**Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública**

**Epidemiologia da leishmaniose tegumentar
americana (LTA) no município de Xapuri, Estado do
Acre, Brasil: estudo em população humana, cães
domésticos e vetores**

Andreia Fernandes Brilhante

**São Paulo
2017**

Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana (LTA) no município de Xapuri, Estado do Acre, Brasil: estudo em população humana, cães domésticos e vetores

Andreia Fernandes Brilhante

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública, na forma de turma especial Doutorado Interinstitucional (Dinter) da Universidade de São Paulo e da Universidade Federal do Acre, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Epidemiologia

Orientadora: Profa. Dra. Eunice Aparecida Bianchi Galati

Coorientadora: Profa. Dra. Cristiane de Oliveira Cardoso

Versão Revisada
São Paulo
2017

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação
Biblioteca/CIR: Centro de Informação e Referência em Saúde Pública
Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo
Dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Fernandes Brilhante, Andreia

- Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana (LTA) no município de Xapuri, Estado do Acre, Brasil: estudo em população humana, cães domésticos e vetores / Andreia Fernandes Brilhante; orientadora Eunice Aparecida Bianchi Galati; co-orientadora Cristiane de Oliveira Cardoso. -- São Paulo, 2017.
230 p.

Tese (Doutorado) -- Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2017.

1. Leishmaniose tegumentar americana. 2. Infecção natural. 3. Vetores. 4. Leishmania spp.. 5. Amazônia. I. Bianchi Galati, Eunice Aparecida, orient. II. de Oliveira Cardoso, Cristiane, co-orient. III. Título.

Ilustração de Antônio Nogueira Brilhante
Rio Branco, Acre, 19 de Novembro de 2016

*“...Fulge um astro na nossa bandeira
Que foi tinto com sangue de heróis
Adoremos na estrela altaneira
O mais belo e o melhor dos faróis*

*Mas se audaz estrangeiro algum dia
Nossos brios de novo ofender
Lutaremos com a mesma energia
Sem recuar, sem cair, sem temer*

*E ergueremos então destas zonas
Um tal canto vibrante e viril
Que será como a voz do Amazonas
Ecoando por todo o Brasil...”*

Francisco Cavalcânti Mangabeira

Seringal Caparatá, Acre, 5 de outubro de 1903.

*Dedico esta tese aos meus queridos avós, Pedro e Clarice (in memoriam) por todo amor,
carinho e ensinamentos de vida.*

*À Vânia Lúcia Brandão Nunes, querida mestra e amiga, a quem tenho um imensurável
carinho, admiração e agradecimento por todos os ensinamentos e oportunidades.*

AGRADECIMENTOS

Esta foi a última seção que escrevi deste trabalho, que representou um grande desafio para a minha vida, e também a confirmação do amor e da realização que sinto pelo que faço. A academia e o estudo das doenças que acometem principalmente os mais desfavorecidos são de fato a minha vocação.

Durante estes quatro anos, muitos foram os desafios vencidos, e sem a ajuda de muitos que menciono e agradeço abaixo, seria impossível a realização deste trabalho, que para mim é um sonho alcançado. Agradeço ao Criador por todas as oportunidades e conquistas em minha vida.

Aos meus familiares, em especial meu pai Antônio, minha mãe Marina e minha irmã Débora, por todo amor e apoio incondicional. Por todo esforço em prol de minha educação e por acreditarem em mim e nos meus objetivos de vida.

À minha querida orientadora, Profa. Dra. Eunice Aparecida Bianchi Galati, por ter me dado a honra de ser sua orientada, o que sempre foi um grande desejo meu, desde o dia que nos conhecemos. Esse período que tenho passado na Faculdade de Saúde Pública tem sido de extrema importância para a minha vida pessoal e profissional. Agradeço por toda paciência que teve comigo, pelos ensinamentos e pelas “grandes aventuras” que vivemos juntas, desde visitas a cavernas no Mato Grosso do Sul a viagens turbulentas pelas estradas em meio à floresta Amazônica no Acre, são memórias registradas para sempre, “JUST GOOD MEMORIES”.

À minha Profa. Dra. Vânia Lúcia Brandão Nunes da Universidade Anhanguera-Uniderp, pela amizade e carinho, e por todos os ensinamentos e oportunidades que me proporcionou. Muito que do que conquistei devo a você. Agradeço por vir de Mato Grosso do Sul ao Acre para participar deste projeto e por suas valiosas contribuições.

À Profa. Dra. Cristiane de Oliveira Cardoso da Universidade Federal do Acre, pela amizade e confiança, por sempre estar disposta a ajudar em todos os aspectos deste trabalho e conseguir recursos para o projeto.

À Profa. Dra. Maria Elizabeth Cavaleiros Dorval da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pelos anos de convivência, ensinamentos, amizade e carinho. Agradeço por vir ao Acre para participar deste projeto e por suas valiosas contribuições.

À querida amiga, Msc. Márcia Moreira de Ávila do Instituto Federal do Acre, pela amizade e grande ajuda nos trabalhos de campo e de laboratório. Pelas risadas intermináveis. Sua presença sempre deixava mais alegre as noites de coletas em meio à floresta.

À técnica Geucira Cristaldo, que me acompanhou durante minha vida acadêmica, pelo seu trabalho e dedicação. Agradeço pela amizade e por ter vindo de Mato Grosso do Sul ajudar com os diagnósticos parasitológicos de leishmanioses dos animais domésticos.

Aos funcionários da Gerência de Endemias, meus amigos Sr. Joaquim Vidal, Sr. Jailson Ferreira de Souza e Sra. Jayana de Souza, pela amizade e grande ajuda nos trabalhos de campo.

À minha irmã científica, Msc. Priscila Bassan Sábio da FSP/USP, nesses quatro anos de contato e convivência brotou uma amizade sincera e pura entre nós, agradeço pelo carinho e preocupação que sempre teve comigo, e por toda ajuda na identificação e taxonomia dos flebotomíneos.

À amiga Dra. Márcia Bicudo de Paula da FSP/USP, pela amizade, parceria e grande ajuda nos trabalhos de laboratório referentes aos flebotomíneos.

Ao amigo Msc. Rodrigo Espíndola Godoy da FSP/USP, pela amizade, valiosa contribuição nas identificações dos flebotomíneos e críticas e sugestões aos manuscritos.

Ao amigo Dr. Fredy Galvis Ovallos da FSP/USP, pela amizade, troca de experiências e por compartilhar um pouco do seu conhecimento. Agradeço pela visita que fez ao Acre e pelo registro de fotos dos trabalhos de campo.

À Sra. Carmelinda Gonçalves da Secretaria de Saúde do Estado do Acre, por todo o apoio logístico para a realização deste projeto.

Às coordenadoras do Doutorado Interinstitucional (DINTER) entre a UFAC e a FSP/USP, Profa. Dra. Cleide Lavieri e Profa. Dra. Angela Cuenca, pela amizade, paciência e constata ajuda, e apoio para que eu concluísse da melhor forma possível este doutorado.

Ao Prof. Dr. Júlio César Pereira da FSP/USP, pela aquisição das armadilhas CDC, para iniciar o projeto que, na época, não contava com a liberação de recursos financeiros.

À secretária do DINTER da FSP/USP, Sra. Angela Fernandez, por sempre alegremente nos auxiliar, tirar dúvidas e torcer por mim e toda a turma pela conclusão do doutorado.

Ao secretário do DINTER da UFAC, Sr. Raiff Pimentel pela sua paciência e auxílio nas questões do DINTER no Acre.

À Profa. Dra. Marta Maria Geraldês Teixeira do Laboratório de Filogenia e Taxonomia de Tripanossomatídeos do Instituto de Ciências Biomédicas da USP pela parceria e por sempre abrir as portas do laboratório para que pudéssemos realizar as análises moleculares de nossas amostras.

À Dra. Luciana Lima do Laboratório de Filogenia e Taxonomia de Tripanossomatídeos do Instituto de Ciências Biomédicas da USP, pela amizade e auxílio nas análises moleculares e identificação dos parasitos.

À Dra. Edna Aoba Yassui Ishakawa do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, pelo auxílio nas análises moleculares em continuidade neste projeto.

Ao Dr. Abraham Cézar de Brito Rocha do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, pelo suporte nas análises moleculares sobre nematoides em flebotomíneos, em extensão a este projeto.

À médica veterinária Profa. Msc. Patrícia Fernandes Nunes da Silva Malavazzi da UFAC, pela ajuda na coleta das amostras biológicas dos animais domésticos, amizade e parceria com extensão a outros projetos.

Ao médico veterinário Prof. Dr. Leonardo Augusto Kohara Melchior da UFAC, pelo auxílio na coleta de amostras dos animais domésticos, valiosa ajuda nas análises estatísticas, construção dos mapas deste trabalho e amizade cultivada neste doutorado.

À médica veterinária Msc. Daniela Brandão Nunes, pela ajuda na coleta das amostras biológicas de animais domésticos.

Às acadêmicas do curso de medicina veterinária da UFAC, Ethiene Cristiana e Raimunda Beserra pelo auxílio na coleta das amostras biológicas de animais domésticos.

Às acadêmicas do curso de Farmácia da Faculdade Meta, e alunas de iniciação científica Nathanna Progênio dos Santos e Kelly Pereira de Souza pelo auxílio nos trabalhos de laboratório com flebotomíneos.

Ao Prof. Dr. Andrey José Andrade da UFPR, pela amizade e ensinamentos compartilhados.

À Faculdade Meta, nas figuras do Prof. Esp. Aberson Carvalho e Sr. Itamar Zannin Júnior, por todo apoio, que incluíram dispensas para as coletas em Xapuri e viagens a São Paulo, durante o período em que fui docente e coordenadora do curso de Farmácia nesta instituição, como também, permissão permitir para utilização dos laboratórios.

Às técnicas de Laboratório da Faculdade Meta, Neide Azevedo e Klivia Victor pela amizade e carinho e toda ajuda e auxílio dado nos trabalhos de laboratório.

Aos colegas de trabalho da Faculdade Meta, não citarei nomes, pois são muitos, um agradecimento especial a todos, pelo auxílio para que eu pudesse conciliar trabalho e estudo.

Aos motoristas da Secretaria de Saúde do Estado do Acre, Sr. Amarildo e Sr. Valdomiro pelo transporte seguro da equipe do projeto nas viagens a Xapuri.

Aos amigos da turma do DINTER UFAC/FSP/USP pela amizade e experiências compartilhadas.

Às amigas de infância Rejane Veras, Tássia Selhorst e Wicildes Sales, por sempre me apoiarem e torcerem por mim.

A todos os amigos do Laboratório de Flebotomíneos da FSP/USP, Cecília Oliveira, Vitor Lima e Filipe Souza pela amizade e troca de conhecimentos.

À amiga farmacêutica Dra. Francimar Leão Jucá, colega de doutorado, de profissão e de trabalho, agradeço pela grande amizade e carinho. Foram muitas angústias que passamos e que conseguimos vencer juntas nesta nova fase de nossas vidas.

Ao André Luiz Ricardo Cantalogo, meu companheiro e amigo, obrigada pela convivência, por ouvir minhas angústias e partilhar de grandes momentos da minha vida. Agradeço por todo apoio dado durante a realização deste projeto, principalmente quando cheguei a São Paulo.

À família Cantalogo, por me acolher, por todo o carinho e pela torcida pela conclusão deste doutorado.

Aos professores que tive durante a alfabetização, educação básica, graduação, mestrado e doutorado, pelas importantes contribuições na minha formação.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Acre (FAPAC) pelo apoio financeiro, edital PPSUS 01/2013, número do processo 774445.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pela bolsa de estudos.

Às instituições, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), UFAC, FSP/USP e Secretaria de Saúde do Estado do Acre pela realização e financiamento do Doutorado Interinstitucional (DINTER) entre a UFAC e a FSP/USP, possibilitando melhor qualificação de docentes e melhoria do ensino e pesquisa no Estado do Acre e no País.

Aos animaizinhos que participaram desta pesquisa, como também, aos seus proprietários.

A toda população de Xapuri, que em cada residência visitada seus moradores nos recebiam com um sorriso e disposição em ajudar e participar desta pesquisa.

A todos que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

BRILHANTE, A. F. **Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana (LTA) no município de Xapuri, Estado do Acre, Brasil: estudo em população humana, cães domésticos e vetores.** [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2017.

RESUMO

Introdução. A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma endemia de importância em saúde pública na Amazônia Brasileira, onde possui diferentes perfis de transmissão com a participação de diversas espécies de vetores e de protozoários do gênero *Leishmania*. O Estado do Acre apresenta altos índices de LTA e, no ano de 2015, apresentou o mais alto coeficiente de detecção de casos (137,7/100.000 hab.) da doença no Brasil. **Objetivo.** Analisar aspectos epidemiológicos da LTA no município de Xapuri, Estado do Acre, Brasil, envolvendo população humana, cães domésticos, vetores e identificação de *Leishmania*. **Materiais e Métodos.** Para a avaliação epidemiológica, foram analisadas fichas de notificação dos casos humanos no período de 2008 a 2014 obtidas do sistema de vigilância epidemiológica do município. Foram analisadas as variáveis: sexo, grupo etário, escolaridade, forma clínica, diagnóstico, tratamento e evolução clínica. Os dados foram submetidos à análise descritiva e teste estatístico do qui-quadrado de Pearson utilizando o pacote estatístico STATA. Também foram obtidas amostras de material de pacientes (escarificação das lesões fixadas em lâminas) atendidos no centro médico do município, durante o período de novembro de 2014 a janeiro de 2016. As amostras foram submetidas à análise molecular para diagnóstico de *Leishmania* spp. O inquérito canino foi realizado em áreas urbanas e rurais; nestas, predominantemente, em seringais, onde a doença foi reportada em humanos. Após avaliação clínica dos animais para busca de lesões e sinais característicos de leishmanioses, foram coletadas amostras de sangue venoso por punção jugular ou cefálica, e quando havia lesões sugestivas da doença, foram anestesiados e submetidos à biopsia para colheita do fragmento de lesão. Amostras destes fragmentos foram submetidas a técnicas parasitológicas, inoculação em meio de cultura Neal, Novy e Nicolle, exame direto e técnicas moleculares para detecção do parasita. A identificação de *Leishmania* spp. foi realizada por técnicas moleculares. Os flebotomíneos foram coletados em ambiente domiciliar e florestal de dois seringais (Floresta e Cachoeira) e na área urbana, com armadilhas luminosas tipo CDC, instaladas mensalmente, no período de agosto de 2013 a julho de 2015. Neste período, apenas no seringal Cachoeira, também foram feitas coletas utilizando armadilhas de Shannon nas cores branca e preta, e de janeiro a maio de 2016, coletas em trocos de árvores com aspiradores manuais. Uma amostra de fêmeas coletadas pelas diferentes técnicas foi dissecada

para investigação da presença de flagelados. Para a análise do comportamento da fauna flebotomínea foram utilizados índices ecológicos como de Shannon, Pielou e Abundância das Espécies Padronizado, média geométrica de Williams e análise dos componentes principais. Para estimar a atratividade dos flebotomíneos pelas cores branca e preta foi utilizado o teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$). Análises morfométricas utilizando o teste de Gabriel (teste F, $p < 0,05$) foram feitas para distinguir alguns táxons. Para as análises moleculares dos parasitas foi empregada a técnica de Nested-PCR SSU rRNA utilizando os iniciadores S4/S12 e S17/S18 e sequenciamento. **Resultados.** No estudo de casos humanos, constatou-se que a doença ocorre predominantemente em populações rurais e isoladas do município, em indivíduos de ambos os sexos, com as incidências mais elevadas em crianças e adolescentes. Em 33 dos 45 pacientes com clínica positiva para LTA foram detectadas a presença de DNA de *Leishmania* spp. Nos cães domésticos, verificou-se alta taxa de infecção (20,0%) por *Leishmania* (*Viannia*) sp. Nos estudos de flebotomíneos, foram coletados 21.197 espécimes (14.210 fêmeas e 7.107 machos) com armadilhas CDC, e 6.309 (864 machos e 5.445 fêmeas) com armadilhas de Shannon. As frequências, abundâncias e densidades mais elevadas foram dos gêneros *Nyssomyia*, *Psychodopygus* e *Trichophoromyia*, coletados em ambientes silvestres, peri e intradomiciliares. Em ambiente rural foram coletados 99,9% dos espécimes e no urbano apenas 0,1%. *Nyssomyia shawi* predominou no Seringal Cachoeira, e *Trichophoromyia* spp. (*Th. auraensis*/*Th. ruifreitasi*) no Seringal Floresta. Espécies do gênero *Psychodopygus* predominaram no período chuvoso, enquanto as de *Nyssomyia*, no período seco. Infecções por *Leishmania* spp. foram detectadas em *Brumptomyia* sp., *Nyssomyia antunesi*, *Ny. shawi*, *Lutzomyia sherlocki*, *Psathyromyia aragaoi*, *Psychodopygus carrerai carrerai*, *Ps. davisi*, *Ps. hirsutus hisutus*, *Ps. llanosmartinsi*, *Ps. lainsoni*, *Trichophoromyia ubiquitalis* e *Trichophoromyia* spp. Por meio de análises morfológicas e morfométricas das fêmeas de *Trichophoromyia* sugeriu-se a distinção de *Th. octavioi* de *Trichophoromyia* spp. (*Th. auraensis*/*Th. ruifreitasi*) e descreveu-se, *Psathyromyia elizabethdorvalae* sp. n.

Conclusões. A LTA em Xapuri apresenta um perfil de transmissão silvestre e outro domiciliar. As populações humanas e caninas que frequentam ambientes florestais estão expostas a uma alta diversidade de vetores e de agentes etiológicos, o que aumenta o risco de infecção de LTA. As informações aqui apresentadas podem nortear as medidas de controle, planejamento das ações e definição de prioridades dos órgãos de vigilância epidemiológica do Estado do Acre, visando o diagnóstico precoce e tratamento adequado dos casos de leishmanioses da população humana de Xapuri.

Palavras-chave: Leishmaniose tegumentar americana; epidemiologia; casos humanos; casos caninos, flebotomíneos; vetores; diversidade; infecção natural, *Leishmania* spp., seringal; Amazônia.

BRILHANTE, A. F. **Epidemiology of American cutaneous leishmaniasis (ACL) in Xapuri municipality, Acre state, Brazil: study in human population, domestic dogs and vectors.** [Doctoral thesis]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2017.

ABSTRACT

Introduction. American cutaneous leishmaniasis (ACL) is an endemic disease that deserves the attention of public health in the Brazilian Amazon, where it has various transmission profiles with the participation of several species of vectors and protozoa of the genus *Leishmania*. The state of Acre registers high rates of ACL, having in 2015 the highest coefficient of detection of cases (137.7 / 100,000 inhab.) in Brazil. **Objective.** To analyze the epidemiological aspects of LTA in the municipality of Xapuri, State of Acre, Brazil, involving the human population, domestic dogs, vectors and the identification of *Leishmania* spp. **Materials and Methods.** For the epidemiological evaluation, records of the human cases notified between 2008 and 2014 obtained from the epidemiological surveillance system of the municipality, were analyzed. The following variables were selected for analysis: sex, age group, schooling, clinical form, diagnosis, treatment and clinical evolution. The data were submitted to descriptive analysis and the Pearson chi-squared statistical test using the statistical package STATA. Samples of patient material (scarification of lesions fixed on slides) were also obtained from the medical center of the city during the period from November 2014 to January 2016. These samples were submitted to molecular analysis for the diagnosis of *Leishmania* spp. The canine survey was carried out in both urban and rural areas, in the latter rubber plantations where the disease had been reported in humans predominated. After a clinical evaluation to search for lesions and characteristic signs of leishmaniasis, samples of venous blood were collected by jugular or cephalic puncture, and when the animals presented lesions suggestive of cutaneous leishmaniasis, they were anesthetized and submitted to biopsy to harvest the lesion fragment. Samples of these fragments were submitted to parasitological techniques, inoculation in Neal, Novy and Nicolle culture medium, direct examination and molecular techniques to detect *Leishmania* spp. The samples were submitted to molecular analysis for the diagnosis of *Leishmania* spp. The phlebotomine survey was carried out in forest and the domiciliary environment of the city and in two rubber plantation areas (“Seringal Cachoeira” and “Seringal Floresta”), monthly using CDC light traps, from August 2013 to July 2015. In this period, only in the “Seringal Cachoeira” were collections also made using black and white Shannon traps. Collections in tree trunks and among tree roots with manual aspirators were also undertaken from January to May 2016.

Samples of females collected by different techniques were dissected to investigate the presence of flagellates. For the analysis of the behavior of the phlebotomine fauna, ecological indexes such as Shannon, Pielou, and Standardized Species Abundance, Williams' geometric mean and main component analysis were used. The Mann-Whitney test ($p < 0.05$) was used to estimate the attractiveness of the black and white colors to sandflies. Morphometric analyses using the Gabriel test (test F, $p < 0.05$) were made to distinguish between some taxa. For the molecular analyses of the parasites the Nested-PCR SSU rRNA technique was used using primers S4 / S12 and S17 / S18 and sequencing. **Results.** In the study of human cases, it was found that the disease occurs in rural and isolated populations and in individuals of both sexes, especially in children and adolescents. In 33 of the 45 patients with positive ACL, the presence of *Leishmania* spp DNA was detected. The domestic dogs have shown a high infection rate (20.0%) attributed to *Leishmania* (*Viannia*) sp. In the sandfly studies, 21,197 specimens (14,210 females and 7,107 males) were collected in CDC traps, and 6,309 (864 males and 5,445 females) were collected in Shannon traps. The highest frequencies, abundances and densities were of the genera *Nyssomyia*, *Psychodopygus* and *Trichophoromyia* collected in wild, peri and intradomiciliary environments. *Nyssomyia shawi* predominated in the Seringal Cachoeira, and the *Trichophoromyia* spp. (*Th. auraensis*/*Th. ruifreitasi*) in the Seringal Floresta. Species of the genus *Psychodopygus* predominated in the rainy season while those of *Nyssomyia* in the dry period. Natural infections by *Leishmania* spp were detected in *Brumptomyia* sp., *Nyssomyia antunesi*, *Ny. shawi*, *Lutzomyia sherlocki*, *Psathyromyia aragaoi*, *Psychodopygus carrerai carrerai*, *Ps. davisi*, *Ps. hirsutus hirsutus*, *Ps. llanosmartinsi*, *Ps. lainsoni*, *Trichophoromyia ubiquitalis* and *Trichophoromyia* sp. Morphological and morphometric analyses of *Trichophoromyia* females were suggested to distinguish *Th. octavioi* from *Trichophoromyia* spp (*Th. auraensis*/*Th. ruifreitasi*), *Pa. elizabethdorvalae* being described for the first time. **Conclusions.** ACL in Xapuri presents one profile of wild transmission and another of domiciliar transmission. Both populations, human and canine, because they live in forest environments are exposed to a high diversity of vectors and etiological agents, which increases the risk of ACL infection. The information presented here may guide the measures of control, planning of actions and definition of priorities taken by the organs of surveillance and epidemiology of the State of Acre, aiming at the early diagnosis and appropriate treatment of the human cases in Xapuri.

Keywords: American cutaneous leishmaniasis; epidemiology; canine cases; human cases; phlebotomine sandflies; vectors; diversity; natural infection, *Leishmania* spp., rubber plantation allotment; Amazon.

SUMÁRIO

	APRESENTAÇÃO	25
1	INTRODUÇÃO	26
	1.1 Aspectos gerais das leishmanioses	26
	1.2 Etiologia e epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana	27
	1.2.1 A leishmaniose tegumentar americana na Amazônia Brasileira	32
	1.2.2 Estudos sobre flebotomíneos e leishmanioses no Acre	38
	1.3 Diagnósticos de leishmaniose tegumentar americana	40
	1.4 Os flebotomíneos	42
	1.5 Justificativa	43
2	OBJETIVOS	45
	2.1 Objetivo geral	45
	2.2 Objetivos específicos	45
3	MATERIAIS E MÉTODOS	47
	3.1 Área de estudo	47
	3.2 Estudo de casos humanos	48
	3.2.1 Análise epidemiológica	48
	3.2.2 Diagnóstico de casos humanos	49
	3.3 Estudo de animais domésticos	50
	3.3.1 Coleta e inquérito canino	50
	3.3.2 Testes parasitológicos	50
	3.4 Estudos de flebotomíneos	51
	3.4.1 Pontos de coleta dos flebotomíneos	51

3.4.2	Técnicas de coleta	53
3.4.2.1	Coletas com armadilhas de Shannon	53
3.4.2.2	Coletas com armadilhas luminosas tipo CDC	55
3.4.2.3	Coletas com aspiração manual	56
3.4.3	Análise da fauna flebotomínea	57
3.4.4	Descrição de espécie e análises morfológicas e morfométricas de algumas próximas	58
3.5	Diagnóstico molecular para <i>Leishmania</i> spp.	59
3.5.1	Extração de DNA	59
3.5.2	Deteção de <i>Leishmania</i> spp.	59
3.5.3	Sequenciamento e alinhamento	60
3.6	Considerações éticas	60
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	61
4.1	MANUSCRITO 1: Epidemiological aspects of American cutaneous leishmaniasis (ACL) in an endemic area of forest extractivist culture in western Brazilian Amazonia	61
4.2	MANUSCRITO 2: Diagnóstico molecular de <i>Leishmania</i> spp em população extrativista da Bacia Amazônica Brasileira, área de alta incidência de leishmaniose tegumentar americana	84
4.3	MANUSCRITO 3: Primeira detecção molecular de <i>Leishmania</i> spp. em cães domésticos do Estado do Acre, Amazônia Brasileira	101
4.4	MANUSCRITO 4: Attractiveness of black and white modified Shannon traps to phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in the Brazilian Amazon Basin, an area of intense transmission of American cutaneous leishmaniasis	119
4.5	MANUSCRITO 5: Composição, diversidade, infecção natural por <i>Leishmania</i> spp e novos registros da fauna flebotomínea (Diptera: Psychodidae) em uma área de ocorrência de leishmaniose tegumentar americana na Bacia Amazônica Brasileira	145
4.6	MANUSCRITO 6: A new species of sand fly, <i>Psathyromyia elizabethdorvalae</i> sp. n. (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), from Brazil	178

5	CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	192
	5.1 Quanto ao inquérito humano	192
	5.2 Quanto ao inquérito canino	192
	5.3 Quanto ao inquérito de flebotomíneos	192
	5.4 Recomendações	194
	REFERENCIAS	195
	APÊNDICE I	213
	APÊNDICE II	215
	APÊNDICE III	216
	ANEXO I	223
	ANEXO II	226
	ANEXO III	227
	CURRÍCULO LATTES	228

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Casos confirmados de leishmaniose tegumentar americana (LTA), notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), segundo Região de Notificação, Brasil, 2007-2015. 37

Tabela 2 - Casos confirmados de leishmaniose tegumentar americana (LTA), notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), segundo Região Norte, Brasil, 2007-2015. 38

Tabela 3 - Características ambientais dos pontos de coleta de flebotomíneos, coordenadas geográficas e tipo de armadilha, município de Xapuri, Acre, Brasil, agosto de 2013 a julho de 2015. 51

Tabela 3 - Características ambientais dos pontos de coleta de flebotomíneos, coordenadas geográficas e tipo de armadilha, município de Xapuri, Acre, Brasil, agosto de 2013 a julho de 2015. Continuação. 52

MANUSCRITO 1

Table 1 - Cutaneous leishmaniasis in the rural population of Xapuri. Relative risk (RR) and confidence interval (CI) for male:female ratio, by age group. 78

Table 2 - Comparison of the cutaneous and mucous clinical forms of ACL according to data of the autochthonous cases notified by SINAN in residents in the municipality of Xapuri, Acre State, 2008 to 2014. 79

MANUSCRITO 2

Tabela 1 - Características epidemiológicas dos pacientes com lesões cutâneas e positivos no diagnóstico molecular para *Leishmania* spp, em Xapuri, Estado do Acre, Brasil, dezembro de 2014 a janeiro 2015. 100

MANUSCRITO 3

Tabela 1 - Observações de fatores associados a transmissão de *Leishmania* spp. aos cães, município de Xapuri, Estado do Acre, julho a outubro de 2014. 118

MANUSCRITO 4

Table 1 - Phlebotomines collected with black and white Shannon traps according species, sex and ratio between females and males, Xapuri 141

municipality, Acre state, Brazil, August 2013 to July 2015.

Table 1 - Continuation. Phlebotomines collected with black and white Shannon traps according species, sex and ratio between females and males, Xapuri municipality, Acre state, Brazil, August 2013 to July 2015. 142

Table 2 - Comparison of the most frequent species of phlebotomines, by sex and color of Shannon traps. Values of p and U by Mann-Whitney test (0,05 level of confidence). Xapuri municipality, Acre state, Brazil, August 2013 to July 2015. 143

Table 3 - Number of sandflies collected with Shannon traps in white and black for 24 hours, by sex and time, in the months of March 2014, August 2014, April 2015, July 2015, Xapuri, Acre, Brazil. 144

MANSUCRITO 5

Tabela 1 - Flebotomíneos coletados com armadilhas de luminosas do tipo CDC segundo sexo, índices de Shannon (H), Pielou (J), razão sexual e frequência, município de Xapuri, Acre, Brasil, agosto de 2013 a julho de 2015. 171

Tabela 1 - Flebotomíneos coletados com armadilhas de luminosas do tipo CDC segundo sexo, índices de Shannon (H), Pielou (J), razão sexual e frequência, município de Xapuri, Acre, Brasil, agosto de 2013 a julho de 2015. 172
Continuação

Tabela 1 - Flebotomíneos coletados com armadilhas de luminosas do tipo CDC segundo sexo, índices de Shannon (H), Pielou (J), razão sexual e frequência, município de Xapuri, Acre, Brasil, agosto de 2013 a julho de 2015. 173
Continuação

Tabela 2 - Flebotomíneos coletados em troncos de árvores com aspirador manual, município de Xapuri, Estado do Acre, Brasil, janeiro a maio de 2016. 174

Tabela 3 - Índice de Abundância das Espécies Padronizado (IAEP) para os flebotomíneos coletados com armadilhas luminosas do tipo CDC, em áreas florestais, rurais e urbanas do município de Xapuri, Estado do Acre, Brasil, agosto de 2013 a julho de 2015. 175

Tabela 3 - Índice de Abundância das Espécies Padronizado (IAEP) para os flebotomíneos coletados com armadilhas luminosas do tipo CDC, em áreas florestais, rurais e urbanas do município de Xapuri, Estado do Acre, Brasil, agosto de 2013 a julho de 2015. Continuação 176

Tabela 4 - Infecção por *Leishmania* spp em pools de fêmeas de flebotomíneos coletados com armadilhas tipo CDC e de Shannon modificada, município de Xapuri, Estado do Acre, Brasil, agosto de 2013 a julho de 2015. 177

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Mapa da América do Sul, representando o Bioma Amazônia, países da Amazônia Internacional, Região Norte do Brasil e os estados brasileiros da Amazônia Legal. Fonte: Portal Amazônia, Santos, 2016. 33
- Figura 2** - Cobertura vegetal e desmatamento da Amazônia Brasileira até o ano de 2010. Fonte: IMAZON, 2010. 34
- Figura 3** - Mapa político do Brasil, com destaque para o Estado do Acre e o município de Xapuri. Elaborado por Melchior, 2016. 47
- Figura 4** - Distribuição espacial dos pontos de coleta de flebotomíneos no município de Xapuri, Estado do Acre, Brasil, período de agosto de 2013 a julho 2015. 53
- Figura 5** - Armadilhas de Shannon modificadas, nas cores branca e preta localizadas em frente a Samaúma, próximo a uma área de trilha, município de Xapuri, Acre, Brasil. Foto: OVALLOS, 2015. 54
- Figura 6** - Local de instalação da armadilha luminosa do tipo CDC em área florestal, município de Xapuri, Estado do Acre, Brasil. Foto: BRILHANTE, 2013. 55
- Figura 7** - Locais de instalação de armadilhas automáticas luminosas do tipo CDC em áreas peri e intradomiciliares, municípios de Xapuri, Estado do Acre, Brasil. Foto: BRILHANTE, 2013. 56
- Figura 8** - Coletas por aspiração manual no ponto Samaúma, Seringal Cachoeira, município de Xapuri, Acre, Brasil. Foto: OVALLOS, 2015. 57

MANUSCRITO 1

- Figure 1** - Political map of Brazil indicating the localization of the State of Acre and highlighting Xapuri municipality. 80
- Figure 2** - Rates of ACL incidence on a logarithmic scale in the municipality of Xapuri, Acre State, Amazon Region and Extra-Amazonian Region and in 80

Brazil, from 2007 to 2013. Source: Datasus⁴.

Figure 3 - Photographs of the municipality of Xapuri. A and B) dwellings in the rural zone; C and D) urban zone. Photo: Teixeira, 2016. 81

Figure 4 - Upper figure: a boxplot graph of age by sex and home situation of those suffering from ACL in Xapuri, Acre, 2008 to 2014; Lower figure: bar graph of the rates of incidence of ACL by sex and age group of residents in the rural zone of Xapuri, Acre state, 2008 to 2014. 82

Figure 5 - Prevalence of cases of cutaneous e mucocutaneous leishmaniasis by age group, Xapuri municipality, Acre state, 2008 to 2014. 83

MANUSCRITO 2

Figura 1 - Registro fotográfico de lesões cutâneas em pacientes procedentes de áreas rurais e florestais do município de Xapuri, Estado do Acre, Brasil, novembro de 2014 a janeiro de 2016. Fotos: BRILHANTE, 2014, 2015. 98

Figura 2 - Eletroforese em gel de agarose 2% do produto da PCR obtido com os oligonucleotídeos S17 e S18. M: marcador. 1 a 15 amostras de lesão de casos humanos. Ll: controle positivo de *L. (V.) lainsoni*. La: controle positivo de *L. (L.) amazonensis*. C-: controle negativo água ultrapura MilliQ. 98

Figura 3 - Alinhamento sequências de nucleotídeos baseados no gene SSU rRNA S17/S18 das amostras positivas comparadas a sequencias de espécies de *Leishmania* depositadas no GenBank: *L. infantum* (XR001203206), *L. chagasi* (KJ697713), *L. amazonensis* (JX030083), *L. guyanensis* (KF041803) e *L. braziliensis* (JX030135). 99

MANUSCRITO 3

Figura 1 - Registro fotográfico dos cães com lesões. A: Cão com lesão mucosa no nariz. B: Cão com lesão no escroto. C: Cão com lesões ulcerativas e com borda na orelha. Fotos: BRILHANTE, 2014. 116

Figura 2 - Eletroforese em gel de agarose 2% do produto da PCR obtido com os oligonucleotídeos S17 e S18. M: marcador. 1 a 15 amostras de lesão de cães. Ll: controle positivo de *L. (V.) lainsoni*. La: controle positivo de *L. (L.) amazonensis*. C-: controle negativo água ultrapura MilliQ. 116

Figura 3 - Alinhamento sequências de nucleotídeos baseados no gene SSU rRNA S17/S18 das amostras positivas comparadas a sequencias de espécies de *Leishmania* depositadas no GenBank: *L. infantum* (XR001203206), *L.* 117

chagasi (KJ697713), *L. amazonensis* 1 (JX030083), *L. amazonensis* 2 (JX030084), *L. amazonensis* 3 (JX030085) *L. guyanensis* (KF041803), *L. braziliensis* (JX030135).

MANUSCRITO 4

Figure 1 - Political map of Brazil, highlighting the Acre state and Xapuri municipality with the studied area. 138

Figure 2 - The black and white modified Shannon trap situated in front of “Samaúma” and near of the track area, Xapuri municipality, Acre State, Brazil. Photo: OVALLOS, 2015. 139

Figure 3 - Williams’ mean and hourly rhythm of the three most frequent species and total of phlebotomines in March and August 2014, April and July 2015 in 24 hours collections, Xapuri municipality, Acre state, Brazil. 139

Figure 4 - Monthly distribution of Williams’ mean of the three most frequent species and mean rainfall (mm), Xapuri municipality, Acre state, Brazil, August 2013 to July 2015. 140

MANUSCRITO 5

Figura 1 – Mapa político do Brasil, com destaque para o Estado do Acre e o município de Xapuri. 167

Figura 2 – Riqueza e curva de saturação de espécies coletadas no município de Xapuri, Estado do Acre, Brasil, agosto de 2013 a julho de 2015. 167

Figura 3 – Análise dos componentes principais (PCA) segundo espécies mais frequentes nos Seringais Cachoeira e Floresta, município de Xapuri, Estado do Acre, Brasil, agosto de 2013 a julho de 2015. 168

Figura 4 – Distribuição mensal da media geométrica de Williams das espécies mais frequentes e media mensal de precipitação, município de Xapuri, Estado do Acre, Brasil, agosto de 2013 a julho de 2014. 169

Figura 5 – Alinhamento sequências de nucleotídeos baseados no gene SSU rRNA S17/S18 das amostras positivas comparadas a sequencias de espécies de *Leishmania* depositadas no GenBank: *L. infantum* (XR001203206), *L. chagasi* (KJ697713), *L. amazonensis* (JX030083), *L. guyanensis* (KF041803), *L. braziliensis* (JX030135). 170

MANUSCRITO 6

Figure 1 - Female holotype of *Psathyromyia elizabethdorvalae* sp. n. A) 189

Head, frontal view. B) Labrum–epipharynx. C) Hypopharynx. D) Apical region of the lacinia of the maxilla. E) Cibarium. F) Flagellomere I. G) Flagellomere II. H) Flagellomere III. I) Palp I and II. J) Palp III. K) Palp IV. L) Palp V. (Bar: 100µm). M) Wing (Bar: 200µm). N) Spermathecae of paratype (Bar: 100µm).

Figure 2 - Male of the *Psathyromyia elizabethdorvalae* sp. n. A) Head frontal view. B) Flagellomere I. C) Flagellomere II. D) Flagellomere III. E) Palp I and II. F) Palp III. G) Palp IV. H) Palp V (Bar: 100µm). I) Wing (Bar: 200µm).

190

Figure 3 - Terminalia: A) Male paratype of *Pa. elizabethdorvalae* sp. n. (a': aedeagal ducts; a'': apex of aedeagal ducts). B) Female holotype of *Pa. elizabethdorvalae* sp. n. C) Male of *Pa. lutziana* (c': aedeagal ducts; c'': apex of aedeagal ducts) (Lassance, Minas Gerais, Brazil). D) Female of *Pa. lutziana* (Guaíra, São Paulo, Brazil). E) Male paratype of *Pa. campograndensis* (e': aedeagal ducts; e'': apex of aedeagal ducts). F) Female of *Pa. campograndensis* (Bonito, Mato Grosso do Sul, Brazil) (Bar: 100µm).

191

LISTA DE ABREVIACÕES

(NH ₄) ₂ SO ₄	Sulfato de amônio
μL	Microlitro
AC	Acre
AM	Amazonas
BHI	Brain Heart Infusion
BOD	Demanda bioquímica de oxigênio
<i>Br.</i>	<i>Brumptomyia</i>
CDC	Center for Disease Control
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CEUA	Comitê de Ética de Uso Animal
Cm	Centímetro
DATASUS	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTPs	Desoxirribonucleotídeos fosfatados
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ELISA	Ensaio imunoenzimático
<i>Ev.</i>	<i>Evandromyia</i>
IAEP	Índice de Abundância das Espécies Padronizado
IDRM	Intradermorreação de Monte Negro
IEC	Instituto Evandro Chagas
Km ²	Quilometro quadrado
<i>L.</i>	<i>Leishmania</i>

LED	Light emitting diode
LIT	Liver Infusion Tryptos
LT	Leishmaniose tegumentar
LTA	Leishmaniose tegumentar americana
<i>Lu.</i>	<i>Lutzomyia</i>
LV	Leishmaniose visceral
<i>Mg.</i>	<i>Migonemyia</i>
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
<i>Mi.</i>	<i>Micropygomyia</i>
MS	Mato Grosso do Sul
NNN	Neal, Novy e Nicolle
<i>Ny.</i>	<i>Nyssomyia</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
<i>Pa.</i>	<i>Psathyromyia</i>
PAHO	Organização Pan-Americana de Saúde
PCA	Análise dos componentes principais
PCR	Reação em cadeia da polimerase
<i>Pr.</i>	<i>Pressatia</i>
<i>Ps.</i>	<i>Psychodopygus</i>
RIFI	Reação de imunofluorescência indireta
Rpm	Rotação por minuto
<i>Sc.</i>	<i>Sciopemyia</i>
SESACRE	Secretaria de Saúde do Estado do Acre

SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SSU rDNA	Small subunit Ribossomal RNA
<i>Th.</i>	<i>Trichophoromyia</i>
<i>Ty.</i>	<i>Trichopygomyia</i>
UFAC	Universidade Federal do Acre
<i>V.</i>	<i>Viannia</i>
<i>Vi.</i>	<i>Viannamyia</i>
WHO	World Health Organization

APRESENTAÇÃO

Este trabalho aborda aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana (LTA) no município de Xapuri, Estado do Acre, fronteira Amazônica com a Bolívia. O estudo traz informações sobre os flebotomíneos que ocorrem na região, identificando vetores comprovados e e suspeitos de atuarem na transmissão de agentes etiológicos. Como também a ocorrência da doença em cães domésticos e população humana.

Os resultados desta pesquisa estão estruturados em manuscritos científicos na seção “Resultados e Discussão”. O primeiro manuscrito “Epidemiological aspects of American cutaneous leishmaniasis (ACL) in an endemic area of forest extractivist culture in western Brazilian Amazonia” é um estudo retrospectivo com a finalidade de descrever a epidemiologia da LTA na população humana, durante 2008 a 2014, período este que há a disponibilidade de dados da doença no sistema de vigilância do município. Este manuscrito foi publicado na *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*.

O segundo manuscrito teve como objetivo diagnosticar através de ferramentas moleculares a circulação de *Leishmania* spp. na população humana de Xapuri, neste trabalho 45 pacientes aceitaram participar da pesquisa, a maioria dos indivíduos acometidos era crianças e adolescentes, assim como verificado no primeiro manuscrito.

O terceiro manuscrito aborda a circulação de *Leishmania* spp. em cães domésticos assim como os aspectos epidemiológicos e clínicos desses animais.

O quarto e o quinto manuscrito apresentam o estudo sobre as populações de flebotomíneos, e alguns aspectos sobre seus comportamentos tais como, atração pela cor branca e preta da armadilha de Shannon, antropofilia, composição, distribuição, novos registros de espécies, infecção natural por *Leishmania* spp. e outros parasitos, e estudos morfológicos e morfométricos de espécies do gênero *Trichophoromyia*.

O último manuscrito traz a descrição da espécie *Psathyromyia elizabethdorvalae* sp. n. Brilhante, Sábio & Galati, nova espécie de flebotomíneo coletada em ambiente florestal e peridomiciliar. Esta espécie é próxima morfologicamente a *Pa. lutziana* e *Pa. campograndensis*, as quais não foram coletadas na área durante o período de estudo. Este manuscrito foi publicado no periódico *Journal of Medical Entomology*.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos gerais das leishmanioses

As leishmanioses são parasitoses de importância em saúde pública, causadas por diferentes espécies de protozoários da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, do gênero *Leishmania* Ross, 1903, podendo acometer o ser humano com diferentes formas clínicas, visceral, cutânea e mucocutânea. O modo de transmissão usual das espécies de *Leishmania* é através da picada de fêmeas de flebotomíneos, dípteros holometábolos pertencentes à família Psychodidae, subfamília Phlebotominae (LAINSON e SHAW 2005; BRASIL, 2013; BRAZIL et al., 2015; GALATI, 2016).

Essas zoonoses estão entre as doenças tropicais de maior relevância, com ampla distribuição por todo mundo. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que 350 milhões de pessoas vivam em áreas de risco, com aproximadamente 1,2 milhão de casos registrados a cada ano para as formas cutâneas e cerca de 500.000 casos para a forma visceral (WHO, 2010, 2014).

Das leishmanioses a forma tegumentar é a mais prevalente no mundo, sendo registrada em 88 países distribuídos por quatro continentes, Ásia, África, Europa e América (WHO, 2014). As manifestações clínicas podem ser diversas, e incluem as formas cutânea localizada, disseminada, difusa e mucosa, sendo que nesta última pode ocorrer destruição do septo nasal e palato, resultando em mutilações e transtornos psicossociais (DA CRUZ e PIRMEZ, 2005; MURRAY et al., 2005; GOTO e LINDOSO, 2010; BRASIL, 2013).

Na região Neotropical, como agentes causais das formas dermatrópicas estão envolvidas pelo menos 14 espécies de *Leishmania*. No Brasil, até o momento, foram identificadas sete. Destas, seis pertencem ao subgênero *Viannia*, que inclui espécies do complexo *braziliensis*, e uma espécie do subgênero *Leishmania*, composto por aquelas do complexo *mexicana* (LAINSON e SHAW 2005; LAINSON, 2010; BRASIL, 2013).

A leishmaniose visceral (LV) é uma síndrome clínica sistêmica, que se manifesta por febre alta, hepatoesplenomegalia, anemia, leucopenia, progressivo emagrecimento, que, quando não diagnosticada e tratada precocemente, pode evoluir para o óbito (BADARÓ e DUARTE, 2002; BRASIL, 2014). Estima-se que, 90% dos novos casos de LV registrados são oriundos de seis países, Brasil, Etiópia, Índia, Somália, Sudão do Sul e Sudão (WHO, 2014).

Nas Américas, *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* é a espécie associada à ocorrência da LV, em humanos e caninos. Cães domésticos parasitados apresentam relevante papel na epidemiologia da doença, pois em diversas localidades do Brasil tem sido relatada que a infecção canina precede os casos humanos (GONTIJO e MELO, 2004; LIMA-JÚNIOR et al., 2009; ANDRADE et al., 2009; BRASIL, 2014; LAZARI et al., 2016).

1.2 Etiologia e epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença de ampla distribuição geográfica e constitui uma das principais doenças negligenciadas de importância em saúde pública, em virtude ao amplo espectro de manifestações clínicas que apresenta (DESJEUX, 2004; DA CRUZ e PIRMEZ, 2005; BRASIL, 2013).

As manifestações clínicas da LTA podem variar de acordo com o agente etiológico envolvido a resposta imune do hospedeiro, desde lesões únicas ulceradas ou nodulares a casos de múltiplas lesões disseminadas ou difusas, e são frequentemente, acompanhadas de infecções secundárias. Em alguns casos pode ocorrer comprometimento mucoso, com lesões destrutivas e mutilantes, o que gera transtornos psicossociais aos pacientes (DA-CRUZ e PIRMEZ, 2005; GOTO e LINDOSO, 2010; BRASIL, 2013).

De acordo com relatório da Organização Pan-Americana de Saúde (PAHO, 2016), no ano de 2014, nas Américas foram reportados 51.098 casos de LTA, com taxa de incidência de 19,75 casos por 100 mil habitantes. No Brasil registrou-se, de 75% desses casos, seguidos da Colômbia e Peru. Em 2014, aproximadamente 96% dos casos notificados eram da forma clínica cutânea e 4% da mucocutânea, com a maioria dos casos desta forma clínica ocorrendo no Brasil (1.016 casos), seguidos do Peru (343 casos) e da Bolívia (228 casos).

São várias as espécies envolvidas na etiologia dos casos de LTA sendo as prevalências mais elevadas atribuídas a *Leishmania (Viannia) braziliensis* Vianna 1911 emend Matta 1916, com ampla distribuição em países da América Central e do Sul. *Leishmania (Leishmania) amazonensis* Lainson & Shaw 1972, amplamente distribuída no Brasil e em outros países sul-americanos, como Colômbia, Bolívia, Guiana Francesa e Paraguai, *Leishmania (Viannia) guyanensis* Floch 1954, com distribuição na Amazônia brasileira e dos países vizinhos Peru, Guiana Francesa, Suriname e Colômbia e *Leishmania (Viannia) panamensis* Lainson & Shaw 1972 ocorrendo na América Central e norte da América do Sul. Outras espécies de importância epidemiológica, porém com menor prevalência são: *Leishmania (Leishmania)*

mexicana, com distribuição na América Central e norte da América do Sul, *Leishmania* (*Leishmania*) *pifanoi* e *Leishmania* (*Leishmania*) *venezuelensis*, com registros apenas na Venezuela, *Leishmania* (*Leishmania*) *waltoni* Shaw et al. 2015 de ocorrência na República Dominicana, *Leishmania* (*Viannia*) *peruviana* Velez, 1913, assinalada apenas no Peru, e ocorrendo predominantemente na região Amazônica: *Leishmania* (*Viannia*) *lainsoni* Silveira, Shaw, Braga & Ishikawa 1987, *Leishmania* (*Viannia*) *lindenbergi* Silveira, Ishikawa, De Souza & Lainson 2002, *Leishmania* (*Viannia*) *naiffi* Lainson & Shaw 1989 e *Leishmania* (*Leishmania*) *shawii* Lainson, Braga, Souza, Póvoa & Ishikawa 1989 e espécie a *Leishmania martiniquensis* Desbois et al. 2014, descrita da Ilha de Martinica e incluída no subgênero *Mundinia* Shaw, Camargo & Teixeira, 2016 recentemente proposto (LAINSON e SHAW, 2005; GOTO e LINDOSO, 2010; LAINSON, 2010; BRASIL, 2013; DESBOIS et al., 2014; SHAW et al., 2015; ESPINOSA et al., 2016).

No Brasil, a maioria dos agentes etiológicos pertence ao subgênero *Viannia*, e uma ao subgênero *Leishmania*, que são discriminadas abaixo:

Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis é a espécie que apresenta maior prevalência em casos humanos e caninos. Apresenta várias espécies de vetores e reservatórios envolvidos em seus ciclos de transmissão. No Brasil, esta espécie já foi encontrada em todas as regiões do país, e é o principal agente causal de LTA do País (LAINSON et al., 1994; LAINSON e SHAW, 2005; GOTO e LINDOSO, 2010; LAINSON, 2010; BRASIL, 2013).

A LTA causada por *L. (V.) braziliensis* manifesta-se em humanos com frequência por lesão ulcerada única, no entanto, pode migrar para outras partes do corpo, através de macrófagos parasitados por via hemática ou linfática, provocando lesões secundárias. Podem ainda ocorrer lesões disseminadas e comprometimento da mucosa podendo estender-se pela face, boca, palato, faringe e laringe, destruindo a cavidade oral (LAINSON e SHAW 2005; GOTO e LINDOSO, 2010; BRASIL, 2013).

Anteriormente, o ciclo de transmissão da *L. (V.) braziliensis* estava diretamente ligado ao ambiente silvestre, caracterizando um ciclo zoonótico, em que o ser humano é um hospedeiro acidental, adquirindo doença ao adentrar as áreas florestais, onde vivem os vetores e os reservatórios naturais do parasito (LAINSON et al., 1994). Com o passar do tempo, o desmatamento desenfreado e as modificações antrópicas nos ambientes antes preservados, possibilitaram o surgimento de mudanças no ciclo de transmissão deste parasito,

estabelecendo um perfil de transmissão peridomiciliar, em que espécies vetoras de flebotomíneos restritas a ambientes silvestres passaram a ter hábitos peri e intradomiciliares, como por exemplo as espécies *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939), *Ny. intermedia* (Lutz & Neiva, 1912), *Ny. neivai* (Pinto, 1926) e *Migonemyia migonei* (França, 1920), incriminadas na transmissão de *L. (V.) braziliensis* (QUEIROZ et al., 1994; LEONARDO e REBÊLO, 2004; PITA-PEREIRA et al., 2005; RANGEL e LAINSON, 2009; GALATI et al., 2010). Além destas espécies de flebotomíneos, outras também têm sido associadas à transmissão desta *Leishmania*, como por exemplo, *Psychodopygus davisii* (Root, 1934), *Ps. carrerai carrerai* (Barretto, 1946), *Ps. complexus* (Mangabeira, 1941) e *Trichophoromyia auraensis* (Mangabeira, 1942) em áreas da bacia Amazônica (WARD et al., 1973; LE PONT et al., 1988; GRILMADI JR et al., 1991; SOUZA et al., 1996; GIL et al., 2003, 2009; TELES et al., 2016).

Com relação aos reservatórios, este parasito já foi isolado de diferentes animais, tais como roedores e marsupiais, sugerindo estes como possíveis reservatórios primários (ARIAS et al., 1981; DE LIMA et al. 2002; BRANDÃO-FILHO et al., 2003). Alguns animais domésticos como cães têm sido encontrados parasitados com *L. (V.) braziliensis* (MADEIRA et al., 2005; CASTRO et al., 2007; BRILHANTE et al., 2016), porém, ainda não está esclarecido o papel destes animais no ciclo de transmissão desse parasito, se são hospedeiros acidentais ou reservatórios secundários. Alguns estudos indicam que cães infectados por *L. (V.) braziliensis* não são bons reservatórios deste parasito (MADEIRA et al., 2005, 2006; CASTRO et al., 2007) sendo, assim como os seres humanos, hospedeiros acidentais no ambiente silvestre. No entanto, no ambiente peridoméstico os cães podem ter papel importante no perfil de transmissão intra e peridomicilar, pois podem atuar como atrativos de vetores (DANTAS-TORRES, 2007).

Leishmania (Viannia) guyanensis tem ocorrência quase restrita à Amazônia, percorrendo a bacia Amazônica, pelos estados do Acre, Amapá, Roraima, Amazonas, Pará e Rondônia, no Centro-Oeste por Goiás e Mato Grosso, e em países fronteiriços, Peru, Guiana Francesa, Suriname e Colômbia (LAINSON et al. 1994; AZEVEDO et al., 2002, TOJAL et al., 2003; 2006, CÓRDOVA et al., 2011; BRASIL, 2013; PIRES et al., 2015; TELES et al., 2016; KOARASHI et al., 2016).

Casos humanos de LTA por *L. (V.) guyanensis* são caracterizados por lesões cutâneas únicas ou múltiplas, causadas pelas picadas constantes do flebotomíneo ou pela disseminação

do parasito por via linfática e hemática (LAINSON e SHAW, 2005; BRASIL, 2013). Também já foram relatados casos de leishmaniose mucocutânea na Amazônia associados a esta espécie de *Leishmania* (GUERRA et al., 2011). Na região do oeste do Pará, foram encontradas amostras híbridas imputadas a *L. (V.) guyanensis* e *L. (V.) shawi* a partir de pacientes, sugerindo que a região representa um bioma onde estas espécies de *Leishmania* trocam informações genéticas (JENNINGS et al., 2014).

A espécie *Ny. umbratilis* (Ward & Fraiha, 1977), principal vetor suspeito, espécie com ampla distribuição na Amazônia, podendo ser encontrada em florestas primárias, principalmente em troncos de árvores, e que são altamente antropofílicas (LAINSON et al., 1994). Outras espécies de flebotomíneos tais como, *Ny. antunesi* (Coutinho, 1939), *Ps. davisi*, *Th. auraensis* já foram encontradas naturalmente infectadas por *L. (V.) guyanensis* (TELES et al., 2016). Quanto aos seus reservatórios, atuam como hospedeiros primários, preguiças (*Choloepus didactylus*) e o tamanduá (*Tamandua tetradactyla*), e como hospedeiros secundários, marsupiais (*Didelphis*) e roedores (*Proechimys*) (LAINSON et al. 1994; LAINSON e SHAW, 2005; LAINSON, 2010).

Leishmania (Viannia) lainsoni, as manifestações clínicas associadas a esta espécie é caracterizada por lesões cutâneas simples, sem relatos de comprometimento mucocutâneo. Sua ocorrência é restrita a região Amazônica, tanto no Brasil quanto nos países vizinhos como Bolívia, Peru (LUCAS et al., 1994; 1998; MARTINEZ et al., 2001; TOJAL et al., 2006; TELES et al., 2015) e recentemente no Equador (KATO et al., 2016). Possui como reservatório a paca (*Agouti paca*) e como principal vetor, *Th. ubiquitalis* (Mangabeira, 1942), que já foi encontrada naturalmente infectada por *L. (V.) lainsoni* em várias localidades da Amazônia (SILVEIRA et al., 1991; LAINSON et al., 1992; LAINSON et al., 1994; PEREIRA-JR et al., 2015). No Peru, no departamento de Madre de Dios, *Th. auraensis* foi encontrada parasitada por esta *Leishmania* (VALDÍVIA et al., 2012). No Estado do Acre, foi encontrado um híbrido entre *L.(V.) lainsoni* e *L. (V.) naiffi* em pacientes provenientes de áreas rurais de Rio Branco (TOJAL et al., 2006).

Leishmania (Viannia) shawi, espécie distribuída pela bacia Amazônica. A sua infecção manifesta-se em humanos através de lesões cutâneas ulceradas e há registros de casos com lesões múltiplas (LAINSON e SHAW 2005, BRASIL, 2013). O vetor incriminado em sua transmissão é uma espécie de flebotomíneo do complexo *Ny. whitmani*, que habita florestas primárias da Amazônia, tem atividade antropofílica, e há evidências que a diferencia

das demais espécies deste complexo de outras regiões do Brasil (LAINSON et al. 1994; SOUZA et al., 2016). *Lutzomyia gomezi* (Nitzulescu, 1931) tem sido considerada um vetor permissivo, sendo encontrada naturalmente infectada em áreas florestais da Serra dos Carajás no Pará (SOUZA et al., 2016). Possui uma variedade de reservatórios, tais como macacos (*Cebus apella* e *Chiropotes satanas*), preguiças (*Choloepus didactylus* e *Bradypus tridactylus*) e quati (*Nasua nasua*), assim como outros animais arbóreos (LAINSON et al., 1994).

Leishmania (Viannia) naiffi, distribuída nos estados do Norte do Brasil, como Amazonas, Rondônia e Pará, e outros países como Guiana Francesa e Equador (ARIAS et al., 1985; GRIMALDI JR et al., 1991; PRATLONG et al., 2002; FOUQUE et al., 2007; KATO et al., 2013). Em humanos, pode causar pequenas lesões cutâneas simples ou ulceradas que geralmente evoluem para cura espontânea, no entanto, recentemente foi observado evolução não favorável à cura e com falência terapêutica (FAGUNDES-SILVA et al., 2015).

Até o presente, o tatu (*Dasypus novemcintus*) é o único reservatório conhecido. Pouco se sabe quanto aos flebotomíneos vetores de *L. (V.) naiffi*, entretanto, algumas espécies já foram encontradas naturalmente infectadas, tais como *Ps. ayrozai* (Barretto & Coutinho, 1940), *Ps. paraensis* (Costa Lima, 1941), *Ps. squamiventris* (Lutz & Neiva, 1912) e *Ps. davisi*, as quais podem estar relacionadas ao ciclo de transmissão ao ser humano e a outros hospedeiros na região Amazônica (LAINSON e SHAW 1989, LAINSON, 1997, ASHFORD, 2000; SOUZA et al., 2016). No Equador, *Lu. tortura* Young & Rogers, 1984 já foi encontrada naturalmente infectada por este parasito (KATO et al., 2008).

Leishmania (Viannia) lindenbergi, isolada de casos humanos em militares de Belém, Estado do Pará, que realizavam atividades em áreas de floresta secundária. Até o presente, o ser humano é o único hospedeiro vertebrado do qual este parasito foi isolado. Alguns estudos realizados na região indicam que *Ny. antunesi* estaria atuando na transmissão do agente, por conta da sua alta frequência e de seu voo mais baixo, picando os soldados quando em atividades rasteiras de treinamento militar (SILVEIRA et al., 2002; LAINSON, 2010).

Leishmania (Leishmania) amazonensis, possui ampla distribuição geográfica no Brasil e em outros países do continente sul-americano, como Colômbia, Bolívia, Guiana Francesa e Paraguai (SILVEIRA et al., 1991, MARTINEZ et al., 2002; KERR et al., 2006; DORVAL et al., 2006, MEDEIROS et al., 2008; LAINSON, 2010; BRASIL, 2013;

BRILHANTE et al., 2015; TELES et al., 2015). A LTA no homem causada por *L. (L.) amazonensis* manifesta-se inicialmente como lesão cutânea ulcerada, geralmente única, podendo evoluir para casos de leishmaniose mucocutânea, disseminada, “recidiva cútis” e também para leishmaniose visceral (DORVAL et al., 2006; GOTO e LINDOSO, 2010; BRASIL, 2013). Além dessas manifestações, a forma cutânea difusa anérgica (LCDA) é associada a esta espécie, caracterizada por lesões nodulares sem ulcerações, sendo um tipo de manifestação raro e geralmente com prognóstico não favorável (SILVEIRA et al., 2004; GOTO e LINDOSO 2010; BRASIL, 2013).

Seus principais reservatórios são os roedores dos gêneros *Proechimys*, *Oryzomys*, *Neacomys* e *Nectomys*, como também marsupiais (*Didelphis*) e canídeos silvestres (*Cerdocyon thous*) (LAINSON et al., 1994, LAINSON, 2010). Em animais domésticos há relatos de gatos (*Felis catus*) naturalmente parasitados por *L. (L.) amazonensis* em Mato Grosso do Sul, sendo os primeiros casos de leishmaniose felina no Brasil associada a este parasito (SOUZA et al., 2005; 2009).

Possui como principal vetor a espécie *Bichromomyia flaviscutellata* (Mangabeira, 1942) de hábito rodentofílico, pouco antropofílico e de vôo baixo (SHAW e LAINSON, 1968; LAINSON e SHAW, 1968, DORVAL et al., 2010, 2016; BRASIL, 2013; BRILHANTE et al., 2015). Outras espécies do gênero de menor importância epidemiológica, *Bi. olmeca nociva* (Young & Arias, 1982) e *Bi. reducta* (Feliciangeli, Ramirez Pérez & Ramírez, 1988), já foram observadas naturalmente infectadas por *L. (L.) amazonensis* no Brasil, e a espécie *Pintomyia (Pifanomyia) nuneztovari* (Ortiz, 1954) na Bolívia (ARIAS et al. 1987, LAINSON, 2010; MARTINEZ et al., 1999).

1.2.1 A leishmaniose tegumentar americana na Amazônia Brasileira

A Amazônia é conhecida mundialmente pela sua biodiversidade, e por ser um dos biomas ainda mais conservados do mundo. Estende-se por nove países da América do Sul, com uma área total de 6,4 milhões de km², sendo o Brasil detentor de 63% dessa área (PEREIRA et al., 2010) (Figura 1).

Figura 1 - Mapa da América do Sul, representando o Bioma Amazônia, países da Amazônia Internacional, Região Norte do Brasil e os estados brasileiros da Amazônia Legal. Fonte: Portal Amazônia, Santos, 2016.

No Brasil, a Amazônia é conceituada de duas formas: o Bioma Amazônia, que consiste na cobertura vegetal correspondente a quatro milhões de quilômetros quadrados, ocupando 49% do território brasileiro, que abrange áreas dos Estados do Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Roraima, Rondônia e Tocantins. E o termo Amazônia Legal, representa o Bioma Amazônia, áreas de Cerrado e campos naturais,

Sanches de Fayas y Quiros, do município de Tabatinga (AM) até o Peru, que percorrendo as regiões do vale amazônico, observou indivíduos com lesões cutâneas ulceradas associadas a picadas de insetos e com sequelas na face (PARAGUASSU-CHAVES, 2001; BASANO e CAMARGO, 2004; VALE e FURTADO, 2005).

Em 1910, Alfredo da Matta descreve um caso de LTA em Manaus (AM) em um trabalhador extrativista de castanha do Brasil. Naquela época acreditava-se que o agente etiológico fosse *Leishmania tropica* (Wright, 1903) por ser morfológicamente idêntica a *Leishmania* do Velho Mundo, seguindo Adolpho Lindenberg, Antonio Carini e Ulisses Paranhos que em 1909, tinham atribuído casos de LTA a este agente etiológico, em pacientes que trabalhavam em aberturas de ferrovias no interior do Estado de São Paulo. Pouco depois, em 1911, Affonse Splendore e Antonio Carini fizeram as primeiras observações da forma clínica mucosa da LTA, demonstrando formas amastigotas encontradas nas mucosas nasais de pacientes (MATTA, 1910; VALE e FURTADO, 2005; JOGAS-JR, 2014). No mesmo período, Gaspar Vianna, considerou que havia diferenças morfológicas entre *L. tropica* oriunda do Velho Mundo, e o agente etiológico ocorrente no Brasil, o descreveu como *Leishmania braziliensis* (VIANNA, 1911). Uma década depois, Rabello propôs o termo leishmaniose tegumentar americana, tanto para as formas clínica cutânea quanto mucosa (RABELLO, 1925).

Pouco depois deste período, Carlos Chagas comandou uma expedição de interesse médico-científica do Instituto Oswaldo Cruz ao Vale do Amazonas no período de 1912 a 1915, percorrendo os rios Acre, Juruá, Solimões, Negro e Branco, com a finalidade de realizar um inquérito epidemiológico nos principais centros produtores de borracha na região, a leishmaniose tegumentar foi a patologia que ocupou considerável espaço em seu relatório, classificando-a como de importância epidemiológica máxima no Norte do Brasil (JOGAS JR, 2013). Considerou ainda que, após a malária, a LTA era a doença que mais produzia vítimas, que se não morriam, eram impossibilitadas de trabalhar. Naquela época, os seringueiros se referiam temerosos às chamadas úlceras bravas do Amazonas e acreditavam que eram causadas pela fumaça irritante do uricuri utilizada na defumação da borracha, e estas úlceras nada mais eram que variações das formas clínicas da LTA (CRUZ, 1915).

Por um longo período, a etiologia dos casos de LTA na Amazônia e no Brasil era atribuída a *L. braziliensis*. Com o advento das técnicas moleculares e intensificação dos estudos epidemiológicos sobre leishmanioses foram descobertas novas espécies de

Leishmania, sendo a região Amazônica a que detém o maior número de espécies descobertas (LAINSON et al., 1994; LAINSON, 1997; LAINSON e SHAW, 2005; LAINSON, 2010).

Em meados da década de 60, a partir de parceria realizada entre a Fundação Wellcome Trust de Londres e o Instituto Evandro Chagas (IEC), foi implantada uma Unidade de Parasitologia (Wellcome Parasitology Unit) na Seção de Parasitologia do IEC, que perdurou até 1992 (LAINSON, 2010). Essa parceria para a Amazônia em especial, foi de grande importância no avanço em pesquisas sobre leishmanioses, possibilitando a descoberta de novas espécies de *Leishmania*, seus vetores, reservatórios e ciclos de transmissão, com grandes contribuições para a compreensão da ecoepidemiologia dessas parasitoses.

Ressalta-se que o grande número de espécies de *Leishmania* descritas na Amazônia Brasileira com perfis bioquímicos e genéticos diferentes, e diversidade de ciclos de vida, de manifestações clínicas e de distribuição geográfica levaram a uma revisão taxonômica dessas espécies, o que resultou na divisão em dois subgêneros *Viannia* e *Leishmania*, sendo esta classificação adotada para as espécies de *Leishmania* neotropicais (LAINSON e SHAW, 1987; LAINSON e SHAW 2005; LAINSON, 2010).

Na Amazônia, a LTA ainda tem estreita ligação com o ambiente silvestre onde uma grande variedade de vetores coexiste com reservatórios primários e secundários desses parasitos. O ser humano, ao adentrar esta biocenose, em suas atividades florestais, principalmente ligadas ao extrativismo e a caça, adquire a doença acidentalmente (LAINSON et al., 1994). No entanto, outros perfis de transmissão podem ser observados nesses ambientes silvestres, como o peri e intradomiciliar. Isto vem ocorrendo devido à localização das casas próximas ou até mesmo dentro das matas, com criação de animais domésticos em seus entornos, nos quais os flebotomíneos vetores encontram abundantes fontes alimentares e têm a floresta lhes servindo de abrigo (MANUSCRITO 1, 5). Além disto, tem-se observado que a devastação das florestas contribuiu para a adaptação das populações de vetores e hospedeiros silvestres de *Leishmania* spp. aos ambientes extraflorestais, facilitado por essa maior oferta de alimento, alterando as condições de exposição dos humanos aos parasitos (GOMES, 1992; BASANO e CAMARGO 2004).

Assim, com o passar do tempo e melhorias nos sistemas de notificação das doenças, observou-se expansão progressiva das leishmanioses e mudanças em seus perfis

epidemiológicos, considerado como modelo de doença emergente e reemergente (ASHFORD, 2000).

Mais recentemente, segundo dados do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS), no período de 2007 a 2015, o Brasil notificou cerca de 200 mil casos de LTA, com aproximadamente 42,5 % do total provenientes da região Norte (Tabela 1). Os estados do Pará, Amazonas, Acre e Rondônia foram os que notificaram mais casos nesse período, que somados correspondem a 82% das notificações no Norte do País (Tabela 2).

Tabela 1 - Casos confirmados de leishmaniose tegumentar americana (LTA), notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), segundo Região de Notificação, Brasil, 2007-2015.

	Período em anos									
	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Total
Região de notificação										
Norte	10302	9270	8842	7632	9188	10904	9002	11125	9668	85933
Nordeste	6272	6605	7384	9453	8533	8876	5775	5429	5671	63998
Sudeste	2112	1791	1811	2654	2458	1626	1377	1705	2048	17582
Sul	557	670	521	304	364	483	344	420	550	4213
Centro-Oeste	3313	3245	4760	3450	2511	3363	3154	3280	3224	30300
Total	22556	21581	23318	23493	23054	25252	19652	21959	21161	202026

Fonte: Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan Net, 2016.

Tabela 2 - Casos confirmados de leishmaniose tegumentar americana (LTA), notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), segundo Região Norte, Brasil, 2007-2015.

	Período em anos									
	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Total
Estados da Região Norte										
Rondônia	1030	997	1118	994	740	1229	1295	1229	1139	9771
Acre	1009	1077	1013	1126	985	1250	1012	1146	1181	9799
Amazonas	2280	1881	1542	1249	2384	2372	1537	1939	1723	16907
Roraima	342	361	462	649	231	468	545	491	509	4058
Pará	4431	3845	3531	2465	3811	4279	3224	4526	3848	33960
Amapá	710	680	556	508	581	802	837	1099	615	6388
Tocantins	500	429	620	641	456	504	552	695	653	5050
Total	10302	9270	8842	7632	9188	10904	9002	11125	9668	85933

Fonte: Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan Net, 2016.

1.2.2 Estudos sobre flebotomíneos e leishmanioses no Acre

A LTA no Acre tem sua importância por ser uma doença endêmica e uma das maiores incidências do Norte e do Brasil (MELCHIOR et al., Dados a serem publicados), sendo poucos os estudos sobre essa doença no Estado.

Estudos realizados por MARTINS e SILVA (1964) sobre a fauna flebotomínea na capital Rio Branco revelaram 30 espécies, sendo *Pintomyia (Pifanomyia) nevesi* (Damasceno & Arouck, 1956) a espécie dominante.

No início da década de 80, ARIAS e FREITAS (1982) realizaram pesquisas nas cidades de Cruzeiro do Sul, Feijó e Rio Branco, encontrando 50 espécies, sendo *Th. auraensis* a mais

frequente. Pouco depois, ARIAS et al. (1985) buscando infecções naturais por flagelados em flebotomíneos, encontrou *Ny. whitmani* possivelmente infectada por *L. (V.) braziliensis* e espécies do gênero *Psathyromyia* infectadas por *Trypanosoma rangeli*. Outras espécies como, *Pi. nevesi* e do gênero *Lutzomyia* também foram encontradas infectadas por flagelados.

Ao final dos anos 2000, AZEVEDO et al. (2008) nos municípios de Rio Branco, Bujari e Xapuri encontraram predomínio das espécies *Ny. whitmani*, *Ny. antunesi* e *Th. auraensis*, em fauna composta por 52 espécies, com registro de 16 novas espécies para o Acre. Na mesma época, SILVA-NUNES et al. (2008) em áreas rurais do município de Acrelândia encontrou predomínio de *Ny. whitmani* e *Ny. antunesi*. Observações semelhantes também foram feitas por ARAÚJO-PEREIRA et al. (2014) em áreas periurbanas e florestais de Rio Branco, com 23 espécies identificadas, sendo *Ny. whitmani* e *Th. auraensis* as dominantes.

Recentemente, no município de Assis Brasil, tríplice fronteira Brasil-Bolívia-Peru, TELES et al. (2016) coletaram 67 espécies, com três novos registros para o Acre, *Evandromyia georgii* (Freitas & Barret 2002), *Lutzomyia evangelistai* Martins & Fraiha 1971 e *Ps. complexus*, sendo as espécies mais abundantes *Trichophoromyia* spp. (*Th. auraensis* / *Th. ruifreitasi*) e *Ps. davisi* ambas diagnosticadas com *L. (V.) braziliensis* e *L. (V.) guyanensis* através de técnicas moleculares. Nesta mesma localidade, foram descritas duas espécies *Lutzomyia naiiffi* Teles et al. 2013 e *Trichophoromyia ruifreitasi* Oliveira et al. 2015, sendo a fêmea desta indistinguível de várias outras do gênero *Trichophoromyia*. Esses estudos recentes têm demonstrado um aumento considerável na riqueza de flebotomíneos do Acre, com novos registros e espécies sendo descritas, refletindo a necessidade de mais levantamentos da fauna flebotomínea em diferentes áreas do Estado, onde a LTA é endêmica (BRILHANTE et al. 2017; SÁBIO et al. 2016; MANUSCRITO 4 e 5).

Atualmente, no Acre, são registradas 82 espécies de flebotomíneos, com o incremento de três recentes descrições no Estado e uma que teve seu status revalidado, a partir de exemplares machos e fêmeas, *Lu. naiiffi*, *Th. ruifreitasi*, *Psathyromyia elizabethdorvalae* Brilhante, Sábio & Galati 2016 e *Pa. pifanoi* (Ortiz, 1972) (tendo *Lu. cuzquena* Martins, Llanos & Silva, 1975 como seu sinônimo júnior) (SÁBIO et al., 2016).

Com relação à epidemiologia da LTA no Acre, o primeiro estudo foi realizado por SILVA et al. (1999) no período de 1992 a 1997, tendo verificado que a doença era predominante na mesorregião Vale do Acre (FIGURA 3), que abrange 14 municípios, destes,

Rio Branco, Brasília, Xapuri e Assis Brasil contribuem com as notificações mais numerosas e uma prevalência de 55,7/10 mil habitantes. A forma clínica cutânea prevaleceu (84,1%) e a mucosa ocorreu em 4,73% dos casos. Dez anos depois, SILVA e MUNIZ (2009) realizaram um novo estudo sobre os aspectos epidemiológicos da LTA no Acre entre 2001 a 2006, e verificaram que prevalência da doença (128,5/10 mil habitantes) mais que dobrou em relação ao estudo anterior, concluindo os autores que pioraram os indicadores epidemiológicos da LTA no Estado do Acre.

Atualmente, este cenário pouco mudou e a doença ainda é prevalente na mesorregião Vale do Acre. No entanto, apesar de indivíduos do sexo masculino ainda serem os mais acometidos, observa-se um aumento de notificações em mulheres e em crianças, o que indica perfis de transmissão distintos. Nos homens geralmente a transmissão está associada a ambientes florestais, enquanto que em mulheres e crianças, ao domicílio (MELCHIOR et al., Dados a serem publicados).

No Estado do Acre, a partir de técnica moleculares, foram descritas todas as espécies de *Leishmania* do subgênero *Viannia* e *L. (L.) amazonensis*, que ocorrem no Brasil, exceto *L. (V.) lindenbergi*, descrita no estado do Pará (TOJAL et al., 2006; TELES et al., 2015).

1.3 Diagnósticos de leishmaniose tegumentar americana

No diagnóstico da LTA, vários aspectos, tais como, a clínica e a anamnese do paciente, a epidemiologia da doença na área e os achados laboratoriais devem ser levados em consideração (DORVAL et al., 2006).

O método laboratorial parasitológico direto consiste na visualização de formas amastigotas, em lâminas coradas pelo Giemsa, de material obtido a partir de escarificação e/ou biópsia de lesões cutâneas, com impressão por aposição ou punção aspirativa das bordas da lesão. Este procedimento é um dos mais empregados na rede pública de saúde, por ser de baixo custo, entretanto, a eficácia do diagnóstico se dá pela precocidade na colheita do material, e ainda a infecção secundária contribui para baixa sensibilidade do método (BRASIL, 2013).

Além da demonstração de formas amastigotas em lesões, também pode ser realizado o isolamento *in vivo*, que consiste na inoculação do material obtido das biopsias de lesão cutânea em hamsters (*Mesocricetus auratus*) os quais desenvolvem lesões a partir de um mês,

e devem ser acompanhados de três a seis meses. O isolamento *in vitro*, em que os fragmentos cutâneos são inoculados em meios de cultura NNN (Neal, Novy e Nicolle) e LIT (Liver Infusion Tryptose) em que as formas promastigotas dos parasitos se multiplicam bem. Estas técnicas, posteriormente permitem a identificação específica da *Leishmania*, porém são de alto custo e geralmente são utilizados em projetos de pesquisa científica (BRASIL, 2013).

Os métodos indiretos incluem-se o exame histopatológico, considerado positivo quando encontrado perfil histopatológico compatível com LTA, e os métodos imunológicos, como a Intradermorreação de Monte Negro (IDRM), que é uma reação de hipersensibilidade tardia. Este teste, embora, podendo persistir sua positividade no paciente depois de tratado. É uma técnica recomendada pelo Ministério da Saúde, e frequentemente utilizada nos inquéritos epidemiológicos e na rede pública de saúde (BRASIL, 2013). Em média, o teste apresenta uma sensibilidade de 82 a 89 % em casos de leishmaniose cutânea, e 100% na mucocutânea, e apresenta-se negativo nos casos de leishmaniose difusa anérgica. Ressalta-se que esta técnica, não define infecção tardia ou recente, sendo uma ferramenta diagnóstica questionável quando aplicada em áreas endêmicas da doença (GOTO e LINDOSO, 2010). Além disso, são relatadas reações cruzadas com outras dermatoses como a paracoccidiose, cromomicose, esporotricose e tuberculose; alerta-se, portanto, para o diagnóstico diferencial onde essas endemias ocorrem em simpatria (BARROS et al., 2005; BRASIL, 2013).

Dos métodos sorológicos, a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e o teste imunoenzimático (ELISA) são os mais utilizados, com sensibilidade variando de 70 a 95%, sendo eficazes no diagnóstico precoce nas formas clínicas mucocutâneas. Destaca-se que nestes testes, a sensibilidade é maior quando a doença tem por agente etiológico *L. (V.) braziliensis* do que por *L. (V.) guyanensis* (BARROSO-FREITAS et al., 2009; GOTO e LINDOSO, 2010; BRASIL, 2013). Estes testes são bem empregados em controle de cura da doença, após o tratamento (SOUZA et al., 1982). Em áreas onde a LV é endêmica, têm sido observadas reações cruzadas com doença de Chagas, por serem parasitos do mesmo grupo específico (MATOS et al., 2015). O Ministério da Saúde recomenda que não seja utilizada a técnica de RIFI como critério de confirmação do diagnóstico de LTA, pelo seu limitado valor diagnóstico, devendo ser associada a outras técnicas diagnósticas (BRASIL, 2013).

Atualmente, a reação em cadeia da polimerase (PCR) tem sido apontada como uma importante ferramenta no diagnóstico das leishmanioses. É de alta sensibilidade no diagnóstico de LTA, e permite a identificação específica do agente (MIMORI et al., 1998;

PIRMEZ et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2005). No entanto, é uma técnica que requer preparo técnico do operador, alto custo, sendo geralmente empregada em atividades de pesquisa.

1.4 Os flebotomíneos

Os flebotomíneos são insetos da ordem Diptera, família Psychodidae e subfamília Phlebotominae. Além de serem vetores de agentes etiológicos de leishmanioses, podem transmitir agentes de arboviroses e bartoneloses (SHERLOCK, 2003). Outros microorganismos também já foram relatados infectando flebotomíneos tais como tripanossomatídeos dos gêneros *Endotrypanum* e *Trypanosoma*, protozoários do filo Apicomplexa, *Ascogregarina* e *Psychodiella* e nematódeos (BRAZIL e RYAN, 1984; ARIAS et al. 1985; SHAW et al., 2003; LANTOVA e VOLF, 2014; FERREIRA et al., 2015; ROCHA et al., 2015). Estes insetos possuem ampla distribuição geográfica, sendo conhecidas aproximadamente 1.000 espécies, 530 delas encontradas no Novo Mundo. Destas, cerca de 56 espécies são consideradas vetoras de agentes etiológicos de leishmanioses nas Américas. No Brasil, em termos de riqueza de espécies, a fauna de flebotomíneos da Amazônia é considerada uma das mais diversas do mundo (MAROLI et al., 2012; BRAZIL et al., 2015; GALATI, 2016).

Esses dípteros holometábolos com 1 a 3 mm de tamanho, geralmente são de cor clara e apresentam corpo revestido por cerdas. Seus ciclos passam pelas fases de ovo, larva (quatro estádios), pupa e adulto, e a duração de cada estágio varia de acordo com a espécie, condições ambientais e alimentares a que estão expostos (YOUNG e DUNCAN, 1994; BRAZIL e BRAZIL, 2003).

Nas suas formas imaturas, os locais com bom teor de umidade, matéria orgânica em decomposição, pouca ou nenhuma luz, abrigos para que possam se proteger das instabilidades do ambiente, são ideais para seu desenvolvimento. As formas aladas tendem a não se afastarem de seus criadouros. Geralmente, nos ambientes silvestres, buscam locais como abrigos e tocas de animais, troncos de árvores e folhagens. No ambiente peridoméstico estão associados a chiqueiros e galinheiros, onde há a fonte alimentar e abrigo. Os locais de criação desses insetos são ainda pouco conhecidos, merecendo estudos aprofundados para obter resultados mais concretos. Algumas espécies podem apresentar especificidades conforme seus habitats, muito frequentemente em troncos de árvores e tocas de animais ao nível do solo em florestas, várias podem frequentar copas de árvores e outras têm hábito cavernícola, definindo

então, seu comportamento e preferências alimentares (AGUIAR e VILELA, 1987; AGUIAR e MEDEIROS, 2003; BRAZIL e BRAZIL, 2003; GALATI et al., 2003).

Na dieta desses insetos, tanto machos quanto fêmeas necessitam de açúcares, geralmente provenientes de seiva vegetal, porém somente a fêmea é hematófaga. O sangue dos hospedeiros vertebrados é necessário para maturação ovariana, e daí a sua importância na transmissão de patógenos. Na literatura, há relato de sangue no tubo digestivo de machos, que em geral se alimentam de seiva de plantas (GONTIJO et al., 1987; DA SILVA e GRÜNEWALD, 1999; SHERLOCK, 2003).

Com relação ao período de atividade dos flebotomíneos, geralmente, são insetos de hábitos noturnos. No entanto, algumas espécies podem ter hábitos tanto diurno quanto noturno, como *Lutzomyia almerioi* Galati & Nunes, 1999 em cavernas da Serra da Bodoquena (MS), e para *Nyssomyia umbratilis* na Amazônia (GALATI et al., 2003; BRAZIL e BRAZIL, 2003).

1.5 Justificativa

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é um importante problema de saúde pública no Estado do Acre, e vem apresentando insucesso no controle ou êxito parcial dessa doença, pois possui padrões de transmissões complexos relacionados a determinantes ambientais, sociais, econômicos ou a outros desconhecidos. E são, portanto, necessárias investigações objetivando o conhecimento de aspectos relacionados à interação parasito(s) – vetor(es) – hospedeiro(s), com vistas à identificação da espécie do agente(s) etiológico(s), do(s) vetor(es), do(s) reservatório(s) e a(s) modalidade(s) de transmissão, para a construção de estratégias de controle flexíveis, distintas e adequadas aos diferentes contextos de ocorrência desses importantes agravos.

São diversos os fatores responsáveis pelo aumento de casos da doença, principalmente nas regiões mais pobres e isoladas, onde a situação socioeconômica, em que pessoas carentes estão em condições precárias de vida, de trabalho e saneamento. Soma-se a ausência de educação ambiental, com o acúmulo de lixo e material orgânico no peridomício, atraindo animais sinantrópicos que podem servir de fonte de infecção de *Leishmania*. Completam este quadro, a criação de numerosos animais domésticos no entorno das casas próximas às matas, servindo de fonte alimentar para os flebotomíneos, contribuindo assim para o processo

adaptativo de vetores (RANGEL et al., 1984; 1995) e possibilitando a instalação de um ciclo de transmissão peridomiciliar do parasita.

No Acre, a LTA juntamente com a malária e a dengue figuram como as principais doenças tropicais de importância em saúde pública do Estado. O município de Xapuri, área objeto deste estudo, é um dos municípios responsáveis pela maior incidência e prevalência de LTA no Acre e o grande número de notificações em crianças com idade inferior a três anos chama a atenção dos órgãos de saúde locais. Quando iniciamos o projeto de doutorado, tínhamos em mente desenvolver um estudo sobre a LTA no Acre. Entramos em contato com a Secretaria de Saúde do Estado do Acre (SESACRE) para nos interar sobre as áreas com frequências elevadas da doença e este órgão nos solicitou que fossem realizados inquéritos entomológicos, a fim de se conhecer a fauna flebotomínea e seu comportamento em Xapuri, razão da parceria com este órgão para a realização deste estudo naquela região.

Assim, considerando a endemicidade da LTA no Estado do Acre aliada à necessidade do diagnóstico etiológico dos casos, do conhecimento de aspectos epidemiológicos locais, da identificação das espécies de flebotomíneos envolvidas na transmissão, e que as estratégias de controle dessa parasitose dependem da natureza da transmissão observada em cada foco da doença, o estudo visa fornecer informações relativas a essas necessidades para o planejamento e desenvolvimento de ações que possam reduzir o risco de transmissão e dispersão da LTA no município de Xapuri.

5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

5.1 Quanto ao inquérito humano

- Os resultados neste trabalho demonstram que Xapuri é um importante município na contribuição no aumento dos índices de incidência e prevalência no Estado do Acre, atingindo principalmente crianças, adolescentes e jovens adultos de ambos os sexos, o que sugere que os perfis de transmissão silvestre, o peri e intradomiciliar são bem estabelecidos na região;
- A forma clínica cutânea é a mais prevalente, no entanto, observam-se alguns casos de mucocutânea e de recidiva. Apesar dos esforços dos serviços de saúde local, a população tem dificuldades no acesso ao tratamento devido residirem em áreas distantes na área urbana do município;
- Detectou-se a presença de *Leishmania* spp. circulante em humanos da região, na maioria em crianças e adolescentes residentes em áreas rurais e florestais.

5.2 Quanto ao inquérito canino

- Verificou-se que os cães da região tem estreita ligação com as áreas florestais e em atividades de caça, onde co-existem vetores e reservatórios de *Leishmania* spp.;
- Detectou-se alta taxa de infecção em cães domésticos com a presença de *Leishmania* spp. circulantes nesses animais;
- Alerta-se ao fato da convivência de cães doentes e a ocorrência de casos humanos, nos quais esses animais podem manter a circulação do parasito no ambiente peridomicilar.

5.3 Quanto ao inquérito dos flebotomíneos

- A fauna flebotomínea do município de Xapuri compõe-se de 67 espécies, com predomínio de espécimes dos gêneros *Psychodopygus*, *Nyssomyia* e *Trichophomyia* e espécies vetoras, coletadas no ambiente silvestre como no peri e intradomiciliar;
- A maior diversidade de espécies se deu em áreas de florestas primárias do Seringal Cachoeira, local de práticas de atividades de extrativismo vegetal e ecoturismo;
- Várias espécies da fauna flebotomínea foram coletadas com armadilhas de Shannon que tendem a atrair aquelas antropofílicas, sendo *Ny. whitmani* e *Ps. davisii* estatisticamente significante mais atraídas pela armadilha de Shannon branca do que na preta;

- No Estado do Acre, o período chuvoso é mais prolongado que o seco. Observou-se alta densidade populacional de espécies do gênero *Psychodopygus* nos meses chuvosos e de *Ny. shawi* nos meses secos. *Trichophoromyia* spp. (= *Th. auraensis* / *Th. ruifreitasi*) foram coletadas em grande densidade em ambos os períodos. Apesar do intervalo de estudo ter sido de dois anos consecutivos, uma grande enchente no Estado ocorreu em fevereiro de 2015, impossibilitando as coletas. Foi portanto, um ano atípico e são necessários estudos com um período mais prolongado para se estabelecer melhor o período de maior risco de infecção à população humana;
- Verificou alta frequência da espécie *Trichophoromyia* spp. (= *Th. auraensis* / *Th. ruifreitasi*) no ambiente peri e intradomiciliar, sugerindo que esta espécie seja vetora na transmissão de *Leishmania* spp. nesse ambiente;
- Na localidade, uma nova espécie de flebotomíneo foi descrita, *Psathyromyia elizabethdorvalae* Brilhante, Sábio & Galati, e a fêmea de *Pa. pifanoi* (Ortiz). Dentre as espécies coletadas há a necessidade de mais estudos taxonômicos quanto às espécies do gênero *Trichophoromyia* e *Evandromyia* série *saulensis*, demonstrando que em Xapuri ainda poderão ser descritas novas espécies de flebotomíneos;
- Verificou-se mudanças na diversidade de espécies de acordo com a modalidade de coleta. Portanto, outras metodologias de coleta de flebotomíneos são necessárias para se estabelecer a diversidade de espécies de flebotomíneos em Xapuri;
- Detectou-se a circulação de *Leishmania* spp., principalmente do subgênero *Viannia*, nas espécies *Brumptomyia* sp., *Ny. antunesi*, *Ny. shawi*, *Lu. sherlocki*, *Ps. carrerai carrerai*, *Ps. davisi*, *Ps. hirsutus hirsutus*, *Ps. lainsoni*, *Ps. llanosmartinsi*, *Pa. aragaoi*, *Th. ubiquitalis* e *Trichophoromyia* sp., o que demonstra que várias espécies podem estar atuando na transmissão, algumas delas apenas entre reservatórios como é o caso de *Brumptomyia* sp. e *Pa. aragaoi*, não antropofílicas, mas a maioria com informações prévias de sua antropofilia. Portanto, nos achados de infecção natural por *Leishmania* spp. aqui apresentados têm-se indicativos de ciclos de transmissão enzoóticos e domiciliar de *Leishmania*.
- Pelo fato de ocorrer diversas espécies de vetores e de *Leishmania* na região, a população está sob risco de adquirir diferentes tipos desses parasitos, que a depender da resposta imune ou da virulência da cepa, pode resultar em estabelecimento da doença ou não.

5.4 Recomendações

- Este projeto contribuiu para o melhor conhecimento da dinâmica de transmissão de leishmaniose tegumentar americana em Xapuri. Estas informações podem nortear as medidas de controle, planejamento das ações e definição de prioridades dos órgãos de vigilância e epidemiologia do Estado do Acre.
- Recomenda-se que os serviços de vigilância realizem atividades de controle de vetores nas áreas de ocorrência da doença, principalmente aquelas que são próximas às matas e com criações de animais domésticos no entorno.
- São necessárias campanhas de educação em saúde a população humana de Xapuri, visando o diagnóstico precoce e tratamento dos casos.

REFERÊNCIAS

ACRE. **Governo do Estado do Acre.** 2016. Disponível em: <http://www.ac.gov.br/wps/portal/acre/Acre/estado-acre/municipios>

AGUIAR, G.M.; MEDEIROS, W.M. Distribuição e hábitats. In: Rangel EF, Lainson R, orgs. *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz; p. 207-255, 2003.

AGUIAR, G.M.; VILELA, M.L. Aspects of the ecology of sandflies at Serra dos Órgãos National Park, State of Rio de Janeiro. VI Shelters and breeding places (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 82, n. 4, p. 585-586, 1987.

ANDRADE, A.R.O.; NUNES, V.L.B.; GALATI, E.A.B.; CARDOZO, C.; SANTOS, M.F.C.; ROCCA, M.E.G.; AQUINO, R.B. Epidemiological study on leishmaniasis in an area of environmental tourism and ecotourism, State of Mato Grosso do Sul, 2006-2007. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 5, p. 488-493, 2009.

ARAUJO-PEREIRA, T.; FUZARI, A.A.; ANDRADE FILHO, J.D.; PITA-PEREIRA, D.; BRITTO, C.; BRAZIL, R.P. Sand fly fauna (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in an area of leishmaniasis transmission in the municipality of Rio Branco, state of Acre, Brazil. **Parasite & Vectors**, v. 7, n. 360, p. 2-5, 2014.

ARIAS, J.R.; FREITAS, R.A. The known geographical distribution of sand flies in the state of Acre, Brazil (Diptera: Psychodidae). **Acta Amazonica**, v. 12, p. 401-408, 1982.

ARIAS, J.R.; FREITAS, R.A.; NAIFF, R.D.; BARRETT, T.V. Observation on the parasite *Leishmania mexicana amazonensis* and its natural infection of the sandfly *Lutzomyia olmeca nociva*. **PAHO Bulletin**, v. 21, n. 1, p. 48-54, 1987.

ARIAS, J.R.; MILES, M.A.; NAIFF, R.D.; POVOA, M.M.; FREITAS, R.A.; BIANCARDI, C.B.; CASTELLON, E.G. Flagellate infections of Brazilian sand flies (Diptera: Psychodidae): isolation in vitro and biochemical identification of *Endotrypanum* and *Leishmania*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 34, n. 6, p. 1098-1108, 1985.

ARIAS, J.R.; NAIFF, R.D.; MILES, M.A.; SOUZA, A.A. The opossum *Didelphis marsupialis* (Marsupialia: Didelphidae) as a reservoir host of *Leishmania brasiliensis guyanensis* in the Amazon Basin of Brazil. **Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, p. 537-41, 1981.

ASHFORD, R.W. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. **International Journal of Parasitology**, v. 30, p. 269-1281, 2000.

AZEVEDO, A.C.R.; SOUZA, N.A.; MENESES, C.R.V.; COSTA, W.A.; COSTA, S.M.; LIMA, J.B.; RANGEL, E.F. Ecology of Sand Flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the North of the State of Mato Grosso, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 4, p. 459-464, 2002.

AZEVEDO, A.C.R.; COSTA, S.M.; PINTO, M.C.G.; SOUZA, J.L.; CRUZ, H.C.; VIDAL, J.; RANGEL, E.F. Studies on the sandfly fauna (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) from transmission areas of American Cutaneous Leishmaniasis in state of Acre, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 8, p. 760-767, 2008.

BADARÓ, R.; DUARTE, M.I.S. Leishmaniose visceral. In: Veronesi R, Focaccia R, eds. **Tratado de Infectologia**. 2ª Ed. São Paulo: Atheneu; p. 1254-1279, 2002.

BARROS, M.B.L.; SCHUBACH, A.; FRANCESCONI, A.C.V.; GUTIERREZ-GALHARDO, M.C.; SCHUBACH, T.M.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; SALGUEIRO, M.S.; MOUTA-CONFORT, E.; REIS, R.S.; MADEIRA, M.F.; CUZZI, T.; QUITELLA, L.P.; PASSOS, J.P.S.; CONCEIÇÃO, M.J.; MARZOCHI, M.C.A. Positive Montenegro skin test among patients with sporotrichosis in Rio de Janeiro. **Acta Tropica**, v. 93, p. 41-47, 2005.

BARROSO-FREITAS, A.; PASSOS, S.R.; MOUTA-CONFORT, E.; MADEIRA, M.F.; SCHUBACH, A.O.; SANTOS, G.P.; NASCIMENTO, L.D.; MARZOCHI, M.C.; MARZOCHI, K.B. Accuracy of an ELISA and indirect immunofluorescence for the laboratory diagnosis of American tegumentary leishmaniasis. **Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, p. 383-389, 2009,

BASANO, A.S.; CAMARGO, L.M.A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, p. 328-337, 2004.

BRANDÃO-FILHO, S.P.; BRITO, M.E.; CARVALHO, F.G.; ISHIKAWA, E.A.; CUPOLILLO, E.; FLOETER-WINTER, L.; SHAW, J.J. Wild and synanthropic hosts of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in the endemic cutaneous leishmaniasis locality of Amaraji, Pernambuco state, Brazil. **Transactions of Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**. 97, 291–296, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**, Brasília-DF, 2ªed. atualizada. 3ª reimpressão, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**, Brasília-DF, 1ª ed. 5ª reimpressão, 2014.

BRAZIL, R.P.; BRAZIL, B.G. Bionomia, Biologia dos flebotomíneos neotropicais. In: Rangel E. F., Lainson, R. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz, p. 257-274, 2003.

BRAZIL, R.P.; RODRIGUES, A.A.F.; ANDRADE FILHO, J.D. Sand fly vectors of *Leishmania* in the Americas – A mini review. **Entomology, Ornithology and Herpetology**. v. 4, p. 1–4, 2015.

BRAZIL, R.P.; RYAN, L. Nota sobre a infecção de *Lutzomyia evandroi* (Diptera: Psychodidae) por *Ascocystis chagasi* (Adler & Mayrink, 1961) no Estado do Maranhão. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 79, p. 375-376, 1984.

BRILHANTE, A.F.; NUNES, V.L.B.; KOHASTU, K.A.; GALATI, E.A.B.; ROCCA, M.E.G.; ISHIKAWA, E.A.Y. Natural infection of phlebotomines (Diptera: Psychodidae) by *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in an area of ecotourism in Central-Western Brazil. **The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 21, p. 1-3, 2015.

BRILHANTE, A.F.; SOUZA, A.I.; DORVAL, M.E.C.; FRANÇA, A.O.; LIMA, R.B.; GALATI, E.A.B. NUNES, V.L.B. Canine cutaneous leishmaniasis by *Leishmania (Viannia) braziliensis* in an agricultural settlement, endemic area for leishmaniasis. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 4, p. 927-930, 2016.

BRILHANTE, A.F.; SÁBIO, P.B.; GALATI, E.A.B. A New Species of Sand Fly, *Psathyromyia elizabethdorvalae* sp. n. (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), From Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 54, n. 1, p. 76-81, 2017.

BRUDFORD, M.; HANOTTE, O.; BROOKFIELD, J.F.Y.; BURKE, T. **Multilocus and single locus DNA fingerprinting**. Molecular genetic analysis of populations: a practical approach. 2nd edition, IRL, Press Oxford, UK, p. 287-336, 1998.

CASTRO, E.A.; SOCCOL, V.T.; AUGUR, C.; LUZ, E. *Leishmania (Viannia) braziliensis*: Epidemiology of canine cutaneous leishmaniasis in the State of Paraná (Brazil). **Experimental Parasitology**, v. 117, p. 13-21, 2007.

CÓRDOVA, O.; VARGAS, F.; HASHIGUCHU, Y.; KATO, H.; GÓMEZ, E. Identificación de especies de *Leishmania* en pacientes y flebotominos em áreas de transmisión en una región del Peru. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica**, v. 28, n. 3, p. 446-453, 2011.

CRUZ, O. “Algumas moléstias parasitárias”. In: **Gazeta Médica da Bahia**. Salvador. v. 47, p. 149 – 172, 1915.

CUMMING, J. M.; WOOD, D.M Adult morphology and terminology, pp. 9–502. In: Brown, B.V., Borkent, A., Cumming, J. M., Wood, D.M., Woodley, N.E. and Zumbado, M. A., Eds. **Manual of Central American Diptera**, Volume 1. National Research Council of Ottawa, Canada, 2009.

DA CRUZ, A.M., PIRMEZ, C. Leishmaniose Tegumentar Americana. In: José Rodrigues Coura (ed). **Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; p. 697-712, 2005.

DA SILVA, O.S.; GRÜNEWALD, J. Natural haematophagy of male Lutzomyia sandflies (Diptera: Psychodidae). **Medical and Veterinary Entomology**. v. 13, n. 4, p. 465-466, 1999.

DANTAS-TORRES, F. The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on *Leishmania (Leishmania) infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Veterinary Parasitology**, v. 149, p. 139-146, 2007.

DE LIMA, H.; DE GUGLIELMO, Z.; RODRÍGUEZ, A.; CONVIT, J.; RODRIGUEZ, N. Cotton rats (*Sigmodon hispidus*) and black rats (*Rattus rattus*) as possible reservoirs of *Leishmania* spp. in Lara state, Venezuela. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 2, p. 169-174, 2002.

DESBOIS, N.; PRATLONG, F.; QUIST, D.; DEDET, J.P. *Leishmania (Leishmania) martiniquensis* n. sp. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), description of the parasite responsible for cutaneous leishmaniasis in Martinique Island (French West Indies). **Parasite**, v. 21, p. 12, 2014.

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

DORVAL, M.E.M.C.; ALVES, T.P.; CRISTALDO, G.; ROCHA, H.C.; ALVES, M.A.; OSHIRO, E.T.; OLIVEIRA, A.G.; BRAZIL, R.P.; GALATI, E.A.B.; CUNHA, R.V. Sand fly captures with Disney traps in area of occurrence of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in the State of Mato Grosso do Sul, mid-western Brazil. **Revista Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 5, p.491-495, 2010.

DORVAL, M.E.M.C.; OSHIRO, E.T.; CUPOLLILO, E.; CASTRO, A.C.C.; ALVES, T.P. Ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Estado do Mato Grosso do Sul associada à infecção por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, p. 43-46, 2006.

DORVAL, M.E.C.; OSHIRO, E.T.; BRILHANTE, A.F.; NUNES, V.L.B.; CRISTALDO, G.; LIMA-JÚNIOR, M.S.C.; GALATI, E.A.B. Sandflies in an urban area of transmission of visceral leishmaniasis in midwest Brazil. **Parasite**, v. 23, p. 35, 2016.

DUARTE, A.F. Aspectos da climatologia do Acre, Brasil, com base no intervalo de 1971-2000. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 3, p. 308-317, 2006.

ESPINOSA, O.A.; SERRANO, M.G.; CAMARGO, E.P.; TEIXEIRA, M.M.G.; SHAW, J.J. An appraisal of the taxonomy and nomenclature of trypanosomatids presently classified as *Leishmania* and *Endotrypanum*. **Parasitology**, doi: 10.1017/S0031182016002092, p. 1-13, 2016.

FAGUNDES-SILVA, G.A.; ROMERO, G.A.S.; CUPOLLILO, E.; YAMASHITA, E.P.G.; GOMES-SILVA, A.; GUERRA, J.A.O.; DA CRUZ, A.M. *Leishmania (Viannia) naiffi*: rare enough to be neglected? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 6, p. 796-800, 2015.

FERREIRA, T.S.; MINUZZI-SOUSA, T.T.C.; ANDRADE, A.J.; COELHO, T.O.; ROCHA, D.A.; OBARA, M.T.; HECHT, M.; NITZ, N.; GURGEL-GONÇALVES, R. Molecular detection of *Trypanosoma* sp. and *Blastocrithidia* sp. (Trypanosomatidae) in phlebotomine sand flies (Psychodidae) in the Federal District of Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. 6, p. 776-779, 2015.

FOUQUE, F.; GABORIT, P.; ISSALY, J.; CARINCI, R.; GANTIER, J.C.; RAVEL, C.; DEDET, J.P. Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) associated with changing patterns in the transmission of the human cutaneous leishmaniasis in French Guiana. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, p. 35–40, 2007.

GALATI, E.A.B. Classificação de Phlebotominae, in: Rangel E. F. & R. Lainson. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz; 2003, p. 23–51.

GALATI, E.A.B. **Phlebotominae (Diptera, Psychodidae): classificação, morfologia, terminologia e identificação de adultos** [apostila]. Vol. 1. São Paulo: USP; 2016.

GALATI, E.A.B.; MARASSÁ, A.M.; GONÇALVES-ANDRADE, R.M.; BUENO, E.F.M.; PAIVA, B.R.; MALAFONTE, R.S. *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva) and *Nyssomyia neivai* (Pinto) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in a sympatric area: seasonal and nocturnal hourly rhythm in black and white modified Shannon traps. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, n. 4, p. 677–686, 2010.

GALATI, E.A.B.; NUNES, V.L.B.; BOGGIANI, P.C.; DORVAL, M.E.C.; CRISTALDO, G.; ROCHA, H.C.; OSHIRO, E.T.; GONÇALVES-DE-ANDRADE, M.R.; NAUFEL, G. Phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in caves of the Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 47, n. 2, p. 283-296, 2003.

GALATI, E.A.B.; NUNES, V.L.B.; DORVAL, M.E.C.; CRISTALDO, G.; ROCHA, H.C.; GONÇALVES-ANDRADE, R.M.; NAUFEL, G. Attractiveness of black Shannon trap for phlebotomines. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 641-647, 2001.

GIL, L.H.S.; ARAÚJO, M.S.; VILLALOBOS, J.M.; CAMARGO, L.M.A.; OZAKI, L.S.; FONTES, C.J.F.; RIBOLLA, P.E.M.; KATSURAGAWA, T.H.; CRUZ, R.M.; SILVA, A.A.; SILVA, L.H.P. Species structure of sand fly (Diptera: Psychodidae) fauna in the Brazilian western Amazon. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 7, p. 955-959, 2009.

GIL, L.H.S.; BASANO, S.A.; SOUZA, A.A.; SILVA, M.G.S.; BARATA, I.; ISHIKAWA, E.A.; CAMARGO, L.M.A.; SHAW, J.J. Recent observations on the sand fly (Diptera: Psychodidae) fauna of the state of Rondônia, Western Amazônia, Brazil: the importance of *Psychodopygus davisi* as a vector of zoonotic cutaneous leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, v. 6, p. 751-755, 2003.

- GODOY, R.E.; GALATI, E.A.B. Revalidation of *Nyssomyia fraihai* (Martins, Falcão & Silva 1979) (Diptera: Psychodidae). **Journal of Medical Entomology**, tjl108, p. 1–9, 2016.
- GOMES, A.C. Perfil epidemiológico da leishmaniose tegumentar no Brasil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 67, n. 2, p. 55-60, 1992.
- GONTIJO, C.M.F.; MELO, M.N. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.
- GONTIJO, C.M.F.; COELHO, M.V.; FALCÃO, A.L. The finding of one male specimen of *Lutzomyia renei* (Martins, Falcão & Silva, 1957) experimentally infected by *Leishmania*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 82, n.3, p. 445, 1987.
- GOTO, H.; LINDOSO, J.A.L. Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 8, n. 4, p. 419-433, 2010.
- GRIMALDI JR, G.; MOMEN, H.; NAIFF R.D.; MCMHON-PRATT, D.; BARRETT, T.V. Characterization and classification of leishmanial parasites from humans, wild mammals, and sand flies in the Amazon Region of Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 44, p. 645-661, 1991.
- GUERRA J.A.O.; PRESTES, S.R.; SILVEIRA, H.; COELHO, L.A.R.C.; GAMA, P.; MOURA, A.; AMATO, V.; BARBOSA, M.G.V.; FERREIRA, L.C.L. Mucosal Leishmaniasis caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Viannia) guyanensis* in the Brazilian Amazon. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 3, e980, 2011.
- HADDOW, A.J. Studies on the biting habits and medical importance of East African mosquitos in the genus *Aedes*. I - Sugenera *Aedimorphus*, *Banksinella* and *Dunnius*. **Bulletim of Entomology Research**, v. 50, p. 759-779, 1960.
- IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Anuário Estatístico do Brasil 2016. Disponível em: www.ibge.gov.br
- ILANGO, K. Phylogeny of the Old World phlebotomine sandflies (Diptera, Psychodidae) with special reference to structural diversity of female spermathecae. **Oriental Insects**. v. 38, p. 419–462, 2004.

JENNINGS, Y.L.; SOUZA, A.A.A.; ISHIKAWA, E.A.Y.; SHAW, J.J. LAINSON, R.; SILVEIRA, F. Phenotypic characterization of *Leishmania* spp. Causing cutaneous leishmaniasis in the lower Amazon region, western Pará state, Brazil, reveals a putative hybrid parasite, *Leishmania (Viannia) guyanensis* x *Leishmania (Viannia) shawi*. **Parasite**, v. 21, p. 39, 2014.

JOGAS JUNIOR, D.G. **A Leishmaniose Tegumentar no Amazonas e a construção do campo científico da medicina tropical no Brasil..** In: XXVII Simpósio Nacional de História, 2013, Natal. Anais do XXVII Simpósio Nacional de História, 2013.

JOGAS JUNIOR, D.G. **Alfredo da Matta e as leishmanioses no Amazonas.** Anais do XVI Encontro Regional de História da Anpuh-Rio: Saberes e práticas científicas, 28 de julho a 01 de agosto de 2014. ISBN: 978-85-65957-03-8, p. 1-13, 2014.

KATO, H.; BONE, A.E.; MIMORI, T.; HASHIGUCHI, K.; SHINGUANCHO, G.F.; GONZALES, S.V.; VELEZ, L.N.; GUEVARA, A.G.; GOMEZ, E.A.; HASHIGUCHI, Y. First human cases of *Leishmania (Viannia) lainsoni* infection and a search for the vector sand flies in Ecuador. **PLoS Neglected and Tropical Diseases**, v. 10, n. 5, e0004728, 2016.

KATO, H.; CALVOPIÑA, M.; CRIOLLO, H.; HASHIGUCHI, Y. First human cases of *Leishmania (Viannia) naiffi* infection in Ecuador and identification of its suspected vector species. **Acta Tropica**, v. 128, p. 710–713, 2013.

KATO, H.; GOMEZ, E.A.; YAMAMOTO, Y.; CALVOPIÑA, M.; GUEVARA, A.G.; MARCO, J.D., BARROSO, P.A.; IWATA, H.; HASHIGUCHI, Y. Natural infection of *Lutzomyia tortura* with *Leishmania (Viannia) naiffi* in an Amazonian area of Ecuador. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, p. 438–440, 2008.

KERR, S.F.; EMMONS, L.H.; MELBY, P.C.; LIU, C.; PEREZ, L.E.; VILLELAS, M.; MIRANDA, R. *Leishmania amazonensis* infections in *Oryzomys acritus* and *Oryzomys nitidus* from Bolivia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 6, p. 1069-1073, 2006.

KOARASHI, Y.; CÁCERES, A.G.; SACA, F.M.; FLORES, E.E.; TRUJILLO, A.C.; ALVARES, J.L.; YOSHIMATSU, K.; ARIKAWA, J.; KATAKURA, K.; HASHIGUCHI, Y.; KATO, H. Identification of causative *Leishmania* species in Giemsa-stained smears prepared

from patients with cutaneous leishmaniasis in Peru using PCR-RFLP. **Acta Tropica**, v. 158, p. 83-87, 2016.

LAINSON R. Leishmania e leishmaniose, com particular referência à região amazônica do Brasil. **Revista Paraense de Medicina**, v. 11, n. 1, p. 29-40, 1997.

LAINSON R.; SHAW, J.J. Evolution, classification and geographical distribution. In: Peter W, Killick-kendrick R (eds). **The Leishmaniasis in Biology and Medicine**. London: Academic Press; p. 1-120, 1987.

LAINSON, R. The Neotropical *Leishmania* species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. **Revista Pan-Amazônica de Saude**, v. 1, n. 2, p. 13-32, 2010.

LAINSON, R.; SHAW, J.J. *Leishmania (Viannia) naiffi* sp. n., a parasite of the armadillo, *Dasypus novemcinctus* (L.) in Amazonian Brazil. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparee**, v. 64, p. 3-9, 1989.

LAINSON, R.; SHAW, J.J. Leishmaniasis in Brazil: I. Observations on enzootic rodent leishmaniasis – incrimination of *Lutzomyia flaviscutellata* (Mangabeira) as the vector in the Lower Amazonian Basin. **Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 62, p. 385-395, 1968.

LAINSON, R.; SHAW, J.J. New World Leishmaniasis. In: FEG Cox, JP Kreir, D Wakelin (eds). **Microbiology and Microbial Infections, Parasitology**. Topley& Wilson's, Arnold, Sydney, Auckland; p.313-349, 2005.

LAINSON, R.; SHAW, J.J.; SILVEIRA, F.T.; DE SOUZA, A.A.A.; BRAGA, R.R.; ISHIKAWA, E.A.Y. The dermal leishmaniasis of Brazil, with special reference to the Eco-epidemiology of the disease in Amazonia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, p. 435-43, 1994.

LAINSON, R.; SHAW, J.J.; SOUZA, A.A.A.; SILVEIRA, F.T.; FALQUETO, A. Further observations on *Lutzomyia ubiquitalis* (Psychodidae: Phlebotominae), the sand fly vector of *Leishmania (Viannia) lainsoni*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, p. 437-439, 1992.

LANTOVA, L.; VOLF, P. Mosquito and sand fly gregarines of the genus *Ascogregarina* and *Psychodiella* (Apicomplexa: Eugregarinorida, Aseptatorina) – Overview of their taxonomy, life cycle, host specificity and pathogenicity. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 28, p. 616-627, 2014.

LAZARI, P.; ALMEIDA, A.B.P.F.; DUTRALL, V.; NAKAZATOLL, L.; LIMA, A.F.; DIAS, R.; BRITO, V.N.; OLIVEIRA, C.M.; SOUSA, V.R.F. *Leishmania chagasi* in dogs from the city of Jaciara, Mato Grosso, Brazil. **Ciência Rural**, v. 46, n. 2, p. 315-317, 2016.

LE PONT, F.; BRENIERE, R.S.; MOUCHET, J.; DESJEUX P. Leishmaniose en Bolivie. III. *Psychodopygus carrerai carrerai* (Barretto, 1946) nouveau vecteur de *Leishmania braziliensis braziliensis* en milieu sylvatique de région subandine basse. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences III**, v. 307, p. 279-282, 1988.

LEONARDO, F.S.; REBÊLO, J.M.M. A periurbanização de *Lutzomyia whitmani* em área de foco de leishmaniose cutânea, no Estado do Maranhão, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n. 3, p. 282-284, 2004.

LIMA-JUNIOR, M.S.C.; ANDREOTTI, R.; DORVAL, M.E.C.; OSHIRO, E.T.; OLIVEIRA, A.G.; MATOS, M.F.C. Identificação de espécies de *Leishmania* isoladas de casos humanos em Mato Grosso do Sul por meio da reação em cadeia da polimerase. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 3, p. 303-308, 2009.

LUCAS, C.M.; FRANKE, E.D.; CACHAY, M.I.; TEJADA, A.; CARRIZALES, D.; KREUTZER, R.D. *Leishmania (Viannia) lainsoni*, first isolation in Peru. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 51, p. 533-537, 1994.

LUCAS, C.M.; FRANKE, E.D.; CACHAY, M.I.; TEJADA, A.; CRUZ, M.E.; KREUTZER, R.D.; BARKER, D.C.; MCCANN, S.H.; WATTS DM. Geographic distribution and clinical description of leishmaniasis cases in Peru. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 59, n. 2, p. 312-317, 1998.

MADEIRA, M.F.; SCHUBACH, A.O.; SCHUBACH, T.M.; PEREIRA, S.A.; FIGUEIREDO, F.B.; BAPTISTA, C.; LEAL, C.A.; MELO, C.X.; CONFORT, E.M.; MARZOCHI, M.C.A. Post mortem parasitological evaluation of dogs seroreactive for *Leishmania* from Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 138, p. 366-370, 2006.

MADEIRA, M.F.; SCHUBACH, A.O.; SCHUBACH, T.M.; SERRA, C.M.; PEREIRA, S.A.; FIGUEIREDO, F.B.; CONFORT, E.M.; QUINTELLA, L.P.; MARZOCHI, M.C. Is *Leishmania (Viannia) braziliensis* preferentially restricted to the cutaneous lesions of naturally infected dogs? **Parasitology Research**, v. 97, p. 73-76, 2005.

MARCONDES, C.B. A proposal of generic and subgeneric abbreviations of phlebotomines sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the world. **Entomology News**, v. 118, p. 351-356, 2007.

MAROLI, M.; FELICIANGELI, M.D.; BICHAUD, L.; CHARREL, R.N.; GRANDONI, L. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 27, n. 2, p. 123-147, 2012.

MARTINEZ, E.; LE PONT, F.; TORREZ, M.; TELLERIA, J.; VARGAS, F.; DUJARDIN, J.C.; DUJARDIN, J.P. *Lutzomyia nuneztovari anglesi* (Le pont & Desjeux, 1984) as a vector of *Leishmania amazonensis* in a sub-Andean leishmaniasis focus of Bolivia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 61, p. 846-849, 1999.

MARTINEZ, E.; LE PONT, F.A.; MOLLINEDO, S.; CUPOLILLO, E. A first case of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) lainsoni* in Bolivia. **Transactions of Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, p. 375-377, 2001.

MARTINEZ, E.; MOLLINEDO, S.; TORREZ, M.; MUÑOZ, M.; BAÑULS, A.L.; LE PONT, F. Coinfection by *Leishmania amazonensis* and *L. infantum/L. chagasi* in a case of diffuse cutaneous leishmaniasis in Bolivia. **Transactions of Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**, v. 96, p. 529-532, 2002.

MARTINS, A.V.; SILVA, J.E. Notas sobre os flebotomíneos do estado do Acre, com a descrição de duas espécies novas (Diptera: Psychodidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 24, p. 127-138, 1964.

MATOS, H.J.; PINTO, A.Y.N.; MIRANDA, A.M.M.; SILVA, F.L.C.; RAMOS, F.L.P. Reação cruzada nos testes sorológicos entre doença de Chagas e leishmaniose visceral em regiões endêmicas para ambas as doenças. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 6, n. 1, p. 51-54, 2015.

MATTA, A.A. Leishmaniose trópica. **Revista Médica de São Paulo**, p. 440-441, 1910.

MEDEIROS, A.R.; SILVA JR, W.A.; ROSELINO, A.M. DNA sequencing confirms the involvement of *Leishmania (L.) amazonensis* in american tegumentary leishmaniasis in the state of São Paulo, Brazil. **Clinics**. v. 63, p. 451-456, 2008.

MIMORI, T.; SASAKI, J.; NAKATA, M.; GOMEZ, E.A.; UEZATO, H.; NONAKA, S.; HASHIGUCHI, Y.; FURUYA, M.; SAYA, H. Rapid identification of *Leishmania* species from formalin-fixed biopsy samples by polymorphism-specific polymerase chain reaction. **Gene**, n. 210, p. 179-86, 1998.

MURRAY, H.W.; BERMAN, J.D.; DAVIES, C.R.; SARAVIA, N.G. Advances in leishmaniasis. **Lancet**, v. 366, p. 1561-1577, 2005.

NATAL, D.; MARUCCI, D.; DOS REIS, I.M.; GALATI, E.A.B. Modificação da armadilha CDC com testes para coletas de flebotômíneos (Diptera). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 35, p. 697–700, 1991.

NICHOLAS, K.B., NICHOLAS JR, H.B.; DEERFIELD, D.W. II. GeneDoc: Analysis and Visualization of Genetic Variation, **Embnew News**, v. 4, p. 14, 1997.

OLIVEIRA, J.G.S.; NOVAIS, F.O.; OLIVEIRA, C.I.; CRUZ-JÚNIOR, A.C.; CAMPOS, L.F.; ROCHA, A.V.; BARRAL, A. Polymerase chain reacton (PCR) is highly sensitive for diagnosis of mucosal leishmaniasis. **Acta Tropica**, v. 94, p. 55-59, 2005.

PAHO. Pan-American Health Organization. Leishmaniasis. **Epidemiological Reports in the Americas**. Leishmaniasis Report #4. July 2016.

PAIVA, B.R.; SECUNDINO, N.F.C.; PIMENTA, P.F.P.; GALATI, E.A.B.; ANDRADE-JÚNIOR, H.F.; MALAFRONTI, R.S. Standardization of conditions for PCR detection of *Leishmania* spp. DNA in sandflies (Diptera, Psychodidae). **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23. n. 1, p. 87-94, 2007.

PARAGUASSU-CHAVES, C.A. **Geografia Médica ou da Saúde (Espaço e doença na Amazônia Ocidental)**. Rondônia: Edufro; 2001.

PASW STATISTICS. **Statistical Package for the Social Sciences**, version 17.0. 2004. Estados Unidos: Statistical Product and Service Solutions. Programa de Computador. Disponível em: <http://www.cce.usp.br/?qnode/108> , Acesso em: 30 de março de 2016.

PEREIRA JUNIOR, A.M.; TELES, C.B.G.; DOS SANTOS, A.P.A.; RODRIGUES, M.D.; MARIALVA, E.F.; PESSOA, F.A.C.; MEDEIROS, J.A. Ecological aspects and molecular detection of *Leishmania* DNA Ross (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in terra firme and várzea environments in the Middle Solimões Region, Amazonas state, Brazil. **Parasite & Vectors**, v. 8, p. 180, 2015.

PEREIRA, D.; SANTOS D.; VEDOVETO M.; GUIMARÃES J.; VERÍSSIMO A. **Fatos Florestais da Amazônia**. Imazon, Belém, Pará, 2010.

PIRES, A.S.; BORGES, A.F.; COELHO, A.C.; DORTA, M.L.; LINO JUNIOR, R.S.; PEREIRA, L.I.A.; PINTO, S.A.; OLIVEIRA, M.A.P.; MATOS, G.G.; ABRAHAMSOHN, I.A.; ULIANA, S.R.B.; LIMA, G.M.C.A.; RIBEIRO-DIAS, F. Identification and biological characterization of *Leishmania* (*Viannia*) *guyanensis* isolated from a patient with tegumentary leishmaniasis in Goiás, a nonendemic area for this species in Brazil. **Biomed Medical Research International**, ID 350764, 2015.

PIRMEZ, C.; TRAJANO, V.S.; OLIVEIRA-NETO, M.P.; DA-CRUZ, A.M.; GONÇALVES-DA-COSTA, S.C.; CATANHO, M.; DEGRAVE, W.; FERNANDES, O. Use of PCR in diagnosis of human American tegumentary leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, p. 1819-1823, 1999.

PITA-PEREIRA, D.; ALVES, C.R.; SOUZA, M.B.; BRAZIL, R.P.; BERTHO, A.L.; BARBOSA, A.F.; BRITTO, C. Identification of *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia migonei* naturally infected with *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* in Rio de Janeiro (Brazil), revealed by PCR multiplex-linked non isotopic hybridization assay. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 99, p. 905-913, 2005.

PRATLONG, F.; DENIAU, M.; DARIE, H.; EICHENLAUB, S.; PRÖLL, S.; GARRABE, E.; LE GUYADEC, T.; DEDET, J.P. Human cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania naiffi* is wide-spread in South America. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 96, n. 8, p. 781-785, 2002.

QUEIROZ, R.G.; VASCONCELOS, I.A.; VASCONCELOS, A.W.; PESSOA, F.A.; SOUZA, R.N.; DAVID, J.R.; Cutaneous leishmaniasis in Ceará state in Northeastern Brazil: incrimination of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) as a vector of *Leishmania*

braziliensis in Baturité municipality. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 50, n. 6, p. 693-698, 1994.

RABELLO, E. “Contribuições aos Estudos da Leishmaniose Tegumentar no Brasil. I Histórico e Sinonímia”. **Annaes Brasileiros de Dermatologia e Syphiologia**, v.1, n. 1, 1925.

RANGEL, E.F. Transmission of American Cutaneous Leishmaniasis in peridomestic foci in State of Rio de Janeiro and other similar situations compared to the classical epidemiology in Amazon region. **Tropical Disease, Society and Environment Conference Reports**, v. 2, p. 103-110, 1995.

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

RANGEL, E.F.; SOUZA, N.A.; WERMELINGER, E.D.; BARBOSA, A.F. Natural infection of *Lutzomyia intermedia* Lutz & Neiva, 1912, in an endemic area of cutaneous leishmaniasis of Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 79, n. 3, p. 395-396, 1984.

ROBERTS, D.R.; HIS, B.P. An index of species abundance for use with mosquito surveillance data. **Environmental Entomology**, v. 8, p. 1007–1013, 1979.

ROCHA, L.S.; SANTOS, C.B.; FALQUETO, A.; BRAZIL, R.P. Natural infection of *Evandromyia lenti* (Mangabeira) (Diptera: Psychodidae) by *Psychodiella chagasi* (Adler & Mayrink) (Apicomplexa: Lecudinidae). **Journal of Vector Ecology**, v. 40, n. 2, p. 419-421, 2015.

ROHLF, F. J., SOKAL, R.R. **Statistical Tables**. W. H. Freeman (ed.), e Company, New York, EUA, 1981.

ROQUE, A.L.R.; JANSEN, A.M. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 3, p. 251-262, 2014.

ROTHMAN, K.J.; GREENLAND, S.; LASH, T.L. Modern Epidemiology, 3rd edition, **Lippincott Williams Wilkins**, 2008.

SÁBIO, P.B.; BRILHANTE, A.F.; QUINTANA, M.G.; ANDRADE, A.J.; GALATI, E.A.B. On the Synonyms of *Psathyromyia* (*Psathyromyia*) *shannoni* (Dyar, 1929) and *Pa.*

bigeniculata (Floch & Abonnenc, 1941) and the Resuscitation of *Pa. pifanoi* (Ortiz, 1972) with the description of its female (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Journal of Medical Entomology**, v. 53, n. 5, p. 1140-1147, 2016.

SAVANI, E.S.M.M.; NUNES, V.L.B.; GALATI, E.A.B.; CASTILHO, T.M.; ARAUJO, F.S.; ILHA, I.M.N.; CAMARGO, M.C.G.O.; D'AURIA S.R.N.; FLOETER-WINTER, L.M. Occurrence of co-infection by *Leishmania (Leishmania) chagasi* and *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* in a dog in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 7, p. 739-741, 2005.

SHAW, J.J., ROSA, A.T.; SOUZA, A.; CRUZ, A.C. Os flebotomíneos brasileiros como hospedeiros e vetores de determinadas espécies. In: RANGEL, E.F. & LAINSON, R. (org.). **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz, p. 337-351, 2003.

SHAW, J.J.; LAINSON, R. Leishmaniasis in Brazil. II. Observations on enzootic leishmaniasis in the lower Amazon region – the feeding habits of the vector *Lutzomya flaviscutellata* in reference to man, rodents and other animals. **Transactions of Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**, v. 62, p. 396-405, 1968.

SHAW, J.J.; PRATLONG, F.; FLOETER-WINTER, L.; ISHIKAWA, E.; EL BAIDOURI, F.; RAVEL, C.; DEDET, J.P. Characterization of *Leishmania (Leishmania) waltoni* n.sp. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), the Parasite Responsible for Diffuse Cutaneous Leishmaniasis in the Dominican Republic. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 93, n. 3, p. 552-558, 2015.

SHERLOCK, I.A. Importância Médico-Veterinária, Importância dos flebotomíneos. In: Rangel E. F. E R. Lainson. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz, p.15–21, 2003.

SILVA, N.S.; MUNIZ, V.D. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana no Estado do Acre, Amazônia brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, p. 1325-1336, 2009.

SILVA, N.S.; VIANA, A.B.; CORDEIRO, J.A.; CAVASINI, C.E. Leishmaniose Tegumentar Americana no Estado do Acre, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 33, p. 554-559, 1999.

SILVA-NUNES, M.; CAVASINI, C.E.; SILVA, N.S.; GALATI, E.A.B. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar e descrição das populações de flebotomíneos no município de Acrelândia, Acre, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 11, n. 2, p. 241-251, 2008.

SILVEIRA, F.T.; ISHIKAWA, E.A.; DE SOUZA, A.A.; LAINSON, R. An outbreak of cutaneous leishmaniasis among soldiers in Belém, Pará state, Brazil, caused by *Leishmania (Viannia) lindenbergi* n. sp. A new leishmanial parasite of man in the Amazon Region. **Parasite**, v. 91, n. 1, p. 43-50, 2002.

SILVEIRA, F.T.; LAINSON, R.; CORBETT, C.E.P. Clinical and immunopathological spectrum of American cutaneous leishmaniasis with special reference to the disease in Amazonian Brazil- A review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99 n. 3, p. 239-251, 2004.

SILVEIRA, F.T.; LAINSON, R.; SHAW, J.J.; DE SOUZA, A.A.; ISHIKAWA, E.A.; BRAGA, R.R. Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in Amazonian Brazil, and the significance of a negative Montenegro skin-test in human infections. **Transactions of Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**, v. 85, n. 6, p. 735-738, 1991.

SOUZA, A.A.A.; ISHIKAWA, E.A.Y.; BRAGA, R.; SILVEIRA, F.T.; LAINSON, R.; SHAW, J.J. *Psychodopygus complexus*, a new vector of *Leishmania braziliensis* to humans in Pará State, Brazil. **Transactions of Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**, v. 90, n. 2, p. 112-113, 1996.

SOUZA, A.A.A.; SANTOS, T.V.; JENNINGS, Y.L.L.; ISHIKAWA, E.A.Y.; BARATA, I.R.; SILVA, M.G.S.; LIMA, J.A.N.; SHAW, J.; LAINSON, R.; SILVEIRA, F.T. Natural *Leishmania (Viannia)* spp. infections in phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) from the Brazilian Amazon region reveal new putative transmission cycles of American cutaneous leishmaniasis. **Parasite**, v. 23, p. 22, 2016.

SOUZA, A.L.; BARROS, E.M.S.; ISHIKAWA, E.A.Y.; ILHA, I.M.N.; MARIN, G.R.B.; NUNES, V.L.B. Feline leishmaniasis due to *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 128, n. 1-2, p. 41- 45, 2005.

SOUZA, A.L.; NUNES, V.L.B.; BORRALHO, V.M.; ISHIKAWA, E.A.Y. Domestic feline cutaneous leishmaniasis in the municipality of Ribas do Rio Pardo, Mato Grosso do Sul State, Brazil: A case report. **Journal of Animals Toxins included Tropical Diseases**, v. 15, n. 2, p. 359-365, 2009.

SOUZA, W.J.S.; COUTINHO S.G.; MARZOCHI M.C.A.; TOLEDO, L.M.; GOTTLIEB, M.V. Use of the indirect immunofluorescence test in the therapeutic follow-up of American cutaneous leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 77, p. 247-253, 1982.

STATA CORP. **Stata Statistical Software**: Release 13. College Station, TX, p. StataCorp LP. 2013.

TELES, C.B.G.; MEDEIROS, J.F.; SANTOS, A.P.A.; FREITAS, L.A.R.; KATSURAGAWA, T.H.; CANTANHEDE, L.M.; FERREIRA, R.G.M.; CAMARGO, L.M.A. Molecular Characterization of American Cutaneous Leishmaniasis in the Tri-Border Area of Assis Brasil, Acre State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, p. 343-347, 2015.

TELES, C.B.G.; SANTOS, A.P.A.; FREITAS, R.A.; OLIVEIRA, A.F.J.; OGAWA, G.M.; RODRIGUES, M.S.; PESSOA, F.A.C.; MEDEIROS, J.F.; CAMARGO, L.M.A. Phlebotomine sandfly (Diptera: Psychodidae) diversity and their *Leishmania* DNA in a hot spot of American Cutaneous Leishmaniasis human cases along the Brazilian border with Peru and Bolivia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 111, n. 7, p. 423-432, 2016.

TOJAL, A.C.; CUPOLILLO, E.; VOLPINI, A.C.; ALMEIDA, R.; ROMERO, G.A. Species diversity causing human cutaneous leishmaniasis in Rio Branco, state of Acre, Brazil. **Tropical Medicine and International Health**, v. 11, 1388-1398, 2006.

TOJAL, A.C.; ROMERO, G.A.S.; CUPOLILLO, E.A. A diversidade das espécies causadoras de leishmaniose cutânea em Rio Branco - Acre. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36 (Supl. I), p. 49, 2003.

ULIANA, S.R.B.; NELSON, K.; BEVERLEY, S.M.; CAMARGO, E.P.; FLOETER-WINTER, L.M. Discrimination amongst *Leishmania* by polymerase chain reaction and hybridization with small subunit ribosomal DNA derived oligonucleotides. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 41, p. 324-330, 1994.

VALDÍVIA, H.O.; DE LOS SANTOS, M.B.; FERNÁNDEZ, R.; BALDEVIANO, G.C.; ZORRILLA, V.O.; VERA, H.; LUCAS, C.M.; EDGEL, K.A.; LESCANO, A.G.; MUNDAL, K.D.; GRAF, P.C.F. Natural *Leishmania* infection of *Lutzomyia (Trichophoromyia) auraensis* in Madre de Dios, Peru, detected by a fluorescence resonance energy transfer-based real-time

polymerase chain reaction. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, n. 3, p. 511-517, 2012.

VALE, E.C.S.; FURTADO, T. Leishmaniose tegumentar no Brasil: revisão histórica da origem, expansão e etiologia. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 80, n. 4, p. 421-428, 2005.

VIANNA, G. “Sobre uma nova espécie da Leishmania”. **Brazil Médico**, Rio de Janeiro, Brasil, 1911.

WARD, R.D.; SHAW, J.J.; LAINSON, R.; FRAIHA, H. Leishmaniasis in Brazil: VIII. Observations on the phlebotomine fauna of an area highly endemic for cutaneous leishmaniasis, in the Serra dos Carajás, Pará State. **Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 67, p. 174-183, 1973.

WHO. World Health Organization. 2014. Global Health Observatory Data Repository: leishmaniasis. WHO, Geneva, Switzerland.

WHO. World Health Organization. 2010. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Disponível em:

http://whqlibdoc.who.int/hq/2010/WHO_HTM_NTD_2010.2_eng.pdf

XAPURI INFO. Xapuri Socioambiental. **Seringal Cachoeira: Ecoturismo entre as seringueiras**. 2016. Disponível em: <http://www.xapuri.info/guiaxapuri/seringal-cachoeira-ecoturismo-entre-seringueiras/>

YOUNG, D.G.; DUNCAN, M.A. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). **American Entomological Institute**, v. 54, 881 pp. 1994.