UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

PRISCILA CAMARGO GRANADEIRO FARIAS

ANÁLISE DE FATORES GEOGRÁFICOS E CLIMÁTICOS RELACIONADOS À DISTRIBUIÇÃO DE PHLEBOTOMINAE (DIPTERA: PSYCHODIDAE) EM ÁREA DE TRANSMISSÃO DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL

VITÓRIA

2014

PRISCILA CAMARGO GRANADEIRO FARIAS

ANÁLISE DE FATORES GEOGRÁFICOS E CLIMÁTICOS RELACIONADOS À DISTRIBUIÇÃO DE PHLEBOTOMINAE (DIPTERA: PSYCHODIDAE) EM ÁREA DE TRANSMISSÃO DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, para a obtenção do Título de Mestre em Doenças Infecciosas.

Orientador: Prof. Dr. Aloísio Falqueto

Co-orientador: Prof^{a}. Dr^{a}. Blima Fux

VITÓRIA

2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Farias, Priscila Camargo Granadeiro, 1982-
F224a Análise de fatores geográficos e climáticos relacionados à distribuição de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) em área de transmissão de leishmaniose tegumentar americana no estado do Espírito Santo, Brasil / Priscila Camargo Granadeiro Farias. – 2014.
91 f. : il.

Orientador: Aloísio Falqueto.
Coorientador: Blima Fux.

Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Psychodidae. 2. Leishmaniose Mucocutânea. 3. Vetores de Doenças. 4. Variações Sazonais. I. Falqueto, Aloísio. II. Fux, Blima. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 61

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

PARECER ÚNICO DA COMISSÃO JULGADORA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

A mestranda PRISCILA CAMARGO GRANADEIRO apresentou a dissertação intitulada **"Análise de fatores geográficos e climáticos relacionados à distribuição de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) em área de transmissão de Leishmaniose Tegumentar Americana no Estado do Espírito Santo, Brasil"** em sessão pública, como requisito final para obtenção do título de Mestra em Doenças Infecciosas, do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo.

Considerando a apresentação oral dos resultados, a qualidade e relevância dos mesmos, a Comissão Examinadora decidiu (X) **aprovar** ( ) **reprovar** a dissertação para habilitar a médica veterinária PRISCILA CAMARGO GRANADEIRO a obter o Grau de MESTRA EM DOENÇAS INFECCIOSAS.

Vitória, ES, 07 de agosto de 2014

Profa. Dra. Paloma Helena Fernandes Shimabukuro
(Membro externo)

Prof. Dr. Crispim Cerutti
(Membro interno)

Prof. Dr. Aloísio Falqueto
(Orientador)

Profa. Dra Blima Fux
(Coorientadora)

“Dedico este trabalho ao meu marido Thiago, aos meus filhos Bruno e Bernardo, e à minha mãe, Maria de Fátima. Amo vocês!”

AGRADECIMENTOS

As coisas da vida são interessantes. Agosto já foi tido como o mês do “cachorro louco”. Pra mim é um mês de grandes conquistas! Há quase 13 anos, no dia 13 de agosto de 2001, eu passava pela primeira vez pelos portais da entrada principal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Era um sonho se tornando realidade, e me lembro de não crer que aquilo estava de fato acontecendo. Ficava conferindo meu nome nas listas de chamada pra ter certeza de que aquele lugar era meu. E era exatamente onde eu deveria estar.

Hoje cá estou, novamente em agosto, buscando mais uma vitória nessa minha trajetória. Agora fechando um ciclo. E foi difícil! Estudei como acho que nunca fiz para a prova de seleção e ainda muito durante o curso de Mestrado em Doenças Infecciosas. Eu estava adentrando um espaço estranho, onde pessoas que eu não conhecia demonstravam domínio total de assuntos que eu, uma médica veterinária num curso da saúde humana, ainda precisava aprender. Mas minha formação acadêmica e esforços puderam fazer as diferenças diminuírem a cada dia, e percebi que a troca era muito rica. A Universidade Federal do Espírito Santo então se tornou a minha casa. E era exatamente onde eu deveria estar.

Por isso e muito mais, AGRADEÇO:

Antes de tudo, a Deus, nosso Pai. A vida é preciosa, e sei que sou privilegiada por ter a minha. Saúde, amor, uma bela família, força e oportunidades. Com tantos desafios desde sempre e podendo contabilizar tantas vitórias, só posso ser grata. Obrigada, amado Pai!

À Universidade Federal do Espírito Santo, que abriu suas portas e me permitiu vivenciar grandes experiências e aprendizados.

Aos professores e colegas do curso de Pós-graduação em Doenças Infecciosas, pela dedicação, ensinamentos e parceria. Foram dois anos de crescimento pessoal e intelectual.

À CAPES, pela bolsa de estudos.

Ao meu orientador, prof. Aloísio Falqueto, esse exemplo de médico, pesquisador e ser humano. Seu comprometimento e imersão em sua missão profissional são inspiradores. Como meta, quero ser ao menos parecida com ele, só que na versão médica veterinária!

Mil vezes à minha co-orientadora e amiga profª. Blima Fux, pelo apoio desde que cheguei à Parasitologia. Obrigada pelos ensinamentos e pelas oportunidades que me ofereceu, como te acompanhar nas aulas da graduação. Isso tudo não tem preço, mas o maior valor de todos é o da amizade sincera que construímos!

Ao Claudiney, que acreditou em mim desde o começo, e foi fundamental em todas as fases deste trabalho. Não há palavras para agradecer por sua ajuda.

Ao Prof. Gustavo Rocha Leite e à colega doutoranda Vivianne Meneguzzi, pelo valioso auxílio nas análises estatísticas, no esclarecimento da metodologia e na parte ética do trabalho, sempre com muito boa vontade e disponibilidade.

Ao Jefferson, que participou ativamente das coletas e tabulação dos dados, mas que infelizmente desencarnou antes de ver este trabalho pronto.

Aos meus colegas do Centro de Controle de Zoonoses de Cariacica, os médicos veterinários Fabrício, Daniel e Thyara, além das auxiliares Cristina e Emília. Vocês me ajudaram muito nos piores períodos, com meus horários malucos, e tornaram meus dias no trabalho mais leves e agradáveis. Juntos somamos forças nas nossas lutas diárias.

Aos meus queridos animais, meus pacientes ou não. Especialmente à minha companheira das horas no computador, Maria Teresa. Com eles sofro, me divirto e aprendo a cada dia que há muitas outras linguagens além da fala, as quais o homem, na construção da sua identidade e evolução, deixou que adormecessem dentro de si. Descobrir a linguagem dos animais é descobrir a mim mesma. Isso me move!

Agradeço à minha mãe Maria de Fátima, sempre guerreira. Você é o exemplo e a mola propulsora das minhas conquistas! Sem você nada disso seria possível. Ao meu irmão Adair, que comigo cresceu e que me faz rir sempre. Ao meu pai, Gilson,

grande entusiasta das minhas vitórias. Ao meu padrasto Gastão, que graças a Deus está conosco e pode participar de mais essa etapa da minha vida. Espero continuar sempre dando a vocês alegrias, orgulho e todo meu amor! Obrigada por acreditarem em mim!

À minha sogra Adélia, meu sogro Paulo Cezar e meu cunhado Cezinha, por me receberem de braços abertos, além de me socorrerem nas horas mais complicadas. Vocês são demais! Amo vocês!

Muito obrigada aos meus demais familiares e amigos queridos, por me impulsionarem e terem paciência com a minha ausência. Seria impossível citar todos, então deixo aqui um enorme beijo para minhas amigas-irmãs Patty Pacheco e Ana Paula Magalhães. O tempo e a distância nunca poderão apagar nossa amizade!

Ao meu amado marido, Thiago. Como eu disse, sou privilegiada! Tenho ao meu lado uma pessoa maravilhosa, que me ajudou a dar conta quando faltou tempo, quando o fardo pesou demais, quando bateu desânimo e desespero. Te amo! Agradeço a Deus todos os dias por ter você e nossos meninos!

Aos meus filhos Bruno e Bernardo. Bruno, o mais velho, vivenciou comigo todos os desafios da graduação, do início da vida profissional e agora do Mestrado. Um menino doce e que nunca fez cobranças, apesar de ter sofrido tanto quanto eu com a distância e a minha falta de tempo. Já Bernardo, meu pequenininho, este sim, cobra e mostra sua insatisfação quando a mamãe não pode dar atenção. Um perfil diferente, mas igualmente adorável! Não há felicidade maior do que olhar pra eles e vê-los saudáveis, felizes, ao meu lado! A cada dia me sinto mais honrada por ter recebido dois seres tão especiais na minha vida. Mamãe ama vocês!

E sim, não poderia deixar de citá-la, já que foi e ainda é uma referência fortíssima na minha vida: minha avó Arlete, que hoje já se encontra no plano espiritual. Espero ansiosamente por outros encontros nossos em sonhos e na vida. Meu amor é eterno!

RESUMO

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença que acomete pele e mucosas causada por parasitos dermotrópicos do gênero *Leishmania* Ross, 1903. Os parasitos são transmitidos através da picada de pequenos dípteros da família Psychodidae, os flebotomíneos. O município de Cariacica, Espírito Santo, Brasil, esteve nos últimos cinco anos (2009 a 2013) entre os cinco que apresentaram maior número de casos notificados no estado, segundo a Secretaria de Estado de Saúde (SESA-ES, 2014). A localidade de Roda D'Água demonstra grande importância, por concentrar elevado número de casos, contribuindo com grande parte das notificações do município. Avaliando os casos da doença na região, registrados nos prontuários médicos do serviço de referência, na Unidade de Medicina Tropical da Universidade Federal do Espírito Santo, observou-se que estes ocorriam a até 550 m de altitude, numa área que vai de 20 a 718 m. A hipótese mais provável seria a de que o fenômeno fosse relacionado aos vetores, já que o homem e os animais estariam presentes em todas as altitudes. De fevereiro de 2002 a janeiro de 2004 foram realizadas coletas mensais de flebotomíneos em Roda D'Água, que aconteciam simultaneamente em três níveis de altitude, sendo: nível 1 - até 250 m; nível 2 - entre 250 e 500m e nível 3 - acima de 500m. Em cada nível as coletas aconteciam em dois ambientes: mata e peridomicílio. As capturas eram feitas em armadilhas de Shannon modificadas e por busca ativa em repouso, com capturador de Castro. Avaliou-se o comportamento das espécies quanto à pluviosidade (períodos seco e chuvoso) e às estações do ano. Analisaram-se estatisticamente as principais espécies antropofílicas de importância epidemiológica (Falqueto, 1995). Foram calculados os índices ecológicos abundância, riqueza, diversidade, equitabilidade e dominância. Coletou-se um total de 13233 flebotomíneos, com identificação de 23 espécies. A espécie predominante foi *Nyssomyia intermedia* (61,12%), seguida por *Pintomyia fischeri* (18,20%) e *Migonemyia migonei* (8,68%), todas antropofílicas. Somou-se a estas a espécie *Pintomyia monticola*, que representou 1,67% do total de espécimes coletados e também é altamente antropofílica. As demais espécies somaram 10,10% do total de flebotomineos. A altitude influenciou a distribuição das quatro espécies analisadas, tendo *Ny. intermedia* e *Pi. fischeri* sido mais abundantes no nível 2, *Mg. migonei* mais abundante no nível 1 e *Pi. monticola* no nível 3. Em relação ao ambiente, as

espécies *Ny. intermedia* e *Mg. migonei* foram estatisticamente mais abundantes no peridomicílio e *Pi. monticola* na mata. A distribuição de *Pi. fisheri* não apresentou diferença significativa entre os dois ambientes, porém foi a única afetada pelas chuvas e estações do ano, sendo a espécie mais encontrada no período seco e no inverno. *Nyssomyia intermedia* parece ser a principal espécie vetora da LTA em Roda D'Água, com *Mg. migonei* provavelmente tendo papel secundário. *Pi. fisheri* não parece estar envolvido localmente na transmissão da doença para humanos, apesar de já ter sido incriminado em outras regiões. A distribuição de *Pi. monticola* em relação à altitude e ao ambiente indica ser improvável sua participação na transmissão da LTA naquela região.

Palavras-chave: Psychodidae, Leishmaniose Mucocutânea, Vetores, Variações Sazonais.

ABSTRACT

American cutaneous leishmaniasis (ACL) affects the skin and mucous membranes caused by dermotropic parasites of the genus Leishmania Ross, 1903. The parasites are transmitted through the bite of small insects of the family Psychodidae, the sandflies. The municipality of Cariacica, Espírito Santo, Brazil, has been in the last five years (2009-2013) among the five municipalities which had the largest numbers of reported cases in the, according to the State Department of Health (SESA-ES, 2014). The locality of Roda DÁgua has shown high epidemiological importance, due to the large concentration of cases contributing to the municipality notifications. Evaluating the registered cases from the region, from the medical reference service, Unidade de Medicina Tropical da Universidade Federal do Espírito Santo, it was observed that they occurred up to 550 m of altitude, in an area between 20-718 m above sea level. The most likely hypothesis is that the phenomenon is related to the vector distribution, since humans and animals are be present in all altitudes. From February 2002 to January 2004 sand flies were simultaneously captured in monthly collections in Roda D'Água , at three altitude levels: level 1 - up to 250 m, level 2 - between 250 and 500 m and level 3 - above 500 m. In each level, collection of sand flies was carried out in two environments: sylvatic and peridomicile. Collections were made using modified Shannon traps and by active search with Castro pooter. We evaluated flight activity of the species as the rainfall (rainy and dry seasons) and the seasonality. Only species known to be anthropophilic and with epidemiological importance were statistically analyzed. Abundance, richness, diversity, equitability, and dminance ecological indices were estimated. A total of 13,233 sand flies from 23 species were collected. The most abundant species was *Nyssomyia intermedia* (61.12%), followed by *Pintomyia fischeri* (18.20%) and *Migonemyia migonei* (8.68%), all species are anthropophilic. *Pintomyia monticola* represented 1.67% of the total specimens collected and is also antropophilic. The other species comprised 10.10% of the total specimens collected. The altitude affected the distribution of four species, and *Ny. intermedia* and *Pi. fischeri* were more abundant at level 2, *Mg. migonei* most abundant at level 1 and *Pi. monticola* at level 3. *Nyssomyia intermedia* and *Mg. migonei* were statistically more abundant in peridomestic areas and *Pi. monticola* in sylvatic environment. *Pintomyia fischeri* occurrence was not statistically significant according to environment, but it was the only one affected by the rain and showed

seasonality, most commonly found in dry periods and during the winter. *Nyssomyia intermedia* seems to be the most important vector of ACL in Roda D'Água and *Mg. migonei* presents probably acting as asecondary vector. *Pintomyia fischeri* does not seem to be involved in disease transmission to humans in the locallity, despite having already been incriminated in others regions. According to its distribuition, probably *Pi. monticola* does not play a role in ACL transmission in Roda D'Água.

Keywords: Psychodidae, Mucocutaneous leishmaniasis, Vectors, Seasonal variations.

LISTA DE ABREVIAÇÕES

°C	Graus Celsius
DNA	Desoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucléico)
ES	Espírito Santo
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
GPS	Global Positioning System (Sistema de Posicionamento Global)
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IJSN	Instituto Jones dos Santos Neves
Km	Quilômetros
LTA	Leishmaniose Tegumentar Americana
LV	Leishmaniose Visceral
Lu.	*Lutzomyia*
m	Metros
MG	Minas Gerais
Mi.	*Micropygomyia*
mm	Milímetros
Mg.	*Migonemyia*
NI	Não Identificados
Ny.	*Nyssomyia*
OMS	Organização Mundial de Saúde
Pi.	*Pintomyia*
RJ	Rio de Janeiro
SP	São Paulo

SESA-ES	Secretaria Estadual de Saúde do Espírito Santo
SINAN	Sistema Nacional de Notificações do Ministério da Saúde
TO	Tocantins
UFES	Universidade Federal do Espírito Santo
WHO	World Health Organization

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Mapa da incidência de leishmaniose tegumentar americana por 100 mil habitantes no estado do Espírito Santo no ano de 2010 (SESA-ES, 2014).....23

Figura 2. Número de casos de LTA notificados por município nos anos de 2009 a 2013, na região Metropolitana do Espírito Santo, segundo dados da Regional Vitória da Secretaria Estadual de Saúde (SESA-ES, 2014).....23

Figura 3. Fotografia do acesso à localidade de Roda D'Água, Cariacica, evidenciando o relevo acidentado.....38

Figura 4. Mapa dos limites administrativos do município de Cariacica – ES. Fonte: Instituto Jones dos Santos Neves- Governo do Estado do Espírito Santo (IJSN-ES, 2014).....39

Figura 5. Mapa do modelo digital do terreno do município de Cariacica – ES. Fonte: Instituto Jones dos Santos Neves- Governo do Estado do Espírito Santo (IJSN-ES, 2014).....40

Figura 6. Fotografia do acesso principal para a localidade de Roda D'Água, Cariacica, de onde podem-se observar os três níveis de elevação demarcados por linhas.....42

Figura 7. Fotografia do ponto de coleta no nível 1 da MATA.....42

Figura 8. Fotografia de ponto de coleta no nível 2 do peridomicílio, mostrando duas residências, árvores frutíferas e cães vivendo próximos às casas.....43

Figura 9. Fotografia do peridomicílio do nível 2. Plantações de banana, muito comuns na região, e a mata ao fundo, na parte mais alta deste nível.....43

Figura 10. Fotografia da vista do alto do nível 3, este ponto a aproximadamente 680 m de altitude. Ao fundo é possível ver o mar e os municípios de Vila Velha, à esquerda, e em parte, Guarapari.....44

Figura 11. Fotografia da coleta por busca ativa em repouso num galinheiro localizado no peridomicílio do nível 2 (Fonte: arquivo do professor Gustavo R. Leite).....45

Figura 12. Fotografia da coleta por tubo de sucção de Castro em armadilha de Shannon modificada montada na mata do nível 2.....45

Gráfico 1. Distribuição das principais espécies de flebotomíneos antropofílicas, capturadas em diferentes faixas de altitude no peridomicílio da localidade de Roda D'Água, Cariacica, entre abril de 2002 a março de 2003.....50

Gráfico 2. Distribuição das principais espécies de flebotomíneos antropofílicas, capturadas em diferentes níveis de altitude na mata da localidade de Roda D'Água, Cariacica, entre abril de 2002 a março de 2003.....51

Gráfico 3. Distribuição proporcional de cada uma das principais espécies de flebotomíneos antropofílicos capturados na MATA, em Roda D'Água, Cariacica, entre março de 2002 e fevereiro de 2004.....52

Gráfico 4. Distribuição proporcional de cada uma das principais espécies de flebotomíneos antropofílicos capturados no PERIDOMICÍLIO em Roda D'Água, Cariacica, entre março de 2002 e fevereiro de 2004.....52

Gráfico 5. Distribuição das principais espécies antropofílicas de flebotomíneos em Roda D'Água, Cariacica, de acordo com pluviosidade, capturadas entre abril de 2002 a março de 2003.....53

Gráfico 6. Distribuição das principais espécies antropofílicas de flebotomíneos em Roda D'Água, Cariacica, em relação às estações do ano, capturadas entre abril de 2002 a março de 2003.....54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Flebotomíneos capturados em Roda D'Água, nos ambientes mata e peridomicílio, no período de abril de 2002 a março de 2004, com destaque para as principais espécies conhecidamente antropofílicas e de importância epidemiológica(*).....48

Tabela 2. Percentuais das principais espécies de flebotomíneos antropofílicas capturadas em Roda D'Água entre março de 2002 a fevereiro de 2004.....49

Tabela 3. Índices ecológicos obtidos para as populações de flebotomíneos coletados em Roda D'Água, município de Cariacica, na mata e no peridomicílio, no período de abril de 2002 a março de 2004.....54

ANEXOS

Anexo 1. Parecer de autorização consubstanciado nº 494.029 emitido pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) envolvendo seres humanos, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (CCS -UFES).

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....15
1.1. Definição.....15
1.2. Etiologia.....15
1.3. Ciclo biológico da leishmaniose tegumentar americana.....17
1.4. Aspectos epidemiológicos da LTA.....18
1.5. Reservatórios.....23
1.6. Os vetores.....26
2 JUSTIFICATIVA.....34
3 OBJETIVOS.....36
3.1. Objetivo Geral.....36
3.2. Objetivos específicos.....36
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....37
4.1. Descrição da área de estudo.....37
4.2. Dados epidemiológicos.....41
4.3. As coletas.....41
4.4. As capturas.....44
4.5. Identificação dos insetos.....46
4.6. Avaliação da sazonalidade.....46
4.7. Análises estatísticas.....46
4.8. Aspectos éticos.....47
5 RESULTADOS.....48
6 DISCUSSÃO.....55
6.1 Altitude X Ambiente.....55
6.2 Sazonalidade.....62
6.3 Índices Ecológicos.....63
7 CONCLUSÕES.....66
8 PERSPECTIVAS.....67
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....68

1 INTRODUÇÃO

1.1 Definição

As leishmanioses são zoonoses causadas por protozoários parasitos do gênero *Leishmania* Ross, 1903, que ocorrem em 88 países de quatro continentes(1). Este gênero compreende aproximadamente 30 espécies, das quais cerca de 20 são patogênicas para a espécie humana (2, 3). A transmissão entre os hospedeiros vertebrados é feita pela picada de pequenos insetos pertencentes à ordem Diptera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae (4).

Há duas formas clínicas básicas, causadas por espécies distintas do parasito: a leishmaniose tegumentar (LT) e a leishmaniose visceral (LV). Ambas são consideradas doenças associadas a baixas condições socioeconômicas (1).

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) acomete pele e mucosas. É considerada pela Organização Mundial de Saúde como uma das seis enfermidades parasitárias mais importantes do mundo, tendo sido notificados cerca de 1 milhão de novos casos de LTA nos últimos cinco anos em todo o globo. Estima-se que a ocorrência anual seja ainda maior, entre 0,7 e 1,3 milhões de novos casos, principalmente nas Américas, base do Mediterrâneo e Oriente Médio e Ásia Central. Os seis países onde há maior incidência são Afeganistão, Argélia, Brasil, Colômbia, Irã e Síria(1). No Brasil a doença representa um dos grandes problemas de saúde pública, estando presente nos 26 estados da Federação.

1.2 Etiologia

Os parasitos do gênero *Leishmania* possuem a seguinte posição sistemática segundo Levine et al (1980)(5):

Reino PROTISTA Haeckel, 1866;
Sub-reino PROTOZOA Goldfuss,1817;
Filo SARCOMASTIGOPHORA Honigberg & Balamuth, 1963;
Sub-filo MASTIGOPHORA Desing, 1866;
Classe: ZOOMASTIGOPHOREA Calkins, 1909;

Ordem KINETOPLASTIDA Honigberg, 1963, emend. Vickerman,1976;
Sub-ordem TRYPANOSOMATINA Kent, 1880;
Família TRYPANOSOMATIDAE Doflein,1901; emend. Grobben, 1905;
Gênero: *Leishmania* Ross,1903.

De acordo com o classificação taxonômica mais aceita atualmente, o gênero *Leishmania* compreende dois subgêneros: *Viannia* e *Leishmania* (6).

Nas Américas, são reconhecidas atualmente 14 espécies dermotrópicas, responsáveis pela LTA em humanos. No Brasil, ocorrem sete espécies, sendo as três principais *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Viannia) guyanensis* e *Leishmania (Leishmania) amazonensis,* tendo ainda as espécies *Leishmania (Viannia) lainsoni, Leishmania (Viannia) naiffi, Leishmania (Viannia) lindenbergi e Leishmania (Viannia) shawi,* identificadas nas regiões Norte e Nordeste do país (7).

Até o momento, *L.(V.) braziliensis* é a única espécie de *Leishmania* registrada para o estado de Espírito Santo, com caracterização de apenas um único zimodema (Z27), ou seja, um único conjunto de cepas de um microrganismo que compartilham o mesmo perfil isoenzimático. Os isolados foram provenientes de amostras humanas e caninas (8).

L.(V.) braziliensis é a espécie com mais ampla distribuição geográfica no Brasil, ocorrendo do sul do Pará ao Nordeste, atingindo também o centro-sul do país e algumas áreas da Amazônia Oriental (9, 10). É também a espécie mais prevalente no homem, podendo causar lesões cutâneas e mucosas. É encontrada em todas as zonas endêmicas do país, desde o norte até o sul, principalmente em áreas de colonização recente, como também em áreas antigas, nestas últimas, geralmente associada à presença de animais domésticos infectados (11).

1.3 Ciclo biológico da LTA

O ciclo da LTA é do tipo heteroxênico, e completa-se necessariamente envolvendo hospedeiros intermediários e definitivos, que são flebotomíneos e mamíferos, respectivamente(12).

Existem duas formas evolutivas principais: a forma amastigota, observada em tecidos de hospedeiros vertebrados, que podem ser humanos e outros animais susceptíveis à infecção; e a forma promastigota, que se encontra no tubo digestivo do flebotomíneo (13, 14).

As fêmeas do flebotomíneo ao se alimentarem de sangue de um hospedeiro vertebrado infectado ingerem as formas amastigotas. Estas se alojam no tubo digestivo do inseto, transformando-se em promastigotas, que se multiplicam por divisão binária e depois migram para a probóscide, podendo, a partir daí, ser inoculadas no hospedeiro vertebrado (14, 15).

A infecção por *Leishmania* sp. em mamíferos, para ser bem sucedida, depende das habilidades dos parasitos em evadir da resposta imune do hospedeiro, multiplicarem-se e serem fagocitados pelas células do hospedeiro, e de sobreviver dentro do fagolisossoma de macrófagos. O parasitismo de *Leishmania* sp. ocorre no interior de macrófagos por e pode estimular diferentes tipos de reações inflamatórias, deste modo dando origem a várias formas clínicas e padrões patológicos da doença (16).

Acredita-se que as formas promastigotas de *Leishmania* sejam parasitos primitivos dos flebotomíneos ou de seus ancestrais. O parasito provavelmente adaptou-se à sobrevivência em mamíferos após a inoculação do organismo durante a evolução dos hábitos hematofágicos dos flebotomíneos ancestrais. Os hospedeiros mamíferos agem agora não somente como um suporte para fornecer sangue para estes insetos, mas também como fonte de amastigotas localizadas na pele ou no sangue desses animais (14).

1.4 Aspectos epidemiológicos da LTA

A distribuição da LTA é influenciada por fatores climáticos e geográficos ainda pouco conhecidos, e que determinam a distribuição de diferentes vetores flebotomíneos, parasitos e reservatórios (17).

A LTA ocorre nas Américas desde o Sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina. O foco mais importante é o sul-americano, que compreende todos os países, com exceção do Uruguai e do Chile (11).

A doença humana apresenta, pelo menos, dois cenários epidemiológicos (18):

- O primeiro associa-se à entrada do homem na floresta primária para atividades profissionais, o que, em certas ocasiões, resulta em um número expressivo de casos, sugerindo uma epidemia. Nesta, o grupo mais afetado é o de jovens e adultos do sexo masculino, que saem para trabalhar na mata e contraem a infecção após serem picados pelos flebotomíneos;
- O segundo cenário associa-se a ambientes pós-devastados, com presença de mata remanescente ou residual, nos quais a população humana se instala. Nesta conformação, indivíduos de ambos os sexos e todas as faixas etárias podem ser infectados.

A devastação das florestas tem alterado as características epidemiológicas da LTA nas Américas do Sul e Central (19, 20). No Brasil a incidência de LTA tem aumentado nos últimos anos em praticamente todos os estados (11). Surtos epidêmicos têm ocorrido nas regiões Sudeste, Centro-Oeste, Nordeste e, mais recentemente, na região Amazônica, relacionados ao processo predatório de colonização (19-21).

Onde a colonização ocorreu há mais tempo, houve ampla destruição da floresta primária, que foi substituída por plantações de diversos tipos de culturas, e intensa atividade humana (17, 22-25). A chegada do homem e o aporte de animais domésticos também representam a introdução de fontes importantes de alimento para os flebotomíneos que atuam como vetores do parasita.

Pesquisas apontam que a simples detecção de uma das espécies de flebotomíneos que apresentam importância epidemiológica já configura fator de risco para a LTA, não sendo este risco potencializado pela detecção de mais de uma espécie com essa característica (26).

Outros trabalhos indicam que o risco de transmissão da *Leishmania* se deve à existência de um grande número de espécies vetoras, somada ao surgimento de espécies que costumavam ser restritas à vida selvagem. Com a modificação do ambiente, algumas delas são beneficiadas, e podem ser capazes de manter o ciclo periurbano da doença (27).

A identificação e caracterização da transmissão domiciliar, peridomiciliar (predominantemente rural) e extradomiciliar (silvestre) são fundamentais para o controle da LTA (28).

No Espírito Santo, em 2010, foram notificados 138 casos em 29 municípios. Somando-se às condições ambientaisaspropícias para o desenvolvimento do vetor, a presença da doença pode estar relacionada ao processo migratório, ocupação de encostas e aglomerados em centros urbanos associados a matas secundárias ou residuais (29). A doença é considerada endêmica na maioria dos municípios capixabas (25).

Estudos realizados no estado demonstram que há predomínio do caráter de transmissão domiciliar e peridomiciliar da LTA, ocorrendo em pessoas de ambos os sexos e diferentes faixas etárias (9, 17, 25, 30-32).

Entre os anos de 1980 e 2000 houve uma intensa expansão populacional para a área urbana, no Espírito Santo, com taxa de variação populacional geral do estado entre 1960 e 1970, segundo o IBGE, de apenas 13%. No entanto, nos municípios de Cariacica, Serra, Viana, Vila Velha e Vitória, o acréscimo tendo sido de 156%, 88%, 60%, 123% e 60%, respectivamente (33).

Coincidindo com este aporte de pessoas para as regiões mais urbanizadas do estado, observou-se um aumento expressivo do número de casos de LTA registrados pela FUNASA. De 62 casos registrados em 1980, o número de registros

elevou-se para 548 em 2000, com períodos intermediários apresentando números ainda mais expressivos. Ressalta-se o triênio de 1991 a 1993, em que foram notificados, respectivamente, 728, 722 e 893 casos(8) . Estes dados reforçam a hipótese da transmissão domiciliar da doença no Espírito Santo, visto que a moléstia ocorre em áreas de colonização antiga, às vezes sem florestas nas proximidades das casas.

Leishmania (V.) braziliensis tem sido a espécie de parasito identificada, por meio de eletroforese de isoenzimas (MLEE), como o único agente etiológico responsável por casos humanos e caninos em todo o estado (8).

O ciclo de transmissão de *L. (V.) braziliensis* no estado normalmente ocorre em áreas situadas em altitudes baixas e médias, compreendendo a faixa entre 50 e 750 metros acima do nível do mar. Os focos endêmicos são comuns nas encostas das montanhas, em áreas intensamente desmatadas, mas mostrando alguns remanescentes de vegetação original. A moléstia ocorre em comunidades rurais, com casas dispersas e o espaço entre estas ocupado por plantações de café e de banana. Nas últimas décadas, focos de LTA surgiram em comunidades já estabelecidas há mais de um século, próximas às cidades que compõem a região metropolitana da grande Vitória, na costa Atlântica. Essas áreas ainda conservam características rurais, porém, a divisão sucessiva de pequenas propriedades deu origem a verdadeiros povoados, praticamente sem florestas nas proximidades das casas (30). Extensos bananais e árvores frutíferas recobrem o espaço no entorno das casas, mantendo o solo sombreado, com abundante matéria orgânica, onde procriam os vetores de *Leishmania* sp (32). Tais características, associadas à presença de animais domésticos infectados, sustentam a hipótese da transmissão domiciliar da LTA na região.

Hoje os municípios com maior coeficiente de incidência (acima de 50 casos para cada 100 mil habitantes) estão localizados no interior, com destaque para os das Regiões do Caparaó e Serrana, como Brejetuba e Afonso Cláudio, locais com grande área de vegetação, população rural e baixos indicadores sociais. Muqui, na região sul, é um dos municípios com maior incidência. Ressaltam-se ainda aqueles da região do Vale do Rio Doce, como São Domingos do Norte (8, 29, 34) (Figura 1).

A disseminação da LTA na faixa litorânea do Espírito Santo parece ter ocorrido há poucas décadas, a julgar pelo relato de Barro et al. (1985) (23), que descrevem o primeiro surto da doença nos municípios de Viana e Cariacica. Sobre a distribuição geográfica da LTA no estado, no período de 1978 a 1982, constatou-se que os municípios de Viana e Cariacica eram os que apresentavam maior prevalência da doença. Os dois municípios juntos concentraram 60,5% das notificações no estado, seguidos por Guarapari, Domingos Martins, Colatina e Linhares. Nessa ocasião, a localidade de Roda D'Água, no município de Cariacica, já aparecia como principal foco da doença na região (25).

Cariacica é um dos municípios capixabas mais populosos, com 348.738 habitantes contabilizados no censo de 2010 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, e a maioria dessa população vive em áreas urbanizadas (35). Sendo assim, os elevados números de notificações, que concentram-se nas áreas rurais e periurbanas como Roda D'Água, diluem-se no total de indivíduos e o município encontra-se na faixa de incidência de 0 a 5 casos por 100 mil habitantes (Figura 1). Porém basta analisar os números absolutos para compreender sua importância no cenário capixaba da LTA. O município esteve entre os 10 com maior número de casos notificados no Espírito Santo entre os anos de 1989 a 1998 (34). Nos últimos cinco anos (2009 a 2013), esteve entre os cinco municípios com mais casos notificados na região metropolitana do estado, segundo a Secretaria de Estado da Saúde (29)(Figura 2).

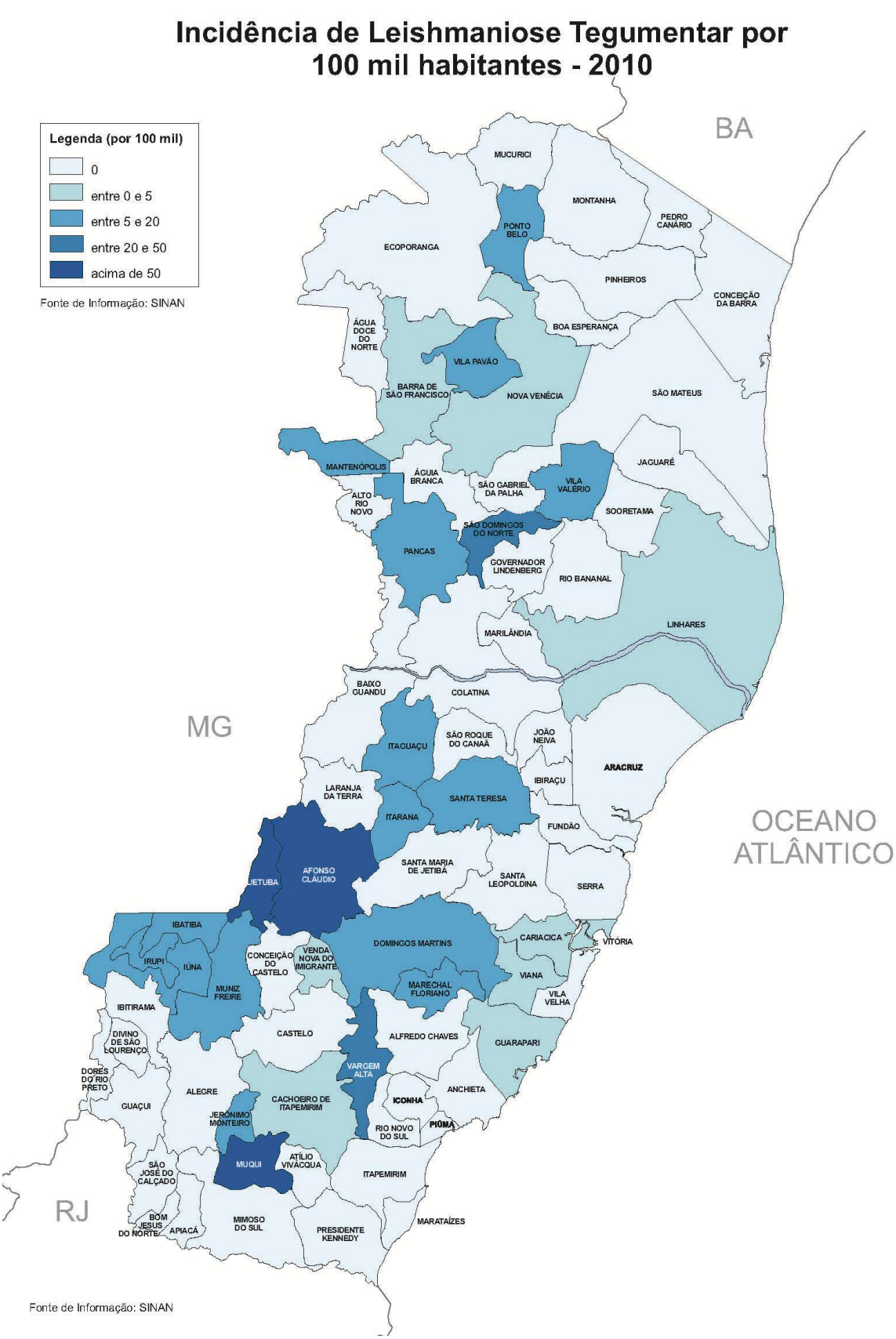

Figura 1. Mapa da incidência de leishmaniose tegumentar americana por 100 mil habitantes no estado do Espírito Santo no ano de 2010 (29).

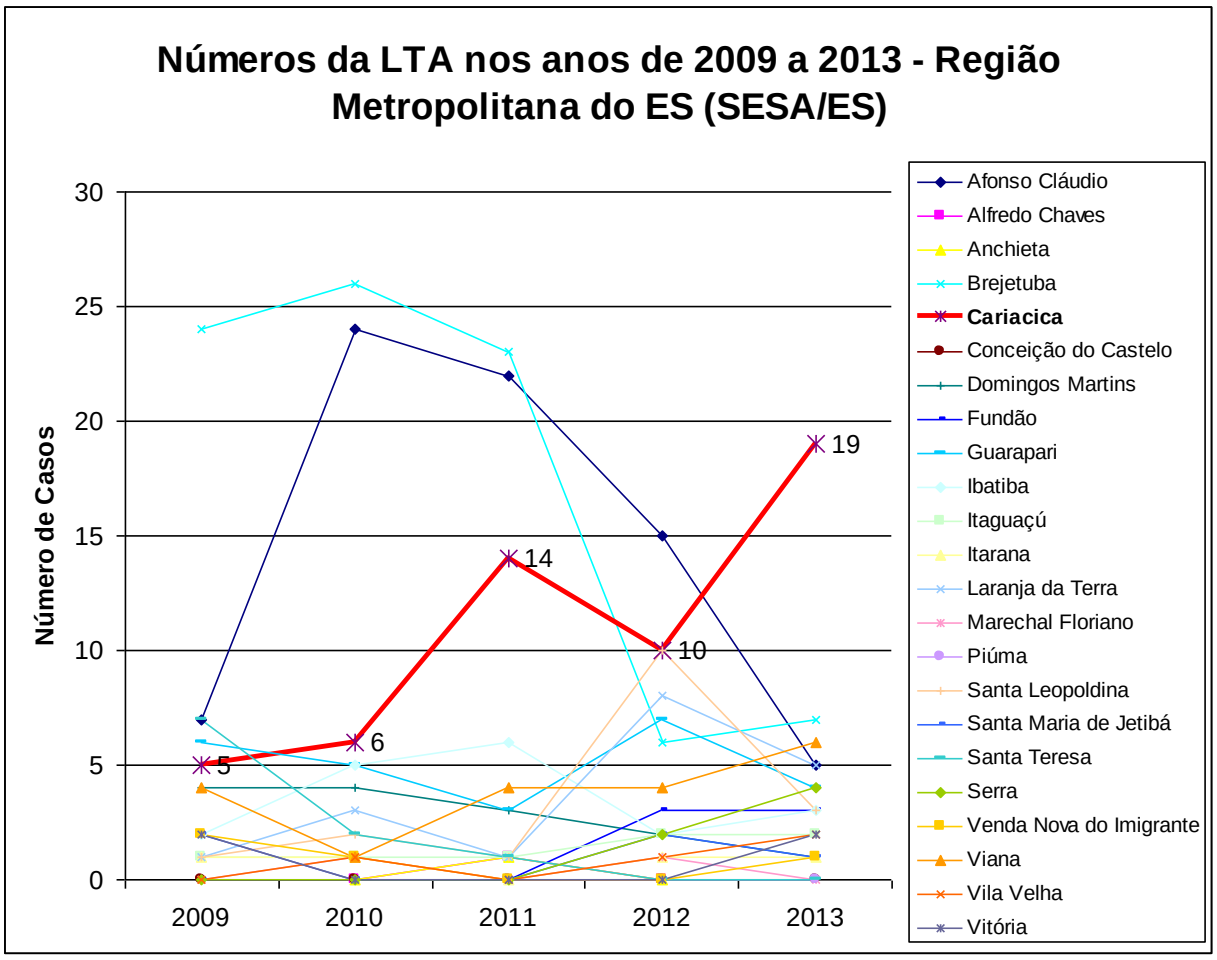

Figura 2. Número de casos de LTA notificados por município nos anos de 2009 a 2013, na régio Metropolitana do Espírito Santo, segundo dados da Regional Vitória da Secretaria de Estado da Saúde (29).

Nota-se no gráfico acima que Cariacica tem contribuído com boa parte das notificações do estado, inclusive ficando à frente de municípios como Afonso Cláudio e Brejetuba, no ano de 2013, por exemplo. Estes números tem origem no SINAN, mas também nas planilhas paralelas, enviadas à SESA diretamente pelos municípios (29).

1.5 Reservatórios:

Cerca de 20 espécies de *Leishmania* infectam o homem, sendo que todas elas são zoonóticas ou têm origens zoonóticas recentes (2).

Para uma espécie animal ser incriminada como hospedeiro reservatório, sua população deve ser numerosa, possuir hábitos gregários freqüentes, vida longa, intenso contato com o inseto vetor, infecção leve de curso longo e o agente infectante deve ser indistinguível do parasito encontrado no homem (36).

Pouco se conhece sobre os reservatórios naturais de *L.(V.) braziliensis,* entretanto têm sido identificadas várias espécies de roedores naturalmente infectados por este parasito: *Oryzomys concolor, Oryzomys capito, Oryzomys nigripes, Akodon arviculoides, Proechimys spp, Rhipidomys leucodactylus,* e *Bolomys lasiurus,* além do marsupial *Didelphis marsupialis* (37-39).

Pesquisas vem apontando a presença de cães (8, 30, 31, 40, 41), equídeos (31, 42, 43) e roedores domésticos (44) infectados por leishmania em inúmeros focos de LTA, sugerindo a participação dos mesmos na “domiciliação” da doença.

No ES, presume-se que o tatu (*Euphractus sexcinctus*) e a paca (*Agouti paca*) sejam hospedeiros no ciclo silvestre de L. (V.) braziliensis (24), enquanto que os cães e, possivelmente, eqüinos (30, 31) atuem como hospedeiros domésticos de infecção para seres humanos em muitos focos da doença (17, 30).

De fato ainda é controversa a caracterização de animais domésticos como reservatórios da LTA, sendo estes comumente considerados hospedeiros acidentais, tal como o homem (40). Entretanto, merece destaque a participação do cão no ciclo de transmissão domiciliar e peridomiciliar da doença, tendo em vista a frequência com que o animal aparece infectado em áreas de colonização antiga, especialmente no Sudeste do Brasil, em geral pela mesma espécie de *Leishmania* sp isolada em casos huamanos. (8, 30, 31, 46). A importância do reservatório canino vem da freqüente e intensa proximidade entre cães e humanos (47), além de sua capacidade de transitar entre a mata e o domicílio.

Mesmo com a ampla investigação sobre a infecção natural de cães por *Leishmania* sp., em áreas endêmicas de LTA, o papel desse animal como possível reservatório doméstico ainda não está totalmente esclarecido. Sabe-se hoje, que o ciclo de transmissão da LTA apresenta características peculiares em cada região endêmica,

e nem sempre é possível extrapolar dados de uma localidade para outra. As condições fitogeográficas de cada região tendem a ser distintas, podendo não haver similaridades entre os fatores bióticos como a presença da mesma espécie de parasito, reservatórios silvestres e flebotomíneos (48).

O parasitismo por *Leishmania* em úlcera cutânea de cão naturalmente infectado foi diagnosticado pela primeira vez por Pedroso, em 1913 (49). No entanto, somente a partir de 1980 foram intensificados os estudos sobre a participação de caninos domésticos em ciclos de transmissão da LTA, no Brasil (50).

Em área endêmica no estado da Bahia, *L.* (*V.*) *braziliensis* foi identificada em seis amostras isoladas de cães, e essas, por sua vez, eram similares às isoladas de lesões cutâneas do homem, na mesma região (41).

Em foco de transmissão de LTA no estado do Rio de Janeiro, isolou-se *L.* (*V.*) *braziliensis* de 26 casos humanos, de dois cães e uma mula. Nesse foco constatou-se que 32% dos cães e aproximadamente 30% dos eqüinos apresentavam lesões cutâneas de leishmaniose, sugerindo sua participação na transmissão da moléstia ao homem (51).

Ainda no RJ, no município de Paracambi, realizou-se inquérito epidemiológico canino para LTA e constatou-se a infecção canina nas formas clínica/subclínica, A associação da prevalência em cães com a infecção humana sugere que o cão possa atuar como fonte de infecção, assim como favorecer a disseminação da doença. (46).

No ES, em um estudo prospectivo no município de Viana, observou-se que 17,2% dos cães estavam naturalmente infectados. Dentre os 732 habitantes da área, foram registrados 11 casos novos da doença, sendo que 10 deles ocorreram na coorte de indivíduos que conviviam com cães doentes (24, 30).

Em Itarana, também no ES, durante um surto epidêmico, constatou-se que as pessoas que conviviam com cães doentes apresentavam-se infectadas em proporção significativamente maior do que as do grupo controle. No referido estudo,

verificaram que 45,24% dos indivíduos que conviviam com cães doentes apresentaram intradermorreação de Montenegro positiva. Já, entre os que não conviviam com animais infectados, apenas 19,53% apresentaram positividade. Na ocasião, *L. (V.) braziliensis* foi isolada tanto no homem quanto no cão, sugerindo que o animal tenha papel importante no ciclo de transmissão da LTA (31).

Em pesquisa sobre a especificidade alimentar de flebotomíneos nos municípios capixabas de Viana e Afonso Cláudio, observou-se que as mesmas espécies que apresentavam antropofilia também eram intensamente cinofílicas, tanto nos ambientes domiciliar quanto peridomiciliar e mata. O autor infere que a transmissão ocorre predominantemente no ambiente domiciliar, tendo como fonte de infecção o cão e talvez o próprio homem (24).

Vale lembrar que a inexistência de cães com lesões suspeitas em áreas endêmicas de LTA humana não significa que a doença canina não esteja ativa (52). É comum encontrar animais que não desenvolvem lesões, mas albergam os parasitos, e também aqueles que já apresentaram lesões, mas evoluíram naturalmente para a cura clínica.

Ainda não se conhece o papel epidemiológico dos animais com infecção subclínica, no ciclo de transmissão da LTA, mas é sabida a grande dificuldade em caracterizar doença ou cura parasitológica na espécie canina. No município de Viana, ES, foram examinados 186 cães, dos quais 46 apresentavam lesões suspeitas, sendo encontrados parasitos em 31 deles. Os pesquisadores não puderam demonstrar parasitos em material obtido por biópsia das cicatrizes das lesões curadas, seja por meio do exame direto ou inoculação em hamster, reforçando a dificuldade de diagnóstico preciso em cães(30).

1.6 Os Vetores:

Os flebotomíneos são os vetores de *Leishmania* sp. São insetos hematófagos pertencentes à ordem Diptera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae. Estes insetos são popularmente conhecidos como “mosquito-palha”, “asinha-de-palha”,

“birigui”, “cangalha”, “tatuquíra”. São pequenos, muito pilosos, castanhos claros ou cor-de-palha, e reconhecidos por permanecerem com as asas, lanceoladas, entreabertas e ligeiramente levantadas no repouso. Segundo (53) apresentam curto raio de ação, que fica em torno de 200 m.

O grupo de insetos ao qual pertencem os flebotomíneos surgiu no período Cretáceo Inferior (há entre 145 e 65 milhões de anos) Estes dípteros então ocuparam a maioria das regiões compostas por Savanas, Mata Atlântica, Caatinga, Cerrado, Floresta Amazônica e Chaco, com exceção das regiões frias e ilhas oceânicas (54). Atualmente são encontrados flebotomíneos principalmente nos trópicos e subtrópicos, com algumas poucas espécies penetrando as regiões temperadas tanto do Norte (a até 50º de latitude Norte) quanto do Sul (a até cerca de 40º de latitude Sul), não sendo encontrados na Nova Zelândia nem nas Ilhas do Pacífico. Ocorrem em uma gama muito ampla de habitats, desde o nível do mar a altitudes de até 2800 m (55).

Quanto à alimentação de adultos, machos e fêmeas sugam seivas vegetais, néctar de flores, frutos e soluções açucaradas, utilizando carboidratos como fonte de energia(56-60). Os carboidratos influenciam o desenvolvimento e a infectividade de *Leishmania* em flebotomíneos. Somente as fêmeas são hematófagas, necessitando de sangue de vertebrados para a maturação de seus ovos. Algumas espécies se alimentam apenas uma vez entre as posturas, enquanto outras precisam de vários repastos para um único ciclo de oviposição, o que pode fazer destas importantes vetoras (61-63).

No ciclo biológico desses dípteros, as fases imaturas ocorrem em ambiente terrestre. Os ovos, as larvas, com quatro estádios evolutivos, e as pupas necessitam de locais úmidos sombreados, ricos em matéria orgânica, para se desenvolverem até a fase adulta, alada. De modo geral, para seu desenvolvimento, requerem temperaturas entre 20°C e 30°C, umidade superior a 80% e matéria orgânica (53).

Fatores como o clima, temperatura, umidade relativa do ar, precipitação, a fonte de alimentos, a declividade e outros parâmetros ecológicos podem influenciar na

densidade populacional destes insetos e, por conseguinte, na distribuição das leishmanioses (64, 65).

Em condições de laboratório, a temperatura ótima para o desenvolvimento da maioria das espécies neotropicais é de 25°C a 27°C, sendo que condições térmicas ligeiramente acima desta faixa implicam em ciclos mais rápidos (62). A maioria das espécies de flebotomíneos da região Neotropical habita áreas de floresta com índice pluviométrico em torno de 2000 mm por ano, mas estes insetos também podem ser encontrados em áreas semi-áridas, com cobertura vegetal arbustiva (53, 66).

Sobre seu comportamento hematofágico, os flebotomíneos iniciam sua atividade no crepúsculo vespertino, avançando especialmente nas horas da primeira metade da noite (67). Durante o dia podem ser encontrados em ecótopos naturais como troncos de árvores, tocas de animais, sob folhas caídas no solo, frestas em rochas e em cavernas, que utilizam para repouso após a cópula e a hematofagia (68-71).

Até o momento, pelo menos 927 espécies ou subespécies de flebotomíneos atuais e 22 fósseis já foram descritas no planeta, sendo que aproximadamente 500 atuais e 16 fósseis ocorrem no Novo Mundo (72). O Brasil é o país que concentra o maior número de espécies (73).

Esses dípteros estão amplamente distribuídos por todo o território brasileiro, ocorrendo em nichos ecológicos variados, inseridos em diferentes biomas, o que caracteriza sua estreita relação adaptativa com o meio ambiente. A distribuição geográfica das espécies de flebotomíneos pode ser influenciada por barreiras físicas, precipitação pluviométrica, vegetação, luminosidade e abundância de hospedeiros vertebrados(74). As mudanças ambientais, seja por fenômeno natural ou intervenção humana, como destruição das matas nativas, alteram os habitats naturais de flebotomíneos e modificam as relações ecológicas entre vetores e parasitos.

Forattini, em 1960 (75), já enfatizava a chance de flebotomíneos silvestres se adaptarem ao ambiente doméstico e peridoméstico. Segundo o autor, a capacidade adaptativa destes insetos depende da similaridade do ambiente alterado pelo homem com o nicho ecológico por eles originalmente ocupado.

Como os habitats naturais são alterados ou destruídos pela atividade humana, algumas espécies desaparecem e outras se beneficiam. As espécies com maior probabilidade de se adaptarem são aquelas que predominam no estrato terrestre e prosperam em bordas florestais ou clareiras. Os flebotomíneos pré-adaptados que levaram vantagens com a atividade antrópica, atualmente são encontrados tanto em ambientes rurais quanto urbanos, com afinidade por abrigos de animais domésticos e habitações humanas (76).

A densidade populacional desses insetos no ambiente peridomiciliar é diretamente relacionada à sua atratividade pelos animais domésticos e às condições ambientais encontradas nos abrigos. Tais condições podem ser: ambiente rico em matéria orgânica, favorável ao desenvolvimento das formas imaturas; grande quantidade de animais para a alimentação sanguínea dos adultos e uma gama de micro-habitats que os protegem das situações adversas como ventos e chuvas excessivos (77-79).

Alguns estudos têm mostrado que a agregação de flebotomíneos em ambiente peridomiciliar está relacionada com a liberação de feromônios pelos insetos e cairomônios pelos hospedeiros (80, 81). O caráter oportunista destes psicodídeos, no que diz respeito à alimentação sanguínea, revela que uma grande variedade de vertebrados pode funcionar como fonte alimentar, entre eles animais domésticos, silvestres e o homem (82).

Uma pesquisa sobre o comportamento de flebotomíneos em área endêmica de LTA no norte do estado do Paraná, encontrou alta prevalência de insetos antropofílicos em abrigos de galinhas e suínos, deixando evidente que os animais domésticos exercem forte atração sobre esses dípteros, independentemente de serem ou não caracterizados como reservatórios de *Leishmania* sp (83).

De acordo com essas observações, é possível compreender por que a LTA representa tão importante problema de saúde pública e por que está presente em todos os estados do Brasil. Abrigos de animais domésticos construídos próximos das habitações humanas, a falta de limpeza no peridomicílio e a localização das casas ao lado de pequenos capões de mata são freqüentemente observados nas áreas

rurais em diversas regiões do país (84-87). Assim, surgem condições propícias para a procriação dos flebotomíneos, favorecendo o aparecimento e a disseminação da doença.

O potencial vetorial dos flebotomíneos é determinado por sua capacidade de sobrevivência, multiplicação e diferenciação das promastigotas no trato digestivo, e probabilidade de transmitir os parasitos aos vertebrados (88).

Para a espécie ser considerada transmissora da *Leishmania* ao homem, devem ser considerados os seguintes critérios(89):

- Apresentar certo grau de antropofilia;
- Ter a capacidade de infectar-se quando se alimentar no reservatório e transmitir a *Leishmania* para um novo hospedeiro;
- A *Leishmania* encontrada no flebotomíneo naturalmente infectado deve ser a mesma isolada no ser humano, em determinada área geográfica;
- Em áreas onde a doença ocorre, a distribuição espacial do vetor deve coincidir com a da espécie de *Leishmania* encontrada no homem, e em densidade suficiente para manter a transmissão do parasito na natureza;
- A espécie de flebotomíneo deve apresentar capacidade de se infectar experimentalmente e ser capaz de transmitir a *Leishmania* para um hospedeiro, pela picada.

Em relação à sistemática de flebotomíneos nas Américas, Young e Duncan (1994) (61) agrupam as espécies em um único gênero *Lutzomyia,* enquanto que Galati (2003) (71) as distribui em 24 gêneros.

No estado do Espírito Santo, adotando a classificação filogenética proposta por (71), existem registros de ocorrência de 57 espécies de flebotomíneos pertencentes aos gêneros *Bichromomyia*, *Brumptomyia*, *Evandromyia*, *Expapillata*, *Lutzomyia*, *Micropygomyia*, *Migonemyia*, *Nyssomyia*, *Pintomyia*, *Pressatia*, *Psathyromyia*, *Psychodopygus, Sciopemyia e Trichopygomyia*. (4, 17, 61, 71, 90-93).

Pesquisas realizadas no estado do ES demonstraram a existência de quatro espécies com potencial para transmissão de LTA, sendo elas *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912)*, Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939)*, Migonemyia migonei* (França, 1920) *e Pintomyia fisheri* (Pinto, 1926). Admite-se que essas espécies tenham importância epidemiológica por serem antropofílicas e já terem sido encontradas parasitadas pela *L. (V.) braziliensis* em outros estados brasileiros. No ES, leva-se em consideração o fato de aparecerem em alta densidade nas principais áreas endêmicas de LTA, sugerindo que tenham importância como vetoras do parasito (17, 30).

Nyssomyia intermedia tem sido considerada principal vetora de *L.(V.) braziliensis* no Sudeste do Brasil (22), embora *Ny. whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) e *Mg. migonei* (França, 1920) também sejam freqüentemente encontradas fazendo repasto em humanos no peridomicílio, em áreas com transmissão ativa de leishmaniose (24, 71).

Além de já terem sido incriminadas como vetoras em diversas regiões do país, *Ny. intermedia*, *Ny. whitmani* e *Mg. migonei* também têm afinidade pelo cão (24), considerado reservatório de *L. (V.) braziliensis* no ambiente domiciliar (8, 17, 23, 30).

Estudos sobre flebotomíneos vêm sendo realizados no Espírito Santo, tanto nas áreas rurais quanto periurbanas, onde a LTA apresenta alta incidência. No entanto, a captura de flebotomíneos nessas regiões, vem se restringindo aos ambientes domésticos e pequenos fragmentos de Mata Atlântica próximos às casas (22). O único estudo em reserva primária de Mata Atlântica no estado foi realizado em área com baixa incidência de LTA (94).

Pesquisas realizadas no Brasil e em outros paises da América do Sul evidenciam que o clima tropical e as altitudes de até 800 metros acima do nível do mar são favoráveis à transmissão da LTA (37, 85, 95-99).

Pesquisadores estudaram as condições de sobrevivência de *Ny. intermedia,* espécie incriminada como transmissora da LTA em diversas regiões do Brasil. Segundo os autores, esta não habita altitudes mais elevadas (85). Um outro trabalho, em Itapira,

SP, encontrou-se que mais de 70% das áreas de ocorrência da LTA em altitudes menores que 750 m (100).

Além da declividade, o clima, influenciado por esta, as fontes de alimentos e outros parâmetros ecológicos determinam a distribuição dos flebotomíneos. Assim, acabam por influenciar a ocorrência das doenças transmitidas por eles (64). Fatores climáticos como temperatura, umidade e pluviometria, têm influenciado de modo variável a população de flebotomíneos, dependendo da área analisada (101).

A riqueza e diversidade de espécies pertencentes a diferentes grupos apresentam padrões distintos de distribuição. Algumas são restritas ao ambiente silvestre e outras registradas em áreas profundamente alteradas pela ação do homem. (102). O aumento da densidade ou abundância das populações de flebotomíneos em torno das casas demonstra o grau de afinidade de algumas espécies a ambientes com elevada atividade antrópica (103, 104). Essas variações populacionais podem estar associadas com o aumento na incidência de leishmaniose, pois algumas delas podem atuar como vetores da doença (105, 106).

Em Afonso Cláudio, ES, foi desenvolvido um estudo altitudinal, no qual *Ny. intermedia* foi incriminada como principal espécie vetora da LTA naquele ambiente, tendo como possíveis vetores secundários *Ny. whitmani* e *Mg. migonei.* Neste estudo a transmissão peridomiciliar foi confirmada como a mais importante(17).

Em Cariacica, ES, estudos anteriores apontam indícios de transmissão intra e peridomiciliar, com a participação de *Ny. intermedia, Pi. fisheri* e *Mg. migonei* como possíveis vetores (22).

Nos municípios de Viana e Afonso Cláudio, ES, analisando-se fêmeas de flebotomíneos capturadas em focos de LTA, verificou-se que 0,77% delas continham DNA de *Leishmania* sp, dentre as quais algumas das principais espécies incriminadas como vetoras, tais como *Ny. intermedia* e *Ny. whitmani.* Ficou assim demonstrando que havia circulação dos parasitos entre a população de vetores (107).

Também no município de Viana, que faz limite com Cariacica, pesquisadores identificaram criadouros peridomiciliares de flebotomíneos. Ao capturar formas

adultas que emergiam do solo em diferentes distâncias das habitações humanas e abrigos de animais, observaram que a espécie encontrada em maior número foi *Ny. intermedia*, que, assim como *Mg. migonei* deu preferência a criadouros mais próximos das casas (32). Considerando que o raio de vôo médio dos flebotomíneos é curto, em geral até 200 metros (53), estes achados indicam que os insetos que circulam em determinado ambiente nascem de criadouros no próprio local. Observando-se os hábitos antropofílicos e potencial vetorial das duas espécies mais capturadas, reforça-se a hipótese da transmissão domiciliar da LTA na região.

Analisando os aspectos epidemiológicos da LTA em áreas intensamente modificadas pela ação antrópica, como no Sudeste do Brasil, percebe-se a complexidade de que se reveste o ciclo de transmissão da doença na região. A devastação das florestas reduzindo o quantitativo de animais silvestres, ao invés de facilitar o entendimento dos mecanismos de transmissão da LTA, parece ter desafiado a compreensão dos pesquisadores, que ainda não conseguiram explicar o ressurgimento da doença em áreas onde havia desaparecido há décadas (108). Mais que isto, o aparecimento da doença humana em áreas colonizadas há mais de um século, onde nunca fora antes registrada, evidencia a necessidade de novos estudos para elucidar seu mecanismo de transmissão.

2 JUSTIFICATIVA

Considerando os postulados de Killick-Kendrick e Ward (1981) (89), sobre os elos da cadeia de transmissão da leishmaniose em determinada região, existem, na literatura, poucos trabalhos abrangentes, integrando informações consistentes sobre a doença humana, animais reservatórios e espécies vetoras de *Leishmania*, em uma mesma área endêmica. A maioria das publicações traz informações fragmentadas, ora abordando exclusivamente aspectos relacionados à doença humana, outras vezes focalizando um único elo da cadeia de transmissão, como animais reservatórios ou insetos vetores. Soma-se a isto o fato de que diferentes grupos de pesquisadores trabalham de forma independente, utilizando metodologias diferenciadas, em áreas com características ecológicas diversas. Em função disto, existe enorme dificuldade em se comparar os resultados de trabalhos realizados em diferentes áreas endêmicas, inviabilizando qualquer estudo de meta-análise sobre os mecanismos de transmissão da LTA. Daí a necessidade de realizar estudos mais abrangentes, com novas abordagens metodológicas e resgatando informações acumuladas a partir de pesquisas anteriores realizadas em uma mesma área endêmica. Com esta visão se propõe a realização do presente trabalho, na tentativa de elucidar os mecanismos de transmissão da LTA em área de colonização antiga, com características ecológicas intensamente modificadas pela ação antrópica e onde a doença assume perfil epidemiológico diverso daquele observado em regiões com transmissão silvestre.

O conhecimento sobre a composição da fauna flebotomínica de determinada região e o comportamento das espécies que ali ocorrem é imprescindível para o esclarecimento de aspectos envolvidos na transmissão da LTA, possibilitando fazer inferências a respeito de grupos mais ou menos expostos ao risco de infecção. Além disso, a busca constante de informações sobre o aumento do número de casos de LTA e a “adaptação” dos vetores a esses ambientes é necessária para a compreensão da epidemiologia desse agravo e a sustentação de ações de prevenção e controle.

A observação de que os casos de LTA na área desapareciam em altitudes acima de 550 metros, a partir de um deslocamento de cerca de cinco quilômetros da base do vale até o topo da montanha, mostrou-se epidemiologicamente interessante para a

realização do presente trabalho. Pelas características descritas, supõe-se que os prováveis reservatórios de *Leishmania*, sejam eles humanos, animais domésticos ou silvestres, estariam igualmente representados em qualquer nível de altitude, na área delimitada para o estudo. Como hipótese de trabalho, supõe-se que a ausência da doença na parte superior do vale ocorra em função de mudanças nas populações de flebotomíneos, em diferentes níveis de altitude. Assim, um estudo ecológico sobre os insetos nessa área poderá trazer importantes subsídios para a elucidação do ciclo de transmissão da LTA na região costeira do estado do ES.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Estudar as populações de flebotomíneos e alguns fatores que podem influenciar sua distribuição área endêmica para leishmaniose tegumentar americana, a localidade de Roda D'Água, município de Cariacica, Espírito Santo, Brasil.

3.2 Objetivos Específicos

I) Identificar as espécies de flebotomíneos que ocorrem no ambiente silvestre e peridomiciliar na localidade de Roda D'Água;

II) Avaliar a influência da altitude sobre as populações de flebotomíneos da área;

III) Caracterizar a distribuição as espécies antropofílicas em relação ao ambiente peridomiciliar ou silvestre.

IV) Inferir sobre as prováveis espécies vetoras de *Leishmania* na área estudada.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Descrição da área de estudo

O estudo foi realizado na localidade de Roda D'Água, Cariacica, situada a 20º 16' 21'' de latitude Sul e 40º 25' 05'' de longitude Oeste (Figura 3). O município faz parte da região metropolitana de Vitória, capital do estado, da qual localiza-se a 15 Km de distância. O relevo é acidentado (Figura 4), com altitude variando entre 20 e 718 m acima do nível do mar (109). O clima é tropical úmido, com índice de precipitação anual entre 1200 e 1300 mm, com destaque para os meses de novembro a março, com precipitação mensal que alcança mais de 150 mm. As menores precipitações ocorrem nos meses de inverno com valores inferiores a 100 mm. A temperatura média do município é da ordem de 24º C, apresentando os meses mais quentes no verão, em que as temperaturas chegam a ultrapassar 33º C (110).

A localidade de Roda D'Água (Figura 5), é uma área endêmica para LTA. Pertence à zona rural do município e tem como características a localização muito próxima de área urbanizada (Figura 4), conservando, no entanto, características rurais, com remanescentes de floresta Atlântica. Tratam-se de vales, cujas encostas foram quase que totalmente ocupadas com extensas plantações de banana e café, entremeadas por pequenas glebas florestais de formação secundária, restritas aos cumes dos montes ou trechos com afloramentos rochosos, impróprios para agricultura. O tipo de relevo bastante acidentado da região determina a localização aleatória das residências em diferentes níveis de altitude, com cenário repetitivo no entorno das casas, representado pela presença dos abrigos de animais domésticos em contigüidade com as plantações de banana. Por sua vez, as lavouras delineiam uma faixa de isolamento entre o ambiente doméstico e os remanescentes florestais. Tais características propiciam a formação de diferentes nichos ecológicos para os insetos vetores, variando no sentido horizontal, do peridomicílio para a floresta e, no sentido vertical, em função dos diferentes níveis de altitude.

As casas distam pelo menos 100m dos remanescentes florestais. Na divisão sucessiva das propriedades rurais, as habitações humanas passaram a ser construídas cada vez mais próximas entre si, formando verdadeiros povoados. Tal configuração do ambiente facilita o deslocamento das pessoas e dos animais

domésticos, principalmente os cães, de uma casa para outra. Muitos moradores criam também aves, porcos, gatos, cabras, entre outros animais.

Figura 3. Acesso à localidade de Roda D'Água, Cariacica, evidenciando o relevo acidentado.

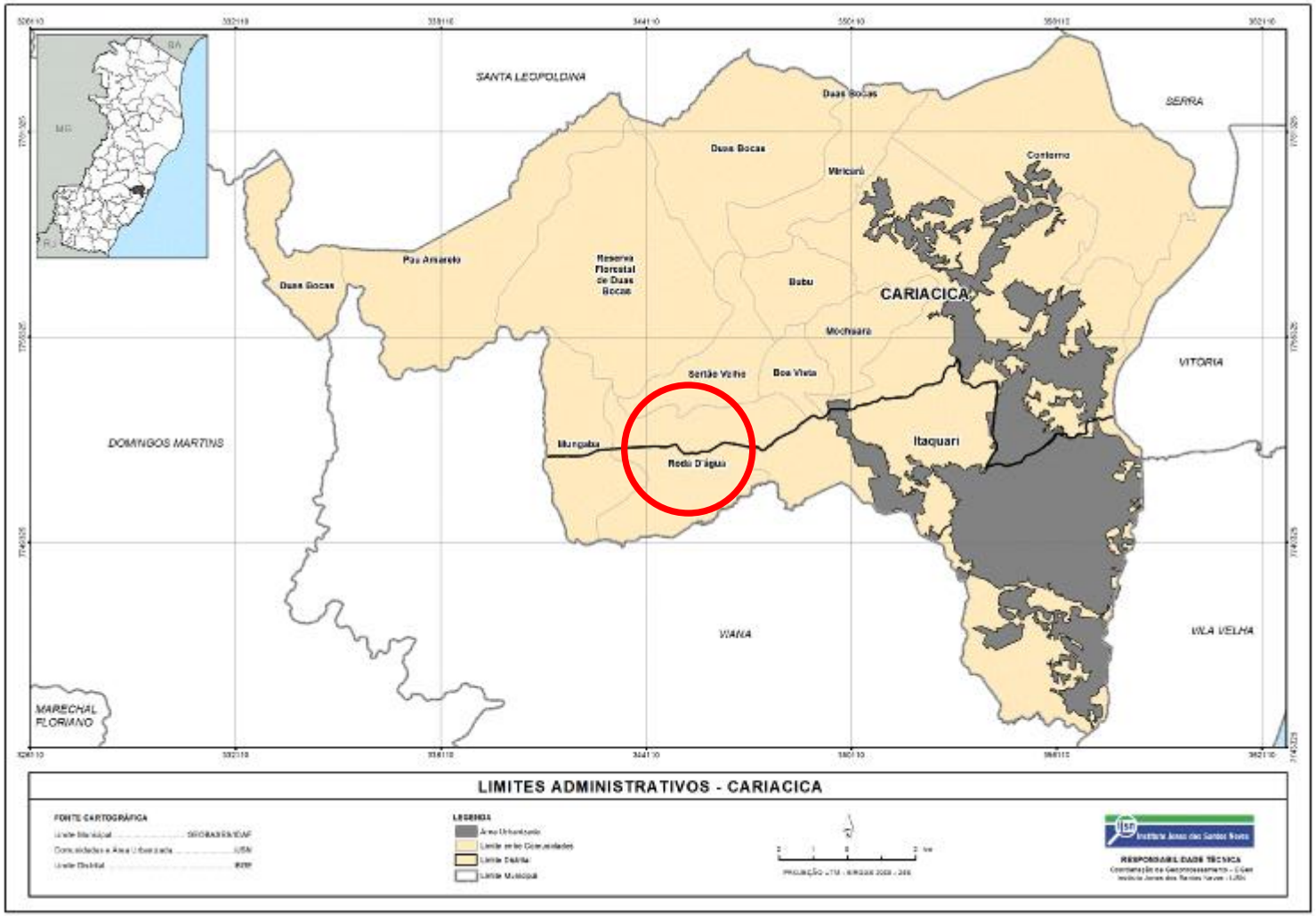

Figura 4. Limites administrativos - Cariacica. Fonte: IJSN-ES. Destaque para a região de Roda D'Água, circulada em vermelho.

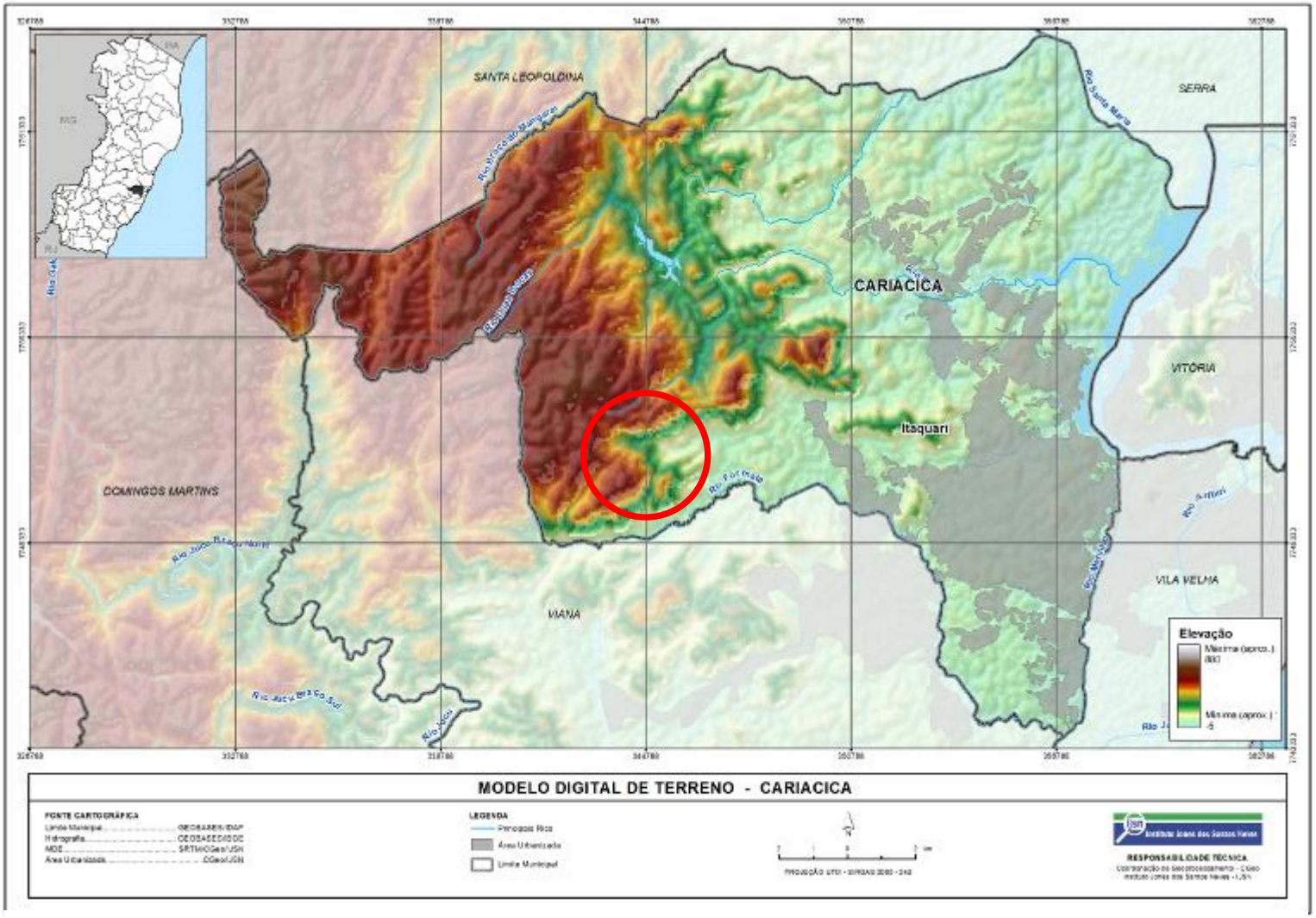

Figura 5. Modelo digital de Terreno - Cariacica. Fonte: IJSN-ES. Destaque para a região de Roda D'Água, circulada em vermelho.

4.2 Dados epidemiológicos

O presente estudo utilizou dados epidemiológicos contidos nos prontuários médicos dos pacientes diagnosticados com LTA provenientes de Roda D'Água atendidos na no Serviço de Infectologia Unidade de Medicina Tropical da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), que é referência estadual para o agravo. As informações colhidas e registradas nestes prontuários com fins didáticos e de pesquisa, por tratar-se de um hospital-escola, vão muito além daquelas existentes nas fichas de notificação do Sistema Nacional de Notificações do Ministério da Saúde (SINAN), incluindo a localização exata e georreferenciamento das residências dos pacientes com diagnóstico positivo para LTA.

4.3 As coletas

Para realização das coletas foram definidos, com auxílio de um aparelho GPS, seis pontos fixos, distribuídos em três níveis de altitude, sendo que o nível 1 correspondeu à faixa de altitude de até 250 m; o nível 2 abrangeu a faixa entre 250 e 500 m e o nível 3 representou a faixa acima de 500 m. Em cada nível de altitude foram definidos arbitrariamente dois pontos fixos para realização das coletas de flebotomíneos, um situado na mata e outro no peridomicílio, respectivamente.

Programou-se uma coleta por mês, no período de março de 2002 a fevereiro de 2004. As coletas eram realizadas simultaneamente nos seis pontos fixos previamente definidos, sendo os insetos coletados no decorrer das três primeiras horas noturnas. Em cada incursão ao campo participavam nove coletores, sendo que seis eram alocados aleatoriamente, um para cada ponto fixo, onde coletavam durante as três horas programadas. Em cada nível de altitude, um terceiro coletor dividia seu tempo de trabalho entre o peridomicílio e a mata, coletando durante uma hora e meia em cada ponto. Este protocolo teve como objetivo corrigir possível viés de amostragem, decorrente da habilidade individual de cada coletor.

Durante as coletas as temperaturas eram aferidas em dois momentos, uma vez no início da coleta e outra no término. Então era calculada a média da temperatura de cada nível, em cada ponto, a cada coleta. Evitavam-se as coletas nos dias mais chuvosos, para que estas não interferissem nos resultados.

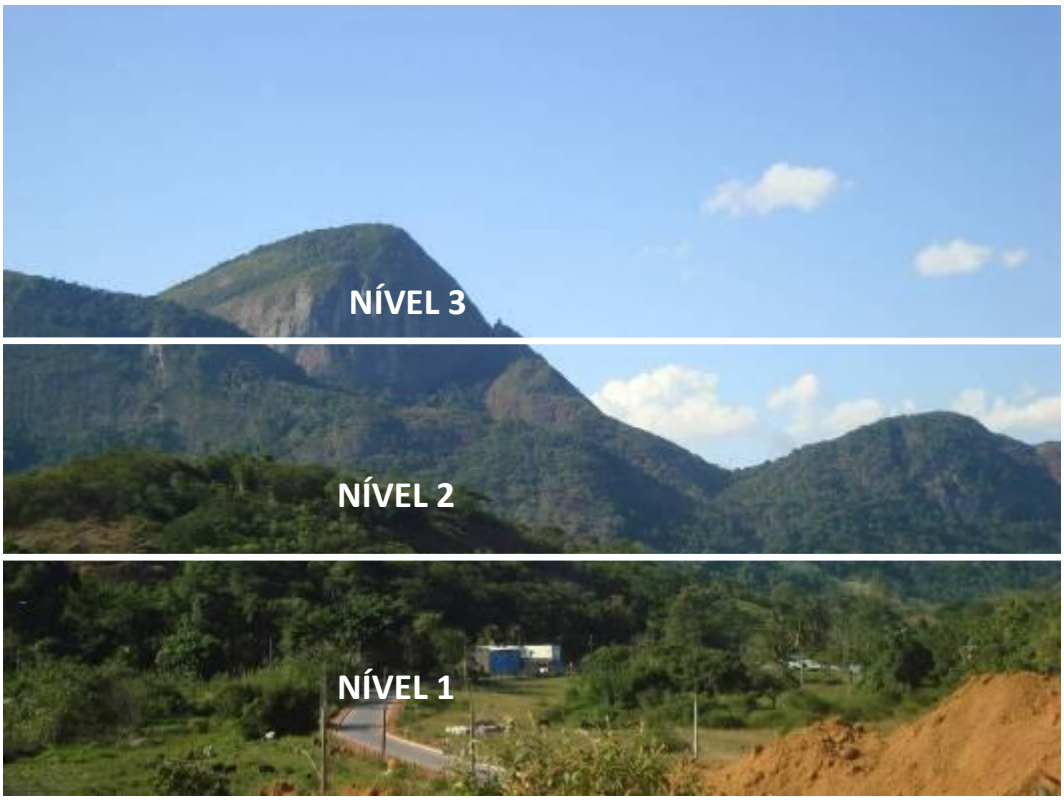

Figura 6. Acesso principal para a localidade de Roda D'Água, Cariacica, de onde podem-se observar os três níveis de elevação demarcados por linhas.

Figura 7. Ponto de coleta na mata do nível 1, apontado pela seta vermelha.

Figura 8. Peridomicílio do nível 2, mostrando duas residências, árvores frutíferas e cães (Fonte: arquivo pessoal).

Figura 9. Peridomicílio do nível 2. Plantações de banana, muito comuns na região, e a mata ao fundo, na parte mais alta deste nível (Fonte: arquivo pessoal).

Figura 10. Vista do alto do nível 3, a aproximadamente 680 m neste ponto. Ao fundo é possível ver o mar e os municípios de Vila Velha, à esquerda, e em parte, Guarapari (Fonte: arquivo pessoal).

4.4 As capturas

Os flebotomíneos foram capturados por busca ativa com capturador manual de Castro (figura 2), em superfícies de pouso, representadas por paredes externas das casas, abrigos de animais domésticos, troncos de árvores e nas armadilhas de Shannon modificadas (17). A armadilha de Shannon modificada é representada por um retângulo de tecido branco de 2,00 m x 1,20 m, coberto por um teto também de tecido branco medindo 1,20 m X 1,50 m. Duas armadilhas foram instaladas simultaneamente em cada nível de altitude, e sempre em cada uma delas havia um pesquisador fixo durante as três horas e mais um móvel, durante a metade deste período. No peridomicílio os insetos foram capturados nas armadilhas, paredes das residências, árvores e anexos. Na mata foram coletados nas armadilhas e nos troncos de árvores.

Figura 11. Coleta por busca ativa em repouso num galinheiro localizado no peridomicílio do nível 2 (Fonte: arquivo do prof. Gustavo R. Leite).

Figura 12. Coleta por tubo de sucção de Castro em armadilha de Shannon modificada montada na mata do nível 2 (Fonte: arquivo do prof. Gustavo R. Leite)

4.5 Identificação dos insetos

Os flebotomíneos capturados foram levados ao laboratório onde passaram por processo de triagem e montagem em lâminas, segundo a técnica de Barretto & Coutinho (1940) (111). A identificação dos espécimes baseou-se nos critérios taxonômicos propostos por Galati (2003) (71), enquanto a abreviação dos gêneros segue a proposta de Marcondes (2007) (112).

Aqueles flebotomíneos que não puderam ser identificados em nível de espécie formaram o grupo NI. Estes foram depositados em um arquivo entomológico do laboratório e posteriormente serão reavaliados. Algumas espécies só podem ser identificadas pela observação de caracteres específicos da fêmea ou do macho, e nem sempre um exemplar de cada sexo era coletado.

4.6 Avaliação da sazonalidade

A distribuição sazonal das espécies de flebotomíneos que ocorrem em Roda D'Água foi avaliada com base em variações observadas nos regimes de chuva e temperatura, ao longo do período estudado, com a finalidade de identificar possível influência dos parâmetros climáticos, sobre as populações dos insetos. A avaliação foi conduzida de duas formas: a primeira dividindo o período em chuvoso e seco, com base nos índices pluviométricos estimados para a região e a segunda, pelas estações do ano, primavera, verão, outono e inverno.

4.7 Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas em duas etapas, sendo a primeira foi executada no programa IBM SPSS Statistics 20 (45), em que somente as espécies reconhecidamente antropofílicas (24) foram avaliadas quanto às variáveis nível de altitude, ambiente, período do ano (chuvoso e seco) e estações do ano.

Além da estatística descritiva, aplicou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov para saber se os dados apresentavam distribuição de Gauss. Como estes não seguiam a distribuição Gaussiana foi necessário aplicar testes não-paramétricos. Para variáveis como o nível de altitude e estações do ano aplicou-se o teste de Kruskall-Wallis e para ambiente de coleta e época, o teste U de Mann-Whitney-Wilcoxon. Em relação

à altitude também foi calculada a correlação de Spearman para dados não paramétricos (113).

A segunda etapa é referente à análise ecológica das espécies de flebotomíneos capturadas em Roda D'Água, obtendo-se os índices abundância, riqueza, diversidade de Shannon_H, equitabilidade_J e dominância de Berger-Parker. Para esta fase de análises foi utilizado o programa Past 3.x .

Os dados foram tabulados e os gráficos elaborados no programa Microsoft Excel Starter 2010.

4.8 Aspectos éticos

O projeto foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, obtendo-se parecer de autorização consubstanciado nº 494.029 (Anexo 1).

5 RESULTADOS

No período de abril de 2002 a março de 2004 foram capturados 13.233 exemplares de flebotomíneos, identificados em 23 espécies. Deste total, 114 exemplares estavam danificados e não puderam ser identificados em nível de espécie com base nos caracteres taxonômicos analisados. Estes espécimes foram registrados no grupo NI, e contabilizados somente no total. A tabela 1 apresenta todas as espécies encontradas em Roda D'Água e sua distribuição de acordo com o nível de elevação e o tipo de ambiente.

Tabela 1. Flebotomíneos capturados em Roda D'Água, nos ambientes mata e peridomicílio, no período de abril de 2002 a março de 2004, com destaque para as principais espécies conhecidamente antropofílicas e de importância epidemiológica(*).

	Ambiente			
Espécie	Peridomicílio	Mata	Total	(%)
Brumptomyia nitzulescui	1	8	9	0,068
Evandromyia callipyga	1	18	19	0,143
Evandromyia edwardsi	0	9	9	0,068
Evandromyia sallesi	0	1	1	0,007
Evandromyia tupynambai	0	2	2	0,015
Martinsmyia gasparviannai	0	27	27	0,204
Micropygomyia schreiberi	32	218	250	1,889
Micropygomyia ferreirana	53	224	277	2,093
*Migonemyia migonei**	1021	127	1148	8,675
Migonemyia quinquefer	136	407	543	4,103
*Nyssomyia intermedia**	7826	262	8088	61,120
Nyssomyia yuilli yuilli	0	2	2	0,015
*Pintomyia fischeri**	1738	671	2409	18,20
Pintomyia misionensis	0	2	2	0,015
*Pintomyia monticola**	20	202	222	1,677
Pintomyia pessoai	0	1	1	0,007
Psathyromyia pascalei	2	24	26	0,196
Psathyromyia limai	1	9	10	0,076
Psathyromyia lutziana	0	1	1	0,007
Psychodopygus hirsutus	2	25	27	0,204
Psychodopygus matosi	4	34	38	0,287
Sciopemyia microps	2	4	6	0,045
Trichopygomyia longispina	1	1	2	0,015
NI	5	109	114	0,861
TOTAL	10845	2388	13233	100%

Dentre todas as espécies capturadas e identificadas em Roda D'Água, a mais abundante foi *Ny. intermedia* (61,12%), seguida por *Pi. fischeri* (18,20%) e *Mg. migonei* (8,68%) (Tabela 2). As três espécies demonstram comportamento antropofílico e cinofílico (Falqueto, 1995). Soma-se a estas uma quarta espécie que também tem o hábito de fazer repasto sanguíneo em seres humanos e cães, que é *Pi. monticola*. Entretanto, a mesma foi pouco encontrada neste estudo (1,67%). Sendo assim, a soma das quatro principais espécies antropofílicas em Roda D'Água representou 89,67% do total de espécimes identificados, contra os 10,1% resultantes da soma das demais. Estas últimas serão analisadas à parte, apenas do ponto de vista ecológico.

Tabela 2. Percentuais das principais espécies de flebotomíneos antropofílicas capturadas em Roda D'Água entre março de 2002 a fevereiro de 2004.

Espécies antropofílicas	Percentuais sobre o total	Valores absolutos
Ny. intermedia	61,12%	8088
Pi. fischeri	18,20%	2409
Mg. migonei	8,68%	1148
Pi. monticola	1,67%	222
Total	89,67%	11867

As quatro principais espécies de flebotomíneos que têm afinidade pelo homem apresentaram diferenças significativas quanto à sua distribuição nos três níveis de elevação estudados, utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis. *Ny. intermedia* foi mais abundante no nível 2, tendência esta acompanhada por *Pi. fisheri*, porém de forma mais sutil. *Mg. migonei* esteve em maior quantidade no nível 1, decrescendo no 2 e sendo quase inexistente no nível 3. Já *Pi. monticola* apresentou distribuição inversa: mais abundante no nível 3, escassa no 2 e quase inexistente no 1 (figuras 1 e 2).

Em relação ao ambiente de coleta, das quatro espécies analisadas, apenas *Pi. fischeri* apresentou semelhança estatística entre o número de espécimes coletados na mata e no peridomicílio segundo o teste U de Mann-Whitney (α=0,05). Nas outras três espécies nota-se tendência fortemente significativa para um dos dois ambientes, sendo *Mg. migonei* e *Ny. intermedia* mais abundantes no peridomicílio, enquanto que *Pi. monticola* foi mais abundante na mata (figuras 1 e 2).

Proporcionalmente, no entanto, observou-se que *Pi. fischeri* foi a espécie mais abundante na mata dentre as 23 coletadas, contribuindo com 28,10% do total de flebotomíneos capturados neste ambiente, seguida por *Mi. quinquefer* (17,04%), que não tem importância epidemiológica. *Ny. intermedia* contabilizou apenas 10,97% do total da mata, *Mg. migonei* 5,32% e *Pi. monticola* 8,45%.

Já no peridomicílio *Ny. intermedia* foi a espécie que demonstrou-se fortemente dominante e abundante, contribuindo com 72,16% do total de espécimes coletados, seguida por *Pi. fischeri* com 16,02% e *Mg. migonei* com 9,41%. *Pi. monticola* contabilizou apenas em 0,18% do total dos insetos capturados neste ambiente.

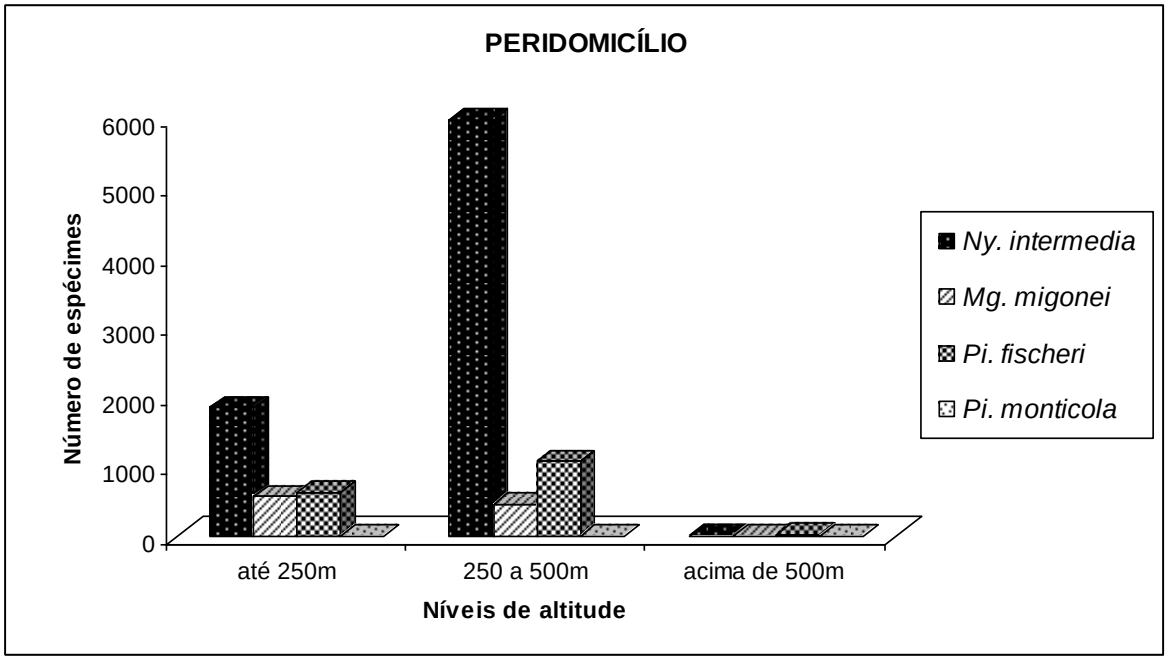

Gráfico 1. Distribuição das principais espécies de flebotomíneos antropofílicas, capturadas em diferentes faixas de altitude no peridomicílio da localidade de Roda D'Água, Cariacica, entre abril de 2002 a março de 2003.

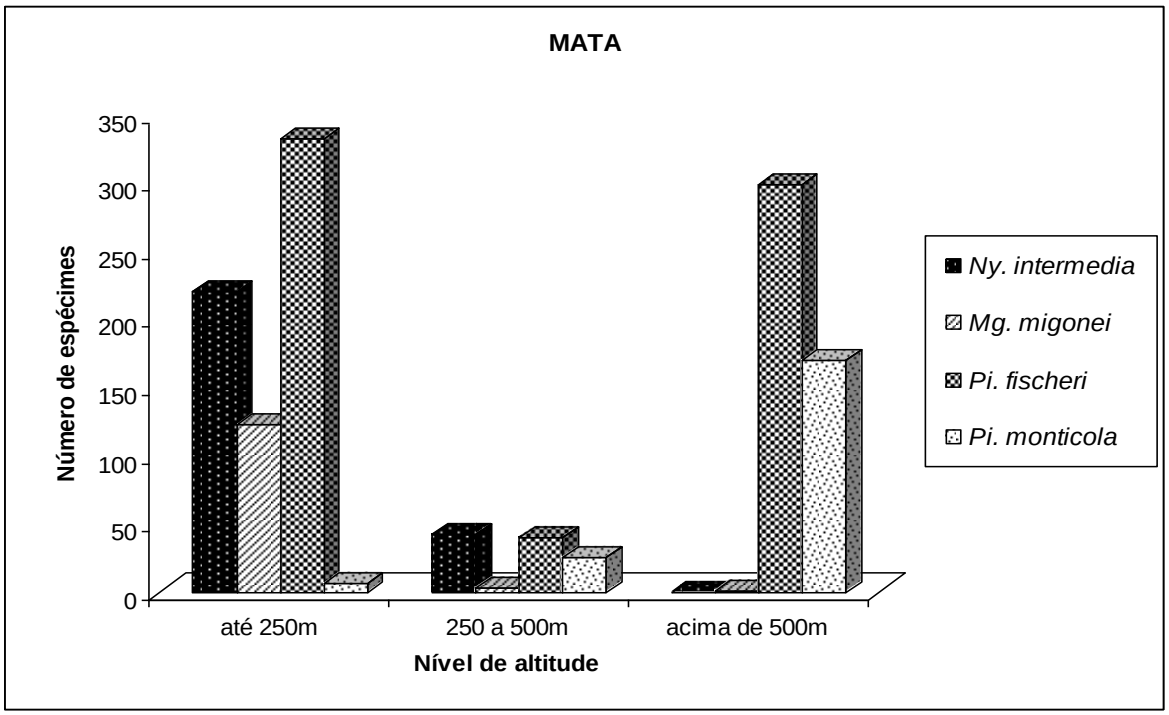

Gráfico 2. Distribuição das principais espécies de flebotomíneos antropofílica, capturadas em diferentes níveis de altitude na mata da localidade de Roda D'Água, Cariacica, entre abril de 2002 a março de 2003.

Observando as proporções das espécies antropofílicas em relação ao total de espécimes coletados em cada nível de cada amkbiente, tem-se que na mata *Ny. intermedia* apareceu em 15,2% dos flebotomíneos capturados no nível 1. Neste ambiente, no nível 2, em 10,37% do total de capturados. Já no nível 3, não foi mais capturada. A população de *Migonemyia migonei e* partiu de 8,5% do total coletado no nível 1 da mata, passando para 0,74% no nível 2 e 0,18% no nível 3. *Pi. fischeri* contribuiu com 22,94% de flebotomíneos capturados no nível mais baixo. No segundo nível caiu para 9,87% e no mais elevado, área sem doença, 55.75%. *Pi. monticola* distribuiu-se de forma diferente dos demais. Esta espécie apareceu em 0,48% do total do nível 1 na mata, subiu para 6,17% no nível 2 e aumentou ainda mais no nível 3, contribuindo com 31,71% do total de espécimes capturados neste ambiente (gráfico 3).

No peridomicílio, *Ny.intermedia* foi a espécie identificada em 57,57% daquelas coletadas no nível 1. No segundo nível, em 78,76%. Já no nível 3, cai para 0,33% do

total. *Migonemyia migonei* contribuiu com 17,68%, caiu pra 5,98% no segundo nível e no terceiro não apareceu. Pi*. monticola* começa com 0,03%, sobe para 0,19% 3 no nível 3, o mais elevado, 1,49%. *Pi. fischeri* contribuiu com 22,94% de flebotomíneos capturados no nível mais baixo. No segundo nível, caiu para 9,87%, e no nível mais elevado, área sem doença, 55.75%. *Pi. monticola* distribuiu-se de forma diferente dos demais. Esta espécie apareceu em 0,48% do total, subiu para 6,17% (gráfico 4) .

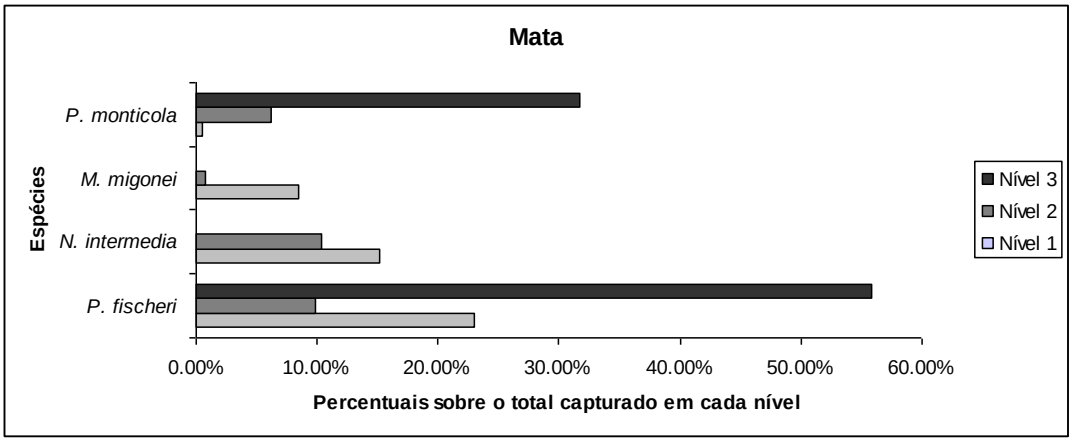

Gráfico 3. Distribuição proporcional de cada uma das principais espécies de flebotomíneos antropofílicos capturados na MATA, em Roda D'Água, Cariacica, entre março de 2002 e fevereiro de 2004.

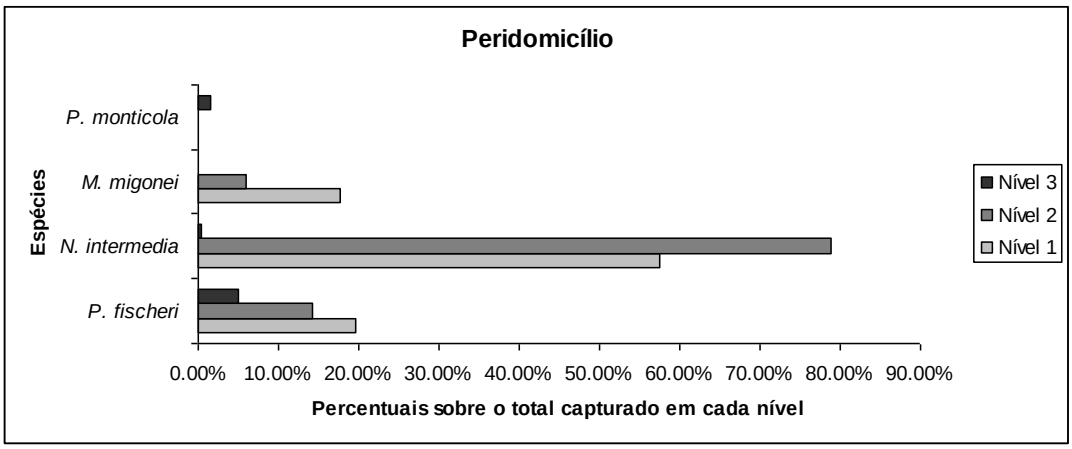

Gráfico 4. Distribuição proporcional de cada uma das principais espécies de flebotomíneos antropofílicos capturados no PERIDOMICÍLIO em Roda D'Água, Cariacica, entre março de 2002 e fevereiro de 2004.

Utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis para comparar a distribuição destes flebotomíneos em relação às estações do ano. Assim, foi possível observar que apenas *Pi. fischeri* teve sua população afetada pelas mesmas, sendo o inverno a estação em que foi mais capturado, e outono aquela em que foi mais escasso. As outras três espécies de interesse distribuíram-se uniformemente nas quatro estações, não apresentando diferença estatística para este parâmetro (gráfico 5).

Quanto à época do ano, a análise pelo teste U de Mann-Witney revela que apenas a distribuição de *Pi. fischeri* foi significativamente influenciada pela pluviosidade (p=0,07, NS=0,05), sendo maior na época seca do que na chuvosa. As chuvas não influenciaram de maneira significativa a distribuição de *Ny. intermedia*, *Mg. migonei* e *Pi. monticola* (gráfico 6).

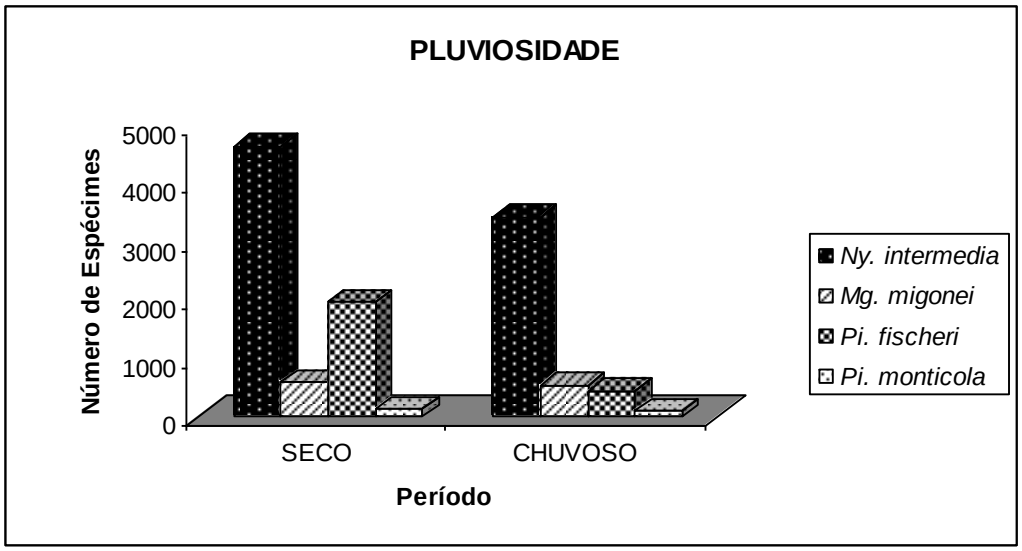

Gráfico 5. Distribuição das principais espécies antropofílicas de flebotomíneos em Roda D'Água, Cariacica, de acordo com pluviosidade, capturadas entre abril de 2002 a março de 2003.

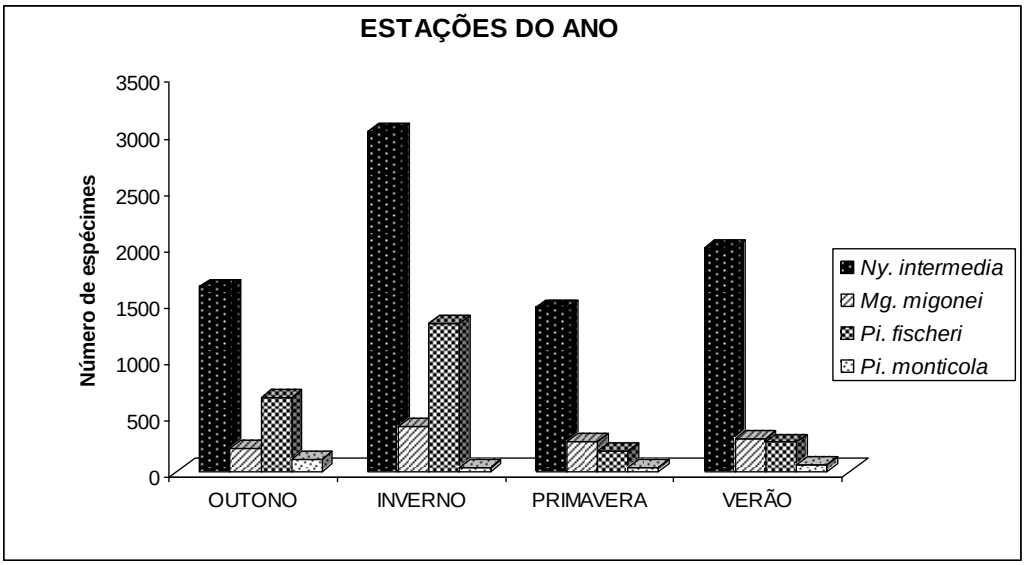

Gráfico 6. Distribuição das principais espécies antropofílicas de flebotomíneos em Roda D'Água, Cariacica, em relação às estações do ano, capturadas entre abril de 2002 a março de 2003.

Dentre os índices ecológicos calculados neste trabalho, os mais importantes são a riqueza e a abundância, mas para um melhor entendimento e possibilidade de discussão dos dados, também foram incluídos os índices de Diversidade de Shannon, Equitabilidade de Pielou e a Dominância de Berger-Parker (tabela 3).

Tabela 3. Índices ecológicos obtidos para as populações de flebotomíneos coletados em Roda D'Água, município de Cariacica, na mata e no peridomicílio, no período de abril de 2002 a março de 2004.

ÍNDICE ECOLÓGICO	MATA	PERIDOMICÍLIO
Riqueza	**23**	**16**
Abundância	**2388**	**10845**
Diversidade de Shannon (H)	**2.102**	**0.8721**
Equitabilidade de Pielou (J)	**0.6705**	**0.3220**
Dominância de Berger-Parker	**0.2944**	**0.7220**

.

6 DISCUSSÃO

6.1 Altitude X Ambiente

Nyssomyia intermedia foi espécie mais capturada em Roda D'água (61,12%). Predominou no ambiente peridomiciliar do nível 2 (78,76% do total para este nível), onde provavelmente encontra melhores condições ecológicas para seu desenvolvimento, além de dispor grande densidade de hospedeiros. É importante destacar que é justamente neste nível que se concentra o maior número de casos de LTA na área (Unidade de Medicina Tropical/UFES – dados não publicados). Trata-se de um táxon predominante e abundante no peridomicílio de muitos focos de LTA, tanto no Espírito Santo, como em outros estados da região Sudeste do Brasil (17, 24, 28, 44, 114).

Em Roda D'Água foi possível observar notável tendência de *Ny. intermedia* ser mais abundante no ambiente peridomiciliar, com 7.826 espécimes capturados no peridomicílio contra apenas 262 na mata, tendência acompanhada por *Pi. fischeri* (1738 exemplares no peridomicílio e 671 na mata) e *Mg migonei*. (1021 no peridomicílio e 127 na mata).

Nyssomyia intermedia s.l. na verdade é um complexo, e contempla duas espécies distintas: *Ny. intermedia* e *Ny. neivai* (Pinto, 1926), que foram consideradas sinônimos até meados dos anos 90 (115). São espécies com muitas características comuns, mas algumas bem distintas Dependendo da região estudada pode-se encontrar uma ou outra espécie, e em alguns poucos locais, a simpatria entre as duas (116).

Hoje já se sabe que muitos dos trabalhos mais antigos tratam como *Ny. intermedia* insetos que na verdade pertenciam à espécie *Ny. neivai* (72, 117, 118). No Espírito Santo até então somente tem sido capturada a espécie *Ny. intermedia* (8, 17, 119). Essa espécie é fortemente incriminada como possível vetora de *Leishmania* (27, 90)e esteve presente em 90% dos focos investigados no estado de São Paulo em 2001 (120).

Em Roda D'Água, a espécie *Mg. migonei* foi estatisticamente mais abundante no peridomicílio e nos níveis 1 e 2, ou seja, sua presença coincide com a área onde há transmissão ativa de LTA. Porém, apareceu em baixas densidades indicando menor relevância como possível vetor da doença na região.

Trata-se de uma espécie dotada de notável grau de antropofilia, além de sugar animais domésticos, sobretudo cães e galinhas. Em algumas oportunidades, foi observada sugando avidamente eqüinos (53, 121, 122). A espécie parece ter papel importante na transmissão da LTA, em diferentes regiões do Brasil (90).

A população de *Pi. fischeri* foi afetada pela altitude em Roda D'Água, entretanto, não houve diferença significativa entre sua distribuição na mata e no peridomicílio, sugerindo que este flebotomíneo tenha importância epidemiológica pouco relevante na região.

Lainson (1983) sugere que *Pi. fischeri* poderia ser um exemplo de flebotomíneo que se adaptou a ambientes modificados pela ação do homem, mas mantendo a capacidade de transmitir a *L.(V.) braziliensis* entre animais silvestres nos resíduos de mata secundária ainda preservados (123).

Pi. fischeri é dotada de apreciável grau de antropofilia, com alta afinidade também por animais domésticos como cães e aves (90). Também demonstrou-se sua antropofilia e cinofilia, além da presença no peridomicílio em área endêmica para LTA no município de Viana, ES (24), sugerindo que esta espécie possa ter participação na transmissão da doença. Por outro lado, em Afonso Cláudio, demonstrou-se que no município de Afonso Cláudio, ES, a densidade de *Pi. fischeri* tendia a aumentar na parte mais elevada de uma área endêmica, onde a doença não ocorria (17).

Já no município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, *Pi. fischeri* aparece como espécie de importância na transmissão em uma área foco de LTA, embora desempenhando papel secundário em relação a *Ny. neivai,* espécie mais abundante (124).

Os resultados obtidos em Roda D'Água também estão em consonância com aqueles encontrados em outros trabalhos no estado de São Paulo(125, 126) e no estado do

Rio de Janeiro (27), que apontam as espécies do complexo *Ny. intermedia s. l.* como espécies mais importantes no perfil epidemiológico da LTA naquelas áreas. Esses autores salientam a predominância das espécies em ambientes modificados e sua presença constante no intra e peridomicílio.

Os resultados do presente estudo também corroboram os achados de Virgens et al. (2008) (94), que estudaram a fauna flebotomínica em Sooretama, norte do Espírito Santo. Segundo esses autores, *Ny. intermedia* representou apenas 0,51% de todos os flebotomíneos capturados em ambiente preservado, porcentagem que aumentou para 24,30% no ambiente modificado.

A hipótese de "pré-adaptação" de táxons como *Ny. intermedia s. l.* é portanto a mais aceita, dado que a colonização do Brasil ocorreu há pouco mais de 500 anos, e somente então as grandes modificações do ambiente começaram a acontecer. Os flebotomíneos são insetos muito mais antigos, supondo-se que tenham surgido no Cretáceo, isto é, entre 145 e 65,5 milhões de anos atrás, com registros fósseis de mais de 120 milhões de anos (54). Em se tratando de evolução, seria incoerente dizer que tenham se adaptado em pouco mais da metade de um milênio.

Originalmente *Ny. intermedia* ocorre nas clareiras de mata, por onde penetram raios solares, propiciando condições adequadas de temperatura e umidade para a sua procriação. No ambiente silvestre, este táxon ainda prevalece na mata residual, nas bordas da floresta e em áreas abertas (127). Em 1943, Barretto (41) já sugeria que *Ny. intermedia* teria desenvolvido preferência por mata secundária e vegetação rasteira ou arbustiva, comuns em áreas modificadas pelo homem.

Atualmente este táxon é encontrado tanto em florestas primárias como secundárias e, particularmente, nas áreas onde o desmatamento tem gradualmente modificado o perfil ecológico. Este fenômeno é visto claramente nas regiões de colonização antiga do Brasil, tanto no Sudeste, como no Nordeste e no Sul (41). A espécie beneficia-se da modificação do ambiente nessas áreas, aproveitando a maior disponibilidade de alimento, principalmente devido à presença do homem e do cão, já que é altamente antropofílica e cinofílica (24, 25).

As ações humanas sobre o meio ambiente atuam na seleção das espécies de flebotomíneos, permitindo que algumas delas se adaptem ao ambiente antrópico, onde já existem potenciais reservatórios de *Leishmania* entre os animais domésticos. Assim, a intervenção humana parece favorecer a presença de algumas espécies desses insetos no peridomicílio, explicando, em parte, a persistência das leishmanioses nesse tipo de ambiente (127, 128).

A fim de comprovar experimentalmente o impacto da modificação do ambiente sobre as populações de flebotomíneos, foi realizado um estudo no peridomicílio de uma localidade do Paraná, sul do Brasil, onde foi aberta uma clareira ao redor de um galinheiro, seguindo-se aplicações periódicas de inseticidas no local. Estas ações se refletiram fortemente na ecologia das espécies de flebotomíneos, sendo que a espécie dominante antes do desmatamento e das aplicações de inseticidas era *Mg. migonei*, com 51,6%, e após estas medidas, *Ny. whitmani*, com 89,8% do total de flebotomíneos. Isso significa que das duas espécies, aquela mais adaptada ao desmatamento, luminosidade e mais resistente aos inseticidas foi *Ny. whitmani*.(129).

Ny. whitmani não foi encontrada em Roda D'Água, Cariacia, mas aparece em densidade elevada no peridomicílio de outros municípios capixabas, a exemplo de Afonso Cláudio, embora *Ny. intermedia* também seja a espécie predominante naquele município (17).

No estado de São Paulo, até a década de 1950, destacavam-se como predominantes e antropofílicas, nas áreas endêmicas de LTA, as espécies *Ny. whitmani, Pi. pessoai* e *Pi. fischeri*. Embora a espécie identificada na época como *Ny. intermedia* não se apresentasse em abundância, Barretto, em 1943 (121) chamava atenção para sua grande capacidade de dispersão. Com o progressivo desmatamento, essa espécie assumiu dominância entre os flebotomíneos em praticamente todas as áreas de transmissão naquela região (130, 131).

Mudanças ambientais que ocorreram no Vale do Ribeira, SP, no início do século 20 modificaram a composição da fauna de flebotomíneos da região. Enquanto a ação levou ao desaparecimento de várias espécies silvestres, ou sua sobrevivência em baixa densidade, as do complexo *Ny. intermedia s. l.* adaptaram-se tão bem ao

habitat peridoméstico que se tornaram as espécies predominante em um novo perfil epidemiológico para LTA. Esses autores sugeriram, ainda, que o pequeno número de exemplares dessas espécies agora capturados em remanescentes florestais indica que estes vetores devam estar transmitindo a *Leishmania*.independentemente da mata, fazendo repasto em humanos no ambiente intra ou peridomiciliar (132).

Em Itaguaí, Rio de Janeiro, região litorânea com áreas montanhosas, *Ny. intermedia* foi encontrada predominantemente em domicílios, na altitude de 100 m acima do nível do mar, mas a 300 m foi rara nas paredes externas e ausente no intradomicílio (95). O intradomicílio não fez parte da pesquisa em Roda D'Água, no entanto, no município de Viana, vizinho de Cariacica, foi constatado que a espécie invade intensamente o domicílio (24).

Os resultados obtidos em Roda D'Água, Cariacica, são consoantes com os achados obtidos de outro estudo altitudinal, realizado em Afonso Cláudio, que teve metodologia semelhante, porém em área com características geoclimáticas completamente diferentes. Na ocasião *Ny. intermedia* também foi incriminada como principal vetor, coincidindo sua maior abundância com a faixa de altitude onde os casos de LTA se concentravam. *Ny.* w*hitmani* e *Mg. migonei* demonstraram ter papéis secundários. Por outro lado, *Pi. fischeri* e *Pi. monticola* provavelmente não teriam papel relevante naquela área (17).

Considerando que ambas são áreas de colonização antiga, deve-se analisar cuidadosamente as características ambientais de cada um dos municípios: Cariacica apresenta clima quente e úmido, e as altitudes partem de apenas 20 m acima do nível do mar chegam a no máximo 718 m; em Afonso Cláudio o clima é mais seco, com temperaturas mais amenas, e altitudes partindo de 650 m e chegando a 950 m acima do nível do mar. A ocorrência de *Ny.* w*hitmani* em Afonso Cláudio e não em Cariacica pode ser explicada por estas diferenças, dadas as exigências ecológicas do inseto, mas principalmente pela localização geográfica. A região de Afonso Cláudio é a porção final de uma extensa área de ocorrência de *Ny.* w*hitmani,* contínua com Minas Gerais.

A espécie *Pi. monticola* distribuiu-se em Roda D'Água de maneira diretamente proporcional à altitude, portanto, mais abundante nos níveis superiores, onde a

doença tende a estar ausente. Este táxon também foi frequentemente encontrado na mata e escasso no peridomicílio, sendo a diferença estatisticamente significativa entre o número de espécimes coletados em um e outro ambiente. Estes dados são suficientes para descartar seu envolvimento na transmissão da LTA na região.

Resultados semelhantes foram encontrados em Afonso Cláudio, ES(17), e em outras áreas endêmicas de São Paulo e Rio de Janeiro, onde *Pi. monticola* apareceu em quantidades irrelevantes (96, 133). Esta espécie em grande quantidade no município de Venda Nova do Imigrante, situado na região serrana do ES, a 750 m de altitude, onde não há registros de casos autóctones da doença (24)

Cenário parecido o de Roda D'Água foi observado na Restinga da Marambaia, no litoral sul do estado do Rio de Janeiro, em outro estudo de fauna flebotomínica (27). Os autores registraram a ocorrência de *Ny. intermedia* como espécie mais abundante (80%) ao longo do ano de 2009, seguida por *Mg. migonei* (18,7%) e *Pi. fischeri* (0,5%); as três espécies predominaram no peridomicílio. Já, em Roda D'Água não foi observada diferença estatística em relação ao ambiente para *Pi. fischeri.*

Em Roda D'Água, *Mg. migonei* parece ter papel secundário como vetor da LTA, e *Pi. fischeri* demonstra pouca relevância. *Mg. migonei* tem merecido o papel de vetor secundário de *Leishmania* no estado de São Paulo (26). Esta também tem sido a segunda ou a terceira espécie mais abundante no estado do Paraná, inclusive no domicílio (83, 134, 135).

Situação diferente foi observada Serra da Cantareira, área endêmica no estado de São Paulo, onde *Pi. fischeri* aparece como a espécie mais abundante (121, 136). Barretto, em 1943, e Moschin, em 2013, estudaram a fauna flebotomínica nesta região paulista. No trabalho mais recente *Mg. migonei* aparece como a segunda espécie mais numerosa(136), sendo que 70 anos antes, nem sequer chegou a ser capturada (121). Estes resultados demonstram variações nas populações de flebotomíneos ao longo do tempo, talvez influenciadas pela interferência humana no meio ambiente.

É importante registrar que em Roda D'Água os resíduos de florestas situam-se a distâncias de pelo menos 100 m das residências, mas em sua maioria, a mais de 300 m,. Assim, trata-se de uma distância considerável, se pensarmos no alcance de vôo dos flebotomíneos, que pode variar de espécie para espécie, é um fator limitante ao deslocamento dos insetos de um ambiente para outro, já que em geral os flebotomíneos possuem pouca tendência a se afastarem dos seus abrigos naturais (53). Em estudo sobre a dispersão de *Ny. intermedia*, obteve-se um raio médio de 109 m, e o máximo foi de 180 m (137).

Nyssomyia intermedia e *Mg. migonei* são significativamente mais abundantes no peridomicílio, na área estudada. Resultados semelhantes foram encontrados no município de Viana, em que pesquisaram criadouros de flebotomíneos. Ao capturar adultos que emergiam do solo, observou-se *Ny. intermedia* como espécie predominante, com 71,6% dos exemplares capturados, seguida por *Micropygomyia schreiberi* (Martins, Falcão & Silva, 1975), com 20,9 %, e *Mg. migonei*, com 4,5% (32). Considerando que as duas espécies antropofílicas mais abundantes na região aparecem em criadouros peridomiciliares, torna-se coerente atribuir a *Ny. intermedia* o papel de vetor principal de *L.(V.) braziliensis*, juntamente com *Mg. migonei*, participando como vetor secundário. *Mi. schreiberi* também foi capturada em Roda D'Água, contribuindo com 1,89% do total de flebotomíneos. Esta espécie demonstrou afinidade pela mata, com 202 exemplares capturados neste ambiente, contra apenas 38 no peridomicílio, durante todo o período de estudo.

Diversos autores têm sugerido que a elevada concentração de flebotomíneos no ambiente peridomiciliar vem acontecendo devido à interferência humana no meio ambiente, favorecendo a procriação das espécies que se beneficiam com as modificações ambientais (69, 138, 139). Ações destrutivas sobre o ambiente natural promoveriam o desaparecimento de algumas espécies e predomínio de outras, incluindo as vetoras potenciais da LTA, que têm afinidade com o ambiente antrópico por diferentes fatores, além de atração alimentar pelo próprio homem e pelos animais domésticos.

No peridomicílio, hábitats como galinheiro e chiqueiro foram os mais representativos para a atração de flebotomíneos em pesquisa realizada no Paraná (140). Nos municípios de Alto Caparaó e Caparaó, Minas Gerais, a espécie *Ny. intermedia*

predominou em abrigos de animais, mata, cafezal e parede externa das casas,, representando 84% dos espécimes coletados em áreas de transmissão de LTA (141).

6.2 Sazonalidade

Pintomyia fischeri foi a única espécie afetada pelas estações do ano, sendo significativamente mais abundante no inverno e mais escassa no outono. *Ny. intermedia, Mg. migonei* e *Pi. monticola* não apresentaram diferença estatística em relação a este parâmetro. A distribuição uniforme da temperatura ao longo do ano com média de 21,89 ºC pode ter contribuído para a ocorrência homogênea dessas espécies na área estudada.

Nyssomyia intermedia e Mg. migonei distribuiram-se uniformemente por todo o ano, tendendo a maior densidade no mês de julho, como demonstrado também por outros pesquisadores (122). Segundo alguns estudos, esse flebotomíneo pode não ocorrer em todos os meses do ano, chegando mesmo a estar ausente nos meses secos e frios (53, 121).

A uniformidade da fauna de flebotomíneos também foi observada no município de Sobral, Ceará. Os pesquisadores também atribuíram a estabilidade da população à pequena variação de temperatura durante os 24 meses de coletas (142).

A população total de *Ny. intermedia* apresentou pequenas variações ao longo do ano, em Roda D'Água, com tendência a aumentar no inverno, assim como revelam também pesquisas no litoral norte do estado de São Paulo (143). Porém a distribuição uniforme destes flebotomíneos contrasta com os resultados obtidos por outros autores (17, 24, 122).

Forattini (1973) já assinalava uma distribuição irregular na população de *Ny. intermedia*, tendendo a maior densidade nos meses frios do ano (53). Em estudo no Rio de Janeiro, sua presença foi registrada durante todo o ano, sobressaindo em junho, agosto e outubro como os meses de maior densidade (144).

Também no estado do Rio de Janeiro, avaliando a sazonalidade de flebotomíneos em Mangaratiba, demonstrou-se uma tendência ao crescimento na população de

espécies incriminadas como vetoras durante o período frio e seco (27). Resultados semelhantes foram encontrados no município de Itupeva, São Paulo (133).

Em pesquisa realizada em Belo Horizonte, MG, observou-se maior incidência de LTA e LVA associada ao aumento na população de flebotomíneos, após o período de chuvas (105). A partir dessa constatação pode-se inferir que em Roda D'Água, o risco de transmissão não é alterado por este fator ao longo de todo o ano, considerando a relativa estabilidade das populações de flebotomíneos em relação à pluviosidade e estações

No estado do Paraná, pesquisadores avaliaram a sazonalidade dos flebotomíneos, demonstrando que nas épocas quentes e úmidas do ano estes são capturados em maior número (83, 84). O mesmo foi observado nos municípios mineiros de Alto Caparaó e Caparaó, e também no município de Taquaruçú, no Tocantins (141, 145).

Essas incongruências de resultados à primeira vista podem intrigar os pesquisadores, mas justificam-se perfeitamente pelas particularidades geoclimáticas de cada uma das regiões estudadas. É compreensível que em regiões mais secas, como é o caso de Taquaruçú, TO, os períodos de maior pluviosidade sejam favoráveis ao desenvolvimento dos flebotomíneos. Já nas regiões com altos índices de pluviosidade, as chuvas intensas podem prejudicá-los, podendo interferir nos criadouros, eliminando as formas jovens, como também afetar diretamente as populações de adultos.

Estas informações são importantes para reforçar que há necessidade de investigar em particular cada foco endêmico e analisar em conjunto as inúmeras variáveis que podem influenciar as populações destes insetos.

6.3 **Índices Ecológicos**

Os índices ecológicos são importantes ferramentas para a análise de populações dos seres vivos. Embora haja ainda discordâncias a respeito de sua utilidade real, é fato que geram dados quantitativos e qualitativos importantes para a compreensão do comportamento de espécies em relação a determinado ambiente.

Roda D'Água mostrou ser uma região com uma fauna de flebotomíneos de elevada riqueza e abundância. Na mata, a riqueza foi de 23 espécies, e no peridomicílio foi de 16 espécies. A abundância geral foi de 13.233 espécimes, sendo maior no peridomicílio, com 10.845 espécimes capturados, contra 2.388 espécimes na mata.

A diversidade de Shannon (H) na mata foi da ordem de 2,102, e no peridomicílio, de 0,8721. Ambientes preservados suportam um maior número de espécies, apresentando riqueza e diversidade superiores, pois mantém suas características originais.

Dado o comportamento originalmente silvestre dos flebotomíneos, a distribuição e a abundância das espécies sofrem influência direta das áreas florestadas. No Paraná foi observado que a riqueza de flebotomíneos está relacionada com a existência de matas remanescentes. Contudo, a freqüência e a densidade de flebotomíneos no ambiente antrópico parecem depender do grau de degradação das florestas e da existência de fontes alimentares representadas, principalmente, pela criação de animais domésticos (140).

O índice de dominância de Berger-Parker no peridomicílio (0,7220) foi muito superior ao da mata (0,2944). Em geral a presença de uma espécie com perfil dominante é capaz de suprimir outras, o que mais comumente ocorre em ambientes modificados pela ação do homem. No caso de Roda D'Água nitidamente observa-se que as espécies antropofílicas são as grandes responsáveis pelo maior índice de dominância no peridomicílio, especialmente *Ny. intermedia*. No ambiente preservado observa-se que a dominância de uma ou mais espécies é menos evidente, o que está de acordo com os dados obtidos neste estudo.

Estas informações podem ajudar a explicar o expressivo número de exemplares de *Ny. intermedia* em muitas áreas endêmicas para LTA que tem como característica a intensa ação antrópica (17, 24-26, 32, 71, 107, 116, 119, 141) pois esta espécie mostra-se altamente abundante e dominante no ambiente alterado pelo homem .

O índice de equitabilidade de Pielou (J) foi mais alto na mata (0,6705) que no peridomicílio (0.3220), demonstrando mais uma vez que a preservação do ambiente é importante para o equilíbrio entre as diferentes espécies. A riqueza está muito

sujeita à influência do tamanho amostral, onde quanto maior for a amostra, maior a chance de encontrar mais espécies diferentes. Sendo assim, diz pouco a respeito da organização da comunidade estudada. Já a equitabilidade expressa a maneira pela qual o número de indivíduos está distribuído entre as diferentes espécies, isto é, indica que diferentes espécies possuem abundâncias semelhantes ou divergentes (146).

7 CONCLUSÕES

I) O predomínio de *Ny. intermedia* em todo o período analisado, sua distribuição uniforme ao longo do ano, além de sua intensa presença no peridomicílio são fatores que contribuem para atribuir a esta espécie o papel de principal vetor da LTA em Roda D'Água. As demais espécies também se distribuem uniformemente em todo o período, porém em número relativamente baixo. Algumas delas podem estar atuando como vetores secundários, como *Mg. migonei.*

II) A altitude influenciou as populações das quatro espécies de flebotomíneos analisadas quanto a esta variável. O fato de não serem notificados casos de LTA acima de 550 m de altitude em Roda D'Água se deve provavelmente à ausência de *Ny. intermedia,* acompanhada por *Mg. migonei* neste nível, , o que dá suporte à hipótese que motivou este estudo.

III) Roda D'Água detém elevada riqueza de espécies de flebotomíneos, além de considerável abundância, o que pode ser explicado pelas condições ambientais favoráveis e presença de potenciais criadouros em grande quantidade, além da ampla variedade e número de hospedeiros, principalmente no peridomicílio.

IV) O peridomicilio foi o ambiente onde houve maior abundância e dominância de flebotomíneos, e a mata foi onde ocorreu maior riqueza, diversidade e equitabilidade. A abundância e a dominância mais elevadas no ambiente peridomiciliar foram impulsionadas principalmente pelo grande número de espécimes de *Ny. intermedia* capturados. A mata apresentou riqueza, diversidade e equitabilidade maiores, o que é esperado em ambientes preservados ou menos perturbados.

V) O predomínio das espécies com potencial vetorial ajuda a explicar a alta incidência de LTA na região. *Ny. intermedia* e *Mg. migonei*, aparecem em Roda D'Água totalmente independentes da mata, dada sua visível predileção pelo peridomicílio. Estes achados sustentam a hipótese da transmissão domiciliar da doença, já levantada e testada por muitos autores, pois a presença e ação do homem beneficiaram e estão selecionando as espécies que podem transmitir a *L. (V.) braziliensis.*

8 PERSPECTIVAS

Os resultados deste trabalho auxiliam na compreensão e fundamentação da teoria da expansão geográfica da leishmaniose tegumentar americana em áreas de colonização antiga de diversas regiões brasileiras, principalmente nos estados da região Sudeste.

Embora não possamos ainda excluir a existência de um ciclo silvestre da LTA na região de Roda D'Água, as evidências apontam indícios da ocorrência da transmissão domiciliar da *L.(V.) braziliensis*, mantido por flebotomíneos que procriam no peridomicílio, e este perfil se repete em inúmeras regiões do Brasil. As espécies de flebotomíneos que procriam e se alimentam no peridomicílio seriam responsáveis pela transmissão do parasito entre animais domésticos e a população humana, independentemente da existência de florestas nas proximidades das casas. O fato nos levaria a propor medidas de controle da LTA, a partir da intervenção no peridomicílio, no sentido de tornar o ambiente menos propício à procriação dos flebotomíneos, mantendo também a vigilância sobre os animais reservatórios.

No entanto muitos pesquisadores relutam em aceitar a hipótese da transmissão domiciliar da doença, insistindo em idéias arraigadas no princípio de que os únicos reservatórios do parasito seriam apenas animais silvestres. Talvez por não atentarem para o fato de que nos últimos 500 anos, mudanças drásticas ocorreram no perfil epidemiológico de doenças como a febre amarela, doença de Chagas e, somente no último século, a leishmaniose tegumentar.

A polêmica em torno do assunto não é apenas um desafio, mas um estímulo para o desenvolvimento de novas pesquisas buscando subsídios para consolidar ou refutar definitivamente a teoria da transmissão domiciliar da LTA em áreas de colonização antiga.

A partir dos resultados do presente trabalho, que apontam indícios da inexistência de um ciclo de transmissão silvestre da *L. (V.) braziliensis* na área estudada, delineia-se projeto futuro para investigar a possibilidade de infecção natural em flebotomíneos no ambiente peridomiciliar e em remanescentes de florestas distantes das casas.

Desta forma poderemos fornecer mais subsídios para a consolidação do ciclo domiciliar / peridomiciliar da LTA no estado do Espírito Santo.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. Leishmaniasis, 2014. Disponível em http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/ Acessado em 23 de abril de 2014.

2. Ashford RW The leishmaniases as emerging and reemerging zoonoses. Int J Parasitol 2000;30:1269-81.

3. Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. . Comp Immunol Microbiol Infect Dis 2004;27:305-18.

4. Martins AV, Williams P, Falcão AL. American sandflies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). Academia Brasileira de Ciências. 1978:195.

5. Levine ND, Corliss JO, Cox FEG, Deroux G, Grain J, Ronigberg BM, Lieedale GF, Leoeblich AR, Lom J, Lynn D, Merinfeld EG, Page FC, Poljansky G, Sprague V, Vávra J, Wallace FG. A newly revised classification of the Protozoa. J Protozool. 1980;27:37-58.

6. Lainson R, Shaw J. Evolution, classification and geographical distribuition In The Leishmaniasis in Biology and Medicine (Peters W and Killick-Kendrick R., Eds.). 1986:1-120.

7. Brasil. Secretaria de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. Ministério da Saúde. 2 ed. Brasília 2007.

8. Falqueto A, Sessa PA, Ferreira AL, Vieira VP, Santos CB, Varejão JBM , CupolilloE,Porrozzi R, Carvalho-Paes LE, Grimaldi Jr G. Epidemiological and Clinical Features of *Leishmania (Viannia) braziliensis* American Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis in the State of Espírito Santo, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2003;98(8): 1003-1010(8):8.

9. Grimaldi-Jr G, Tesh R, McMahon D. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the New World. Amer J Trop Med Hyg 1989;41:687-725.

10. Brasil. Ministério da Saúde - Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). Manual de Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana da Fundação Nacional De Saúde. 5 ed, 2000. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/manu_leishman.pdf. Acesso em 11 de fevereiro de 2014.

11. Gontijo B, Carvalho MLR. Leishmaniose tegumentar americana. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2003;36(1):71-80, jan-fev, 2003.(1):10.

12. Falqueto A, Sessa PA. Leishmaniose Tegumentar Americana. In: Veronesi R F Tratado de Infectologia 2005 (cap. 96):1543 - 57.

13. Marzochi MCA, Marzochi KBF, Schubach AO Leishmaniose Tegumentar Americana. In: Cimerman, B; Cimerman, S. Parasitologia Humana e seus Fundamentos Gerais. 2010(Capítulo 9):39-56.

14. Neves DP, Mello AL, Linardi PM, Vitor RWA. Parasitologia Humana. 12 ed. São Paulo: Atheneu. 2011:264.

15. Basano SA, Camargo LMA. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. Rev Bras Epidemiologia. 2004;7(3):328-37.

16. Grimaldi-Jr G, Momen H, Naiff RD, McMahon-Pratt D, Barrett TV. Characterization and classification of leishmanial parasites from humans, wild mammals, and sand flies in the Amazon Region of Brazil. . Amer J Trop Med Hyg. 1991;44:645-61.

17. Ferreira AL, Sessa PA, Varejão JBM, Falqueto A. Distribution of Sand Flies (Diptera: Psychodidae) at Different Altitudes in an Endemic Region of American Cutaneous Leishmaniasis in the State of Espírito Santo, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001;96(8):7.

18. Gomes AC, Yoshimi IY, Capinzaiki AN, Amaral NMM, Guimarães AJG. . Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana nº 9. Prevalência/incidência da infecção humana nos Municípios de Pedro de Toledo e Miracatu, São Paulo, Brasil. Ver Inst de Medic Trop. 1992;34:149-58.

19. Ramos WR, Medeiros JF, Julião GR, Ríos-Velásquez CM, Marialva EF, Desmouliére SJ, Luz SL, Pessoa FA. . Anthropic effects on sand fly (Diptera: Psychodidae) abundance and diversity in an Amazonian rural settlement, Brazil. . Acta Tropica. 2014;139C:44-52.

20. Acosta IC, Da Costa AP, Gennari SM, Marcili A. . Survey of *Trypanosoma* and *Leishmania* in wild and domestic animals in an Atlantic rainforest fragment and surroundings in the state of Espírito Santo, Brazil. J Med Entomol 2014;51(3):686-93.

21. Marzochi MCA.. Leishmanioses no Brasil: as leishmanioses tegumentares. . J Bras Med. 1992;63:82-104.

22. Aragão HB. Leishmaniose tegumentar e sua transmissão pelos phlebótomos. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 1927. 20: 177-185.

23. Barros GC, Sessa PA, Mattos EA, Carias VRD, Mayrink W, Alencar JTA, Falqueto A, Jesus AC. Foco de leishmaniose tegumentar americana nos municípios de Viana e Cariacica, estado do Espírito Santo, Brasil. Rev Saúde Publica. 1985;19:146-53.

24. Falqueto A. Especificidade alimentar de flebotomíneos em duas áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar no estado do Espírito Santo, Brasil. 1995.

25. Sessa PA, Barros GC, Mattos EA, Carias VRD, Alencar JTA, Delmaestro D, Coelho CC, Falqueto A. Distribuição geográfica da leishmaniose tegumentar americana no estado do Espírito Santo. Brasil. Rev Soc Bras Med Trop. 1985;18(4):237-41.

26. Camargo-Neves VLF, Gomes AC, Antunes JLF. Correlação da presença de espécies de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) com registros de casos da leishmaniose tegumentar americana no Estado de São Paulo, Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2002;35(4):299-306.

27. Novo SPC, Souza MB, Villanova CB, Meródio JC, Meira AM. Survey of sandfly vectors of leishmaniasis in Marambaia Island, municipality of Mangaratiba, state of

Rio de Janeiro, Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2013;46(2):231-3.

28. Marzochi MCA, Marzochi KBF. Tegumentary and Visceral Leishmaniases in Brazil - Emerging Anthropozoonosis and Possibilities for Their Control. Cad Saúde Públ. 1994;10 (suppl. 2):359-75.

29. Espírito Santo. Secretaria de Estado da Saúde (SESA-ES). Plano Estadual de Saúde 2012/2015. 2014. Disponível em: http://www.saude.es.gov.br/Download/Plano_Estadual_de_Saude_2012_2015.pdf Acessado em 20 de fevereiro de 2014.

30. Falqueto A, Coura JR, Barros GC, Grimaldi-Filho G, Sessa PA, Carias VR, Jesus AC, Alencar JJA. Participação do cão no ciclo de transmissão de leishmaniose tegumentar no município de Viana, estado do Espírito Santo, Brasil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1986;81(2):155-63.

31. Falqueto A, Sessa PA, Varejão JBM, Barros GC, Momen H, Grimaldi-Jr. G. Leishmaniasis due to Leishmania braziliensis in Espírito Santo state, Brasil. Further evidence on the role of dogs as a reservoir of infection for humans. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1991;86(4):2.

32. Vieira VP, Falqueto A, Santos CB, Leite GR ,Ferreira GEM, Falqueto A. Peridomiciliary Breeding Sites of Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae) in an Endemic Area of American Cutaneous Leishmaniasis in Southeastern Brazil. Am J Trop Med Hyg. 2012;87(6):1089-93.

33. Espírito Santo. Secretaria de Estado da Economia e Planejamento. Instituto Jones dos Santos Neves (IJSN). Dinâmica Urbano Regional do Estado do Espírito Santo. 2011.

34. Benevenuto-Jr P. Geografia e ecologia da leishmaniose tegumentar no estado do Espírito Santo. 2000:82.

35. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades; 2010. Disponível em:

http://cidades.ibge.gov.br/painel/populacao.php?lang=&codmun=320130&search=espirito-santo|cariacica|infogr%E1ficos:-evolu%E7%E3o-populacional-e-pir%E2mide-et%E1ria. Acessado em 27 de março de 2014.

36. Ashford RW. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. Clin Dermatol. 1996;14:523-32.

37. Forattini OP, Pattoli DBG, RabelloEX, Ferreira OA. Infecção natural de flebotomíneos em foco enzoótico de leishmaniose tegumentar no estado de São Paulo, Brasil. Rev Saúde Publica. 1972;6:3.

38. Brandão-Filho SP, Britto ME, Carvalho FG, Ishikawa EA, Cupolillo E, Floeter-Winter l, Shaw JJ Wild and synanothropic hosts of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in the endemic cutaneous leishmaniasis locality of Amaraji, Pernambuco state, Brazil. . Trans R Soc Trop Med Hyg. 2003;97 291-6.

39. Lainson R, Shaw J. New World leishmaniasis. In: Cox FEG, Wakelin D. Gillespie SH, Despommier DD (eds.). Topley & Wilson's Microbiology and microbial infections: parasitology 10th ed. 2005;2:313-49.

40. Lainson R, Shaw J. The role of animals in the epidemiology of South American leishmaniasis. In: Lumsden WHR, Evans DA (eds) Biology of the Kinetoplastida. London, Academic Press. 1979;1:116.

41. Barretto AC, Cuba CC, Vexenat JA, Rosa AC, Marsden PD, Magalhães AV. Características epidemiológicas da leishmaniose tegumentar americana em uma região endêmica do estado da Bahia. II Leishmaniose canina. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 1984;17:59-65.

42. Aguilar CM, Rangel EF, Garcia L, Fernandez E, Momen H, Grimaldi-Jr G, Vargas Z. Zoonotic cutaneous leishmaniasis due to Leishmania (Viannia) braziliensis associated with domestic animals in Venezuela and Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1989;84(1):19-28.

43. Vexenat JA, Barreto AC, Rosa AC, Salles CC, Magalhães AV. . Infecção natural de Equus asinus por Leishmania braziliensis braziliensis, Bahia, Brasil. . Mem Inst Oswaldo Cruz. 1986;8:237-8.

44. Araújo Filho NA, Coura JR, Reis VLL. Leishmaniose tegumentar americana na Ilha Grande, Rio de Janeiro, IV. Reservatórios Domésticos. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 1981;14(4):163-9.

45. IBM® SPSS® Statistics version 20. ©Copyright IBM Corporation 1989, 2011.

46. Santos GPL, Sanavria A, Marzochi MCA, Santos GOB, Silva VL, Pacheco RS, Mouta-Confort E, Espíndola CB, Souza MB, Ponte CS, Conceição NF, Andrade MV. Prevalência da infecção canina em áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar americana, do município de Paracambi, Estado do Rio de Janeiro, no período entre 1992 e 1993. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2005;38(2):161-6.

47. Marzochi MCA, Fagundes A, Andrade MV, Souza MB, Madeira MF, Mouta-Confort E, Schubach AO, Marzochi KBF. Visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil: eco-epidemiological aspects and control. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2009;42(5):570-80.

48. Heusser-Jr A, Bellato V, Souza AP, Moura AB, Sartor AA, Santos EGOB, Silva VL. Leishmaniose tegumentar canina no município de Balneário Camboriú, Estado de Santa Catarina. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2010;43(6):713-718, nov-dez, 2010(6):6.

49. Pedroso AM. Leishmania local de cão. Annais Paulistas de Medicina e Cirurgia 1913;1:33-40.

50. Barbosa GMS. Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana em cães, no Município de Paraty, no litoral extremo sul fluminense. . [Dissertação Mestrado em Parasitologia Veterinária] Rio de Janeiro Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 1997.

51. Oliveira-Neto MP PC, Rangel EF, Schubach A, Grimaldi-Jr G. An outbreak of american cutaneous leishmaniasis (*Leishmania braziliensis braziliensis)* in a periurban area of Rio de Janeiro city. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1988;83:427-30.

52. Cardoso SRA, Machado MI, Costa-Cruz JM, Gonçalves MRF, Stutz WH. Leishmaniose tegumentar canina no Município de Uberlândia, Minas Gerais: Diagnóstico clínico e sorológico de cães naturalmente infectados. . Rev Centro Cienc Biomed Univ Fed Uberlândia. 1989;5:14-21.

53. Forattini OP. Subfamília Phlebotominae - Biologia. 4 ed. São Paulo: Edgard Blücher. In: Entomologia Médica. 1973;cap. 4:119 - 97.

54. Lewis D. A Taxonomic Review of the Genus *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae). . Bull Brit Mus Nat Hist (Ent) 1982;45(2):121-209.

55. Lane RP. Sandflies (Phlebotominae). In: Medical Insects and Arachnids Chapman & Hall Ed. 1993.

56. Smith ROA, Halder KC, Ahmed I. . F urter investigation on the transmission of kala-azar. Part HI: The transmission of kala-azar by the bite of the sandfly *P. argentipes.* Ind J Med Res. 1940;28:585-91.

57. Pessôa SB, Barretto MP. Leishmaniose tegumentar americana. . Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, Brasil,. 1948.

58. Deane LM, Deane MP, Alencar JE. Observações sobre o combate ao Phlebotomus longipalpis pela desinsetização domiciliária, em focos endêmicos de calazar no Ceará. Rev Bras Malar Doen Trop. 1955;7:131-41.

59. Sherlock IA, Sherlock VA. Sobre a infecção experimental do *Phlebotomus longipalpis* pela *Leishmania donovani.* Revista Brasileira de Biologia. 1961;21:409-18.

60. Azevedo EMR, Duarte SC, Costa HX, Alves CEF, Silveira-Neto OJ, Jayme VS, Linhares GFC Estudo da leishmaniose visceral canina no município de Goiânia, Goiás, Brasil. . Revista de Patologia Tropical, Goiânia. 2011;40(2):159-68.

61. Young DG, Duncan MA. Guide to the identification and geographic distribution of Lutzomyia sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Memoirs of the American Entomological Institute 1994;54:881.

62. Brazil RP, Brazil BG. Biologia de flebotomíneos neotropicais. In: Rangel, EF, Lainson, R (Eds), Flebotomíneos do Brasil Fiocruz, Rio de Janeiro. 2003:257-74.

63. Sherlock IA. A importância dos flebotomíneos. In: Rangel EF, Lainson R Flebotomíneos do Brasil Rio de Janeiro: Fiocruz 2003:15-21.

64. Miranda C, Marques CCA, Massa JL. Sensoriamento remoto orbital como recurso para análise da ocorrência da leishmaniose tegumentar americana em localidade urbana da região Sudeste do Brasil. Revista de Saúde Pública. 1998;32 (5):455-63.

65. Nascimento B. Estudo de Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no município de Divinópolis, Minas Gerais, Brasil. 2013:105.

66. Young DG. A review of the bloodsucking Psychodid flies of Colombia (Díptera: Phlebotominae and Sycoracinae). Gainesville, A.G. Univ Florida. 1979:226.

67. Forattini OP, Rabello EX, Serra OP, Cotrim MD, Galati EAB. Observações sobre a transmissão da leishmaniose tegumentar no estado de São Paulo, Brasil. Rev Saúde Publica. 1976;10:13.

68. Deane LM, Deane M. Observações sobre abrigos e criadouros de Flebótomos no noroeste do Estado do Ceará. Rev Bras Malar Doen Trop. 1957;9:225-46.

69. Arias JR, Freitas RA. On the vectors of cutaneous leishmaniasis in central amazon of brasil. 3. Phlebotomine sand fly stratificacion in a terra firme forest. . Acta Amazonica. 1982;12(3):599-603.

70. Biancardi CMB, Castellón EG. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no estado do Mato Grosso, município de Chapada dos Guimarães, Brasil. Acta Amazonica. 2000;30(1):115-28.

71. Galati EAB.. Classificação de Phlebotominae. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. 23-51 p.

72. Shimabukuro PF, Tolezano JE, Galati EAB. Chave de identificação ilustrada dos Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do Estado de São Paulo, Brasil. Papéis Avulsos de Zoologia. 2011;51(27):399-441.

73. Aguiar GM, Medeiros WM. Distribuição regional de habitats das espécies de flebotomíneos do Brasil. In: Rangel EF e Lainson R Flebotomíneos do Brasil Rio de Janeiro. Fiocruz, 2003:207-56.

74. Arias JR, Miles MA, Naiff RD, Povoa MM, de Freitas RA, Biancardi CB, Castellon EG. Flagellate infections of Brazilian sand flies (Diptera: Psychodidae): isolation in vitro and biochemical identification of Endotrypanum and Leishmania. . Am J Trop Med Hyg. 1985;34:1098-108.

75. Forattini OP. Novas observações sobre biologia de flebótomos em condições naturais (Díptera, Psychodidae). Arquivos da Faculdade de Higiene de São Paulo. 1960;25:209-15.

76. Tolezano JE, Taniguchi HH, Elias CR, Larosa R. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) no Estado de São Paulo. III. Influência da ação antrópica na sucessão vetorial da LTA. Rev Inst Adolfo Lutz. 2001;60(1):47-51.

77. Lima LC. Ruralização da *Lutzomyia intermedia,* um provável caso de pré-adaptação. Rev Salud Publica. 1986;20:102-4.

78. Ximenes MFFM, Souza MF, Castellon EG. . Density of sand flies (Diptera: Psychodidae) in domestic and wild animal shelters in an area of visceral leishmaniasis in the state of Rio Grande do Norte, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999;94 (4):427-32.

79. Oliveira A, Galati EAB, Fernandes CE, Dorval MEC, Brazil RP. Ecological Aspects of Phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in Endemic Area of Visceral

Leishmaniasis, Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. Journal of Med Entom. 2012;49:43-50.

80. Dougherty MJ, Hamilton JGC, Ward RD Semiochemical me¬diation of oviposition by the phlebotomine sand fly *Lutzomiya longipalpis.* . Med Vet Entomol. 1993;7:219-24.

81. Quinnell RJ, Dye C. Correlates of the domestic abundance of Lutzomyia longipalpis (Diptera:Psichodidae) in Amazonian, Brazil. . Med Vet Entomol. 1994;8:219-24.

82. Dias FOP, Lorosa EM, Rebêlo JMM. Fonte alimentar sangüínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). Cad Saúde Públ. 2003;19(5):8.

83. Teodoro U, La-Salvia-Filho V, Lima EM, Spinosa RP, Barbosa AC. Ferreira MEMC, Lonardoni MVC. Observações sobre o comportamento de flebotomíneos em ecótopos florestais e extraflorestais, em área endêmica de leishmaniose tegumentar americana, no norte do Estado do Paraná, sul do Brasil. Rev Saúde Publica. 1993;27(4):242-9.

84. Teodoro U, Silveira TGV, Santos DR, Santos ES, Santos AR, Oliveira O, Kühl JB. Freqüência da fauna de flebotomíneos no domicílio e em abrigos de animais domésticos no peridomicílio, nos municípios de Cianorte e Doutor Camargo - Estado do Paraná - Brasil. . Revista de Patologia Tropical. 2001;30:209-33.

85. Gomes AC, Camargo-Neves VL. Estratégias e perspectivas de controle da leishmaniose tegumentar americana no Estado de São Paulo. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 1998;31(6):553 - 8.

86. Lima AP. Distribuição da Leishmaniose Tegumentar e Análise de sua Ocorrência em Ambientes Antrópicos, no Estado do Paraná, Brasil. Dissertação de Mestrado, Londrina: Universidade Estadual de Londrina. 2000.

87. Teodoro U, Kühl JB, Abbas M, Dias AC. Luz e aves como atrativos de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae), no sul do Brasil. Rev Bras Entomol. 2001;45:167-72.

88. Pimenta FP, Secundino NFC, Blanco EEN. Interação Vetor-Hospedeiro. In: EF Rangel, R Lainson (eds) Flebotomíneos do Brasil, Fiocruz, Rio de janeiro. 2003:275-9.

89. Killick-Kendrick R, Ward DH. Transmition of leishmaniosis by the bait ofphlebotomine sandfly: possible mechanism. . Trans R Soc TropMed Hyg. 1981;75:152-4.

90. Rangel EF, Lainson R. Flebotomíneos do Brasil. Fiocruz. 2003:257-309.

91. Pinto IS, Santos CB, Ferreira AL, Falqueto A. Richness and diversity of sand flies (Diptera, Psychodidae) in an Atlantic rainforest reserve in southeastern Brazil. Journal of Vector Ecology. 2010;35(2):325-32.

92. Pinto IS, Santos CB. Description of *Lutzomyia (Lutzomyia) falquetoi* sp nov. (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) a new species from the state of Espírito Santo, Brazil. . Mem Ins Oswaldo Cruz 2007;102(2):165-7.

93. Pinto IS, Pires JG, Santos CB. Primeiro registro de *Nyssomyia yuilli yuilli* (Young & Porter) e de *Trichopygomyia longispina* (Mangabeira) (Diptera: Psychodidae) no estado do Espírito Santo, Brasil. Biota Neotropica. 2008;8(1):221-3.

94. Virgens TM, Santos CB, Pinto IS, Silva KS,Leal FC, Falqueto A. Phlebotomine sand fl ies (Diptera, Psychodidae) in an American tegumentary leishmaniasis transmission area in northern Espírito Santo State, Brazil. Cad Saúde Públ. 2008;24(12):2969-78.

95. Aguiar GM, Medeiros WM, De Marco TS, Santos SC, Gambardella S. Ecologia dos flebotomíneos da Serra do Mar, Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. I – A fauna flebotomínica e prevalência pelo local e tipo de captura (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). Cad Saúde Públ. 1996;12(2):195-206.

96. Passos VM, Falcão AL, Marzochi MC, Gontijo CM, Dias ES, Barbosa-Santos EG, Guerra HL, Katz N. Epidemiological aspects of American cutaneous leishmaniasis in a periurban area of the metropolitan region of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. . Mem Inst Oswaldo Cruz. 1993;88(1):103-10.

97. Bonfante-Garrido R. Leishmanias y leishmaniasis tegumentaria en America Latina. Bol Of Sanit Panam,. 1983;95:418-24.

98. Mogollón J, Manzanilla P, Scorza JV. Distribuición altitudinal de nueve especies de Lutzomyia (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) en el Estado Trujillo, Venezuela. . Bol Dir Malariol San Amb. 1977;17:206-29.

99. Añez N, Cazarolla D, Nieves E, Chataing B, Castro M, De Yarbuh AL Epidemiologia de la leishmaniasis tegumentaria en Merida, Venezuela. 1 - Diversidad e dispersión de especies flebotomineas en tres pisos altitudinales y su posible role en la transmision de la enfermidad. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1988;83:455-63.

100. Aparício C, Bittencourt MD. Modelagem espacial de zonas de risco da leishmaniose tegumentar americana. Revista de Saúde Pública. 2003;38(4):511- 6.

101. Dias ES, França-Silva JC, Monteiro EM, Paula KM, Gonçalves CM, Barata RA. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de um foco de leishmaniose tegumentar no Estado de Minas Gerais. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2007;40(1):4.

102. Silva DF, Freitas RA, Franco AMR. Diversidade e Abundância de Flebotomíneos do Gênero *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) em Áreas de Mata do Nordeste de Manacapuru, AM. Neotropical Entomology. 2007; 36(1):138-44

103. Missawa NA, Michalsky EM, Fortes-Dias CL, Dias ES. *Lutzomyia longipalpis* naturalmente infectado por *Leishmania (L.) chagasi* em Várzea Grande, Mato Grosso, Brasil, uma área de transmissão intensa de leishmaniose visceral. Cad Saúde Pública. 2010;26(12):2414-29.

104. Saraiva L, Carvalho GML, Sanguinette CC, Carvalho DDA, Falcão AL, Andrade-Filho JD. Sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) collected on the

banks of the Velhas River in the state of Minas Gerais, Brazil. . Mem Inst Oswaldo Cruz. 2008;103(8):843-6.

105. Souza CM, Pessanha JE, Barata RA,Monteiro EM, Costa DM, Dias ES. Study on Phlebotomine Sand Fly (Diptera: Psychodidae) Fauna in Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004;99(8):795-803.

106. Rebêlo JMM, Oliveira-Pereira YN. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) de matas de terra firme e de várzea, do município de Paragominas, Estado do Pará, Brasil. Acta Amazonica. 2001;31:145-54.

107. Rocha LS, Falqueto A, Santos CB, Ferreira AL, Graça GC, Grimaldi -Jr G, Cupolillo E. Survey of natural infection by Leishmania in sand fly species collected in southeastern Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2010;104(7):461-6.

108. Camargo-Neves VLF, Katz G, Rodas LAC, Poletto DW, Lage LC, Spínola RMS, Cruz OG. Utilização de ferramentas de análise espacial na vigilância epidemiológica de leishmaniose visceral americana – Araçatuba, São Paulo, Brasil, 1998-1999. Cad Saúde Pública. 2001;17(5):5.

109. Espírito Santo. Secretaria de Ações Estratégicas e Planejamento do Estado do Espírito Santo, 1993.

110. Oliveira-Filho AG.. Estudo geomorfológico do município de Cariacic-ES com uso de sistemas de informações georgráficas. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Geografia do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo. 2010:1-110.

111. Barretto MP, Coutinho JO. Processos de captura, dissecação e montagem de flebótomos. Ann Fac Med São Paulo. 1940;16:173-87.

112. Marcondes CB. A proposal of generic and subgeneric abbreviations for Phlebotominae sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the world. Entomol News. 2007;118:351-6.

113. Sokal RR, Rohlf. Biometria. Princípios y métodos estadísticos en La investigación biológica. Trad. Miguel Lahoz Leon. Rosário. H Blume 1979: 1- 832.

114. Souza MB, Cardoso PG, Sanavria A, Marzochi MA, Carvalho RW, Ribeiro PC, Ponte CS, Meira AM, Meródio JC Fauna Flebotomínica do Município de Bom Jardim, Região Serrana do Estado do Rio de Janeiro. Brasil Rev Bras Parasitol Vet (Brazil J Vet Parasitol). 2003;12(4):150-3.

115. MArcondes CB. A redescription of *Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia* (Lutz & Neiva, 1912), and resurrection of L. neivai (Pinto, 1926) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 1996;91:457-62.

116. Andrade-Filho JD, Galati EAB, Falcão AL. *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) and *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) geographical distribution and epidemiological importance. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007:7.

117. Andrade-Filho JD, Galati EAB, Falcão AL. Redescription of *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) and *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) (Diptera: Psychodidae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 2003;98:1059-65.

118. Shimabukuro PHF, Galati EAB. Lista de espécies de Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do Estado de São Paulo, Brasil, com comentários sobre sua distribuição geográfica. Biota Neotropica. 2011;11 suppl 1:685-704.

119. Marcondes CB, Lozovei AL, Vilela JH. Distribuição geográfica de flebotomíneos do complexo Lutzomyia intermedia (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera, Psychodidae). Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 1998;31(1):51-8.

120. Camargo-Neves VLF, Brasil MTLRF. Leishmaniose Tegumentar Americana no Estado de São Paulo: Situação Epidemiológica 2001 – 2002. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2003;36 suppl 2:30-5.

121. Barreto MP. Observações sobre a biologia em condições naturais dos flebotómos do Estado de São Paulo (Diptera:Psychodidae). [Tese de Doutorado] Faculdade de Medicina de Universidade de São Paulo. 1943:162p.

122. Araújo-Filho NA. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana na Ilha Grande, Rio de Janeiro. Estudo da Infecção Humana, Reservatórios e Transmissores. [MSc Thesis], Universidade Federal de Rio de Janeiro. 1978:148 p.

123. Lainson R. The American Leishmaniasis: some observation on their ecology and epidemiology. Trans Roy Soc Trop Med Hyg. 1983;77(5):569-96.

124. Pita-Pereira D, Souza GD, Pereira TA, Zwetsch A, Britto C, Rangel EF. *Lutzomyia (Pintomyia) fischeri* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), a probable vector of American Cutaneous Leishmaniasis: Detection of natural infection by *Leishmania (Viannia)* DNA in specimens from the municipality of Porto Alegre (RS), Brazil, using multiplex PCR assay. Acta Tropica. 2011;120 273-5.

125. Shimabukuro PHF, Silva TRR, Fonseca FOR, Baton LA, Galati EAB. Geographical distribution of American cutaneous leishmaniasis and its phlebotomine vectors (Diptera: Psychodidae) in the state of São Paulo, Brazil. Parasites and Vectors. 2010;3(121):1-12.

126. Silva RA, Carvalho LPC, Souza JM Magnitude e tendência da Leishmaniose Tegumentar Americana no Estado de São Paulo, Brasil, 1975 a 2008. Rev Bras Epidemiologia. 2012;15(3):617-26.

127. Muniz LHG, Rossi RM NH, Monteiro WM, Teodoro U. Estudo dos hábitos alimentares de flebotomíneos em área rural no sul do Brasil. Revista de Saúde Pública. 2006;40(6):1087-93.

128. Gomes AC, Galati EAB. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. 7- capacidade vetorial flebotomínea em ambiente florestal primário do Sistema Serra do Mar, região do Vale do Ribeira, estado de São Paulo, Brasil. Rev Saúde Publica. 1989;23(2):7.

129. Teodoro U, Kühl JB, Santos DR, Santos ES. Impacto de alterações ambientais na ecologia de flebotomíneos no sul do Brasil. Cad Saúde Públ. 1999; 15(4):901-6.

130. Casanova C, Mayo RC, Rangel O, Mascarini LM, Pignatti MG, Galati EAB, Gomes AC. Natural *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva) infection in the Valley of the

Mogi Guaçú River, State of São Paulo, Brazil. Bol Dir Malariol San Amb. 1995;35:77-84.

131. Galati EAB. Phylogenetic systematics of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) with emphasis on American groups. . Bol Dir Malariol San Amb. 1995;35(1):133-42.

132. Tolezano JE, Macoris SAG, Diniz JMP. . Modificação na epidemiologia da leishmaniose tegumentar no Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. Brasil Rev Inst Adolfo Lutz. 1980;40 (1):49-54.

133. Mayo RC, Casanova C, Mascarini LM, Pignatti MG, Rangel O, Galati EAB, Wanderley DMV, Corrêa FMA. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) de área de transmissão de leishmaniose tegumentar americana, no município de Itupeva, região sudeste do Estado de São Paulo, Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 1998;31(4):339-45.

134. Teodoro U, Salvia-Filho V, Lima EM, Spinosa RP, Barbosa OC, Ferreira MEMC, Silveira TGV. Flebotomíneos em área de transmissão de leishmaniose tegumentar na Região Norte do estado do Paraná - Brasil: Variação sazonal e atividade noturna. . Rev Saúde Publica. 1993;27:190-4.

135. Massafera R, Silva AM, Carvalho AP, Santos DR, Galati EAB, Teodoro U. . Fauna de flebotomíneos do município de Bandeirantes, no estado do Paraná. Rev Saúde Publica. 2005;39:571-7.

136. Moschin JOF, Sei IA, Galati EAB. Ecological aspects of phlebotomine fauna (Diptera, Psychodidae) of Serra da Cantareira, Greater São Paulo Metropolitan region, state of São Paulo, Brazil. Rev Soc Brasileira de Epidemiologia. 2013;16(1):190-201.

137. Galati EAB, Fonseca MB, Marassá AM, Bueno EMF 104(8):1148-1158. Dispersal and survival of *Nyssomyia intermedia* and *Nyssomyia neivai* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in a cutaneous leishmaniasis endemic area of the speleological province of the Ribeira Valley, state of São Paulo, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009;104(8):1148-58.

138. Castellón EG, Fé NF, BuhrnheimPF, Fé FA Flebotomíneos (Díptera: Psychodidae) na Amazônia. II. Listagem das espécies coletadas na Bacia Petrolífera no Rio Urucu, Amazonas, Brasil, utilizando diferentes armadilhas e iscas. . Rev Bras Zool. 2000;17:455-62.

139. Cabanillas MRS, Castellón EG. Distribution of sandflies (Diptera: Psychodidae) on Tree-trunks in a Non-flooded area of the Ducke Forest Reserve, Manaus, AM, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999;94(3):289-96.

140. Silva AM, Camargo NJ, Santos DR, Massafera R, Ferreira AC, Postai C, Cristóvão EC, Konolsaisen JF, Bisetto-Jr A, Perinazo R, Teodoro U, Galati EAB. Diversidade, Distribuição e Abundância de Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Paraná. Neotropical Entomology 2008;37(2):209-25

141. Saraiva L, Lopes JSL, Oliveira GBM, Batista FA, Falcão AL, Andrade-Filho JD. Estudo dos flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em área de leishmaniose tegumentar americana nos municípios de Alto Caparaó e Caparaó, Estado de Minas Gerais. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2006;39(1):56-63.

142. Macedo ITF, Bevilaqua CML, Morais NB, Souza LC, Linhares FE, Amóra SSA, Oliveira LMB. Sazonalidade de flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose visceral no município de Sobral, Ceará, Brasil. Ciência Animal. 2008;18(2):67-74.

143. Brito M, Casanova C, Mascarini LM, Wanderley DMV, Corrêa FMA. Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) em área de transmissão de leishmaniose tegumentar americana no litoral norte do Estado de São Paulo, Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2002;35(5):431-7.

144. Rangel EF, Azevedo ACR, Andrade CA, Souza NA, Wermelinger ED. Studies on sandly fauna (Díptera: Psychodidae) in a foci of cutaneous leishmaniasis in Mesquita Rio de Janeiro State, Brazil. . Mem Inst Oswaldo Cruz. 1990;85(1):39-45.

145. Machado TO, Bragança MAL, Carvalho ML, Andrade Filho JD. Species diversity of sandflies (Diptera: Psychodidae) during different seasons and in different environments in the district of Taquaruçú, state of Tocantins, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2012;107(7):955-9.

146. Hayek LAC, Buzas MA. Surveying Natural Populations. Columbia Univerty Press, New York. 1997.

ANEXO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE/UFES

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EXPANSÃO GEOGRÁFICA DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA A PARTIR DA MODELAGEM ESPACIAL DAS ÁREAS DE RISCO NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL.

Pesquisador: VIVIANE COUTINHO MENEGUZZI

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 18337213.3.0000.5060

Instituição Proponente: Centro de Ciências da Saúde

Patrocinador Principal: Centro de Ciências da Saúde

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 494.029

Data da Relatoria: 13/12/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de doutorado que pretende estudar a expansão da Leishmaniose Tegumentar (LTA) no Espírito Santo. O Estado do Espírito Santo (ES) apresenta endemicidade para a LTA com aumento progressivo da doença nas últimas décadas em função da implantação dos pólos industriais no estado. Como consequência desta urbanização, tem-se o desmatamento, considerado um importante fator no favorecimento da expansão da doença em localidades antes isentas desta doença.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo do estudo é mapear as áreas de risco para transmissão da LTA, com base na densidade vetorial, e propor uma teoria sobre a expansão da doença no estado do Espírito Santo.

Como objetivos específicos, tem-se:

¿ Definir as áreas de risco para transmissão da LTA no estado do Espírito Santo, com base na densidade vetorial, na prevalência da doença e nas condições geoclimáticas de ocorrência do inseto vetor.
¿ Estudar sistematicamente eventos que sustentem a teoria da expansão paradoxal da LTA da

Endereço: Av. Marechal Campos 1468
Bairro: S/N **CEP:** 29.040-091
UF: ES **Município:** VITORIA
Telefone: (27)3335-7211 **E-mail:** cep.ufes@hotmail.com ; cep@ccs.ufes.br

região oeste, de colonização mais recente, para a região leste do estado do Espírito Santo, mais antiga, com base em dados epidemiológicos e na densidade vetorial ao longo dos últimos 30 anos.
¿ Avaliar a distribuição geográfica da LTA, em sua forma mucosa, ao longo dos últimos 30 anos, buscando subsídios para sustentação da teoria de expansão da LTA no estado do Espírito Santo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A partir das alterações feitas pelos autores nessa segunda rodada de avaliação, verifica-se risco minimo associados à pesquisa.

Benefícios:

A partir deste estudo, será possível inferir sobre áreas potenciais de risco, bem como explicar a expansão recente da doença no estado. Dessa forma, o sujeito será beneficiado com as ações de controle da doença que poderão ser desencadeadas a partir dos resultados desta pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

- Os autores adequaram os preceitos éticos para manuseio de prontuários clínicos.
- Indicaram as informações que serão analisadas nos prontuários: idade, sexo, profissão ou ocupação, local de contágio, tipos de lesão, número de lesões, local da lesão, data de contágio, séries de tratamento e tempo de cura ou abandono.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- Anexaram autorização para acesso aos prontuários clínicos;
- Anexaram Termo de Confidencialidade e Sigilo para uso dos prontuários clínicos;
- Anexaram autorização do IBAMA para coleta de insetos em todo o estado do ES;
- Todos os termos estão adequados;

Recomendações:

-

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

- Projeto adequado para execução;

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

VITORIA, 13 de Dezembro de 2013

Assinador por:
Karina Tonini dos Santos Pacheco
(Coordenador)

Endereço: Av. Marechal Campos 1468
Bairro: S/N **CEP:** 29.040-091
UF: ES **Município:** VITORIA
Telefone: (27)3335-7211 **E-mail:** cep.ufes@hotmail.com ; cep@ccs.ufes.br