite e VMR foi de 4,12% e 7,13%, respectivamente. A diferença de prevalência entre as duas áreas mostrou-se estatisticamente significativa ($p<0,05$). Os cães sororreagentes deste inquérito foram recolhidos pelo Serviço de Controle de Zoonoses (SCZ) do município e eutanasiados de acordo com o preconizado pelo MS. O SCZ registrou 12,2% de recusa na entrega do cão para o procedimento de eutanásia.

Tabela 7: Distribuição dos cães domiciliados do Satélite e Vila Maria Regina segundo resultado sorológico para LVC, Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016.

Área de estudo	Cães testados				**Total**
	Cães sororreagentes		Cães soronegativos		
	Nº	**%**	**Nº**	**%**	
Satélite	48	4,1	1115	95,9	1163
Vila Maria Regina	42	7,1*	547	92,9	589
Total	**90**	**-**	**1662**	**-**	**1752**

*p=0,007

5.4 Estudo espacial

5.4.1 Análise de Kernel

Foi realizado a análise de Kernel para as seguintes variáveis: densidade de cães sororreagentes, densidade flebotomínica total, densidade do vetor da LV (*Lu. longipalpis*) e densidade dos vetores da LTA (*Lu, whitmani*, *Lu. intermedia* e *Lu. pessoai*). Foi verificada concentração similar de pontos em alta densidade e baixa densidade de cães sororreagentes nas áreas de estudo, apresentando o Satélite discreto aumento na quantidade de pontos, uma vez que a densidade populacional canina é maior nesse bairro (Figura 18). Em relação à densidade flebotomínica total capturada no período de estudo, observa-se no mapa uma distribuição quase homogênea na densidade encontrada nos pontos de captura dos dois bairros. Tanto o Satélite quanto o VMR apresentaram três pontos de alta densidade e três pontos de densidade baixa a moderada, porém os pontos de alta densidade do VMR estão sutilmente mais intensos, além de que, no Satélite têm-se dois pontos de captura com densidade predominantemente baixa, e o mesmo não se aplica ao VMR (Figura 19).

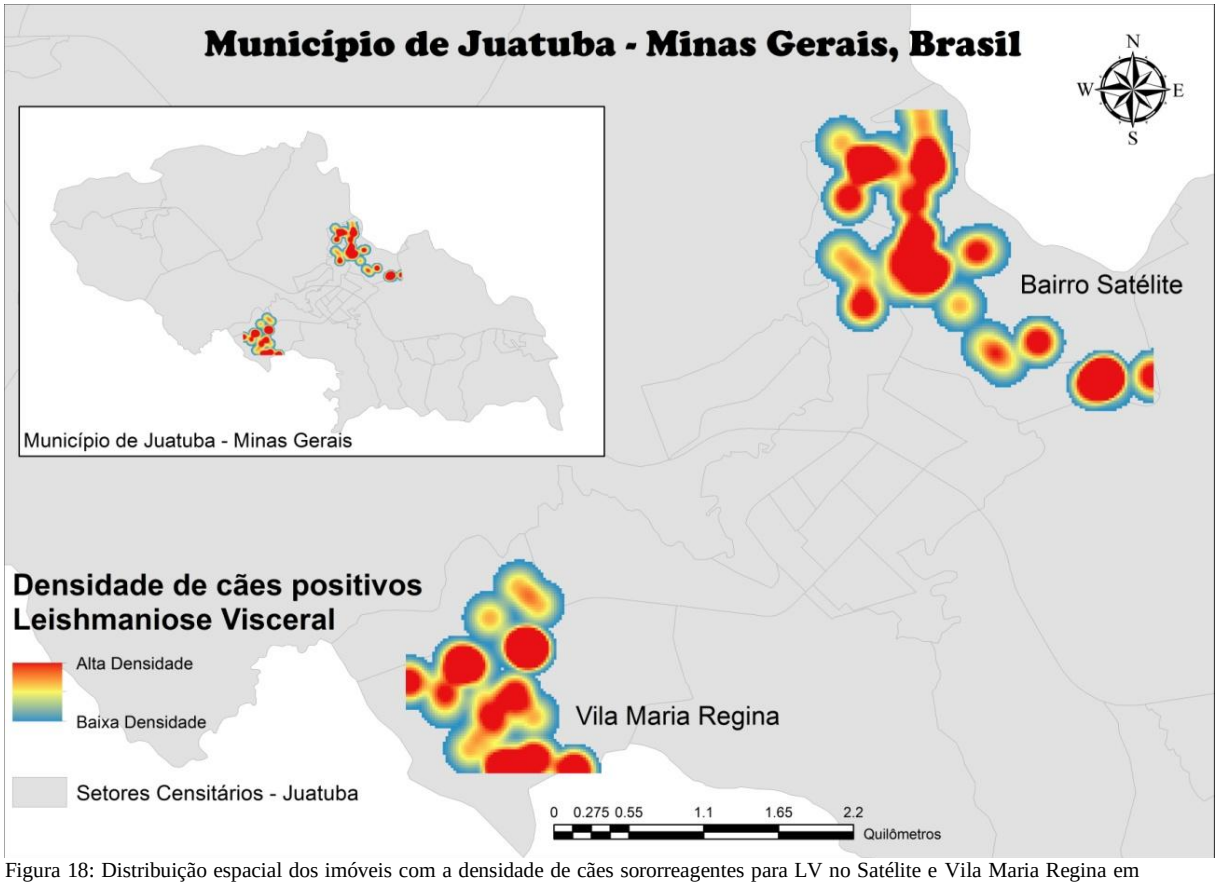


Figura 18: Distribuição espacial dos imóveis com a densidade de cães sororreagentes para LV no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016.

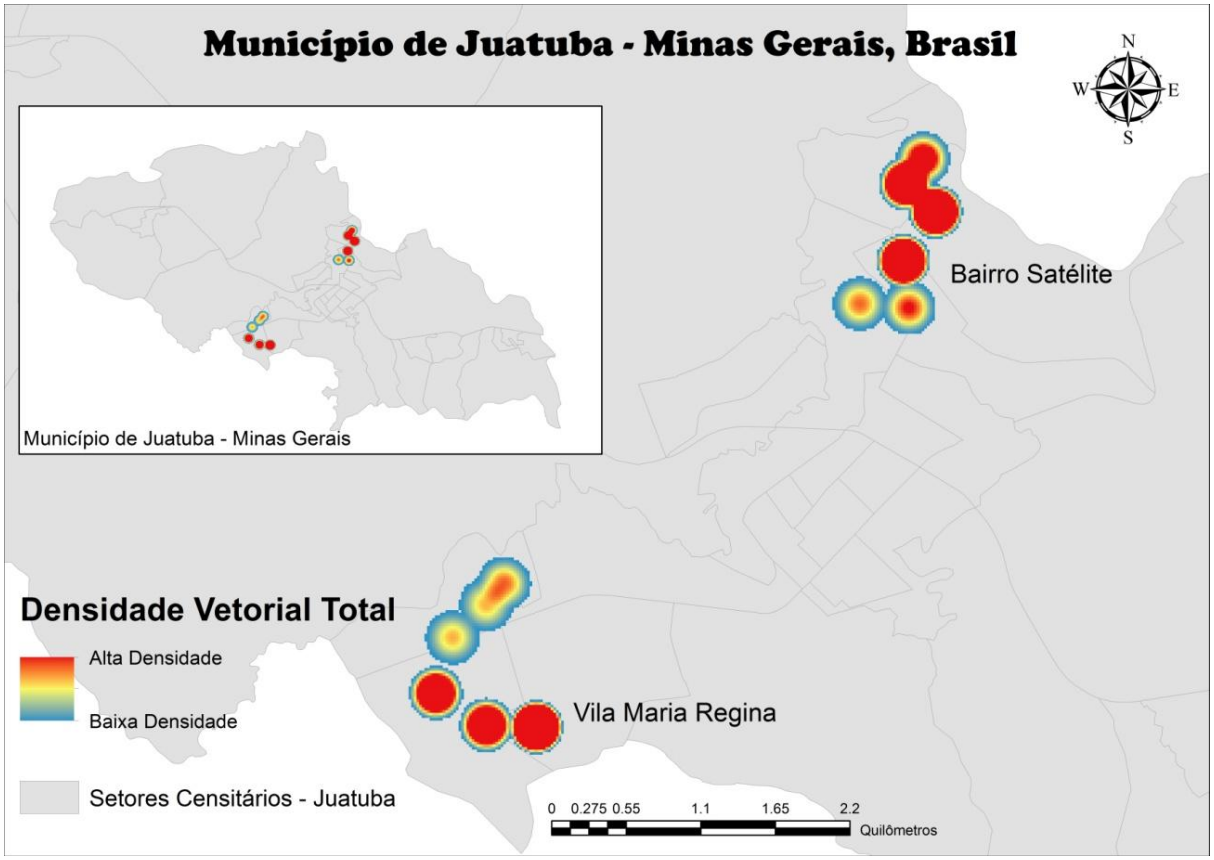


Figura 19: Distribuição espacial das residências de captura vetorial mostrando a densidade de flebotomíneos total no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016.

Em relação à densidade vetorial do *Lu. longipalpis*, o VMR apresenta visivelmente maiores áreas de alta densidade vetorial quando comparado ao Satélite. Além disso, no Satélite existem dois pontos onde não foi capturado o vetor da LV e a maioria dos pontos de captura possuem densidade moderada a média, enquanto que no VMR houve captura do vetor em todos os pontos e a maioria com alta densidade vetorial (Figuras 20 e 21). Sobre a densidade dos vetores da LTA, existem dois pontos de captura em cada bairro onde não foi capturado nenhum espécime. O Satélite apresentou maior número de pontos de alta densidade vetorial em comparação ao VMR (Figura 22 e 23).

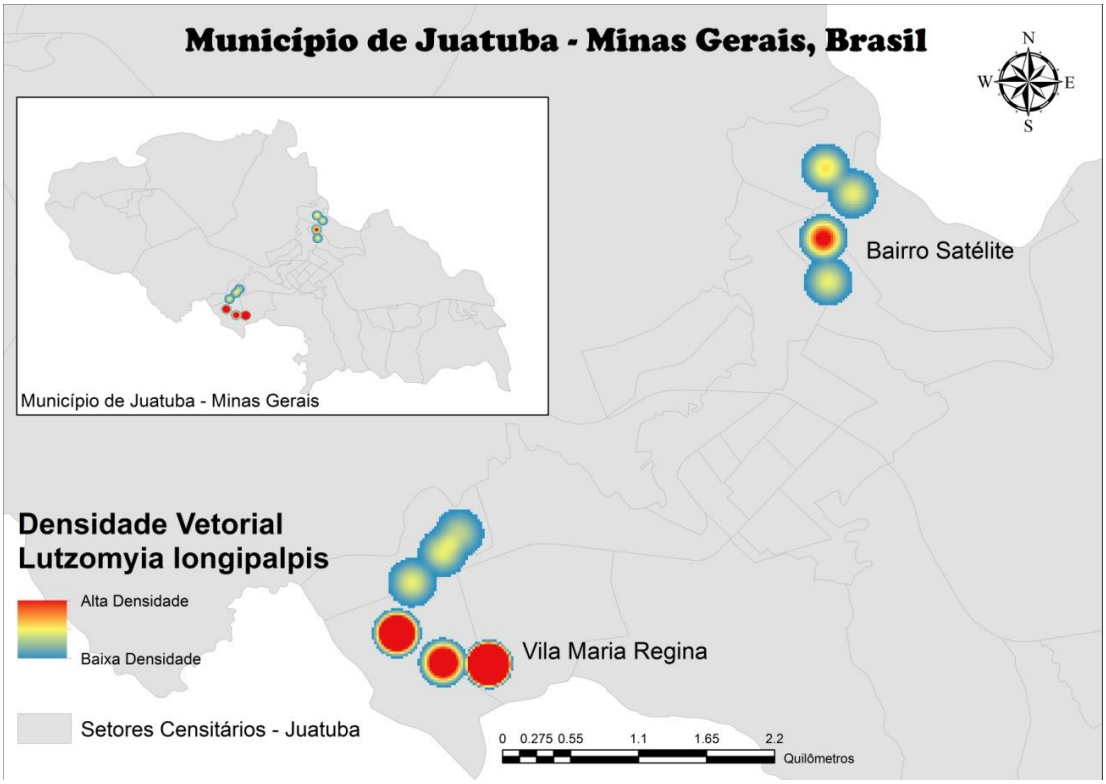


Figura 20: Distribuição espacial das residências de captura vetorial de acordo com a densidade de *Lutzomyia longipalpis* no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016.

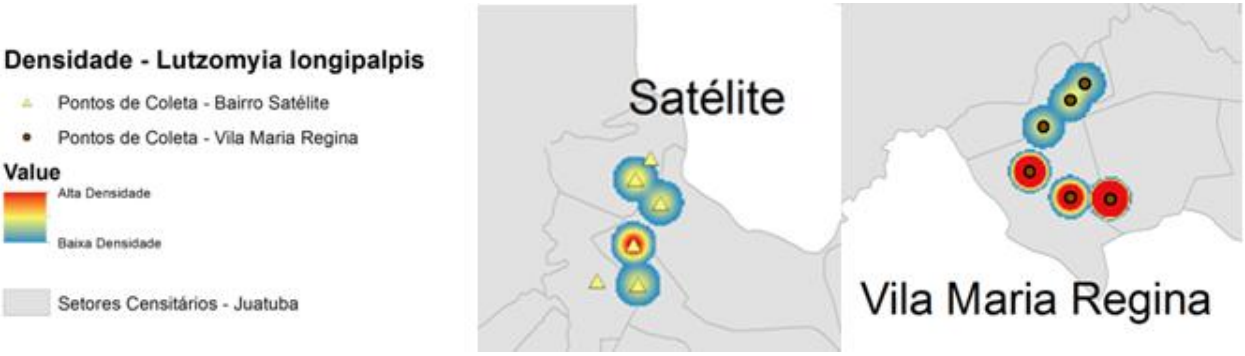


Figura 21: Imagem em *zoom* do mapa de setores censitários de Juatuba de acordo com os pontos de coleta vetorial e a densidade de *Lutzomyia longipalpis* no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016.

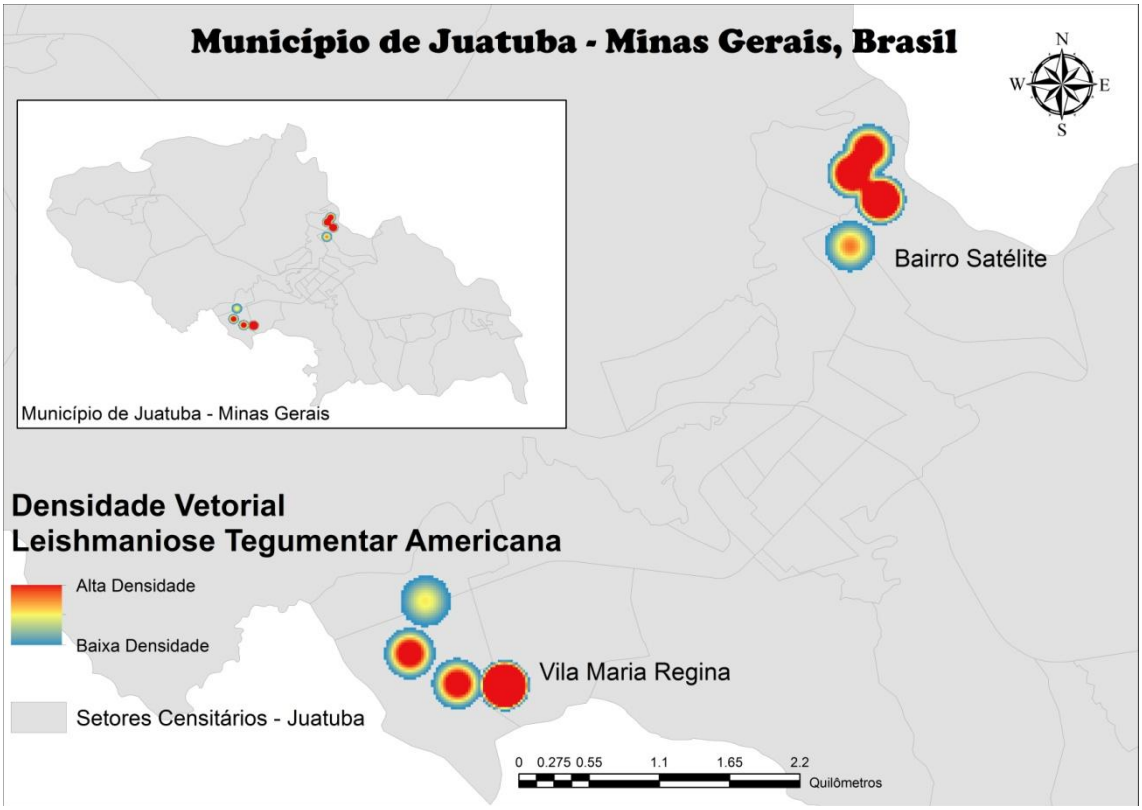


Figura 22: Distribuição espacial das residências de captura vetorial de acordo com a densidade dos vetores da Leishmaniose tegumentar americana no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016.

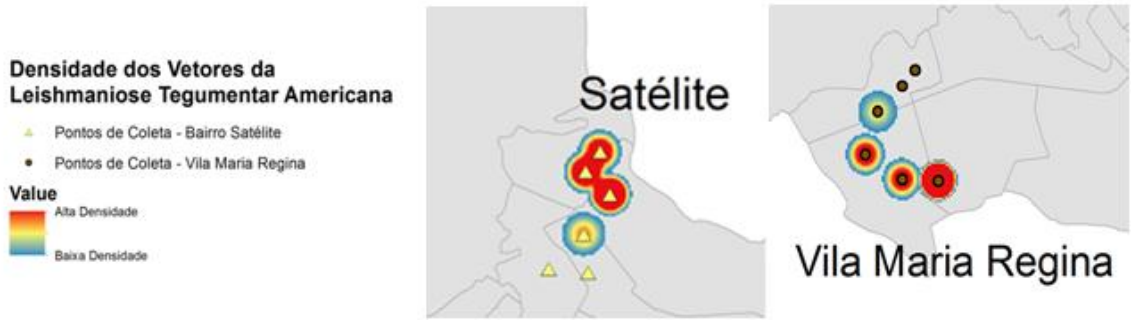


Figura 23: Imagem em *zoom* do mapa de setores censitários de Juatuba de acordo com os pontos de coleta vetorial e a densidade dos vetores da Leishmaniose tegumentar americana no Satélite e Vila Maria Regina em Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de abril de 2015 a março de 2016.

5.4.2 Análise de *cluster* - Função K

Foi realizada a análise de *cluster*, por meio da função K para verificar o agrupamento de cães positivos no espaço. Observou-se que no Satélite houve a presença de *cluster* com casos aglomerados em um raio de até 450 metros (Figura 24) enquanto no VMR, os casos se aglomeravam em um raio de até 170 metros, sem significância após essa distância (Figura 25).

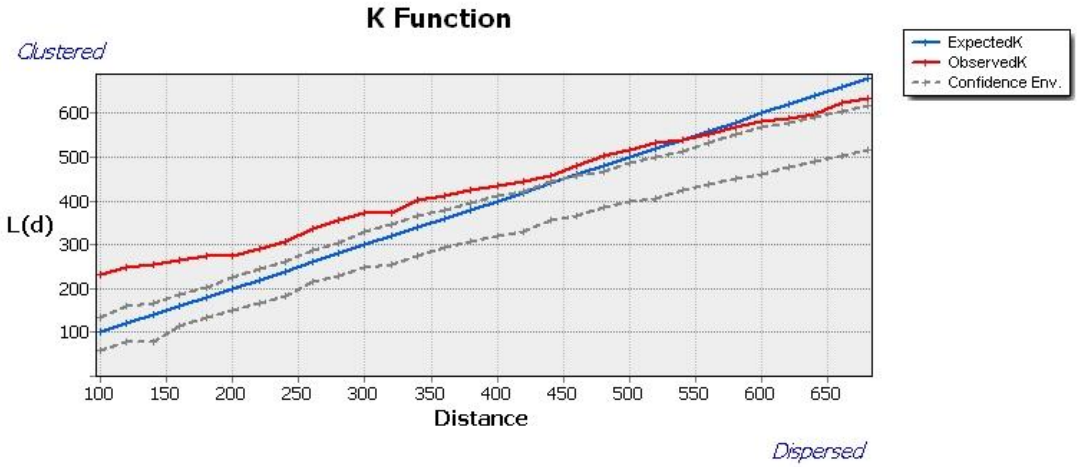


Figura 24: Gráfico da função K do Satélite mostrando significância da presença de *cluster* entre cães sororreagentes em Juatuba, Minas Gerais, Brasil.

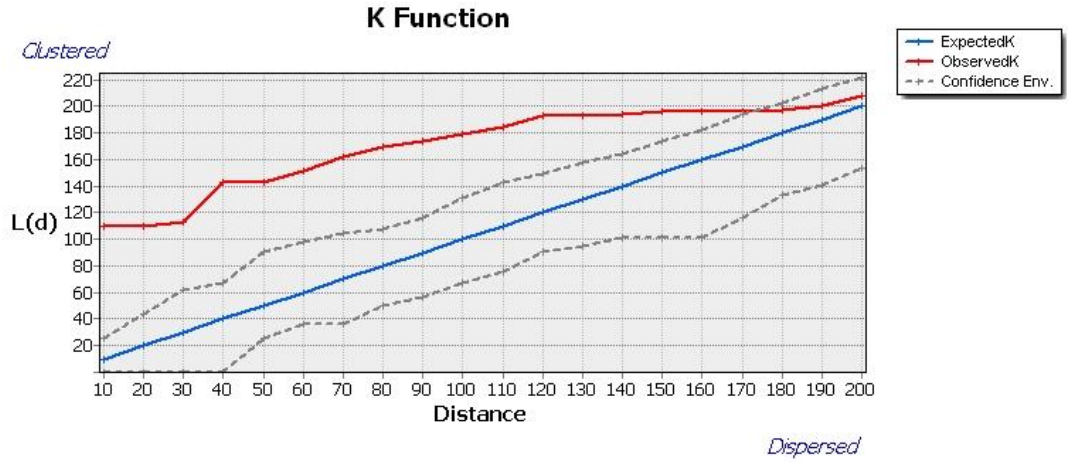


Figura 25: Gráfico da função K do Vila Maria Regina mostrando significância da presença de *cluster* entre cães sororreagentes em Juatuba, Minas Gerais, Brasil.

5.4.3 Lógica *Fuzzy* - Avaliação espacial entre os casos de LV canina e a densidade vetorial de *Lutzomyia longipalpis*

Através das análises da lógica *Fuzzy*, estabeleceram-se áreas de maior possibilidade de LVC dentro dos bairros estudados. Essas áreas de maior possibilidade configuram-se pela intensidade na presença dos casos caninos para LV associado à intensidade na densidade vetorial pela *Lu. longipalpis*, através de sobreposição dessas ocorrências no mapa de setores censitários das áreas estudadas. No Satélite existe a presença de três pontos considerados de "alta sobreposição" das ocorrências e um ponto mais centralizado indicando área de possibilidade "muito alta" da presença concomitante dos dois eventos, densidade vetorial e cães sororreagentes (Figura 26).

Em relação ao VMR, há concentração de pontos de sobreposição dos dois eventos em maior quantidade, indicando um maior número de áreas de possibilidade "muito alta" na ocorrência concomitante da alta densidade de *Lu. longipalpis* e cães sororreagentes em

comparação com o Satélite (Figura 27). Tem-se um maior número de quarteirões em área de maior possibilidade na ocorrência dos dois eventos no VMR, do que no Satélite.

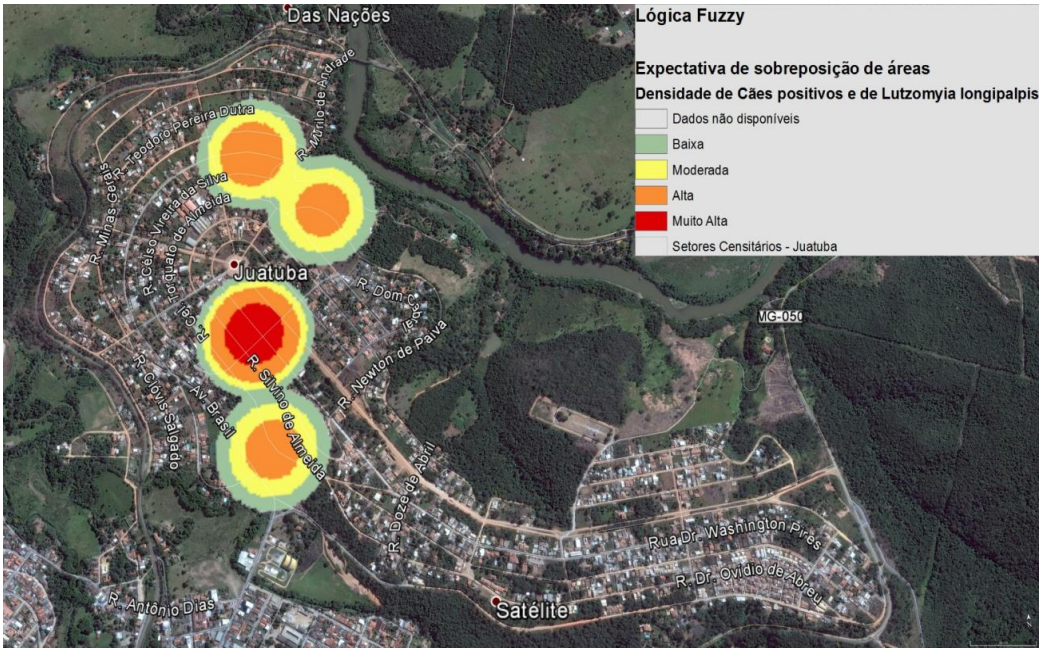


Figura 26: Mapa dos setores censitários do bairro Satélite através do *Google Earth* utilizando a lógica *Fuzzy* para a expectativa de sobreposição de áreas, no município de Juatuba, Minas Gerais, Brasil. (As áreas do mapa sem marcação não significam ausência de casos caninos e ausência de densidade vetorial, são áreas mais distantes no qual o levantamento entomológico não foi realizado).

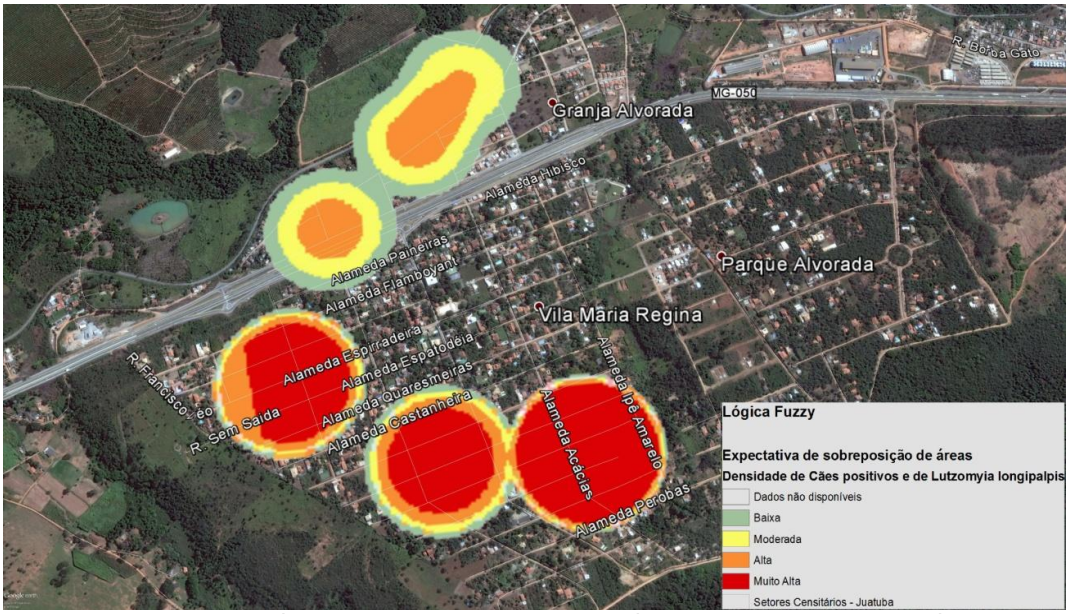


Figura 27: Mapa dos setores censitários do bairro Vila Maria Regina através do *Google Earth* utilizando a lógica *Fuzzy* para a expectativa de sobreposição de áreas, no município de Juatuba, Minas Gerais, Brasil. (As áreas do mapa sem marcação não significam ausência de casos caninos e ausência de densidade vetorial, são áreas mais distantes no qual o levantamento entomológico não foi realizado).

Com o objetivo de atribuir sentido às diferenças encontradas entre os pontos de captura e entre as áreas de estudo, realizou-se um estudo observacional em relação às principais características ambientais presentes nos três pontos de maior e de menor densidade vetorial. Os fatores observados foram descritos em relação à presença ou ausência de fatores inerentes à transmissão da LVC, ao tipo de variável, bem como à intensidade de seu aparecimento no ambiente peridomicilar dos pontos de captura e nos arredores da residência (rua da residência) (Quadro 1).

Quadro 1: Particularidades dos aspectos ambientais encontrados nos pontos de captura de maior densidade vetorial e nos pontos de menor densidade vetorial no município de Juatuba, Minas Gerais, Brasil, de Abril de 2015 a Março de 2016. (Identificação das armadilhas em ordem crescente de acordo com a densidade vetorial capturada em cada uma delas, sendo armadilha A= ponto de menor densidade vetorial; armadilha F= ponto de maior densidade vetorial).

Identificação da armadilha	Área de captura	Aspectos ambientais do peridomicílio					Aspectos ambientais rua da captura		
		Patos	Galinhas	Bananeiras	Oco de árvores e lenhas	Tipo Solo	Lotes vagos e sítios	Vegetação arbórea	Pavimento
A	Area 1	-	+	-	-	Brita	+	++	Terra
B	Area 1	-	+	+	-	Terra	+	+	Asfalto
C	Area 1	-	+	-	-	Grama	++	+++	Terra
D	Area 2	++	+++	-	+	Terra	+++	+++	Terra
E	Area 2	+++	+++	+++	++	Terra	+++	+++	Calçamento
F	Area 2	-	+++	-	+++	Terra	+++	+++	Calçamento

*O sinal + indica a intensidade da presença da variável em questão (+ = pouco presente; ++ = presença média; +++ = muito presente). O sinal – indica a ausência da variável no ambiente.

Verifica-se que em dois, dos três pontos de maior abundância vetorial localizados no bairro VMR, foi observado a presença de patos e alta densidade de galinhas. Além disso, foi observado de maneira geral nos três pontos de maior densidade vetorial, alta intensidade na presença de bananeiras e acúmulo de ocos de árvores e lenhas nas residências, somados à características do entorno dos domicílios como lotes vagos, excesso de vegetação e sombreamento em maior intensidade (Figuras 28 e 29). Essas observações foram diferentes do verificado nos pontos de menor densidade vetorial, nos quais não havia patos e apesar da presença de galinhas, essa se deu em menor número (Figura 30).

Figura 28: Presença de patos e galinhas no peridomicílio nos pontos de captura de maior densidade vetorial.
Fonte: Arquivo pessoal

Figura 29: Presença de bananeiras, ocos de árvores e lenhas no peridomicílio e vegetação arbórea, pavimentação de terra e lotes vagos no entorno dos pontos de captura de maior densidade vetorial.
Fonte: Arquivo pessoal

Figura 30: Peridomicílio com brita e grama, presença de galinheiro com poucas galinhas e no entorno dos pontos de menor densidade vetorial, presença de pavimentação de asfalto.
Fonte: Arquivo pessoal

6. DISCUSSÃO

O presente estudo realizou o levantamento da fauna flebotomínica em duas áreas do município de Juatuba, abrangendo dois bairros, além de caracterizar as espécies encontradas e detectar a presença de infecção natural nas fêmeas. Associado a esses objetivos, o estudo avaliou a correlação entre a densidade populacional vetorial e os fatores climáticos durante todo o período estudado. A prevalência canina para LV também foi calculada nas áreas a fim de se associar aos estudos envolvendo as pesquisas entomológicas. A escolha de Juatuba se fez devido à necessidade da continuidade no levantamento de dados fornecidos por estudos anteriores, de Borges *et al.* (2014) e Lopes *et al.* (2016).

O primeiro registro de vigilância entomológica no município de Juatuba foi em dezembro de 2009, quando o Serviço de Controle de Zoonoses capturou, coletou e identificou flebotomíneos, através das armadilhas de isca luminosa. Foram encontradas as espécies *Lu. longipalpis, Lu. whitmani* e *Lu. sallesi* nos bairros Satélite, Vila Maria Regina e Quinta da Boa Vista (Lopes, 2013).

No presente estudo foram capturados 431 flebotomíneos de 14 espécies diferentes. As espécies pertenciam a dois gêneros, *Lutzomyia* e *Brumptomyia,* equivalente ao encontrado no estudo de Lana *et al.* (2015) em Jaboticatubas, MG, onde se realizou captura entomológica durante doze meses através de armadilha luminosa HP, no peridomicílio de dez casas da área urbana. A maioria dos flebotomíneos do presente estudo foi encontrada no ambiente de peridomicílio, similar aos achados de Rêgo *et al*. (2014) em Xakriabá, MG e Lana *et al.* (2015). A proporção geral de machos e fêmeas foi de 2:1, corroborando com a maioria dos estudos entomológicos que capturaram machos em maior proporção (Michalsky *et al.*, 2009; Dias *et al.*, 2011; Lana *et al*., 2015; Lara-Silva *et al*, 2015), divergindo apenas em particularidades, como o estudo de Rêgo *et al*. em Xakriabá uma reserva indígena onde o número de fêmeas se apresentou em maioria, representando 67,2% do total (Rêgo *et al.*, 2014). Uma hipótese para o encontro do número de machos superior ao número de fêmeas, pode ser o fato dos machos eclodirem primeiro e nas residências de Juatuba os criadouros estarem próximos às moradias, com grande quantidade de umidade e abrigo, favorecendo a presença dos machos nesse ambiente (Alvar *et al.*, 2006). Dentre os espécimes capturados, estiveram presentes quatro espécies incriminadas na transmissão das leishmanioses, sendo *Lu. whitmani*, *Lu pessoai*, *Lu. intermedia* (vetores da LTA) e *Lu. longipalpis* (vetor da LV) (Lainson e Rangel, 2003; Lana *et al*., 2015).

O vetor *Lu. longipalpis* foi a espécie mais abundante, sendo esta a mais frequente nas duas áreas do município, o que coincide com estudos realizados em BH, MG (Lara-Silva *et al.*, 2015; Vianna *et al.*, 2016). A predominância de machos de *Lu. longipalpis* sobre as fêmeas foi expressiva semelhante aos achados de Vianna *et al.* (2016) em BH que selecionaram 40 casas de risco para LV para estudo entomológico no intra e peridomicílio, encontrando 595 exemplares machos de *Lu. longipalpis* e 75 exemplares fêmeas. O trabalho de Lara-Silva *et al.* (2015) em BH também corroborou com os achados deste estudo, sendo os flebotomíneos machos presentes em maioria no ambiente de peridomicilio e intradomicílio. A porcentagem da espécie capturada no ambiente intradomiciliar foi inferior ao encontrado por Lopes (2014) em Sabará que encontrou 23% no intradomicílio. No entanto esses dados demonstram que o número de flebotomíneos capturados no intradomícilio sob o ponto de vista epidemiológico é relevante, pois o encontro de *Lu. longipalpis* dentro das residências pode facilitar a transmissão da LV (Lopes, 2014). Muitos autores encontraram *Lu. longipalpis* mais abundante no ambiente peridomiciliar, semelhante a este estudo (Michalsky *et al.*, 2009; Barata *et al*., 2013; Lara-Silva *et al*., 2015) com exceção de Dias *et al.* (2011) que encontrou fêmeas de *Lu. longipalpis* predominantes no intradomicílio e Rêgo *et al.* (2014). A taxa de infeção natural por *Le.*

infantum em *Lu. longipalpis* foi alta (10%), inferior ao encontrado por Lara-Silva *et al.* (2015) em BH, MG (16,7%) e superior ao estudo de Michalsky *et al.* (2011) em Janaúba, MG, (3,9%). A taxa de infecção de *Leishmania* no vetor é considerada baixa na natureza (0,2 a 2%) mesmo em áreas endêmicas para LV (Rodriguez *et al*., 1999; Miranda *et al*., 2002; Michalsky *et al.*, 2011).

A segunda espécie mais abundante encontrada nas duas áreas de Juatuba, foi a *Lu. lenti*, geralmente encontrada em áreas de cerrado onde animais domésticos estão muito presentes, sobretudo galinhas (Galati *et al.*, 1996). Um resultado equivalente foi verificado por Lana *et al*. (2015) em Jaboticatubas, município com características ambientais e socioeconômicas semelhantes a Juatuba, que encontrou 23,9% da espécie. Embora Brazil *et al.* (1997) tenham afirmado ser o *Lu. lenti* refratário à infecção por *Leishmania*, foi verificada uma taxa de infecção natural por *Le. infantum* de 8,6% nas amostras de Juatuba. Outros autores também encontraram infecção nesta espécie por *Le. infantum*, com valores superiores ao encontrado no presente estudo (Margonari *et al*., 2010; Lana *et al*., 2015).

Na sequência, as espécies encontradas em maior número foram as do complexo *cortelezzii* com duas amostras positivas para *Le. infantum* (taxa de infecção de 5,2%). Outros estudos encontraram infecção também nesta espécie, com valores superiores aos encontrados nesta pesquisa (Carvalho *et al*., 2008; Saraiva *et al*., 2009; Lara-Silva *et al*., 2015).

A espécie *Lu. whitmani* dentre os vetores da LTA, foi o mais abundante, o que demonstra a relevância deste resultado, uma vez que anualmente são notificados novos casos de LTA em Juatuba. É uma espécie largamente distribuída em área urbana e rural, sendo o vetor de maior importância na transmissão da LTA no Brasil (Lainson e Rangel, 2005; Rangel e Lainson, 2009).

Em Juatuba a espécie *Lu. pessoai* representou 5% das espécies capturadas, sem detecção de DNA de *Leishmania* em nenhum espécime. Embora estudos da década de 40 tenham apontado *Lu. pessoai* como provável vetor da LTA (Pessoa e Coutinho, 1941; Lainson e Rangel, 2005) não foi possível confirmar tal fato em Juatuba.

Das espécies incriminadas como transmissoras da LTA, foi encontrado um baixo percentual de *Lu. intermedia*, semelhante aos estudos de Lara-Silva *et al.* (2015) em BH, MG, que encontrou 0,13% da espécie, Michalsky *et al*. (2009) em Janaúba, MG, (0,74%) e Dias *et al.* (2011) em Paracatu, MG, (0,8%) de *Lu. intermedia*, divergindo do encontrado por Lana *et al*. (2015) em Jaboticatubas, (14,6%). Embora em número pouco expressivo neste estudo, essa é uma espécie de característica antropofílica e a mais adaptada aos diversos tipos de ambiente, inclusive ao ambiente sinantrópico, possuindo importante papel epidemiológico (Lainson e Rangel, 2005; Saraiva *et al*., 2009).

Outras espécies foram encontradas em menor percentual, sendo *Lu. aragaoi*, *Lu. evandroi*, *Lu. sordelli*, *Lu. termitophila* e *Brumptomyia* spp., apresentando cada uma delas, o total capturado inferior a 2%.

O número de flebotomíneos capturados no VMR foi superior ao número capturado no bairro Satélite, com diferença significativa. Além disso, os cinco espécimes fêmeas que apresentaram infecção natural por *Le. infantum*, eram pertencentes a Área 2 do estudo (bairro VMR).

Em relação aos fatores climáticos e sua correlação com a densidade vetorial, os meses de maior densidade populacional foram agosto e outubro de 2015. Foi encontrado maior número de vetores em períodos de temperaturas médias elevadas (correlação positiva significativa). No entanto, o período de maior umidade relativa do ar apresentou menor densidade vetorial (correlação negativa significativa). De acordo com o MS o período de maior transmissibilidade da LV ocorre durante e logo após a estação chuvosa, quando está previsto o aumento da densidade populacional do inseto (BRASIL, 2009). Em Juatuba, no ano de 2015, os

meses de maior densidade vetorial foram agosto e outubro, nos quais foi observado um aumento da temperatura média, porém os menores índices de pluviosidade e umidade. Dessa maneira esse resultado se diferiu da maioria dos estudos, cuja densidade vetorial foi mais alta no período de maior pluviosidade, no qual a umidade relativa e a temperatura média normalmente estão elevadas (Dias *et al*., 2011; Rêgo *et al.*, 2014; Lana *et al*., 2015).

Segundo Salomón *et al*. (2015), analisar as variáveis de forma independente, ou seja, a relativização das variáveis pode explicar os dados contraditórios na literatura, de modo que, ainda que importante estudar a correlação da abundância vetorial associado às variáveis climáticas, é necessário também compreender a dinâmica do risco em cada localidade, para se determinar a plasticidade biológica das espécies, o cenário biótico e abiótico e a variabilidade climática, necessários para explicar os resultados divergentes em diferentes áreas geográficas.

Além dessa diferença no perfil dos dados climáticos do município afetando a população mensal dos flebotomíneos, houve diferença significativa entre a densidade vetorial entre as áreas de estudo, sendo o VMR a área onde se capturou maior número de vetores. Juatuba vivenciou uma epidemia de dengue nos primeiros meses de 2015, período de intenso controle químico por parte do serviço oficial de combate a endemias visando conter a população de *Aedes aegypti*. As borrifações com inseticida organofosforado Malation ocorreram durante todo o período chuvoso (fevereiro a abril) nas duas áreas de estudo, sobretudo no Satélite, que pelo fato de ter sofrido maior ação antrópica, foi o mais acometido pelo vírus da dengue e onde foi mais intensamente realizado o controle químico. Essa ação pode explicar a inversão no padrão esperado de maior densidade vetorial, uma vez que é conhecida a susceptibilidade dos flebotomíneos ao produto químico em questão (OMS, 1970; Marceló, Cabrera e Santamaria, 2014; OPS, 2005). De acordo com o MS para se conhecer a distribuição sazonal e abundância vetorial, visando estabelecer o período mais favorável para a transmissão da LV e direcionar as medidas de prevenção e controle químico do vetor, é necessário a realização de pesquisa entomológica com duração de dois anos (BRASIL, 2014). Dessa forma, para o município de Juatuba, inferências sobre o período ideal de intervenção química serão precisas após o estudo de dois ou mais ciclos sazonais.

O inquérito sorológico censitário canino foi realizado nas duas áreas e encontrou-se a taxa de prevalência para os bairros Satélite e VMR de 4,12% e 7,13%, respectivamente, sendo esses valores esperados de acordo com a literatura para áreas endêmicas. O reconhecimento dos casos de LVC pode servir de indicador para o surgimento de casos humanos, uma vez que a soropositividade canina normalmente precede a doença no homem, como verificaram Oliveira *et al.* (2001) e Bevilacqua *et al.* (2001) em BH. Resultados diferentes foram encontrados em estudo anterior no município de Juatuba, sendo a prevalência média de 15,5% no VMR e superior a 21% no Satélite (Borges *et al*., 2014). Essa diferença entre as prevalências encontradas em Juatuba de 2014 em comparação com 2016 pode ser justificada visto que no estudo de Borges *et al*. (2014) utilizou-se o protocolo antigo de diagnóstico (ELISA e RIFI) e no presente estudo, utilizou-se o protocolo atual preconizado e vigente pelo MS (DPP e ELISA). Além disso, uma vez que os cães sororreagentes foram eutanasiados em 2014, a força de infecção do município pode ter diminuído, explicando menores valores de prevalência para ambas as áreas. Outros estudos de prevalência para LVC em MG obtiveram valores de 9,7% em Montes Claros (França-Silva *et al.*, 2003), em Paracatu as taxas de prevalência variaram entre 1,2% e 16,1% dependendo do distrito de investigação (Dias *et al.*, 2011), em Governador Valadares a soropositividade média canina foi de 30% (Barata *et al.*, 2013) e 3,6% em BH (Lara-Silva *et al*., 2015). A diferença nas taxas de prevalência entre os estudos, apesar de todos possuírem o mesmo desenho amostral, pode estar relacionada às características da população canina, como modo de criação, dinâmica populacional e guarda responsável dos tutores, além de características demográficas, ambientais e condições de vida da população. Outra hipótese

seriam os testes utilizados em pesquisas anteriores a 2013, sempre ELISA como triagem e RIFI como confirmatório. Somente as pesquisas recentes utilizaram DPP e ELISA. Além de servir de fonte de infecção para o vetor, a importância epidemiológica do cão na transmissão da LV também está relacionada à sua presença, sendo uma fonte alimentar atrativa para o vetor (Silva, 2015). Um estudo realizado por Borges *et al*. (2009) analisou na cidade de BH o risco de contrair LV associado à presença de animais na residência. O resultado mostrou que proprietários de cães possuem um risco 2,17 vezes maior de contraírem a LV e que este número está relacionado ao número de cães no peridomicílio.

Embora inicialmente a escolha das áreas de estudo tenha sido definida baseada em características semelhantes onde se esperava encontrar taxas similares, houve diferença significativa entre a prevalência para LVC das duas áreas. Essa diferença pode estar relacionada à presença em maior quantidade de características ambientais favoráveis para a LV, como abundância de vegetação, raízes e troncos de árvores e matéria orgânica no solo (Camargo-Neves *et al*, 2001; Sangiorgi *et al*., 2012). No bairro VMR, estas características coincidiram com a alta densidade vetorial encontrada nessa área.

Em relação à análise espacial, verificou-se através da estimativa Kernel que o Satélite, pela sua maior densidade populacional canina, apresentou maior concentração de pontos de alta densidade de cães positivos para LV, semelhante à análise espacial realizada em Juatuba por Borges *et al.* (2014). Em relação à estimativa Kernel da densidade total de flebotomíneos, o VMR apresentou maior concentração de áreas de alta densidade de flebotomíneos, em comparação com o Satélite. Em todos os 12 pontos de captura, foram coletados flebotomíneos.

Na análise da Função K, observou-se que no bairro VMR houve agrupamento significativo de casos de LVC em um raio de aproximadamente 170 metros. Acima deste raio, não houve aglomeração significativa dos casos caninos positivos para LV, pois o valor observado da Função K se encontrou acima do limite esperado. Em relação ao bairro Satélite, os casos demonstraram um padrão de aglomeração significativo circunscrito em um raio de até 450 metros, após essa distância o modelo perdeu a significância pois o valor esperado saiu do limite superior de confiança. Um aspecto que explicaria essa diferença no padrão de aglomeração de casos entre as áreas seriam as características geográficas particulares de cada área em questão. O Satélite é mais urbanizado, sendo as residências muito próximas uma das outras, enquanto as do VMR são naturalmente mais espaçadas. Com esta análise pode-se inferir que no Satélite a transmissão da LV está distribuída em caráter homogêneo, disperso, enquanto no VMR os casos caninos encontram-se focalizados, centralizados em alguns pontos. Esse achado se assemelha ao estudo de Camargo-Neves *et al*., em Araçatuba, São Paulo que encontrou grande variabilidade na presença dos flebotomíneos entre os domicílios do município, bem como uma transmissão de LV não homogênea na área estudada (Camargo-Neves *et al*., 2001). Além disso, o VMR possui a característica de "micro-escala", onde os fatores que determinam a presença e abundância dos vetores são mais conhecidos, permitindo trabalhar em conjunto com a comunidade para conceber estratégias de controle sustentáveis adaptadas a nível local, envolvendo o meio ambiente, o manejo de animais domésticos e recomendações à população (Salomón *et al*., 2015).

Verificou-se através da lógica *fuzzy*, maior possibilidade de sobreposição de áreas de alta densidade de cães positivos e alta densidade de *Lutzomyia longipalpis* no VMR, indicando possibilidade "muito alta" de ocorrência simultânea dos dois eventos. Em relação ao Satélite, os resultados espaciais foram aproximados aos achados de Borges no mesmo município, ao se encontrar *cluster* de casos caninos de LV (Borges *et al.*, 2014).

Dos doze pontos de captura entomológica, três compreenderam a maior densidade vetorial capturada em todo período de estudo, todos situados em residências do VMR. Uma hipótese que explicaria a diferença nas análises espaciais entre as duas áreas seriam os aspectos

ambientais diferenciais entre os pontos de maior e menor densidade vetorial. Alguns aspectos encontrados já são conhecidos na literatura como importantes fatores de risco para LV, como a criação de patos, que segundo Borges *et al*. (2009), aumenta em até 4,18 o risco de ocorrência da doença. A criação de galinhas também se apresentou como um fator que favoreceu o incremento da população flebotomínica, como observado no estudo em BH, onde a criação de galinhas aumentou em 1,47 vezes o risco de ocorrência da LV (Borges *et al*., 2009). As áreas de maior densidade vetorial foram aquelas com maior número de galinhas no peridomicílio. Segundo Feliciangeli (2004) as galinhas podem atuar como amplificadores da população vetorial e promoverem a criação de sítios de reprodução do vetor, através de um abrigo favorável ou "micro-habitat" dentro dos galinheiros. Os aspectos relacionados a vegetação, troncos e ocos de árvores também são importantes fatores de risco conhecidos para a LV (Camargo-Neves *et al*, 2001; Alencar, Queiroz e Barret, 2011; Sangiorgi *et al*., 2012) e foram vistos em alta intensidade nos pontos de maior densidade vetorial das áreas estudadas, estando estes concentrados no VMR. Além das áreas serem distintas em aspectos relacionados à vegetação arbórea e nível de urbanização, o uso do organofosforado como controle químico para a dengue, pode explicar o fato dessa área ter apresentado maior densidade vetorial e maior positividade canina para LV, uma vez que foi borrifada em menor intensidade.

A observação do tipo de solo deve ser considerada, uma vez que nos três pontos de maior intensidade, o solo do peridomicílio era constituído de terra com presença de matéria orgânica, advinda de árvores frutíferas e fezes de animais. Essa variável já foi descrita como fator de risco para LV, em estudos anteriores em Araçatuba e no Paraná (Teodoro *et al*., 1999; Camargo-Neves *et al.*, 2001; Casanova, 2001).

Dentre os três pontos, um visivelmente se diferenciou da população capturada nas demais armadilhas (armadilha F), contemplando 39,4% dos flebotomíneos coletados no período total. Além de todas as características descritas anteriormente nas áreas de maior captura vetorial, neste imóvel observou-se grande quantidade de tronco de árvores empilhados expostos ao tempo, próximo ao galinheiro e ao local de instalação da armadilha peridomiciliar. De acordo com o estudo de Vianna *et al.* (2016) em BH, MG, domicílios receptivos em área de risco de transmissão da LV, devem ser priorizados, por exemplo, para a questão do manejo ambiental. Encontrar propriedades com infestação persistente chamadas "sítios de reprodução" ao longo dos meses é importante porque esse domicílio pode estar atuando como fonte de apoio de vetores ao longo do ano para áreas circunvizinhas, dificultando o controle ambiental natural advindo de condições climáticas e chuvas.

Verificou-se que, o VMR possui um conjunto de aspectos que tornam essa área como de maior possibilidade para ocorrência de LV quando comparado ao Satélite. O VMR possui maior densidade de flebotomíneos, maior densidade de *Lu. longipalpis*, presença da infecção natural de flebotomíneos por *Le. infantum*, maior taxa de prevalência de LV canina e presença elevada de condições ambientais com muitos fatores de risco para a doença.

Em estudo de caráter epidemiológico, a identificação das espécies vetoras, o conhecimento da biologia e a determinação da taxa de infecção natural destes, principalmente nas áreas endêmicas para a LV, são de fundamental importância para o entendimento da cadeia de transmissão da doença. Os resultados entomológicos possibilitam à vigilância epidemiológica do município, acompanhar o comportamento dos vetores nas áreas estudadas, dispondo de informações necessárias para direcionar e orientar, de modo eficaz, a aplicação de medidas preventivas, melhorando a saúde da comunidade (Lopes, 2014).

7. CONCLUSÕES

- A fauna flebotomínica das áreas estudadas apresentou-se diversa, totalizando 14 espécies, distribuídas em dois gêneros, *Luztomyia* e *Brumptomyia*;

- A espécie encontrada em maior número no período de estudo foi a *Lu. longipalpis* (44,1%), apresentando uma alta taxa de infecção por *Le. Infantum* (10%), o que demonstra um risco real de transmissão no município. Foram capturados também vetores da LTA (*Lu. whitmani*, *Lu. intermedia* e *Lu. pessoai*) representando um total de 13% que embora não tenham apresentado detecção de infecção natural, confirma a presença do vetor no município, que possui histórico recorrente de casos de LTA, sobretudo, nas áreas estudadas;

- Foi encontrado DNA de *Le. infantum* em *Lu. lenti* e no complexo *cortelezzii*. Estudos são necessários para elucidar o papel desses vetores na epidemiologia da LV, uma vez que somente o encontro do DNA do parasito não é suficiente para considerá-las vetoras desta espécie de leishmânia;

- A maioria dos flebotomíneos capturados foram machos (69,2%) e 74% da população total coletada foi proveniente do ambiente de peridomicílio. Apesar disso, o encontro de 14,2% dos exemplares de *Lu. longipalpis* no ambiente de intradomicílio e desses, 25% serem fêmeas, demonstra a adaptação da espécie ao ambiente antrópico e sugere que a transmissão possa ocorrer no interior da residência, aumentando o risco da transmissão para os humanos;

- De acordo com as análises entre a densidade de flebotomíneos e os dados climáticos, houve correlação positiva entre densidade vetorial e temperatura média mensal e correlação negativa entre densidade vetorial e umidade relativa do ar. Juatuba apresentou um perfil atípico em relação à distribuição esperada da densidade populacional mensal, com maior densidade nos meses de agosto e outubro, sendo necessário a realização de um estudo mais prolongado (dois anos) a fim de se elucidar a curva de sazonalidade dos flebotomíneos no município.

- A taxa de prevalência canina nas duas áreas de estudo foram 4,12% e 7,13%, nos bairros Satélite e VMR, respectivamente, demonstrando o dinamismo da infecção nas diferentes áreas do município;

- Na análise espacial, observou-se que a LV está presente de maneira diferente nas áreas estudadas. Foi verificada maior concentração nas condições ambientais com a presença de fatores de risco para LV, maior número de cães sororreagentes, maior densidade populacional flebotomínica, maior densidade de *Lu. longipalpis*, presença de infecção por *Le. infantum* e maior concentração de áreas de possibilidade "muito alta" na ocorrência concomitante dos eventos, densidade de *Lu. longipalpis* e cães positivos para LV na Área 2 (VMR), indicando que ações de prevenção e controle devem ser priorizadas nessa área;

- Três pontos de captura entomológica representaram 60% da captura total em todo período de estudo, estando os três situados na Área 2 (VMR). Entre esses foi detectado um sítio de reprodução de vetores, responsável por 39,4% de toda população flebotomínica capturada, elucidando ainda mais a importância e necessidade da intervenção ambiental.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A universidade tem importante papel na produção de conhecimento de alta aplicabilidade nas ações de prevenção e controle junto à comunidade, atendendo às demandas de programas específicos, no caso do presente estudo, ao PCV-LV. Desta maneira, foi proposto que se realizasse ao final do estudo a devolutiva dos resultados obtidos aos setores de gestão municipal (Secretaria de Saúde, Vigilância em Saúde e Setor de Controle de Zoonoses) bem como à comunidade participante efetiva de todo período de pesquisa.

Quanto às orientações para o SCZ, pensando na escassez de recursos disponíveis atualmente para o programa de vigilância e controle da LV e na possibilidade de priorizar áreas onde se tem uma situação de risco maior, o bairro VMR demonstrou ser uma área de maior demanda na priorização do programa, uma vez que possui alta densidade de flebotomíneos e de cães positivos para LV, além de apresentar características ambientais particulares e favoráveis que concentram maior número de variáveis consideradas como fatores de risco (galinhas, patos, troncos e ocos de árvores, vegetação densa e numerosa). Para o Satélite orientou-se ações de vigilância e controle envolvendo o inquérito sorológico canino censitário, o controle da população canina errante, a educação em saúde e o manejo ambiental de forma difusa e ampla, uma vez que a distribuição da LVC nessa área foi homogênea. Para o VMR, devido a todas às características que demandam priorização, sugeriu-se que o serviço de controle de zoonoses municipal pudesse direcionar, além do inquérito sorológico canino censitário e controle populacional de cães errantes, ações focadas às áreas de maior possibilidade de ocorrência da LV de maneira integralizada, multiprofissional, bem como a realização de operações de "força-tarefa" envolvendo diversos setores de gestão municipal, o sistema de limpeza urbana, as vigilâncias e a secretaria de meio ambiente, no intuito de realizar modificações no ambiente através de poda de árvores, limpeza de quintais e varandas e remoção mecânica de lixo e matéria orgânica. Além disso, para se assegurar que essas mudanças permanecessem, seria ideal a sensibilização e conscientização de caseiros e moradores do município, através de ações aplicáveis de educação em saúde. Quanto ao controle químico, por ser área com transmissão esporádica de LV, as ações referentes ao vetor estão restritas ao conhecimento da espécie, dispersão da população flebotomínica no município e controle através de manejo ambiental, portanto, de acordo com o Manual de vigilância e controle da LV, nenhuma ação de controle químico vetorial deve ser realizada (BRASIL, 2014), por isso a importância de se realizar ações totalmente focadas e voltadas ao manejo ambiental de maneira preventiva e corretiva.

Em relação às orientações direcionadas à comunidade diretamente envolvida no projeto, foi realizado no mês de março/2016 um retorno às 12 residências com pontos de captura de flebotomíneos com quatro objetivos centrais: a) agradecer aos moradores pela adesão e colaboração em todo período do estudo; b) fornecer a eles um documento informando os resultados obtidos durante os meses de coleta (Anexo 11); c) apresentar um vídeo educativo sobre o trabalho desenvolvido no município, destacando a relevância da participação da população em iniciativas como essa (Anexo 12); d) realizar ações de educação em saúde aplicáveis à realidade particular de cada residência, através de explicações sobre a epidemiologia, controle e prevenção das leishmanioses, estratégias de manejo ambiental a fim de se evitar a presença do vetor.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, G. M.; VILELA, M. L.; LIMA, R. B. Ecology of the sandflies of Itaguaí, in area of cutaneous leishmaniasis in the state of Rio de Janeiro. Feed preferences (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 82, p. 583-584, 1987.

ALENCAR, J. E.; DIETZE, R.; VERONESI, R. Leishmaniose visceral (Calazar). *Doenças infecciosas e parasitárias*, 8. Ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 706-17, 1991.

ALENCAR, R.B.; QUEIROZ, R. G.; BARRETT, T. V. Breeding sites of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) and efficiency of extraction techniques for immature stages in terra-firme forest in Amazonas State, Brazil. *Acta Tropica*, v. 118, n. 3, p. 204–208, 2011.

ALMEIDA, A. S; WERNECK, G. L.; RESENDES, A. P. C. Classificação orientada a objeto de imagens de sensoriamento remoto em estudos epidemiológicos sobre leishmaniose visceral em área urbana. *Cad Saude Publica*, p. 1639-1653, 2014.

ALVAR, J.; CAÑAVATE, C.; MOLINA, R.; MORENO, J.; *et al.* Canine leishmaniasis. *Adv Parasitol.*, v. 57, n. 4, p. 1–88, 2004.

ALVAR, J.; YACTAYO, S.; BERN, C. Leishmaniasis and poverty. *Trends Parasitol*, v. 22, n. 12, p. 552-57, 2006.

ALVES, E. B. *Fatores de risco para incidência de infecção por Leishmania infantum na cidade de Teresina, Piauí*. 2012. 55f. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

AMORA, S. S. A.; *et al*. Fatores relacionados com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Ciência Rural*, v. 36, n. 6, p. 1854-1859, 2006.

ARAÚJO, V. E. M.; PINHEIRO, L. C.; ALMEIDA, M.C.M.; *et al*. Relative risk of visceral leishmaniasis in Brazil: a spatial analysis in urban area. *Plos Negl Trop Dis.*, v. 7, n. 11, p. e2540, 2013.

BARATA, R. A.; FRANÇA-SILVA, J. C.; MAYRINK, W.; *et al*. Aspectos da ecologia e do comportamento de flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose visceral, Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 38, n. 5, p. 421-425, 2005.

BARATA, R. A.; PEIXOTO, J. C.; TANURE, A.; *et al*. Epidemiology of visceral leishmaniasis in a reemerging focus of intense transmission in Minas Gerais state, Brazil. *BioMed Res Int*, v.2013, 2013.

BAILEY, T.C; GATRELL, A.C. Interactive spatial data analysis. 1 ed. Longman Group Limited, Essex, p. 413, 1995.

BARBOSA, A.; et al. Distribuição espacial de acidentes escorpiônicos em Belo Horizonte, Minas Gerais, 2005 a 2009 (Spatial distribution of scorpion sting accidents in Belo Horizonte, Minas Gerais, 2005 to 2009). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,* v. 66, n. 3, p. 721-730, 2014.

BEVILACQUA, P. D.; PAIXAO, H. H.; MODENA, C. M.; *et al*. Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 53, n. 1, p.1-8, 2001.

BORGES, B. K. A.; SILVA, J. A.; HADDAD, J. P. A.; *et al.* Presença de animais associada ao risco de transmissão da leishmaniose visceral em humanos em Belo Horizonte, Minas Gerais. *Arq Bras Med Vet Zootec.*, v. 61, p. 1035–1043, 2009.

BORGES, B.K.A. *Fatores de risco associados ao perfil sorológico da Leishmaniose visceral em cães, Montes Claros/MG.* 2011. 104f. Tese (Doutorado em Epidemiologia). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

BORGES, L.F.N.M.; LOPES, E.G.P.; FREITAS, A.C.P.; *et al*. Prevalência e distribuição espacial da leishmaniose visceral em cães do município de Juatuba, Minas Gerais, Brasil. *Ciência Rural*, v. 44, n. 2, 2014.

BRASIL. Ministério da saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. 2. Ed. Editora do Ministério da Saúde, Brasília, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Ministério da Saúde. p. 816, 2009.

BRASIL. Ministério da Saude. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilancia da Leishmaniose Tegumentar Americana. Ed. Ministério da Saúde, Brasília, p. 180, 2010.

BRASIL, Ministério da Saúde . Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Ministério da Saúde, 1º ed. 5º reimpressão, Brasília, 2014.

BRAZIL, R.P.; CARNEIRO, L. V.; ANDRADE-FILHO, J. D.; *et al*. Biology of *Lutzomyia lenti* (Mangabeira) (Diptera: Psychodidae). *Anais da Sociedade Entomologica do Brasil*, v. 26, p. 191–193, 1997.

CAMARGO-NEVES, V. L. F.; KATZ, G.; RODAS, L. A. C.; *et al*. Utilização de ferramentas de análise espacial na vigilância epidemiológica de leishmaniose visceral americana - Araçatuba, São Paulo, Brasil, 1998-1999. *Cad. Saúde Pública*, v.17, n. 5, p.1263–1267, 2001.

CARVALHO, G. M. L.; ANDRADE-FILHO, J. D.; FALCAO, A. L.; *et al*. Naturally infected *Lutzomyia* sand flies in a *Leishmania*-endemic area of Brazil. *Vector Borne Zoonotic Dis*., v. 8, n. 3, p. 407–414, 2008.

CASANOVA, C. A soil emergence trap for collections of phlebotomine sand flies. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 96, n. 2, p. 273-275, 2001.

CONTROL OF THE LEISHMANIASES. Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases, Geneva: WHO, p.1-185, 2010.

COSTA, C. H. N.; PEREIRA, H. F.; ARAÚJO, M. V. Epidemia de Leishmaniose Visceral no estado do Piauí, Brasil, 1980-1986. *Rev Saúde Pública*, v. 24, n. 5, p. 361-372, 1990.

COSTA, T. A. C.; ROSSI C. N.; LAURENTI M. D.; et al. Ocorrência de leishmaniose em gatos de área endêmica para leishmaniose visceral. *Braz J Vet Res Anim Sci*, v. 47, n. 3, p. 213-217, 2010.

COURA-VITAL, W.; *et al*. Risk factors for seroconversion by Leishmania infantum in a cohort of dogs from an endemic area of Brazil. *PloS ONE*, v. 8, n. 8, p. e71833, 2013a.

COURA-VITAL, W.; REIS, A. B.; REIS, L. E. S. *et al*. Canine visceral leishmaniasis: Incidence and risk factors for infection in a cohort study in Brazil. *Vet. Parasitol.*, v. 197, n. 3-4, p. 411– 417, 2013b.

COUTINHO, J. O.; BARRETO, M. P. Contribuição para o conhecimento dos flebótomos de São Paulo: Phlebotomus fischeri PINTO, 1926 e Phlebotomus pessoai N. SP. Dipt., Psychodidae. *Rev Biol Hyg*, v. 2, p. 89-103, 1940.

DEANE, M.P.; DEANE, L.M. Infecção experimental do Phebotomus longipalpis em raposa (Lycalopex vetulus) naturalmente infectada pela *L. donovani*. *O Hospital*, 46, p.651-653, 1954.

DEANE, L. M.; DEANE, M. P. Leishmaniose visceral urbana (no cão e no homem) em Sobral, Ceará. *Hospital*. v.47, p. 75-87, 1955.

DEANE, L.M. Leishmaniose visceral no Brasil: estudos sobre reservatórios e transmissores no Estado do Ceará. Serviço Nacional de Educação Sanitária, 1956.

DEANE, L.M. Epidemiologia e profilaxia do calazar americano. *Rev. Bras.Malar*., v. 10, p.431-449, 1958.

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

DIAS, S.E.; REGINA-SILVA, S.; FRANÇA-SILVA, J.C.; *et al*. Eco-epidemiology of visceral leishmaniasis in the urban area of Paracatu, state of Minas Gerais, Brazil. *Vet. Parasit*., v. 176, p. 101-111, 2011.

ENVIRONMENTAL SYSTEMS RESEARCH INSTITUTE (ESRI). ArcGIS for Desktop Advanced. Released Version 10.5. Redlands, CA, 2016.

FELICIANGELI, M. D. Natural breeding places of phlebotomine sandflies. *Medical and veterinary entomology*, v. 18, n. 1, p. 71-80, 2004.

FERRER, L. Clinical aspects of canine leishmaniasis. In: *Iternational Canine Leishmaniasis Forum*, Barcelona, n.1,p.6-10, 1999.

FRANÇA-SILVA, J.C.; COSTA, T.; SIQUEIRA, A. M.; *et al*. Epidemiology of canine visceral leishmaniosis in the endemic area of Montes Claros Municipality, Minas Gerais State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 111, p. 161-173, 2003.

FRANCA-SILVA, J. C.; BARATA, R. A.; COSTA, R. T.; *et al*. Importance of Lutzomyia longipalpis in the dynamics of transmission of canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Porteirinha Municipality, Minas Gerais, Brazil. *Vet Parasitol*., v.131, 2005.

FREITAS, T. P. T. *A ecoepidemiologia das leishmanioses: levantamento de flebotomíneos em Cuiabá e investigação quanto a participação de roedores e marsupiais em Rondonópolis, Mato Grosso*. 2010. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá.

GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L. B.; DORVAL, M. E. C.; *et al*. Study of the phlebotomines (Diptera, Psychodidae), in area of cutaneous leishmaniasis in the Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Revista de Saúde Pública*, v. 30, n. 2, p. 115–128, 1996.

GOMIDE, F. A. C.; GUDWIN, R. R. Modelagem, controle, sistemas e lógica fuzzy. *SBA Controle & Automação*, v. 4, n. 3, p. 97-115, 1994.

GONTIJO, C. M. F. *et al*. Epidemiological studies of an outbreak of cutaneous leishmaniasis in the Rio Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, Brazil. *Acta Tropica*, v. 81, n. 2, p. 143-150, 2002.

GUIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. Brasília, DF: Ministério da Saúde. Caderno 11, Leishmanioses. 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Censo demográfico 2010. Disponível em: <http:// www.ibge.gov.br>. Acesso em: Outubro de 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), Juatuba. 2015. Disponível em: http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=313665. Acesso em: Dezembro de 2016.

KING, R.J.; CAMPBELL-LENDRUM, D.H.; DAVIEST, C.R. Predicting geographic variation in cutaneous leishmaniasis. *Emerg Infect Dis* Colombia, v.*4*, p. 598-607, 2004.

LAINSON, R.; RANGEL, E. F. Ecology of leishmaniasis, In *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p. 291–309, 2003.

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

LAINSON, R.; SHAW, J.J. Epidemiology and ecology of leishmaniasis in Latin America. *Nature*, v. 273(Parasit Suppl): p.595-600, 1978.

LAINSON, R.; SHAW, J.J. Evolution, classification and geographic distribution. W Peters, R Killick-Kendrick editors, The Leishmaniases in Biology and Medicine. *Academic Press*, London, p; 1-120, 1987.

LAINSON, R.; SHAW, J.J. New world leishmaniasis. Topley and Wilson's microbiology and microbial infections, 2005.

LANA, R. S.; MICHALSKY, É. M.; FORTES-DIAS, C. L., *et al*. Phlebotomine sand fly fauna and Leishmania infection in the vicinity of the Serra do Cipó National Park, a natural Brazilian heritage. *BioMed Research International,* v. 2015, p. 1- 9, 2015.

LARA-SILVA, F. O.; MICHALSKY, E. M.; FORTES-DIAS, C. L.; *et al.* Epidemiological aspects of vector, parasite, and domestic reservoir in areas of recent transmission and no reported human cases of visceral leishmaniasis in Brazil. *Acta Tropica,* p. 1-41, 2015.

LOPES, E.G.P. *Dinâmica da transmissão da leishmaniose visceral em uma coorte de cães em Juatuba, Mg de 2010 a 2011*. 141p. Tese doutorado (Epidemiologia). 2013. Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

LOPES, J. V. *Epidemiologia da leishmaniose visceral no município de Sabará, Região Metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.* 126p. Dissertação de Mestrado (Doenças Infecciosas e Parasitárias). 2014. Centro de Pesquisas René Rachou. Belo Horizonte.

LOPES, E. G. P.; OVIEDO-PASTRANA, M. E.; BORGES, L. F. N. M.; *et al.* Transmission of visceral leishmaniasis in dogs in a risk area of the metropolitan region of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Arq. Bras.Med. Vet. Zootec*., v.68, n.6, p.1403-1412, 2016.

LUZ, Z. M. P.; *et al*. Leishmaniasis urbanization and low diagnosis capacity in the Metropolitan Region of Belo Horizonte. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 34, n. 3, p. 249-254, 2001.

MANGABEIRA FILHO. O. 11ª Contribuição ao estudo do Flebotomus (Diptera: Psychodidae): Flebotomus oswaldoi Mangabeira, 1942. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 37, n. 3, p. 287-295, 1942.

MARCELÓ, C.; CABRERA, O. L.; SANTAMARÍA, E. Indicadores de sensibilidad de una cepa experimental de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) a tres insecticidas de uso en salud pública en Colombia. *Biomedica,* v. 34, p. 624–630, 2014.

MARGONARI, C.; *et al*. Epidemiology of visceral leishmaniasis through spatial analysis, in Belo Horizonte municipality, state of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 101, n. 1, p. 31-38, 2006.

MARGONARI, C.; SOARES, R. P.; ANDRADE-FILHO, J. D.; *et al*. Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) and *Leishmania* infection in Gafanhoto Park, Divinopolis, Brazil. *Journal of Medical Entomology,* v. 47, n. 6, p. 1212–1219, 2010.

MAURÍCIO, I.L.; STOTHARD, J.R.; MILES, M.A. The strange case of L*eishmania chagasi*. *Parasitol. Today*, v.16, p.188-189, 2000.

MEDRONHO, R.A.; *et al*. Epidemiologia. In: Kale PL, Costa AJL, Luiz RR, editors. Medidas de Associação e Medidas de Impacto. São Paulo: Editora Atheneu. p. 181-191, 2009.

MENEZES, F. C. Sistema *de Informação de Leishmaniose Visceral (LV) em Belo Horizonte – Minas Gerais: avaliação do subcomponente Inquérito Canino no período de 2006 a 2010*. 2011. 161f. Dissertação (Mestrado) Centro de Pesquisa René Rachou, Belo Horizonte.

MICHALSKY, E. M.; FRANÇA-SILVA, J. C.; BARATA, R. A.; *et al*. Phlebotominae distribution in Janaúba, an area of transmission for visceral leishmaniasis in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 104, p. 56-61, 2009.

MICHALSKY, E.M.; GUEDES, K. S.; SILVA, F. O. L.; *et al*. Infecção natural de Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis (Diptera: Psychodidae) por Leishmania infantum chagasi em flebotomíneos capturados no município de Janaúba, Estado de Minas Gerais, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*., v. 44, p. 58-62, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS). Nota técnica conjunta 01/2011- CGDT-CGLAB/DEVIT/SVS/MS. *Diário Oficial*, Brasília, 2011.

MIRANDA, J.C.; REIS, E.; SCHRIEFER, A.; GONÇALVES, M.; REIS, M.G.; et al. Frequency of infection of *Lutzomyia* Phlebotominae with *Leishmania braziliensis* in a Brazilian endemic area as assessed by pinpoint capture and polymerase chain reaction. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v.97, p.185-188, 2002.

MISSAWA, N. A.; LOROSA, E. S.; DIAS, E. S. Preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) em área de transmissão de leishmaniose visceral em Mato Grosso. *Rev Soc Bras Med Trop*., v. 41, p. 365-368, 2008.

MONTEIRO, E. M.; SILVA, J. C. F.; COSTA, R. T.; *et al*. Leishmaniose Visceral- estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 38, n. 2, p. 147- 152, 2005.

MORENO, E.C.; *et al*. Epidemiologia da leishmaniose visceral humana assintomática em área urbana, Sabará, Minas Gerais, 1998-1999. *Informe epidemiológico do SUS*, v. 11, n. 1, p. 37-39, 2002.

MORENO, E. C.; *et al*. Risk factors for Leishmania chagasi infection in an urban area of Minas Gerais State. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 38, n. 6, p. 456-463, 2005.

OLIVEIRA, C. D. L.; ASSUNÇÃO, R. M.; REIS I. A. *et al*. Spatial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brasil, 1994-1997. *Cadernos de Saúde Pública*, v.17, n.1, p.1231-1239, 2001.

OLIVEIRA, S.S.; ARAÚJO, T.M. Evaluation of control measures for visceral leishmaniasis (kalazar) in an endemic area in Bahia, Brazil (1995-2000). *Cad Saude Publica*, v.19, n.6, p.1681–90, 2003.

ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD (OPS). Consulta de expertos OPS/OMS sobre leishmaniasis visceral em las Américas. Informe Final. Ministério da Saúde. Brasília. Brasil. 2005. Disponível em: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=16960&Itemid=270. Acesso em: Novembro de 2016.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS)**.** Resistência a inseticidas e controle de vetores. Série de Relatórios Técnicos relatório 17th 443. N. dos especialistas da OMS em inseticidas. Genebra: OMS, 1970.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). Regional Office of the World Health Organization. Report Leishmaniasis, n.1, 2013.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). Leishmaniasis. World Health Organization. Americas. 2015. Disponível em: <http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=3835&Itemid=4098&lang=en>. Acesso em: Novembro de 2016.

PESSÔA, S. B.; COUTINHO, J. O. Natural and experimental infection of phlebotomine by *Leishmania braziliensis* in the state of São Paulo. *Rev. Biol. Hig*. Hospital(Rio de Janeiro), v. 20. p. 49–63, 1941.

PINA, M.F. Modelagem e Estruturação de Dados Não Gráficos em Ambiente de Sistemas de Informação Geográfica: Estudo de Caso na Área de Saúde Pública, MSc Thesis, IME, Rio de Janeiro, 1994.

PREFEITURA MUNICIPAL DE BELO HORIZONTE (PBH). Informações sobre Leishmaniose Visceral 2015. Belo Horizonte, 2015. Disponível em: http://portalpbh.pbh.gov.br/pbh/ecp/comunidade.do?evento=portlet&pIdPlc=ecpTaxonomiaMenuPortal&app=saude&tax=12768&lang=pt_BR&pg=5571&taxp=0&. Acesso em: Novembro de 2016.

PUGEDO, H.; *et al.* HP: um modelo aprimorado de armadilha luminosa de sucção para a captura de pequenos insetos. *Rev Soc Bras Med Trop*, v. 38, n. 1, p. 70-2, 2005.

QUARESMA, P. F.; MURTA, S. M. F.; FERREIRA, E. C. *et al*., Molecular diagnosis of canine visceral Leishmaniasis: identification of Leishmania species by PCR-RFLP and quantification of parasite DNA by real-time PCR. *Acta Trop.*, v. 111, n. 3, p. 289-294, 2009.

QUARESMA, P.F.; CARVALHO, G.M.L.; RAMOS, M.C.N.F.; FILHO, J.D.A. Natural Leishmania sp. reservoirs and phlebotomine sandfly food source identification in Ibitipoca State Park, Minas Gerais, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v.107, n.4, p.480-485, 2012.

QUINNELL, R.J.; COURTENAY, O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. *Parasitology*, v. 36, n.14, p. 1915–34, 2009.

RANGEL, E. F.; VILELA, M. L. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera , Psychodidae , Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. *Cad Saúde Pública*, v. 24, n. 12, p. 2948–2952, 2008.

RANGEL, E. F.; LAINSON, R. Proven and putative vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil: aspects of their biology and vectorial competence. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 104, n. 7, p. 937–954, 2009.

RÊGO, F. D.; SHIMABUKURO, P. H. F.; QUARESMA, P. F.; *et al*. Ecological aspects of the Phlebotominae fauna (Diptera: Psychodidae) in the Xakriabá Indigenous Reserve, Brazil. *Parasites & vectors*, v. 7, n. 1, p. 1-12, 2014.

RODRIGUEZ, N.; AGUILAR, C.M.; BARRIOS, M.A.; BARKER, D.C. Detection of *Leishmania braziliensis* in naturally infected individual sandflies by the polymerase chain reaction. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, v. 93, p.47-49, 1999.

ROSS R. (1) Note on the bodies recently described by Leishman and Donovan. (2) Further notes on *Leishman's* bodies. *Brit Med J*, v. 2, n. 2237, p.1261, 1903.

SABROZA, P.C.; TOLEDO, L.M.; OSANAI, C.H. A organização do espaço e os processos endêmicos-epidêmicos. In MC Leal, PC Sabroza, RH Rodrigues, PM Buss (orgs), *Saúde, Ambiente e Desenvolvimento*, Abrasco, Rio de Janeiro, Hucitec, São Paulo, v.2, p. 57-77, 1992.

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

SANGIORGI, B.; MIRANDA D.N.; OLIVEIRA, D.F.; SANTOS, E.P.; *et al*. Natural breeding places for phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a semiarid region of Bahia State, Brazil. *J Trop Med*. 2012; p.5, 2012.

SANTANA-FILHO, F. C. *et al*. Recusas de borrifação de imóveis e ocorrência de casos de leishmaniose visceral na Regional Noroeste de Belo Horizonte. *Arq. bras. med. vet. zootec*, v. 64, n. 4, p. 899-908, 2012.

SARAIVA, L.; CARVALHO, G. M. L.; GONTIJO, C. M. F.; *et al*. Natural infection of *Lutzomyia neivai* and *Lutzomyia sallesi* (Diptera: Psychodidae) by *Leishmania infantum chagasi* in Brazil. *J Med Entomol*., v. 46, n. 5, p. 1159–1163, 2009.

SECUNDINO, N.F.C.; EGER, MANGRICH, I. et al. *Lutzomyia longipalpis* Peritrophic Matrix: Formaction, Structure, and Chemical Composition. *J Med Entomol*., v. 42, n.6, p. 928-938,2005.

SHAW, J.J. Animal reservoirs of *Leishmania* in different ecological situations and their importance in the epidemiology of the disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. v. 83, p. 486-490. 1988.

SHAW, J.J. Taxonomy of the Genus Leishmania: Present and Future Trends and Their Implications. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 89, n. 3, p.471-478, 1994.

SILVA, E.S.; GONTIJO, C.M.; PACHECO, R.S.; FIUZA, V.O.; BRAZIL, R.P. Visceral leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v.96, p.285-91, 2001.

SILVA, E.S.; GONTIJO, C.M.F.; MELO, M.N. Contribution of molecular techniques to the epidemiology of neotropical *Leishmania* species. *Trends in Parasitol*, v. 21, n.12, p. 550-552, 2005.

SILVA, A.V.M.; SOUZA, C.C.D. et al. The first record of american visceral leishmaniasis in domestic cats from Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Trop*, v.105, n.1, p.92-94, 2008.

SILVA, F. O. L. *Ecoepidemiologia e Controle da Leishmaniose Visceral no município de Belo Horizonte (Minas Gerais, Brasil)*. 2015. 152f. Tese (Doutorado em Ciências) Centro de Pesquisas René Rachou. Belo Horizonte.

SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO (SINAN). Portal da Saúde. DataSus. Dados epidemiológicos Sinan. Doenças e Agravos de notificação. 2016. Disponível em: http://portalsinan.saude.gov.br/dados-epidemiologicos-sinan. Acesso em: Janeiro de 2017.

TANSCHEIT, R. Sistemas fuzzy. Departamento de Engenharia Elétrica, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

TEODORO, U.; BALDUINO, J.; THOMAZ-SOCCOL, V.; *et al*. Environmental sanitation and peri-domiciliar organisation as auxiliary pratices for the control of phlebotomines in Paraná State, southern Brazil. *Brazilian Arch Biol Technol.*,v. 42, n. 3, p. 307–314, 1999.

THOMSON, M.C; CONNOR, S.J. Enviroment information systems for the control of arthropod vectors of disease. *Med Vet Entomol*, v. 14, p. 227-244, 2000.

VALE, E. C. S.; FURTADO, T. Cutaneous leishmaniasis in Brazil: historic revision, expansion and ethiology. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 80, p. 421–428, 2005.

VAN EYS, G. J.; SCHOONE, G.J.; KROON, N.C.; EBELING, S.B. Sequence analysis of small subunit ribosomal RNA genes and its use for detection and identification of Leishmania parasites. *Mol Biochem Parasitol*, v. 51, p. 133–142, 1992.

VIANNA, E. N.; *et al*. Abundance of Lutzomyia longipalpis in urban households as risk factor of transmission of visceral leishmaniasis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 111, n. 5, p. 302-310, 2016.

WERNECK, G.L.; PEREIRA, T.J.C.F.; et al. Avaliação da efetividade das estratégias de controle da leishmaniose visceral na cidade de Teresina, Estado do Piauí, Brasil: resultados do inquérito inicial-2004. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v.17, n.2, p. 87-96, 2008.

WERNECK, G..L. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Brasil. *Cad Saúde Pública*. v. 26, n. 4, p. 644-645, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), Leishmaniasis: background information, Geneva, Switzerland. 1988. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/60369/1/WHO_LEISH_88.25.pdf. Acesso em Outubro de 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2014. Disponível em: http://www.who.int/leishmaniasis/epidemic/response_more/en/index.html]. Acesso em Outubro de 2016.

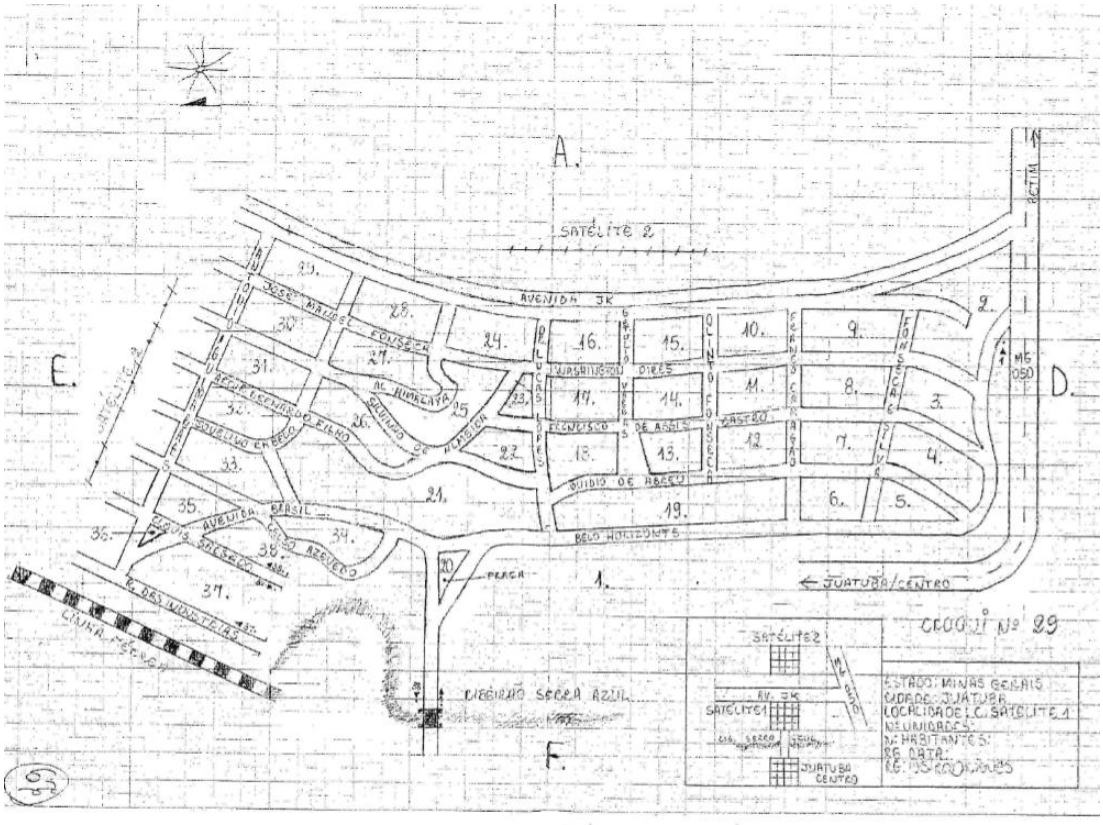
WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Leishmaniasis. 2015. Disponível em: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/. Acesso em: Março de 2015.

YOUNG, G.D.; ARIAS, J.R. Flebótomos Vectores de Leishmaniasis en las Américas. *OPS Cuad Téc,* 33, p. 28. 1992.

YOUNG, D. G.; DUNCAN, M. A. Guide to the identification and geographic distribution of Lutzomyia sandflies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Memoirs of the American Entomological Institute*. Gainesville: Associated Publishers, n. 54. p. 887, 1994.

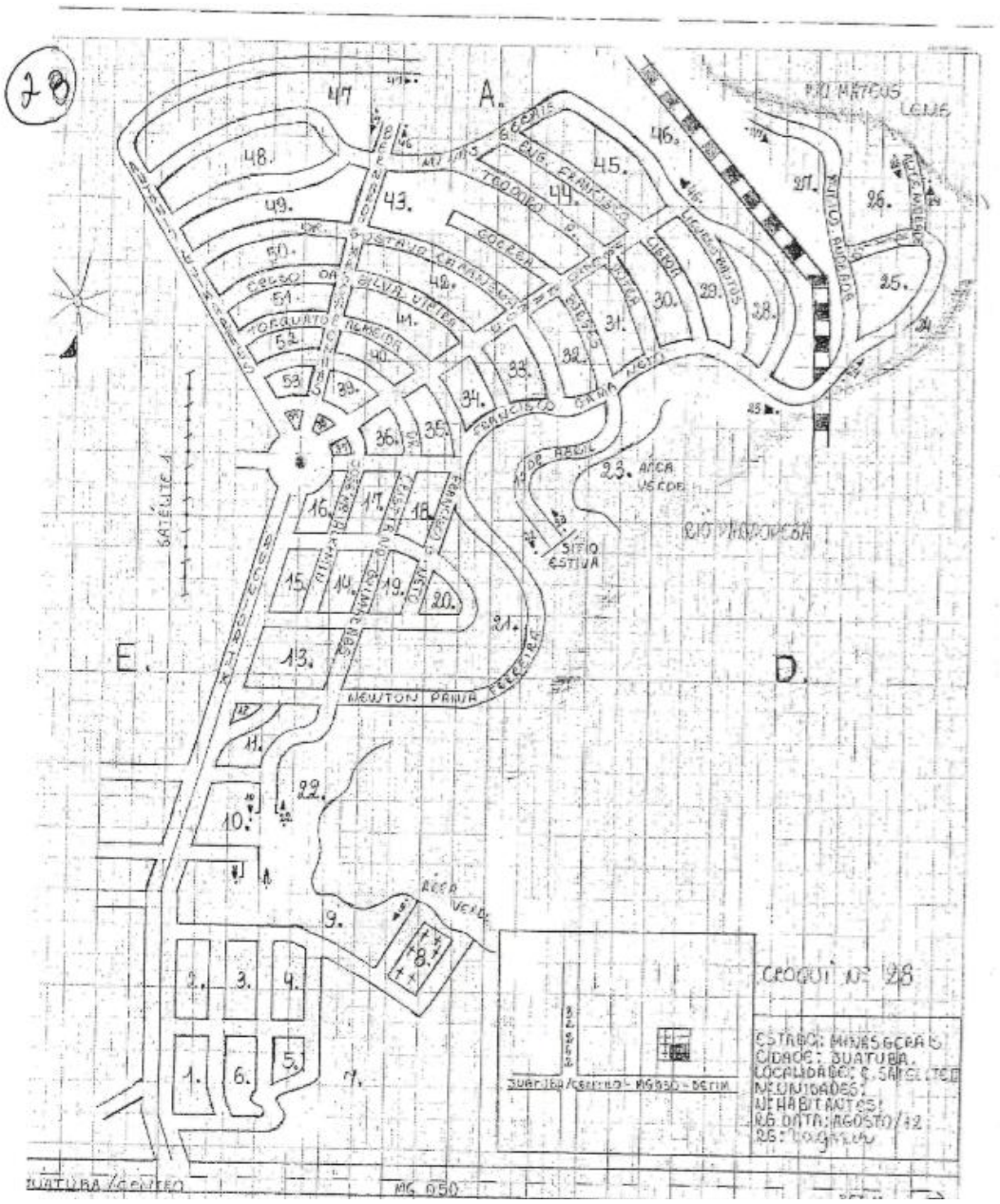
10. ANEXOS

Anexo 1 – Mapa Satélite I



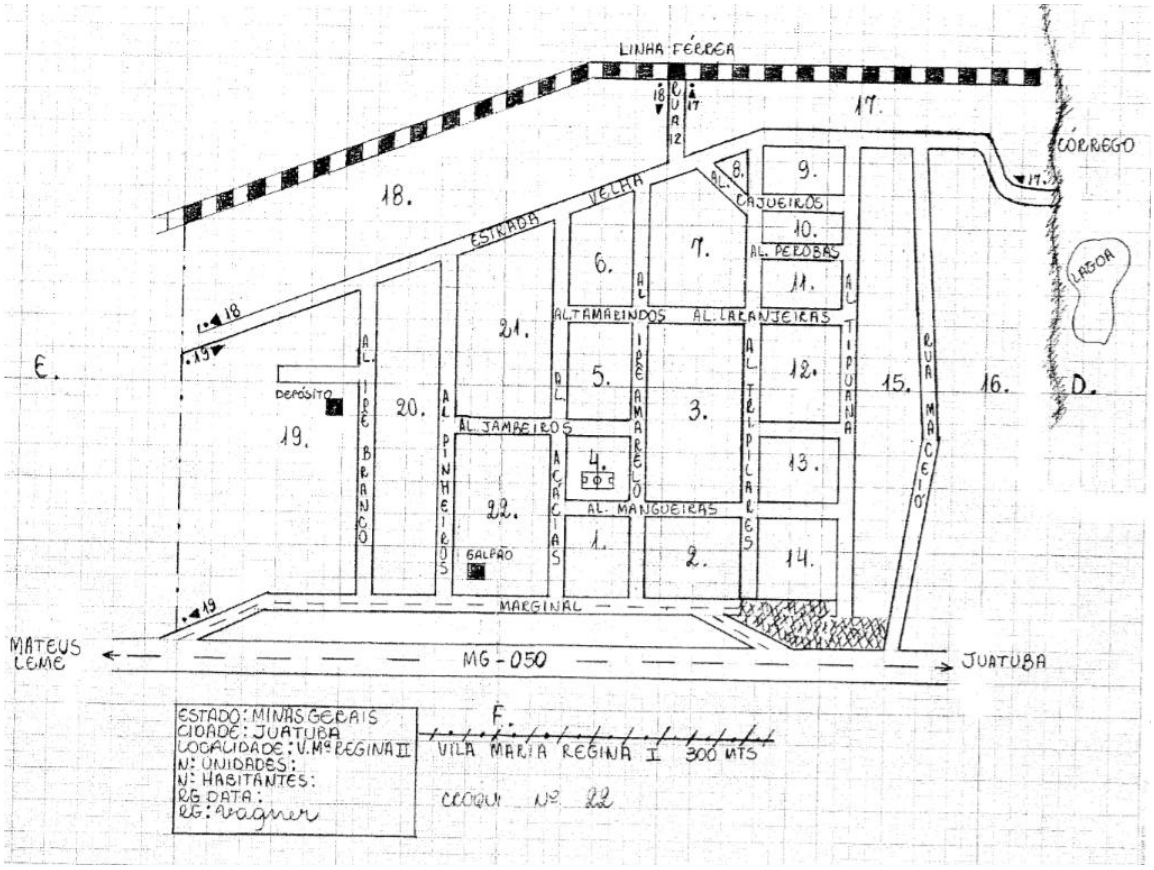
Fonte: SVS – Serviço de zoonoses Juatuba

Anexo 2 – Mapa Satélite II



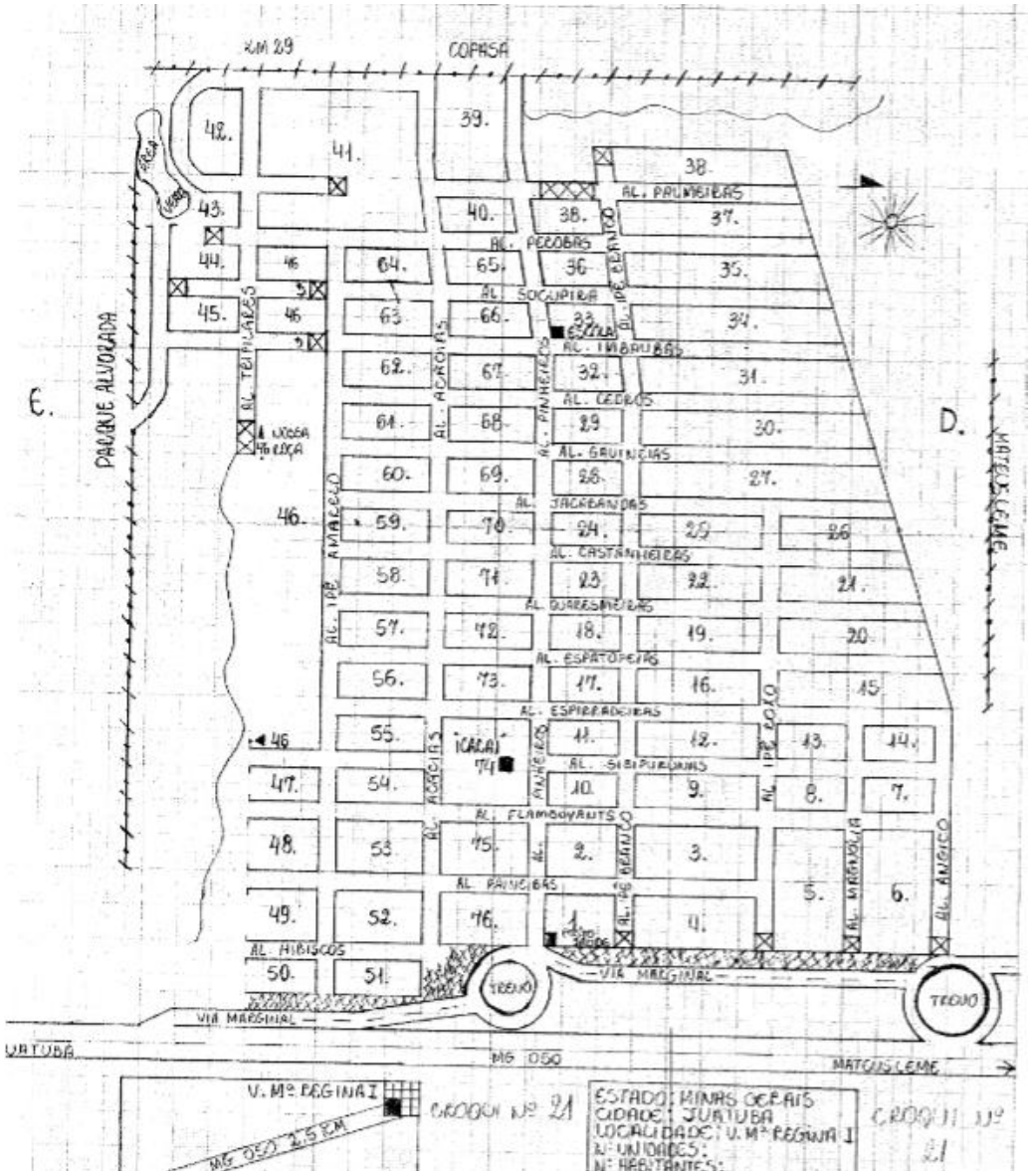
Fonte: SVS – Serviço de zoonoses Juatuba

Anexo 3 – Mapa Vila Maria Regina I



Fonte: SVS – Serviço de zoonoses Juatuba

Anexo 4 – Mapa Vila Maria Regina 2



Fonte: SVS – Serviço de zoonoses Juatuba

Anexo 5 – Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) para exame sorológico cães

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado para participar de uma pesquisa intitulada "Ações integrativas para a saúde homem/animal em Juatuba, 2015/2016" que está sendo realizada pela Universidade Federal de Minas Gerais, Secretaria Municipal de Saúde de Juatuba (SMSJ) e pelo Serviço de Controle de Zoonoses de Juatuba (SCZJ).

O objetivo dessa pesquisa é identificar os riscos de transmissão da leishmaniose visceral em Juatuba e promover ações de prevenção e controle no município.

Sua participação consiste em responder um questionário com questões de identificação e permitir a observação do seu domicílio. Para isso o senhor (a) receberá a visita de um monitor do projeto (UFMG) juntamente com um funcionário do Centro de Controle de Zoonoses que lhe fará algumas perguntas. Peça ao entrevistador que se identifique. O senhor (a) tem total liberdade em recusar-se a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa sem penalidade alguma e sem prejuízo ao seu cuidado, bem como lhe é garantido livre acesso as informações e esclarecimentos adicionais sobre a pesquisa e suas consequências, enfim, tudo que queira saber antes, durante e depois de sua participação. O questionário é de curta duração, aproximadamente 15 minutos e as informações não serão divulgadas de forma individual. O nome do senhor (a) e todas as respostas serão mantidos em sigilo, garantindo a sua privacidade.

Informamos sobre possíveis desconfortos e riscos durante sua participação. O Senhor (a) pode estar exposto (a) ao incomodo de ter que responder um questionário cuja duração é em torno de 15 minutos, podendo causar cansaço ou desconforto físico. Para reduzir esses efeitos adversos, recomendamos que o Senhor (a) responda ao questionário sentado, em local sombreado.

A partir das informações obtidas com o questionário e com as observações realizadas pelo monitor do projeto, pretendemos junto com a SMSJ, SCZJ e a UFMG desenvolver atividades para prevenção de zoonoses. Os resultados serão sistematizados e devolvidos para a comunidade na forma de palestras e oficinas a serem planejadas posteriormente, de participação voluntária.

Para participar deste estudo, o(a) senhor(a) deverá autorizar e assinar um termo de consentimento. Você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você receberá esclarecimento sobre qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se. O (a) Senhor (a) poderá retirar o consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido (a) pelo pesquisador que irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Você não será identificado em nenhuma publicação.

Os resultados estarão à sua disposição quando a pesquisa for finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a permissão do (a) seu (sua) responsável. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 05 (cinco) anos, e após esse tempo serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma via será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra será fornecida a você.

Eu,_____RG_____abaixo assinado, concordo em participar do Projeto Ações integrativas para a saúde homem/animal, como entrevistado. Fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador _____ sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Local e data _____

Nome e Assinatura do entrevistado: _____

Nome e Assinatura do pesquisador: _____

Pesquisadores:

- Serviço de Controle de Zoonoses de Juatuba. Tel: **3535-8404** Email: **zoonoses.juatuba@gmail.com**
- Danielle Ferreira de Magalhães: Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerias - Av. Antônio Carlos, 6627, CEP 31.270-901. Tel: (31) 3409-2088. E.mail: daniellef@ufmg.br
- COEP/UFMG: Unidade Administrativa 2. Sala 2005. Av. Antônio Carlos, 6627, CEP 31.270-901. Tel: 3409-4592 E.mail: coep@prpq.ufmg.br

Anexo 6 – Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) para estudo entomológico

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO VOLUNTÁRIO

ESTUDO: Ações integrativas para a saúde homem/animal em Juatuba, 2015/2016

Nome do voluntário: Código:

Telefone:

Endereço:

INTRODUÇÃO: Esta pesquisa tem como objetivo estudar e investigar a fauna flebotomínica do município de Juatuba, sob a responsabilidade da Dra. Danielle Magalhães da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Dr. Edelberto Santos Dias do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR - Fiocruz) e Serviço de Controle de Zoonoses de Juatuba.

OBJETIVO DO ESTUDO DE PESQUISA: Estamos realizando um estudo de pesquisa sobre Leishmaniose, pela UFMG em parceria com o Ministério da Saúde, Prefeitura de Juatuba e Fiocruz. A Leishmaniose Visceral conhecida como "calazar" é um grande problema de saúde pública no Brasil. As pessoas podem se infectar em suas próprias casas ao serem picadas pelo vetor da doença o "mosquito palha" cientificamente conhecido como flebótomo. Ele é frequente nos domicílios e possui hábito crepuscular e noturno. A atividade de alimentação começa no entardecer e atinge o seu pico entre 21 e 23 horas, quando o número de insetos começam a decrescer, desaparecendo entre 5 e 6 horas da manhã. O propósito deste estudo é investigar a presença desses insetos que transmitem a doença e avaliar se eles estão infectados e com transmissibilidade da doença no município.

PROCEDIMENTOS: Serão realizadas capturas dos insetos com o auxílio de armadilhas luminosas, que permitem detectar a abundância dos flebótomos na área de estudo. As armadilhas serão instaladas por um período de três noites consecutivas mensalmente em sua residência. Elas serão ativadas no entardecer e retiradas na manhã seguinte até as 9 horas. Essa metodologia é a mesma utilizada pelo Manual de Vigilância e Controle da leishmaniose visceral onde serão instaladas duas armadilhas por residência, um no peridomicilio (quintal e abrigos de animais) e outra no intradomicilio (residência).

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA: Tenho consciência que a minha participação como voluntário não me trará nenhum benefício ou privilégio e em hipótese alguma prejudicarão a minha saúde e bem-estar. Poderei a qualquer momento me retirar do projeto de pesquisa por qualquer motivo, sem que isso acarrete prejuízo para mim ou minha família.

Poderei no momento em que desejar procurar os responsáveis pela pesquisa, para esclarecer qualquer questão relacionada ao projeto.

Vigilância em Saúde / Serviço de Controle de Zoonoses de Juatuba: Rua Prefeito Wilman Elias Salomão, nº 41, Bairro Varginha, Contato: 3535-9409 / 3535-8404 zoonoses.juatuba@gmail.com

Escola de Veterinária da UFMG – Prof. Danielle Ferreira de Magalhães Soares: daniellef@ufmg.br

Eu li este consentimento e minha participação é inteiramente voluntária, portanto, concordo em participar e assino abaixo em 2 vias.

Juatuba, ___ de _____ de 2015.

Assinatura do voluntário: _____

Assinatura do pesquisador responsável: _____

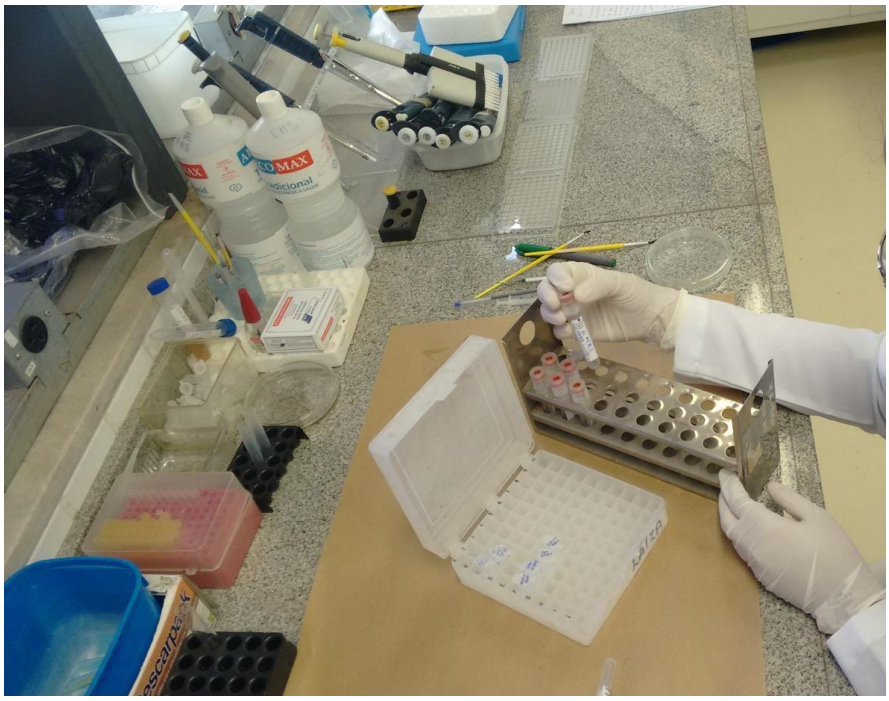
Anexo 7 – Instalação armadilhas

Instalação armadilha no peridomicílio das residências amostradas no estudo entomológico.
Fonte: Arquivo pessoal

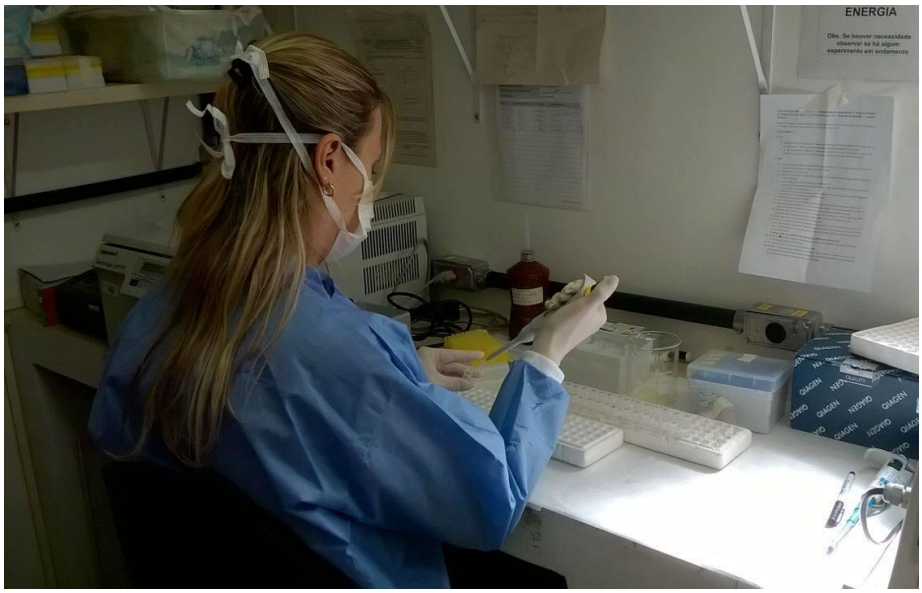
Anexo 8 – Triagem das armadilhas

Laboratório de leishmanioses – Escola de Veterinária UFMG
Fonte: Arquivo pessoal

Anexo 9 – Acondicionamento flebotomíneos e extração de DNA fêmeas



Laboratório de leishmanioses – Escola de Veterinária UFMG
Fonte: Arquivo pessoal



Laboratório do Centro de Pesquisas René rachou – Fiocruz (Sala de extração)
Fonte: Arquivo pessoal

Anexo 10 – Exemplo de documento com resultados obtidos no período de estudo – Devolutiva município

RESULTADO COLETA DE FLEBÓTOMOS 2015 - 2016

Armadilha [redacted]
Responsável Residência: [redacted]

	Peridomicílio		Intradomicílio	
Meses	Machos ♂	Fêmeas ♀	Machos ♂	Fêmeas ♀
Abril	2	1	0	1
Maio	1	0	0	1
Junho	0	0	0	1
Julho	1	0	0	0
Agosto	3	0	0	0
Setembro	1	0	0	1
Outubro	18	3	0	1
Novembro	2	0	0	0
Dezembro	6	0	1	0
Janeiro	4	1	1	0
Fevereiro	0	0	0	1

Total: 51 flebótomos

Anexo 11 – Educação em saúde

Residência amostrada no estudo entomológico
Fonte: Arquivo pessoal