

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**A ECOEPIDEMIOLOGIA DAS LEISHMANIOSES:
LEVANTAMENTO DE FLEBOTOMÍNEOS EM CUIABÁ E
INVESTIGAÇÃO QUANTO A PARTICIPAÇÃO DE
ROEDORES E MARSUPIAIS EM RONDONÓPOLIS,
MATO GROSSO**

Tatiana Pádua Tavares de Freitas

CUIABÁ – MT
2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**A ECOEPIDEMIOLOGIA DAS LEISHMANIOSES:
LEVANTAMENTO DE FLEBOTOMÍNEOS EM CUIABÁ E
INVESTIGAÇÃO QUANTO A PARTICIPAÇÃO DE
ROEDORES E MARSUPIAIS EM RONDONÓPOLIS,
MATO GROSSO**

Autora: Tatiana Pádua Tavares de Freitas

Orientadora: Profa. Dra. Valéria Régia Franco Sousa

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio D`Andrea

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração: Sanidade Animal, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias

CUIABÁ – MT

2010

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome da autora: FREITAS, Tatiana Pádua Tavares de

Título: A Ecoepidemiologia das Leishmanioses: levantamento de flebotomíneos em Cuiabá e investigação quanto a participação de roedores e marsupiais em Rondonópolis, Mato Grosso.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração: Sanidade Animal, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Data: 23/02/2010

Banca Examinadora

Prof.^(a) Dr. ^(a) Valéria Régia Franco Sousa Instituição: UFMT/Cuiabá

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof.^(a) Dr. ^(a) Valéria Dutra Instituição: UFMT/Cuiabá

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. Reginaldo Peçanha Brazil Instituição: IOC/FIOCRUZ/RJ

Assinatura: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, autor da vida, pelas inúmeras graças.

Meus agradecimentos sinceros:

Aos meus amados familiares, pelo crédito, incentivo e amor à distância.

À minha orientadora Dra. Valéria Régia, pelo apoio incondicional na realização destes estudos, e pela sincera amizade.

Ao meu co-orientador e amigo Dr. Paulo Sérgio D'Andrea e equipe do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios (FIOCRUZ/RJ), por darem asas aos meus sonhos.

Aos professores Dr. Luciano Nakazato e Dra. Valéria Dutra por dividirem seu conhecimento, laboratórios que coordenam e pela amizade.

À Prof. Dra. Rosina Miyazaki e Dra. Nanci Missawa pelo inestimável auxílio na identificação de flebotomíneos.

Aos professores Dra. Adriane de Mendonça, Dr. José Ricardo de Souza e Dr. Roberto Lopes pelo incentivo e carinho fraternal.

À Doutoranda Arleana Almeida, por repassar suas experiências laboratoriais para que as análises desta dissertação fossem executadas.

Aos colegas dos Laboratórios de Microbiologia e Biologia Molecular Veterinária (UFMT/Cuiabá), pelo ambiente de trabalho fraterno e agradável, especialmente à brilhante amiga Daphine de Paula, pela valorosa ajuda.

Aos estagiários Agrádia Gonçalves, Eveline Boa-Sorte e Arlindo Rodrigues e motorista Waldir Campos, pelo auxílio nas capturas.

À Secretaria Estadual de Saúde de Mato Grosso e às Secretarias Municipais de Saúde de Rondonópolis, Garantã do Norte, Peixoto de Azevedo e Sapezal, pelo apoio logístico e de pessoal nas expedições de capturas de pequenos mamíferos.

Aos funcionários das secretarias envolvidos neste projeto que não mediram esforços para o bom êxito das expedições, especialmente ao Sr. Aparecido Alberto.

À equipe de estudo sobre Hantavirose do Instituto Evandro Chagas que cederam armadilhas e auxílio técnico.

Ao Conselho Nacional de Pesquisas pelo apoio financeiro à pesquisa entomológica realizada em Cuiabá, através do Edital MCT- CNPq / MS-SCTIE-DECIT – Nº 25/2006 e à Capes pela concessão da bolsa de incentivo à pesquisa.

RESUMO

A ECOEPIDEMIOLOGIA DAS LEISHMANIOSES: LEVANTAMENTO DE FLEBOTOMÍNEOS EM CUIABÁ E INVESTIGAÇÃO QUANTO A PARTICIPAÇÃO DE ROEDORES E MARSUPIAIS EM RONDONÓPOLIS, MATO GROSSO

As leishmanioses são doenças zoonóticas que no Brasil apresentam a forma visceral (LV) causada pela *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* e as formas tegumentares e mucosas, causadas principalmente pela *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Esta dissertação apresenta os resultados do estudo entomológico realizado em bairros de Cuiabá, objetivando identificar os flebotomíneos vetores participantes da cadeia de transmissão de LV, bem como, os resultados da pesquisa epidemiológica transversal de infecção por *L. (L.) i. chagasi* e por *L. (V.) braziliensis* em pequenos mamíferos capturados em Rondonópolis, através de métodos moleculares (PCR-RFLP). Foram capturados 45 flebotomíneos, de novembro de 2007 a outubro de 2008, utilizando armadilhas luminosas montadas em residências dos bairros: Cidade Alta, Coophema, Jardim Universitário e Morada do Ouro, obtendo dois espécimes implicados na transmissão de leishmanioses: Complexo *longipalpis* e *Lutzomyia antunesi*. *L. sallesi* foi a espécie mais abundante (n=22). Em Rondonópolis, 97 pequenos mamíferos foram capturados entre cinco a nove de julho (2008) nas localidades de: Carlos Bezerra, Pindorama, Marechal Rondon e Kênia, sendo nove marsupiais da espécie *Didelphis albiventris* e 88 roedores entre silvestres (*Cavia* cf. *porcellus*, *Necromys lasiurus*, *Oecomys mamorae* e *Oligoryzomys* sp.) e sinantrópicos (*Mus musculus* e *Rattus rattus*). Infecções por *Leishmania* foram detectadas apenas entre as espécies mais abundantes: *D. albiventris* (n=9), *N. lasiurus* (n=76) e *R. rattus* (n=8), apresentando taxas de infecção por *L. (L.) infantum chagasi* de 11,11%, 17,10% e 12,50%, e por *L. (V.) braziliensis* de 11,11%, 7,89% e 12,50%, respectivamente. Esta é a primeira descrição de infecção por *L. (L.) infantum chagasi* em *N. lasiurus*. Detecção de infecção em *R. rattus* e *D. albiventris* alertam para a possibilidade de participação de hospedeiros não canídeos nos ciclos de transmissão em ambientes urbanizados, sendo necessários mais estudos para confirmar esta hipótese neste município.

Palavras-chave: Flebotomíneos. *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*. *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Marsupiais. Mato Grosso. Roedores.

ABSTRACT

THE ECO-EPIDEMIOLOGY OF LEISHMANIASIS: SURVEY OF SAND FLIES AT CUIABÁ AND INVESTIGATION OF THE PARTICIPATION OF RODENTS AND MARSUPIALS IN RONDONÓPOLIS, MATO GROSSO

Leishmaniasis are zoonotic diseases in Brazil with the visceral form (VL) caused by *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* and the cutaneous and mucous forms, mainly caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis*. This dissertation present results of an entomological survey in neighborhoods of Cuiabá: Cidade Alta, Coophema, Jardim Universitário, and Morada do Ouro, aiming to identify sand flies vectors of the VL, and an epidemiological research in small mammals infected with *L. (L.) infantum chagasi* and *L. (V.) braziliensis*, using molecular analysis (PCR-RFLP), in Rondonópolis. Were captured 45 sand flies, from November/2007 to October/2008, using light traps were set areas of homes from each neighborhood: from which two specimens related to VL transmission: *Complex longipalpis* and *Lutzomyia antunesi*. *L. sallesi* was the most abundant species (n=22). In Rondonópolis, 97 small mammals were captured from July 5 - 9, 2008 in the localities: Carlos Bezerra, Pindorama, Marechal Rondon and Kênia, among nine marsupials of specie *Didelphis albiventris* and 88 specimes of rodents, among wild species (*Cavia cf. porcellus*, *Necromys lasiurus*, *Oecomys* sp. and *Oligoryzomys* sp.) and synanthropic species (*Mus musculus* and *Rattus rattus*). *Leishmania* infections were reported only in more abundant species: *D. albiventris* (n=9), *N. lasiurus* (n=76) e *R. rattus* (n=8), presenting infections rates by *L. (L.) infantum chagasi*: 11,11%, 17,10% and 12,50%, and by *L. (V.) braziliensis*: 11,11%, 7,89% and 12,50%, respectively. This is the first record infection by *L. (L.) infantum chagasi* in *N. lasiurus*. The detection of the infection in *R. rattus* and *D. albiventris* indicates the importance of other non-canid hosts in the transmission cycle from urban environments, but more studies are needed to confirm this hypothesis at this municipality.

Key-words: *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*. *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Marsupials. Mato Grosso. Rodents. Sand flies.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1	Histórico	13
2.2	Agente etiológico	14
2.3	Origem e taxonomia	16
2.4	Leishmanioses no Brasil	16
2.5	Mato Grosso e as Leishmanioses	18
2.6	Os vetores	19
2.7	Interação parasito-hospedeiro invertebrado e competência vetorial	21
2.8	Hospedeiros e reservatórios de <i>Leishmania</i>	24
2.9	Novo perfil epidemiológico das Leishmanioses	30
2.10	Diagnóstico	32
3	MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1	Área de estudo de flebotomíneos	34
3.2	Escolha das residências e do local de exposição das armadilhas ...	34
3.3	Dados meteorológicos	35
3.4	Identificação de flebotomíneos	35
3.5	Área de estudo e localização dos transectos para captura de pequenos mamíferos	35
3.6	Descrição dos transectos	38
3.7	Captura de pequenos mamíferos	40
3.8	Manuseio de pequenos mamíferos, coleta de tecidos e preservação de material biológico	40
3.9	Classificação taxonômica de roedores	42
3.9	Diagnóstico molecular	42
3.9.1	EXTRAÇÃO DE DNA	42
3.9.2	REAÇÃO EM CADEIA PELA POLIMERASE (PCR)	42
3.9.3	POLIMORFISMO DOS FRAGMENTOS DE RESTRIÇÃO (RFLP)	42
3.10	Análise estatística	43
3.11	Biossegurança da equipe	44
3.12	Bioética e legislação	44

4	RESULTADOS	45
4.1	Captura de flebotomíneos em Cuiabá	45
4.2	Captura de pequenos mamíferos em Rondonópolis	46
4.3	Diagnóstico molecular de infecção por <i>Leishmania (Leishmania)</i> <i>infantum chagasi</i> e <i>L. (Viannia) braziliensis</i> em pequenos mamíferos	48
5	DISCUSSÃO	52
6	CONCLUSÕES	63
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
8	REFERÊNCIAS	65
	ANEXO A (Artigo submetido à Revista Acta Scientia Veterinariae)	95

INTRODUÇÃO

As leishmanioses são zoonoses causadas por protozoários flagelados do gênero *Leishmania* Ross 1903 (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), que estão em expansão nos últimos 20 anos, com aumento do número de casos de todas as suas formas (ASHFORD, 2000; DESJEUX, 2004). Esses parasitos são transmitidos principalmente por fêmeas de insetos dípteros conhecidos como flebotomíneos (Psychodidae: Phlebotominae), causando um espectro de manifestações clínicas em humanos, com apresentação de forma visceral, tegumentar e mucosa (GRIMALDI e TESH, 1993; DESJEUX, 2004).

Estão distribuídas em 88 países, dos quais 72 são classificados como países em desenvolvimento, com 90% dos casos de leishmaniose visceral (LV) ocorrendo em Bangladesh, Índia, Nepal, Sudão e Brasil e 90% dos casos de leishmaniose tegumentar (LT) ocorrendo no Afeganistão, Algéria, Brasil, Irã, Peru, Arábia Saudita e Síria (DESJEUX, 2004). Segundo Desjeux (2001) a incidência anual é estimada em 1- 2 milhões de casos, sendo 1- 1.5 milhões da forma tegumentar (LT) e 500.000 da forma visceral (LV), estando 350 milhões de pessoas sob risco de contraírem esta infecção a cada ano.

No Brasil as leishmanioses figuram como doenças emergentes e reemergentes em franca expansão, sendo um agravo de notificação compulsória em todo o território nacional segundo a Portaria Ministerial nº1943 (18 de outubro de 2001). As formas tegumentares são notificadas em 27 unidades federadas brasileiras (MS, 2007), e com notificação de casos autóctones de Leishmaniose Visceral Americana (LVA) nas regiões Nordeste, Norte, Centro-Oeste e Sudeste (MS, 2006), e mais recentemente na Região Sul (CEVS, 2009).

O Estado de Mato Grosso é considerado endêmico, apresentando uma área de transmissão intensa e freqüente de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), no entorno da rodovia BR-163 e apresentando também uma expansão de LV, desde 1998, a partir do município de Várzea Grande, localizado na região metropolitana de Cuiabá para o interior do estado (MESTRE e FONTES, 2007). Atualmente Rondonópolis é o município que apresenta uma situação de surto epidêmico, sendo classificado como área de transmissão intensa de LVA, desde 2007, onde as ações de controle e estudo epidemiológico são prioritários (MS, 2008).

Sendo doenças metaxênicas, causadas por parasitos multihospedeiros, interagindo em complexas relações em diferentes ambientes, o conhecimento dos insetos vetores e dos hospedeiros mamíferos envolvidos nos ciclos enzoóticos e zoonóticos é fundamental para se conhecer a epidemiologia das leishmanioses e estabelecer medidas de controle adequadas para cada região (ASHFORD, 2000; RANGEL e LAINSON, 2003).

Marsupiais são considerados reservatórios silvestres não canídeos de *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*, a partir do isolamento e caracterização do parasito na Bahia (Brasil) em *Didelphis albiventris* (SHERLOCK et al., 1984) e, posteriormente, na Colômbia em *D. marsupialis* (CORREDOR et al., 1989) e como hospedeiros naturais, de outras espécies de *Leishmania*, causadoras de lesões tegumentares (ARIAS et al., 1981; ARIAS e NAIFF, 1981; BRANDÃO-FILHO et al., 2003; DEDET et al., 1989; LAINSON, 1981; SHERLOCK et al., 1988; SCHALLIG et al., 2007; VAN WYNSBERGHE et al., 2009).

Várias espécies de roedores silvestres foram encontradas naturalmente infectadas por *Leishmania*, dos subgêneros *Leishmania* e *Viannia*, em ambiente silvestre no Continente Americano, com detecção de parasitos dermatrópicos (FORATTINI et al., 1960; 1972; NERY-GUIMARÃES et al., 1968; LAINSON e SHAW, 1968; LAINSON e SHAW, 1969; 1970; BARBOSA et al., 1970; LAINSON et al., 1981; FALQUETO et al., 1985; SHERLOCK et al., 1988; MAGALHÃES-ROCHA et al., 1988; SILVEIRA et al., 1991; VASCONCELOS et al., 1994; ALEXANDER et al., 1998; CANTO-LARA et al., 1999; MARTINEZ et al., 1999; TELLERIA et al., 1999; BRANDÃO-FILHO et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2005a; KERR et al., 2006; VAN WYNSBERGHE et al., 2000; 2009) ou viscerotrópicos (TRAVI et al., 1998; ZULUETA et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2005a).

Infecções naturais em roedores sinantrópicos da espécie *Rattus rattus* foram detectadas no Brasil (ALENCAR et al., 1960; VASCONCELOS et al., 1994; BRANDÃO-FILHO et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2005a), em outros países do Continente Americano (ALEXANDER et al., 1998; ZULUETA et al., 1999; DE-LIMA et al., 2002) e de outros continentes (BETTINI et al., 1978; 1980; POZZIO et al., 1981; GRAMICCIA et al., 1982; GRADONI et al., 1983; IBRAHIM et al., 1992; DI BELLA et al., 2003) e alertam para a possibilidade de urbanização do ciclo de transmissão das leishmanioses.

Nesta dissertação são apresentados os resultados da pesquisa entomológica realizada na cidade de Cuiabá, objetivando conhecer a fauna flebotômica e identificar as possíveis espécies implicadas na transmissão de *L. (L.) infantum chagasi* em bairros com notificação de leishmaniose visceral humana e canina, localizados em área urbana. Paralelamente, são demonstrados os resultados do estudo epidemiológico molecular transversal de infecção natural por *Leishmania* em roedores e marsupiais no município de Rondonópolis, buscando identificar os possíveis hospedeiros, não canídeos, de *L. (L.) infantum chagasi* e *L. (V.) braziliensis* em área de transmissão intensa de LVA, através da análise molecular de amostras de pele e de medula óssea (roedores e marsupiais) e de sangue (marsupiais), utilizando PCR-RFLP. Este segundo estudo foi realizado em parceria com o Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios (FIOCRUZ/RJ) e Secretaria Estadual de Saúde de Mato Grosso, que compoem a Equipe de Pesquisa Ecoepidemiológica sobre Hantavirose neste estado. Desta forma, com os resultados obtidos, se pretende ampliar o conhecimento sobre os elos da cadeia de transmissão das leishmanioses nestes municípios do Estado de Mato Grosso.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico

A primeira descrição do parasito ocorreu em 1901 por William Leishman, que identificou formas amastigotas em esfregaços de baço de um soldado britânico, morto pela “febre Dum-Dum”. Médicos indianos, na pequena cidade de Dum-Dum (Índia), utilizavam o termo em sânscrito “kala azar” para nomear uma doença severa e fatal que acreditavam ser causada por tripanossomas (WHO, 2009). Porém, em 1903, Charles Donovan estudando o agente etiológico desta entidade mórbida o descreve como inédito. Mas foi Major Ross, com base nos achados anteriores, que relaciona o “kala azar” ao novo parasito, nomeando-o como *Leishmania donovani*, criando o gênero *Leishmania* (ROSS, 1903).

No Continente Americano a primeira descrição de LVA foi feita por Migone, em 1913, quando relatou um caso no Paraguai de paciente proveniente do Estado de Mato Grosso, Brasil, detectando o parasito em sangue periférico (MIGONE, 1913 apud LAINSON e SHAW, 1998). Porém, apenas em 1934, Henrique Penna encontra 41 exames parasitológicos positivos através de análise histopatológica em 4.700 fragmentos de fígado de pessoas supostamente mortas por febre amarela, de várias localidades rurais deste país, demonstrando que o maior foco estava no Nordeste, particularmente no Ceará (LAINSON e RANGEL, 2003; 2005).

Evandro Chagas, em 1936, fez o primeiro diagnóstico em paciente vivo, descrevendo os aspectos etiopatogênicos e epidemiológicos que diferenciavam esta entidade mórbida da ocorrente na Índia. Em 1937, Cunha e Chagas (apud DEANE e DEANE, 1962) nomeiam este agente como *Leishmania chagasi*, levantando a hipótese de sua possível origem silvestre, apesar de detectar o parasito em sete caninos e um gato.

Nos anos seguintes numerosos casos são suspeitados e diagnosticados como de LVA, sendo os estudos epidemiológicos mais completos, realizados por Joaquim Eduardo Alencar e pelo casal Maria Paumgartter Deane e Leônidas Deane em Sobral, no Ceará, com pesquisa da infecção em pessoas, canídeos, *Canis familiaris* e *Ducysion vetulus*, e flebotomíneos da espécie *Lutzomyia longipalpis* (LAINSON e RANGEL, 2003; 2005). Desde então o cão é considerado a principal fonte de infecção de LVA para o homem em ambientes peridomésticos e domésticos

no Brasil e os canídeos incriminados como reservatórios em ambiente silvestre (LAINSON et al., 2002).

Sobre as leishmanioses tegumentares (LT), uma das primeiras e mais importantes descrições clínicas foi feita em 1756 por Alexander Russel, que descreveu minuciosamente as lesões apresentadas em paciente turco, relatando o surgimento das mesmas em moradores locais e estrangeiros que adentravam aquele lugar (WHO, 2009).

Os parasitos causadores de LT foram relatados por Cunningham em 1885, mas somente descritos por Wright em 1903, como *Leishmania tropica*, após a criação do gênero *Leishmania* (DA-CRUZ e PIRMEZ, 2005).

No Brasil os primeiros relatos de lesões cutâneas supostamente causadas por *Leishmania* foram feitas por Alexandre Cerqueira na Bahia, em 1885, mas a natureza etiológica e a descrição das formas amastigotas em lesões de pacientes brasileiros que sofriam de “úlceras de Bauru” em São Paulo, foram feitas por Adolpho Lindenberg, independentemente de Antônio Carini e Ulisses Paranhos, em 1909 (LAINSON, 1983; SILVEIRA et al., 2002; DA-CRUZ e PIRMEZ, 2005). Porém, apenas em 1911, Gaspar Vianna denomina o agente etiológico como *Leishmania braziliensis*, indicando também sua cura com uso do tártaro emético (LAINSON, 1983).

A comprovação de que a transmissão das leishmanioses ocorria através da picada de insetos flebotomíneos (doença metaxênica) foi feita no Velho Mundo em 1921 pelo grupo de Sergenti, mas apenas um ano após, Henrique Aragão (1922) atribui a uma espécie de flebotomíneo a transmissão de LTA ocorrente na cidade do Rio de Janeiro. Este pesquisador relacionou a maciça presença de *Lutzomyia intermedia* à ocorrência de LTA por *Leishmania braziliensis* em área endêmica, conseguindo reproduzir lesão experimental em focinho de cão a partir de inoculado destes insetos macerados (ALTAMIRANO-ENCISO et al., 2003; RANGEL e LAINSON, 2003).

2.2 Agente etiológico

Leishmania são parasitos digenéticos, que pertencem à ordem Kinetoplastida e família Trypanosomatidae, apresentando dois estágios no seu ciclo de vida: a

forma promastigota com motilidade flagelar, que vive extracelularmente dentro do trato alimentar de vetores flebotomíneos, e a forma amastigota, não móvel, que resiste dentro de macrófagos de hospedeiros vertebrados (GRIMALDI et al., 1991; CUPOLILLO et al., 2000).

Os protozoários tripanossomatídeos se caracterizam por possuir uma organela, chamada cinetoplasto, composta de um único DNA contido na mitocôndria da célula (RODGERS et al., 1990). Nesta família estão incluídos vários gêneros entre estes tripanossomas de vida livre, como *Proleptomonas*, parasitos monoxenos de insetos, como *Blastocrithidia*, *Crithidia*, *Leptomonas*, *Herpetomonas* e *Wallaceina*, parasitos de mamíferos e répteis, como *Trypanosoma*, *Leishmania* e *Endotrypanum*, além de parasitos de plantas, como *Phytomonas* (VYACHESLAV et al., 2006).

Segundo Lainson e Shaw (1987), as leishmanias são classificadas taxonomicamente, de acordo com a localização do parasito no aparelho digestório dos flebotomíneos, utilizando como referência o piloro dos insetos. Logo, parasitos que se aderem à porção anterior e média do intestino são agrupados no subgênero *Leishmania*, comportamento suprapilário, e nos parasitos do subgênero *Viannia*, acrescenta-se uma fase de divisão de paramastigotas redondas ou ovóides e promastigotas que se aderem às paredes do intestino posterior (piloro e íleo), desenvolvimento peripilário (LAINSON e SHAW, 1998).

No Velho Mundo cinco espécies são agentes de leishmanioses em humanos: *Leishmania (Leishmania) major*, *L. (L.) tropica*, *L. (L.) aethiopica*, *L. (L.) donovani* e *L. (L.) infantum infantum*, sendo as três primeiras produtoras de leishmaniose cutânea e as duas últimas agentes da forma visceral (ASHFORD e BATES, 1998; SHAW, 2007).

Já no Continente Americano, várias espécies patogênicas de *Leishmania* são conhecidas, ocorrendo no Brasil duas agrupadas no subgênero *Leishmania*, *L. (L.) infantum chagasi* e *L. (L.) amazonensis*, e seis agrupadas no subgênero *Viannia*, presente apenas nas Américas, *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) shawi* (LAINSON e SHAW, 1998; MS, 2007) e *L. (V.) lindenbergi* (SILVEIRA et al., 2002; MS, 2007).

Outras espécies de *Leishmania* foram caracterizadas em regiões brasileiras, como *L. (V.) utinguensis* isolada do flebotomíneo *Lutzomyia tuberculata* Mangabeira, 1941, na Amazônia brasileira (BRAGA et al., 2003), *L. (L.) forattini* isolada do marsupial *Didelphis marsupialis aurita* e do roedor *Proechymis iheringi denigratus*,

em São Paulo e Bahia, respectivamente (YOSHIDA et al., 1993) e *L. (L.) enriettii* isolado de cobaios domésticos (*Cavia porcellus*) no Paraná (MUNIZ e MEDINA, 1948 apud LAINSON, 1997) e São Paulo (MACHADO et al., 1994). Não há registro de infecção humana por estas espécies de *Leishmania*.

2.3 Origem e taxonomia

A origem do agente etiológico da forma visceral ocorrente no Continente Americano causou opiniões divergentes entre pesquisadores durante muitos anos. Alguns afirmando ser o parasito autóctone, outros ter penetrado neste continente durante as invasões portuguesas e espanholas (MOMEM et al., 1987; LAINSON e RANGEL, 2005).

Porém, análises extensas de DNA de *L. (L.) donovani*, *L. (L.) infantum* e *L. (L.) chagasi*, verificaram que os dois últimos só poderiam ser separados em nível subespecífico (MAURICIO et al. 1999). Assim, mais recentemente, Lainson e Rangel (2005) referiram-se ao agente causador de LVA nas Américas como *L. (L.) infantum chagasi*, diferenciando-o do ocorrente no Velho Mundo, *L. (L.) infantum infantum*, sendo atualmente a nomenclatura mais utilizada.

A autoctonia das LTAs no Novo Mundo, em contrapartida, não é questionada, pois além dos primeiros relatos feitos pelo espanhol Balthasar Ramirez em 1580, considera-se a semelhança entre as faces deformadas dos “huacos”, que são imagens humanas originárias de populações moches dos Andes e Peru (400 a 900 a.C.), e as lesões atuais observadas nos pacientes com leishmaniose mucosa, uma confirmação da existência da doença antes da invasão espanhola (LAINSON e SHAW, 1998; ALTAMIRANO-ENCISO et al., 2003; DA-CRUZ e PIRMEZ, 2005).

2.4 Leishmanioses no Brasil

A forma mais grave de leishmaniose ocorrente no Brasil é a visceral, causada por *L. (L.) infantum chagasi*, sendo fatal se não tratada. Caracterizando-se por um amplo espectro clínico, variando de manifestações oligossintomáticas, moderadas, graves a fatais. Frequentemente leva a um quadro febril, com palidez e

hepatoesplenomegalia, mas pode causar um quadro de diarreia e/ou tosse não produtiva, mascarando-se com outros processos infecciosos (MS, 2006).

Lesões tegumentares são as formas mais frequentes das leishmanioses, surgindo como uma picada de inseto, podendo regredir ou evoluir para a destruição do tecido (ASHFORD, 2000; DA-CRUZ e PIRMEZ, 2005).

A apresentação mais freqüente das lesões tegumentares no Brasil é referida às infecções por *L. (V.) braziliensis*, usualmente com uma ou poucas lesões, podendo evoluir com metástase mucosa ou cutâneo-mucosa, após a resolução da lesão inicial, sendo chamada de “espúndia”. Estas metástases muitas vezes mutilam a face dos acometidos, levando à segregação pelas deformações que causam (LAINSON e SHAW, 1998; REY, 2001; ROMERO et al., 2001).

As infecções por *L. (V.) guyanensis* tendem a desenvolver lesões cutâneas menores, porém mais numerosas que as provocadas pela *L. (V.) braziliensis*. Esta peculiaridade se deve ao comportamento do flebotomíneo transmissor, *Lutzomyia umbratilis*, que atacam em grande quantidade quando perturbados. Raramente desenvolve comprometimento mucoso, mas o envolvimento linfático é freqüente (ROMERO et al., 2001; DA-CRUZ e PIRMEZ, 2005).

As infecções mais prevalentes de LTA notificadas no Brasil são causadas pela *L. (V.) braziliensis* e *L. (V.) guyanensis* (LAINSON e SHAW, 1998; ROMERO et al., 2001). Atualmente verifica-se um aumento da incidência das formas tegumentares, principalmente relacionadas à *L. (V.) braziliensis*, em todas as regiões do Brasil (VEDOVELLO et al., 2008).

Leishmania (L.) amazonensis normalmente causa única úlcera, mas há casos raros de lesões múltiplas, em indivíduos com depressão da resposta específica aos antígenos do agente, desenvolvendo um quadro grave, chamada de forma anérgica ou leishmaniose cutânea difusa (LCD) muitas vezes com comprometimento mucoso (LAINSON e SHAW, 1998; REY, 2001).

Algumas leishmanioses tegumentares têm menor ocorrência e estão restritas à Região Amazônica, como as causadas pela *L. (V.) lainsoni*, que se apresenta como única lesão ulcerada de pele, pela *L. (V.) naiffi* descrita como uma lesão única, pequena e ulcerada, muitas vezes ocultas pelo seu caráter benigno, *L. (V.) shawi* que causa lesão ulcerada única, mas pode demonstrar múltiplas lesões (LAINSON e SHAW, 1998) e a forma tegumentar causada pela *L. (V.) lindenbergi*, que foi

recentemente descrita em Belém, Pará, com lesão ulcerada única, na maioria dos pacientes, podendo desenvolver caráter infiltrativo (SILVEIRA et al., 2002).

2.5 Mato Grosso e as leishmanioses

O Estado de Mato Grosso é endêmico para as leishmanioses, mas apesar do primeiro caso de LVA nas Américas ter sido atribuído a um paciente provindo deste estado (MIGONE, 1913 apud LAINSON e SHAW, 1998), a infecção provavelmente ocorreu durante a construção da rodovia São Paulo-Corumbá (LAINSON e SHAW, 1998), sendo este município atualmente localizado em Mato Grosso do Sul. Assim, os primeiros registros autóctones em Mato Grosso ocorreram em 1973, no município de Guiratinga, localizado na região sul do estado. Iniciando-se, a partir de 1998, uma epidemia de LVA que se expandiu de Várzea Grande para a capital Cuiabá e para outros municípios do interior, com registro de doença humana e canina (MESTRE e FONTES, 2007).

Segundo fontes oficiais, nos últimos dez anos (1998-2008) foram notificados 248 casos de LVA autóctone neste estado (DEVEP/SVS/MS, 2009), com 26 óbitos registrados de 2000 a 2008 (SINAN/SVS/MS, 2009). Os municípios que apresentam maior importância para a ocorrência desta protozoonose são Poxoréo, Barra do Garças, Jaciara, Várzea Grande, Mirassol D'Oeste, Poconé, Primavera do Leste e Rondonópolis (MS, 2008).

Inquéritos de soroprevalência realizados demonstram a circulação do agente etiológico entre a população canina da cidade de Cuiabá (MOURA et al., 1999; MESTRE e FONTES, 2007; ALMEIDA et al., 2009), demonstrando diferentes resultados, 64%, 8,4% e 3,4%, respectivamente.

Atualmente, o município de Rondonópolis apresenta um número de casos de LVA superior ao esperado (surto), sendo classificado como uma área de transmissão intensa, ou seja, com média de casos igual ou superior a 4,4 (MS, 2006), desde 2007. Casos esporádicos de LVA ocorriam neste município desde 2003, porém somente em 2007 foram feitas 13 notificações, o que representa uma incidência de 4 casos/100.000 habitantes, e 4 óbitos (letalidade de 31%), indicando uma elevação do número de casos esperados (MS, 2008).

Em relação a ocorrência de LTA, Mato Grosso apresenta registros autóctones em todos os seus municípios (COSTA, 2005), com maior incidência de casos por *L.*

(V.) *braziliensis*, 94,1%, e poucos casos diagnosticados como por *L. (V.) amazonensis*, 5,9%, de acordo com estudo realizado na unidade de referência para o diagnóstico de Leishmanioses em Mato Grosso, Hospital Universitário Júlio Müller, localizado na capital (CARVALHO et al., 2006). Mas parte da região norte do estado está localizada na Amazônia Legal Brasileira, logo são possíveis ocorrências de leishmanioses tegumentares causadas por outras espécies de *Leishmania*, além da característica clínica de casos relatados no município de Barra do Garças remeterem às infecções por *L. (V.) guyanensis*, porém, não houve caracterização do parasito causador (SHAW e LAINSON, 1987).

2.6 Os vetores

Os flebotomíneos transmissores de leishmanioses pertencem aos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia*, no Velho e no Novo Mundo, respectivamente. Sendo o gênero *Lutzomyia* subdividido em 15 subgêneros, 15 grupos e mais de 400 espécies (YOUNG e DUNCAN, 1994).

Todavia, algumas espécies estão envolvidas na transmissão das leishmanioses, além de serem hospedeiros de cerca de 150 microorganismos, como tripanossomatídeos, vírus, nematóides, bactérias e fungos (SHAW et al., 2003).

Estes dípteros são insetos holometábolos, com ciclo vital composto de sete fases: ovo, larva (quatro estádios), pupa e adulto. Os adultos apresentam corpo delgado, piloso, pernas longas e delgadas, porte pequeno (2 a 3 mm) e apesar de se alimentarem de seiva vegetal e secreções açucaradas de afídeos, as fêmeas necessitam de repasto sanguíneo para a produção de ovos, o que caracteriza a subfamília Phlebotominae (BRAZIL e BRAZIL, 2003).

A principal espécie de flebotomíneo transmissora de LVA nas Américas é *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* Lutz & Neiva, 1912, apresentando distribuição abrangente e coincidente com os focos da doença, hábito alimentar eclético, inclusive antropofílico, e comprovação da infecção em exemplares natural e experimentalmente infectados (LAINSON e RANGEL, 2003; 2005).

O encontro de fêmeas infectadas de *L. (L.) cruzi* Mangabeira, 1938, em área endêmica de LVA, na ausência de *L. longipalpis*, foi uma forte evidência para incriminar esta espécie pela transmissão nos municípios de Corumbá e Ladário, em

Mato Grosso do Sul (SANTOS et al., 1998). Mas esta hipótese se tornou inconclusiva (LAINSON e RANGEL, 2005), a partir do encontro de *L. longipalpis* em Corumbá pelos mesmos autores anos após (SANTOS et al., 2003), além de *L. cruzi* não ser tão amplamente distribuída pelo Brasil como *L. longipalpis* (LAINSON e RANGEL, 2005). Mais recentemente, também em Corumbá, através de análise de PCR multiplex, foi confirmada infecção em exemplares de *L. cruzi* por *L. (L.) infantum chagasi* (PITA-PEREIRA et al., 2008); este achado corroborou para a hipótese da participação desta espécie de flebotomíneo na transmissão de LVA naquele município endêmico, visto que era a espécie mais abundante neste estudo.

Porém, devido a uma enorme semelhança morfológica, *L. longipalpis* e *L. cruzi* estão agrupadas no Complexo *longipalpis*, sendo as fêmeas indistinguíveis nas duas espécies, e onde a identificação taxonômica específica se torna possível através de pequenas diferenças morfológicas entre os machos (MARTINS et al., 1984).

Outras espécies de flebotomíneos foram encontradas naturalmente infectadas por *L. (L.) infantum chagasi* em áreas endêmicas. Exemplares de *L. (Nyssomyia) antunesi*, Coutinho, 1939, capturados na Ilha de Marajó, Pará, apresentavam pesada infecção suprapilárica por promastigotas, uma característica das infecções por protozoários do subgênero *Leishmania*, sendo por este motivo, considerado vetor alternativo de LVA naquela localidade, onde *L. longipalpis* era o principal vetor (RYAN et al., 1984). Porém, não foi possível caracterizar as promastigotas infectantes, o que comprovaria a infecção por *L. (L.) infantum chagasi*. Fêmeas de outras espécies também foram encontradas infectadas pelo mesmo agente, como *L. almerioi* Galati e Nunes, 1999, na Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul (GALATI et al., 2006; SAVANI et al., 2009), *L. neivai* Pinto, 1926 e *L. sallesi* Galvão e Coutinho, 1939, em Lassance, Minas Gerais (SARAIVA et al., 2009), em *L. forattini* em Corumbá, Mato Grosso do Sul (PITA-PEREIRA et al., 2008) e *L. edwardsi* em São Paulo (CARVALHO et al., 2008).

Muitos flebotomíneos incriminados pela transmissão das leishmanioses tegumentares estão distribuídos pelo Brasil, ressaltando-se como principais transmissores *L. (N.) intermedia* Lutz & Neiva, 1912; *L. (Migonei) migonei* França, 1920; *L. (N.) whitmani* Antunes e Coutinho, 1939; *L. (Pintomyia) fischeri* Pinto, 1926; *L. (Psychodopygus) pessoai* Coutinho e Barreto, 1940; *L. (N.) umbratilis* Ward e Fraiha, 1977; *L. (P.) wellcomei* Fraiha, Shaw e Lainson, 1971; *L. (Trichophoromyia)*

ubiquitalis Mangabeira, 1942; *L. (P.) complexa* Mangabeira, 1941; *L. (P.) ayrozai* Barreto e Coutinho, 1940; *L. (P.) paraensis* Costa Lima, 1941 e *L. (N.) flaviscutellata* Mangabeira, 1942 (RANGEL e LAINSON, 2003).

Diferentes espécies envolvidas na transmissão das leishmanioses tegumentares são relacionadas à ecótopos específicos em associações estreitas com parasitos e reservatórios (RANGEL e LAINSON, 2003). Como observado na Região Amazônica Brasileira, no ciclo enzoótico de transmissão de *L. (L.) amazonensis* entre *L. (N.) flaviscutellata* e roedores *Proechymis guyannensis* (LAINSON e SHAW, 1968) e de *L. (V.) guyanensis*, entre *L. ubiquitalis* e *Choloepus didactylus*, “preguiça de dois dedos” (CHRISTENSEN et al., 1982). Sendo estas associações baseadas no comportamento específico de alguns flebotomíneos, em ambientes propícios, além das preferências alimentares das diferentes espécies.

Em Mato Grosso foram identificadas várias espécies de flebotomíneos envolvidas na transmissão de *Leishmania* (AZEVEDO et al., 2002; MISSAWA e LIMA, 2006; MISSAWA e MACIEL, 2007; RIBEIRO et al., 2007; MISSAWA e DIAS, 2007; MISSAWA et al., 2008b; PEDROSO et al., 2009), provavelmente devido a grande diversidade de ecossistemas (Amazônico, Cerrado e Pantanal) encontrada neste estado (IBGE, 2004). As preferências alimentares de exemplares de *L. longipalpis* foram investigadas em fêmeas oriundas de Várzea Grande (MT), em estudo de dois anos naquela área de transmissão intensa para LVA, confirmando sua eclética alimentação, com preferência de repasto em aves (30,8%) e roedores (21,2%), mas também se alimentando em humanos, gambás, bois, cavalos e cães (MISSAWA et al., 2008a).

2.7 Interação parasito-hospedeiro invertebrado e competência vetorial

A competência vetorial de uma espécie de flebotomíneo, ao se infectar, depende de vários fatores intrínsecos, que determinarão a sua capacidade de ser suscetível ou refratário ao desenvolvimento de determinadas espécies de *Leishmania*, sugerindo um processo de co-evolução entre as distintas espécies de *Leishmania* com seus flebotomíneos vetores (PIMENTA et al., 2003).

Pimenta e colaboradores (2003) relacionaram alguns aspectos do desenvolvimento dos protozoários nos flebotomíneos que são imprescindíveis para modular a competência vetorial. Desta forma, os protozoários devem ser capazes de

resistir às enzimas digestivas do intestino médio do inseto durante a digestão sanguínea; escaparem da matriz peritrófica que envolve o bolo alimentar; aderirem ao epitélio intestinal no momento da excreção do resto alimentar; completarem o ciclo de vida dentro do inseto vetor, culminando no desenvolvimento, multiplicação e diferenciação de formas infectivas (promastigotas metacíclicas) e inocularem esses parasitos no hospedeiro vertebrado.

A infecção do flebotomíneo se dá pela ingestão de sangue e macrófagos contendo amastigotas durante o repasto em hospedeiros infectados (KAMHAWI, 2006). Como seu aparelho bucal é pequeno, impedindo a penetração até o leito vascular, este inseto produz pequenas lacerações na pele, e rompem pequenos vasos que irrigam o tecido subcutâneo do hospedeiro vertebrado, onde fazem seu repasto sanguíneo (OLIVEIRA, 2005b), ingerindo junto ao sangue os macrófagos infectados do hospedeiro.

Após o repasto sanguíneo, forma-se uma barreira semipermeável no intestino médio do flebotomíneo, chamada de matriz peritrófica, ao redor do sangue ingerido, em aproximadamente 24 horas. Sua função é servir como uma estrutura física para proteção do epitélio intestinal ao conteúdo alimentar (RICHARDS e RICHARDS, 1977 apud PIMENTA et al., 2003), além de proteção contra microrganismos patogênicos presentes no sangue ingerido (PETERS, 1992 apud PIMENTA et al., 2003). Enzimas proteolíticas penetrarão nesta matriz para iniciar a digestão do sangue, e as formas retardatárias do protozoário que estiverem na periferia serão eliminadas (OLIVEIRA, 2005b).

As amastigotas sobreviventes se transformam em promastigotas em 12 a 20 horas, produzindo uma densa camada glicolípídica (LPG), que recobre toda a superfície da promastigota, inclusive seu flagelo, protegendo-o da digestão (OLIVEIRA, 2005b; SOARES et al., 2005). Mas caso as promastigotas estejam dentro de uma espécie de flebotomíneo sem competência vetorial para o patógeno, ocorrerá sua destruição através da digestão, o que sugere uma especificidade de condições bioquímicas (OLIVEIRA, 2005b).

Com o final da digestão, a matriz peritrófica se desintegra e ocorrerá a excreção dos restos alimentares. Logo, as promastigotas em multiplicação deverão escapar para fora da matriz à custa da secreção de quitinases, para se aderirem ao epitélio do intestino do flebotómo, através das unidades sacarídicas da LPG que se

ligam especificamente às microvilosidades do intestino do inseto (PIMENTA et al., 1992; OLIVEIRA, 2005b; KAMHAWI, 2006; VOLF e MYSHOKA, 2007).

Isto ocorre a cerca de três dias após o repasto sanguíneo, sendo neste momento a procura das leishmanias por seu microambiente, peripilárico ou suprapilárico (OLIVEIRA, 2005b), em espécies pertencentes aos subgêneros, *Viannia* ou *Leishmania*, respectivamente. Estas promastigotas aderidas completam seu ciclo de vida dentro dos flebotomíneos, se multiplicando, alterando sua forma e diferenciando-se, culminando com a metaciclogênese em suas formas infectivas, promastigotas metacíclicas (PIMENTA et al., 2003).

Passados quatro dias do repasto, as formas promastigotas metacíclicas migram para a porção anterior do trato digestivo, havendo um acúmulo destas formas na região da válvula estomodeal, que corresponde à porção inicial do intestino do flebotomíneo, em um tampão gelatinoso (*gel-like plug*) secretado pelos próprios parasitos (PIMENTA et al., 2003). O componente principal deste gel é uma proteofosfoglicana filamentosa (fPPG), semelhante a mucina, que bloqueia a faringe, cárdia e esôfago do inseto, dificultando a sucção de sangue. Para se livrar do bloqueio, o inseto regurgita parte deste gel, onde estão presentes os parasitos, no hospedeiro vertebrado, e pela dificuldade de sucção, pois a válvula estomodeal também ficará danificada pela maciça presença de promastigotas, faz demoradas tentativas de alimentação, com interrupções, em um único ou em vários hospedeiros (VOLF et al., 2004).

Este comportamento pode ampliar a transmissão das leishmanias para vários hospedeiros, sendo uma forma de manipulação adaptativa do comportamento de alimentação do flebotomíneo pela *Leishmania*, favorecendo sua disseminação, e conseqüentemente, sua persistência na natureza (ROGERS e BATES, 2007). Esta fPPG inoculada durante a regurgitação, tem a capacidade de aumentar a sobrevivência dos parasitos no tecido subcutâneo, como também de modular a patogenicidade do inoculado (OLIVEIRA, 2005b).

A saliva dos flebotomíneos possui um potente vasodilatador, o Maxadilan, responsável pela inibição da morte intracelular dos parasitos pelos macrófagos, e pela modulação da resposta inflamatória do hospedeiro (SOARES et al., 1998; OLIVEIRA, 2005b). Segundo Warburg e Lazaro (1994 apud OLIVEIRA, 2005b) o maior potencial de indução à atividade alérgica do Maxadilan de *L. longipalpis*, provenientes do Brasil e Colômbia, justificaria a ocorrência de visceralização do

agente *L. (L.) infantum chagasi* no homem, diferentemente do que ocorre na América Central com o mesmo parasito e a mesma espécie de vetor, que por razões inversas causa somente lesões cutâneas. Logo, a quantidade e a composição da saliva variam entre espécies e mesmo entre populações de flebotomíneos.

Alguns autores relatam o aumento drástico de promastigotas metacíclicos, em fêmeas de colônias de *L. longipalpis*, após o segundo repasto sanguíneo, o que aumentaria proporcionalmente a probabilidade de transmissão do parasito para o vertebrado a partir do terceiro repasto sanguíneo (ELNAIEM et al., 1994).

Estudos sobre hábitos alimentares de algumas espécies de flebotomíneos, vetores de *Leishmania* patogênica ao homem, indicam as preferências alimentares de algumas espécies (antropofílica e/ou zoofílica), completando os estudos epidemiológicos destas zoonoses em áreas endêmicas ao indicar quais os possíveis hospedeiros mamíferos podem participar do ciclo de transmissão do agente (DIAS et al., 2003; HAOUAS et al., 2007; MISSAWA et al., 2008a; OLIVEIRA et al., 2008).

2.8 Hospedeiros / reservatórios de *Leishmania*

Todas as espécies de *Leishmania* têm uma origem zoonótica, sendo a variante antroponótica, ocorrente na Índia, Sudão e Afeganistão, consequência da adaptação de algumas espécies a estes ciclos (SHAW, 2007). Segundo Noyes e colaboradores (1998), o homem é considerado hospedeiro acidental (antropozoonose), enquanto o protozoário infecta cerca de nove ordens de mamíferos e répteis em áreas subtropicais e tropicais do mundo.

Desde as primeiras décadas do século passado, pesquisadores em todo o mundo buscam descobrir os reservatórios “primários” das leishmanioses. A melhor definição para um reservatório seria a de “um sistema ecológico no qual o agente infeccioso possa persistir indefinidamente” (DISNEY, 1968 apud ASHFORD, 1996; ASHFORD, 2000). Podendo nas infecções transmitidas por vetores ocorrer uma ou mais espécies de vetores e mamíferos, vivendo em condições de densidade populacional e proximidade espacial, tal que o agente possa ser indefinidamente transferido entre eles (ASHFORD, 1996).

No Brasil, Evandro Chagas e colaboradores, estudando um foco de LVA no Ceará em 1936-1937, hipotetizaram sobre a existência de algum reservatório silvestre, devido a proximidade dos casos humanos e caninos às áreas florestais,

apesar de não encontrarem mamíferos infectados entre centenas de examinados (DEANE e DEANE, 1962).

As primeiras evidências da atuação de canídeos domésticos e silvestres como reservatórios dos agentes etiológicos de *Leishmania* no Continente Americano, iniciaram-se pelo diagnóstico de infecção natural por *L. (L.) infantum chagasi* em *Canis familiaris* e *Dusicyon vetulus*, respectivamente, em foco de LVA no Ceará, Brasil (DEANE e DEANE, 1955 apud COURTENAY et al., 2002). Posteriormente, estudos comparativos de crânio e arcada dentária de canídeos habitantes das regiões onde os primeiros exemplares infectados por *L. (L.) infantum chagasi* foram descritos, levaram Courtenay e colaboradores (1996) a concluir que se tratavam de exemplares de *Cerdocyon thous*, e não *D. vetulus* (= *Lycalopex vetulus*).

Seguiram-se, então, outros achados de animais desta ordem naturalmente infectados no Brasil: *C. thous*, “lobinho” (LAINSON et al., 1969; SILVEIRA et al., 1982; COURTENAY et al., 1996; SILVA et al., 2000; CURI et al., 2006; LUPPI et al., 2008), *Speothos venaticus*, “cachorro-vinagre” (FIGUEIREDO et al., 2008; LUPPI et al., 2008), *Lycalopex vetulus*, “raposinha do campo” e *Chrysocyon brachyurus*, “loboguará” (LUPPI et al., 2008). Lainson e colaboradores (2002) provaram experimentalmente a capacidade infectiva de exemplares de *C. thous*, naturalmente infectados, para *L. longipalpis* criados em laboratório, demonstrando sua importância epidemiológica em ambiente silvestre. O que veio de encontro ao estudo transversal realizado na Amazônia Brasileira, onde *C. thous* foram considerados sem importância para a manutenção do ciclo de transmissão, por não serem infecciosos para *L. longipalpis* criados em laboratório (COURTENAY et al., 2002).

Todavia, canídeos domésticos e silvestres são atualmente considerados os principais reservatórios de *L. (L.) infantum chagasi* nas Américas, no ciclo doméstico e silvestre, respectivamente (MS, 2006).

Os carnívoros domésticos (caninos e felinos) e perissodáctilos (*Equus asinus*, *Equus caballus* e muares, híbridos de *E. caballus* e *E. asinus*) também demonstram lesões tegumentares causadas *L. (V.) braziliensis*, mas por não serem capazes de manter o ciclo epidemiológico em um ecótopo, são considerados hospedeiros secundários ou acidentais (PESSOA e BARRETO, 1948 apud FALQUETO e FERREIRA, 2005; LAINSON, 1988; LAINSON e SHAW, 1998; REITHINGER e DAVIES, 1999; MADEIRA et al., 2003; SCHUBACH et al., 2004; MS, 2007). Silva e

colaboradores (2005) associaram o desenvolvimento de lesões de pele nestes animais como a demonstração de não serem hospedeiros naturais do parasito.

Para outros autores, os caninos e equídeos podem ser considerados reservatórios de *L. (V.) braziliensis* em ambiente peridoméstico (CRUZ et al., 1989; REITHINGER e DAVIES, 2002; REITHINGER et al., 2003). Em área endêmica de LTA, um estudo demonstrou que a presença de cães no peridomicílio poderia aumentar em até 15 vezes o risco de transmissão para as pessoas. Em área endêmica de São Paulo, onde a busca do parasito entre reservatórios silvestres fracassou, concluiu-se que a doença podia ocorrer não somente em ambientes florestais como em focos antigos, com manutenção do ciclo entre animais domésticos e flebotomíneos com hábitos peridomiciliares (FALQUETO et al., 1986 apud YOSHIDA et al., 1990).

Também foram relatadas infecções ocasionais por *L. (L.) amazonensis* em caninos (TOLEZANO et al., 2007) e felinos (DE-SOUZA et al., 2005), em São Paulo, e infecção mista por *L. (L.) chagasi* e *L. (V.) braziliensis* em canino no Rio de Janeiro (MADEIRA et al., 2006).

Felinos domésticos (*Felis catus*) também foram investigados no foco de LVA (Ceará) pelo grupo de Evandro Chagas, encontrando infecção em um destes (DEANE e DEANE, 1962). Todavia, Savani e colaboradores (2004) detectaram felinos domésticos naturalmente infectados por *L. (L.) infantum chagasi* em Cotia (SP), uma região sem registro de LVA humana ou canina autóctone. Relatos mais recentes ocorreram em regiões endêmicas para LVA no Rio de Janeiro (Barra de Guaratiba) em felinos domésticos (SILVA et al., 2008) e em Mato Grosso (Cuiabá) em felídeos cativos, *Puma concolor*, “suçuarana” e *Panthera onca*, “onça-pintada” (DAHROUG et al., 2010), sugerindo a participação destes mamíferos na cadeia de transmissão deste agente, porém, mais estudos são necessários para afirmar tal hipótese.

Corroborando para a suspeita da origem silvestre das leishmanioses, no Panamá, Herrer e colaboradores (1973; 1975) detectaram infecção natural por *Leishmania* spp. em animais das ordens Carnivora, Marsupialia, Primata, Rodentia e Xenarthra (=Edentados), sugerindo os autores, pelos diferentes comportamentos das cepas, em cultura e no hamster, se tratar de isolados de *L. braziliensis*, *L. mexicana* e *L. hertigi*.

Porém, os estudos realizados na Amazônia Brasileira, foram mais completos ao isolar e caracterizar, através de eletroforese de enzimas, outras espécies de *Leishmania* como, *L. (V.) guyanensis* em *Tamandua tetradactyla*, “tamanduá-mirim” (LAINSON et al., 1981) e *L. (V.) naiffi* em *Dasypus novemcinctus*, “tatu-galinha” (LAINSON e SHAW, 1982; LAINSON e SHAW 1989a apud GRIMALDI e TESH, 1993), *L. (V.) shawi* em *Cebus apella*, “macaco-prego”, *Chiropotes satanus*, “caxiú-preto”, *Chloepus didactylus*, “preguiça de dois dedos”, *Bradypus tridactylus*, “preguiça de três dedos” e *Nasua nasua*, “quati” (LAINSON et al., 1989b apud GRIMALDI e TESH, 1993).

O encontro de marsupiais *D. albiventris* naturalmente infectados por *Leishmania* sp. (ARIAS e NAIFF, 1981), *L. (L.) infantum chagasi* no Brasil (SHERLOCK et al., 1984; 1988), de *Didelphis marsupialis* (SCHALLIG et al., 2007) no Brasil, Colômbia (CORREDOR et al., 1989; TRAVI et al., 1994; 1998) e Venezuela (ZULUETA et al., 1999), alertaram para a possibilidade de hospedeiros mamíferos silvestres, não canídeos, participarem da cadeia de transmissão de LVA nas Américas. Marsupiais didelfídeos são mamíferos com origem estimada em 39,8 milhões de anos (STEINER et al., 2005) apresentando grande capacidade de adaptação, sendo considerados modelo de sucesso evolucionário (LEGEY et al., 1999).

Assim, marsupiais são considerados reservatórios silvestres de *L. (L.) infantum chagasi* nas Américas (MS, 2006), além de poderem atuar como elo entre os ciclos peridoméstico e silvestre no Brasil, já que foram encontrados infectados também em áreas urbanizadas (CABRERA et al., 2003; SANTIAGO et al.; 2007; SCHALLIG et al., 2007).

Animais desta ordem, também foram detectados naturalmente infectados nas Américas por espécies dermatrópicas, como *L. (V.) braziliensis* em *D. albiventris*, *D. marsupialis*, *Marmosa* sp. e *Micoureus demerarae* (SHERLOCK et al., 1988; ALEXANDER et al., 1998; BRANDÃO-FILHO et al., 2003); *L. (V.) guyanensis* em *D. marsupialis* (ARIAS e NAIFF, 1981; ARIAS et al., 1981; LAINSON, 1981; DEDET et al., 1989) e *L. (L.) amazonensis* em *Philander opossum* e *Metachirus nudicaudatus* (LAINSON, 1981), em *Marmosa mexicana* (VAN WINSBERGHE et al., 2009), *D. albiventris* (SHERLOCK et al., 1988) e em *D. marsupialis* e *M. cinerea* (ARIAS et al., 1981).

Durante a procura de reservatórios silvestres das leishmanioses nas primeiras décadas do século passado, mamíferos da Ordem Rodentia, *Proechimys semispinosus* e *Hoplomys gymnurus*, foram encontrados naturalmente infectados por *Leishmania mexicana* no Panamá (ANON, 1957; 1959 apud LAINSON, 1983).

Em seguida, no Brasil, Forattini e colaboradores (1960) isolaram este protozoário de outras três espécies de roedores: *Cuniculus paca*, “paca”, *Dasyprocta azarae*, “cutia” e *Kannabateomys amblyonyx*, “rato de taquara”, capturados em Teodoro Sampaio (São Paulo), em área endêmica de LTA. Infelizmente estes parasitos não foram identificados (LAINSON et al., 1997). Enquanto em outra área endêmica para LTA (Pacatuba, Ceará) foi obtido hemocultivo positivo de um roedor sinantrópico *Rattus rattus alexandrinus*, “rato preto”, suspeitando os autores se tratar de *Leishmania braziliensis* (ALENCAR et al., 1960).

Estes achados sugeriam a existência de uma enzootia silvestre, mas a evidência concreta da participação de roedores silvestres na epidemiologia das leishmanioses tegumentares foi feita em Belize, com a descrição ecoepidemiológica do ciclo da “úlcer de chiclero”, causada pela *L. (L.) mexicana* por Lainson e Strangways-Dixon entre os anos de 1962 a 1964 (LAINSON, 1997) e em Honduras (DISNEY, 1964 apud NERY-GUIMARÃES et al., 1968).

Em 1968, Lainson e Shaw além de detectarem infecção por *L. (L.) amazonensis* em *O. capito* e *P. guyannensis*, observaram a preferência alimentar dos flebotomíneos predominantes em Utinga (Belém) pelos roedores. E ao encontrar infecção natural à dissecação de alguns destes dípteros, descrevem o ciclo enzoótico de transmissão, onde *Lutzomyia flaviscutellata* era o principal vetor e os roedores, reservatórios.

Estes mesmos pesquisadores em Mato Grosso (Serra do Roncador), em área endêmica para as formas cutâneas e cutâneo-mucosas, detectaram positividade em esfregaços de lesões de pele de pequenos mamíferos das espécies: *Oryzomys* sp., *O. capito*, *O. concolor*, *Neacomys spinosus*, *Nectomys squamipes* e *M. murina*. Assinalando as diferenças de comportamento dos parasitos em cultura e em hamster, denominando a espécie como *Leishmania braziliensis* sensu lato, indicando a existência de um complexo de espécies (LAINSON e SHAW, 1968; 1970).

A partir desta incessante pesquisa, vários isolados de *Leishmania* foram obtidos de roedores e humanos, na Amazônia Brasileira, pelo Instituto Evandro

Chagas e Wellcome Parasitology Unit, que estudavam a epidemiologia das leishmanioses naquela região (LAINSON, 1983).

Posteriormente, outros relatos de detecção de parasitos do gênero *Leishmania* spp. em roedores foram publicados em *Oryzomys* sp. no Pará (NERY-GUIMARÃES et al., 1968); em *O. eliurus* no Rio de Janeiro (BARBOSA et al., 1970); em *P. iheringi* no Espírito Santo (FALQUETO et al., 1985), caracterizados posteriormente como uma variante de *L. (L.) forattini* (FALQUETO et al., 1998) e em *O. eliurus*, *Dasyprocta aguti* e *Cercomys cunicularus* na Bahia (SHERLOCK et al., 1988).

Suposta infecção natural por *L. braziliensis* foi relatada em *Akodon arviculoides* e *O. nigripes* em São Paulo (FORATTINI et al., 1972). Porém, foi caracterizada infecção, com identificação do protozoário através de isolamento e eletroforese de enzimas, por *L. (L.) amazonensis* em *P. guyannensis* e *Dasyprocta* sp. no Pará (LAINSON et al., 1981) e *P. guyannensis* em Manaus (ARIAS et al., 1981); bem como por *L. (V.) braziliensis* em *Rhipidomys leucodactylus* e *P. guyannensis* no Pará (LAINSON et al., 1981) e em *A. arviculoides* em Minas Gerais (MAGALHÃES-ROCHA et al., 1988). Um importante aspecto da relação parasito-hospedeiro observado por LAINSON e colaboradores (1981), em pequenos mamíferos silvestres, foi o encontro dos parasitos do Complexo *braziliensis*, onde estão incluídas *L. braziliensis* e *L. guyanensis*, apresentando visceralização.

Leishmania (V.) lainsoni, outra espécie de *Leishmania* descrita, foi isolada em *Agouti paca*, sendo *L. ubiquitalis* responsabilizada pela sua transmissão (SILVEIRA et al., 1991).

Até aquele momento em mamíferos da ordem Rodentia eram detectadas e isoladas apenas espécies de *Leishmania* causadoras de infecções tegumentares, porém, Travi e colaboradores (1998) através de métodos moleculares (PCR e dot blot hibridização) detectaram infecção natural em roedores *P. canicollis* por *L. (L.) infantum chagasi* na Colômbia.

Posteriormente, com o avanço do diagnóstico molecular, outros roedores silvestres e sinantrópicos foram encontrados naturalmente infectados em regiões brasileiras por *L. (V.) braziliensis* em *R. rattus* no Ceará (VASCONCELOS et al., 1994), em *R. rattus*, *N. squamipes*, *Bolomys lasiurus*, *Holochilus scieurus* e *A. arviculoides* no Pernambuco (BRANDÃO-FILHO et al., 2003) e por *Leishmania* do Complexo *L. braziliensis* em *O. subflavus* e *R. rattus* e por *Leishmania* dos

Complexos *L. mexicana* e *L. donovani* em *Thrichomys apereoides* e *R. rattus* em Minas Gerais (OLIVEIRA et al., 2005a).

Na pesquisa de Brandão-Filho e colaboradores (2003), acima citada, foi possível o isolamento do zimodema IOC/Z74 de *L. (V.) braziliensis* em roedores silvestres e sinantrópicos, *B. lasiurus* (= *Necromys lasiurus*) e *R. rattus*, respectivamente, sendo o mesmo detectado em infecções humanas naquela localidade, reforçando a hipótese de que animais desta ordem são reservatórios primários de *L. (V.) braziliensis*. Sendo no estudo de Oliveira e colaboradores (2005a), detectada pela primeira vez infecção natural por *L. (L.) infantum chagasi* em exemplares do rato silvestre *T. apereoides*.

O roedor *R. rattus* introduzido no Brasil durante a colonização europeia (BONVICINO et al., 2008), é considerado possível reservatório de *L. (L.) donovani* e *L. (L.) infantum infantum* em países endêmicos para leishmaniose visceral no Velho Mundo (BETTINI et al., 1978; BETTINI et al., 1980; POZZIO et al., 1981; GRAMICCIA et al., 1982; GRADONI et al., 1983; IBRAHIM et al., 1992; DI BELLA et al., 2003). Nas Américas foram descritas infecções naturais nesta espécie por *L. (L.) infantum chagasi* (ZULUETA et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2005a), por *L. (V.) braziliensis* (VASCONCELOS et al., 1994; ALEXANDER et al., 1998; BRANDÃO-FILHO et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2005a), por *L. (L.) amazonensis* (DE-LIMA et al., 2002) e por *Leishmania* do Complexo *Leishmania donovani* (OLIVEIRA et al., 2005a). Sua possível participação na cadeia de transmissão das leishmanioses se torna particularmente importante, pela sua característica adaptação ao ambiente antropizado e peridomicílio, estando distribuídos em todos os estados brasileiros (BONVICINO et al., 2008).

Outros murídeos originários da Europa e introduzidos no Brasil (*M. musculus* e *R. norvegicus*) foram descritos infectados por *Leishmania* na antiga Iugoslávia (PETROVIC et al., 1975 apud DI BELLA et al., 2003) e Itália (DI BELLA et al., 2003), mas ainda não foram detectados infectados no Continente Americano.

2.9 Novo perfil epidemiológico das leishmanioses

A ocorrência das leishmanioses tegumentares estava intimamente relacionada aos ambientes selvagens com áreas de vegetação primária, onde havia uma multiplicidade de espécies de *Leishmania*, com grande número de hospedeiros

mamíferos e uma variedade de espécies de flebotomíneos vetores (LAINSON, 1988), sendo a LV considerada uma doença de ambientes rurais (DEANE E DEANE, 1955 apud LAINSON e RANGEL, 2005).

Mas apesar do intenso desflorestamento as leishmanioses se expandiram nas últimas décadas, mostrando mudanças nos seus perfis epidemiológicos. As formas tegumentares se mantiveram em focos antigos, mas surgiram novos focos nos limites da cidade com a floresta, como em Manaus (ANDRADE, 1999). Outro fato observado foi a criação de ambientes favoráveis a partir da urbanização, como ocorreu em algumas áreas do Rio de Janeiro (AGUILAR et al., 1987) e em São Paulo, onde trechos com cobertura preservada são mantidos no interior do espaço urbano, garantindo a manutenção do ciclo enzoótico (GOMES e NEVES, 1998).

A LV, inicialmente considerada uma doença de ambiente rural, demonstrou também uma mudança no seu perfil de transmissão, gerada pela alteração da ecologia do seu principal vetor transmissor, *L. longipalpis*, (RANGEL e VILELA, 2008), ocorrendo em áreas urbanizadas do Brasil, como Rio de Janeiro (RJ), Campo Grande, Corumbá e Três Lagoas (MS), Belo Horizonte (MG), Araçatuba (SP) e Palmas (TO) (COSTA, 1993 apud RANGEL e VILELA, 2008; GALATI et al., 1997; OLIVEIRA et al., 2000, 2006; LUZ et al., 2001; SILVA et al., 2001; MS, 2006).

A participação do homem no ciclo antroponótico de transmissão, em ambientes urbanizados endêmicos, tem sido questionada (COSTA et al., 2000; COSTA et al., 2002; ROTUREAU, 2006; OLIVEIRA et al., 2008). A infectividade de pessoas ativamente doentes por LVA para o vetor *L. longipalpis* já era conhecida (DEANE e DEANE, 1962), sendo recentemente confirmada (COSTA et al., 2000). Costa e colaboradores (2002) também detectaram infecção por *L. (L.) infantum chagasi* em sangue periférico de portadores assintomáticos contactantes de pessoas com LVA ativa, onde não havia cães no peridomicílio, em Teresina, Piauí (COSTA et al., 2002). Corroborando com esta hipótese, em Campo Grande (Mato Grosso do Sul), observou-se alto grau de antropofilia em estudo de preferência alimentar de fêmeas de *L. longipalpis* (66,4%), com menor proporção de zoofilia, com 64,8% de fêmeas alimentadas em aves e apenas 8,9% em cães, tanto nos insetos capturados em residências como em áreas florestais (OLIVEIRA et al., 2008).

Mas segundo Ashford (2000) a estrutura destes “aparentemente” novos focos tem sido pouco estudada, principalmente com relação aos mamíferos reservatórios. Pois além do reservatório canino, a participação de humanos e outros animais

domésticos ou silvestres na cadeia de transmissão dos parasitos causadores da forma visceral, tanto no Novo como no Velho Mundo dependem de mais estudos (QUINNELL e COURTENAY, 2009).

2.10 Diagnóstico

Segundo Chapuis (2007) os testes diagnósticos para a confirmação da doença devem ser altamente sensíveis (>95%), mas também altamente específicos, já que a droga mais utilizada atualmente no tratamento (antimonial pentavalente) é tóxica.

A observação direta das formas amastigotas pelo exame microscópico em tecido cutâneo, linfóide ou mucosal é o teste clássico confirmatório para leishmaniose (REED, 1996; CHAPUIS, 2007), mas a sua sensibilidade varia entre os tecidos (CHAPUIS, 2007).

A cultura em meio bifásico de NNN (MacNeal, Novy, Nicolle) ou meio Schneider, com soro fetal bovino, apresenta resultado superior ao exame microscópico, mas além do inconveniente da demora para se obter o resultado, depende de técnicas mais elaboradas e restritas ao ambiente hospitalar (PAHO, 2003b; PRATA e SILVA, 2005; CHAPUIS, 2007). Porém, a observação das promastigotas de *Leishmania*, em cultura de tecido ou aspirado, confirma o diagnóstico de leishmaniose (REED, 1996).

Após o isolamento, a caracterização da espécie é feita com a técnica padrão-ouro, eletroforese enzimática (MLEE), que se baseia na diferente migração de moléculas com cargas e tamanhos desiguais, devido as modificações ocorridas no gene que as codifica (CUPOLILLO et al., 1994; PAHO, 2003b). Podendo ser utilizadas outras provas moleculares baseadas em PCR e à reatividade dos anticorpos monoclonais para a identificação específica (GRIMALDI et al., 1987; CASTILHO et al., 2008; BRITO et al., 2009).

Com relação aos parasitos causadores de LT, o problema é a escassez de parasitos nas lesões causadas por espécies do subgênero *Viannia*, baseando-se o diagnóstico nos dados clínico-epidemiológicos e no teste intradérmico (IDMR), mas a pesquisa parasitológica nas lesões é recomendada por ser confirmatória (DA-CRUZ e PIRMEZ, 2005).

Métodos indiretos como o sorológico ensaio imunoenzimático (ELISA) e a imunofluorescência indireta (RIFI), baseiam-se na detecção de anticorpos contra o agente, sendo recomendados para realização de inquéritos epidemiológicos (COSTA e VIEIRA, 2001; MS, 2006), mas podem apresentar reações cruzadas com outras patologias, como Doença de Chagas (PRATA e SILVA, 2005). Além de ter uma significativa proporção de pessoas saudáveis que vivem em áreas endêmicas que serão soropositivas, logo estes testes devem sempre ser usados em combinação com o caso clínico para definir o diagnóstico de LVA (CHAPUIS, 2007). Porém, os resultados negativos não excluem o diagnóstico de leishmaniose, principalmente na forma tegumentar (PAHO, 2003a), que tendem a apresentar baixos títulos nos casos positivos, desaparecendo após o tratamento, sendo mais utilizados como controle da cura (MARZOCHI et al., 1980). Outras provas imunológicas como aglutinação direta, aglutinação em látex e imunodifusão em gel são possíveis (PAHO, 2003b).

Na forma tegumentar ou mucosa, com fragmentos da lesão pode-se cultivar o parasito em meio bifásico de NNN ou inocular em animais de laboratório suscetíveis como hamster (*Mesocricetus auratus*), fazer exame histopatológico ou *imprints* por aposição em lâmina, fazer reação de imunoperoxidase e imunofluorescência direta em corte ou esfregaços, além de detectar o DNA do parasito por PCR (DA-CRUZ e PIRMEZ, 2005; MS, 2007).

A intradermorreação de Montenegro (IDMR) de leishmanina, recomendada para o diagnóstico de LT, é um teste de hipersensibilidade tardia, podendo ser negativa nas quatro primeiras semanas da infecção, mas pode persistir positiva após o tratamento ou à cura espontânea da lesão. Em áreas endêmicas pode ser interpretada como contato com o parasito sem doença (infecção), alergia ao diluente ou reação cruzada com outras parasitoses, como doença de Chagas, esporotricose e hanseníase (MS, 2007).

As técnicas denominadas *PCR-based*, ou que manipulam o DNA, tem demonstrado resultados promissores no diagnóstico das leishmanioses, baseando-se na análise de moléculas de DNA do cinetoplasto (kDNA) ou do DNA nuclear (nDNA) (SHAW et al., 2005). Para a genotipagem são utilizadas diferentes técnicas e alvos de amplificação, como RAPD (*Random amplified polymorphic*), kDNA, RFLP (Restriction fragment length polymorphism), Microssatélites, SSU rDNA (RNA ribossômico), *Spliced leader gene* (mini-exon), ITS (espaçadores internos

transcritos), genes específicos (como gp63) e cromossomos (CRUZ e TOSI, 1996; ULIANA et al., 2000; VOLPINI et al., 2001; CASTILHO et al., 2003; PRATA e SILVA, 2005; SHAW et al., 2005; CASTILHO et al., 2008; LIMA Jr. et al., 2009). Sendo mais sensíveis que o exame microscópico, podendo ser aplicadas diretamente nas amostras de tecidos e mais rápidas que o isolamento, tendo a desvantagem de necessitarem de laboratórios bem montados, reagentes de alto custo e de uma técnica precisa (SHAW et al., 2005; CHAPUIS, 2007; LIMA Jr. et al., 2009).

Shaw e colaboradores (2005) descrevem que a partir da detecção de DNA de *Leishmania* assume-se que o parasito está vivo no tecido, produzindo infecção ativa.

O kDNA de parasitos do gênero *Leishmania* é composto por dois elementos: o maxicírculo, que carrega os genes que codificam as enzimas mitocondriais, e o minicírculo, sem função conhecida. Porém, comparando-se as sequências dos minicírculos de diferentes espécies de *Leishmania* observou-se uma região de aproximadamente 200 pares de bases (pb) conservada entre as espécies, enquanto o restante (cerca de 800 pb) seria variável. Desta forma, os fragmentos de minicírculos são amplamente utilizados em técnicas de biologia molecular para distinguir estes organismos em nível de gênero, espécies e subespécies (RODGERS et al., 1990).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo de flebotomíneos

As capturas de flebotomíneos ocorreram em Cuiabá, capital de Mato Grosso, que está localizada no centro-sul do estado, no bioma Cerrado (IBGE, 2004). Segundo dados do IBGE (2007) este município possui área territorial de 3.538 quilômetros quadrados e população estimada no último censo de 2007 de 526.830 habitantes. As atividades econômicas neste município são fundamentadas na indústria, serviço e comércio. Para investigar a fauna flebotomínica, quatro bairros, distribuídos entre as regionais metropolitanas de Cuiabá, foram escolhidos a partir da detecção de casos humanos e/ou caninos de LVA: regional norte, Morada do Ouro (S 15.38.164, W 56.031.618); regional sul, CoopHEMA (S 15.38.273, W 56.03.729); regional leste, Jardim Universitário (S 15.36.816, W 56.01.781) e regional oeste, Cidade Alta (S 15.33.906, W 56.03.720) (Figura 1). Três residências foram selecionadas em cada bairro onde armadilhas luminosas de sucção tipo HP (modelo CDC), eram expostas durante 12 horas seguidas (18:00 às 6:00 horas), uma em intradomicílio e outra no peridomicílio. As capturas se realizaram durante três noites consecutivas de cada mês, de novembro de 2007 a outubro de 2008.

3.2 Escolha das residências e do local de exposição das armadilhas

As residências foram selecionadas por se localizarem próximas a fragmentos de mata (CoopHEMA e Jardim Universitário) ou de terrenos baldios (Cidade Alta e Morada do Ouro), preferencialmente nas que possuíam animais domésticos (aves, caninos e felinos). Entre as residências com criação de aves, duas possuíam pássaros de gaiola (CoopHEMA) e duas criações de galinhas (Cidade Alta). As armadilhas no intradomicílio foram montadas preferencialmente no quarto de dormir, mas na recusa do proprietário, eram montadas na sala ou em outro local onde a família se reunia à noite (cozinha ou sala). Em peridomicílio eram expostas próximo ao local onde pernoitavam os animais, como por exemplo, sob as árvores onde as galinhas se abrigavam ou próximas aos abrigos de pássaros, caninos e felinos.

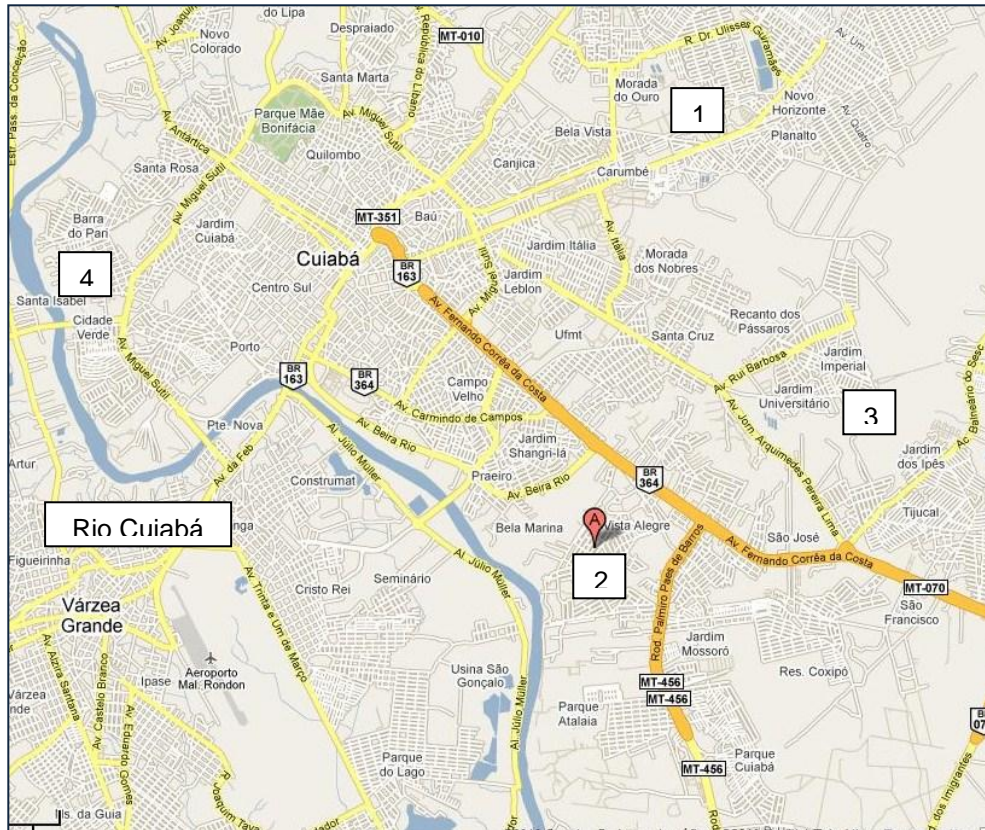


Figura 1: Mapa de Cuiabá, indicando os bairros onde foram capturados flebotomíneos: 1. Morada do Ouro; 2. CoopHEMA (A); 3. Jardim Universitário e 4. Cidade Alta. Extraído do site: www.maps.google.com

3.2 Dados meteorológicos

Durante as noites de captura foram aferidos dados de umidade relativa do ar e temperatura dos bairros analisados através do uso de termohigrômetro, enquanto os índices pluviométricos totais da cidade, relativos ao período, foram obtidos do Instituto Nacional de Meteorologia.

3.3 Identificação dos flebotomíneos

Após cada noite de captura, os insetos foram sacrificados com uso de Acetato de Etila e transportados para serem identificados. No Laboratório de Entomologia da UFMT, utilizando estereoscópio ocular, os flebotomíneos foram triados e conservados em álcool 70%, clarificados, montados em lâminas de vidro e identificados segundo Young e Duncan (1994).

3.4 Área de estudo e localização dos transectos para captura de pequenos mamíferos

As capturas de roedores e marsupiais se realizaram em Rondonópolis (Fig. 2), município localizado ao sul do estado de Mato Grosso, no bioma Cerrado (IBGE, 2004), que possui área territorial de 4.165 quilômetros quadrados e população estimada em 172.783 pessoas de acordo com o censo de 2007 (IBGE, 2007).

A atividade principal da economia deste município se baseia no agronegócio, o que provocou profundas alterações em sua paisagem natural nos últimos anos.

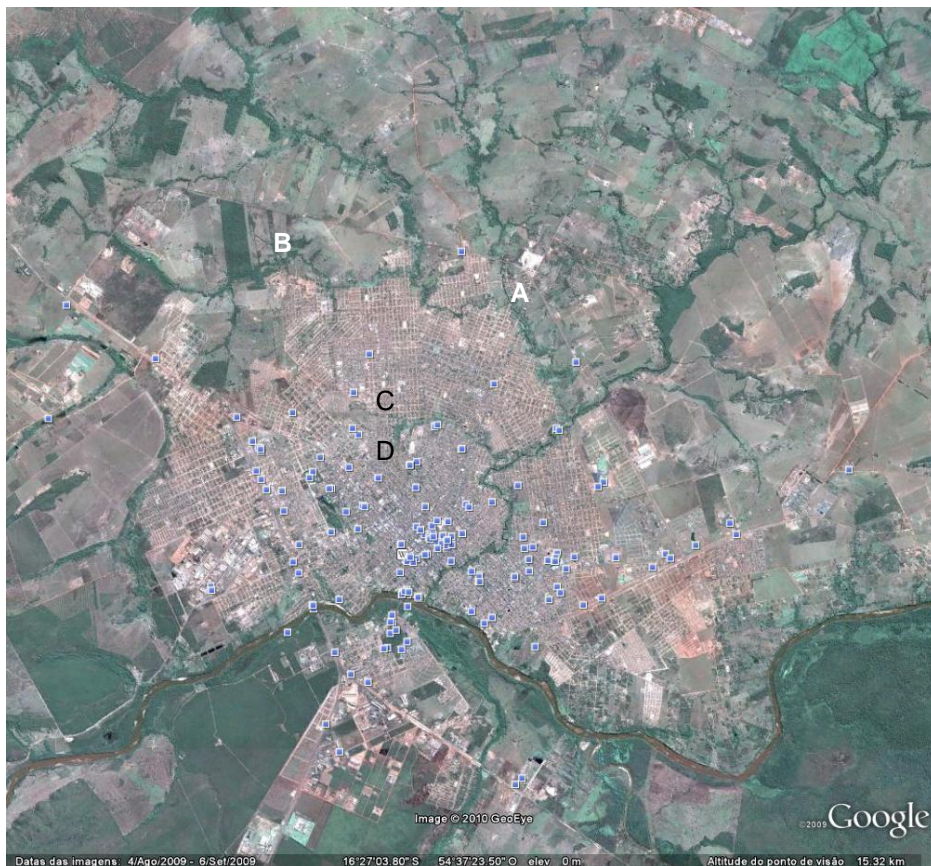


Figura 2: Vista aérea de Rondonópolis, indicando pela letra as localidades onde foram montados os transectos para captura de pequenos mamíferos: A. Carlos Bezerra, B. Marechal Rondon, C. Bairro Pindorama e D. Kênia. Extraída do site: www.googleearth.com

3.5 Descrição dos transectos

Para a captura de pequenos mamíferos foram selecionadas quatro localidades na periferia de Rondonópolis (Fig. 2) aonde haviam sido notificados casos humanos e caninos recentes de LVA: Pindorama/Bairro Jardim Tropical, Marechal Rondon, Região de Carlos Bezerra e Kênia. Em cada localidade foram estabelecidos transectos lineares compostos por 50 armadilhas modelo Shermann® (SH) e 10 armadilhas modelo Tomahawk® (TW). Sequencialmente, uma armadilha TW foi intercalada a cada cinco SH, sendo todas numeradas individualmente, para se conhecer o ponto exato de captura dos animais. Os transectos foram identificados com letras de A a D:

Transecto A – Região de Carlos Bezerra. Localização geográfica: S 16°25.267' e W 054°39.344' e elevação de 239 m. A vegetação predominante era campo limpo, com gramíneas utilizadas para pasto (braquiárias altas com cerca de 50 cm de altura). O transecto foi montado no campo de gramíneas (Figura 3), seguindo às margens do córrego Queixada. Poucas árvores compunham o resquício da mata de galeria, com árvores de dossel entre 1,50 m a 1,70 m e uma trilha de chão batido. A cerca de 400 metros de distância do transecto se localizavam casas de alvenaria, separadas pelo campo de gramíneas, porém isoladas por muros de cerca de 2 metros de altura.

Transecto B – Região de Marechal Rondon. Localização geográfica: S 16°25.264' W 054°39.347' e elevação de 229 m. Este transecto foi montado em uma chácara (Baixo Marechal), onde predominavam características rurais. As armadilhas foram dispostas entre plantações de banana, tangerina e mandioca, seguindo pela margem do córrego Queixada (Figura 4). No entorno da margem predominava a paisagem de campo limpo, com gramíneas altas (*Brachiaria*), com cerca de 50 cm de altura, e arbustos de diferentes alturas, árvores com dossel de 1,50 m a 2 m estavam dispostas apenas nas margens do rio.



Figura 3: Fotografia da Região de Carlos Bezerra – transecto A - Rondonópolis, mostrando o campo de gramíneas que separava o transecto para captura de pequenos mamíferos da área residencial.

Transecto C – Bairro Jardim Tropical / Pindorama. Localização geográfica: S 15°37.090', W 056°03.706' e elevação de 244 m. Este bairro se localizava na periferia da cidade, sendo eminentemente residencial com casas em alvenaria, mas ruas sem asfaltamento. O transecto foi montado nos fundos de uma residência, onde predominava a vegetação campo sujo, tendo ao final um córrego com mata de galeria ainda preservada, apesar de ser usado como local de despejo sanitário pela população local.

Transecto D – Kênia. Localização geográfica: S 16°26.907', W 054°38.150' e elevação de 242 m. O início do transecto ficava a cerca de 10 metros de uma casa de alvenaria (Figura 5), seguindo por um caminho com árvores altas (dossel de 2 a 3 m) características da vegetação de “cerradão”, arbustos e vegetação típica de áreas mais úmidas, onde bifurcava o córrego Canivete, finalizando em um brejo coberto com vegetação baixa e arbustos.



Figura 4: *Didelphis albiventris* capturado em armadilha Tomahawk® montada as margens do córrego Queixada - Região de Marechal Rondon – Transecto B – Rondonópolis - MT.

3.6 Captura de pequenos mamíferos

Durante o período de cinco a nove de julho de 2008, as armadilhas foram montadas à tarde e iscadas com pasta a base de amendoim, aveia, toucinho e banana para as armadilhas gradeadas (Tomahawk®) e com mistura de pasta de amendoim e aveia para as armadilhas de alumínio (Shermann®). Na manhã seguinte, as armadilhas eram vistoriadas e os animais capturados transportados ao laboratório de campo montado seguindo normas de biossegurança nível 3. A estimativa de idade dos marsupiais foi baseada na análise da estrutura dentária, sendo os marsupiais divididos em três faixas etárias: juvenil, jovem e adulto (D'ANDREA et al., 1994; GENTILE et al., 2000).

3.7 Manuseio de pequenos mamíferos, coleta de tecidos e preservação de material biológico

Os animais capturados foram pesados individualmente para o cálculo e aplicação da anestesia por via intramuscular, utilizando 80 mg/kg de cloridrato de

quetamina e 10 mg/kg de cloridrato de xilazina, nos roedores (FLECKNELL et al., 2007).



Figura 5: Montagem do transecto D (Kênia), onde ao fundo se vê a casa construída no início do transecto, com características do ambiente natural.

e 40mg/kg e 5 mg/kg para os marsupiais (ADAUTO et al., 2007). O procedimento de eutanásia dos roedores seguiu a Resolução nº 714 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV, 2002), sendo obtido o óbito, após anestesia, através de exsanguinação (cardiopunção). Constatada a parada cardiorespiratória, foi realizada a biometria e obtidas amostras de tecido tegumentar do pavilhão auricular e de medula óssea femoral. Dos marsupiais anestesiados foram coletadas amostras de sangue através de punção da veia caudal, amostra de medula óssea femoral e fragmento de pele do pavilhão auricular, sendo mantidos com alimento (laranja e banana) nas armadilhas até a manhã seguinte quando eram soltos nos locais de captura. As amostras de sangue e de medula (diluída em 500 µl de soro fisiológico) receberam uma gota de EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) para evitar a coagulação. Estas amostras armazenadas em recipiente próprio foram criopreservadas para o transporte aos Laboratórios de Microbiologia, Biologia Molecular Veterinária e de Leishmanioses, localizados no Hospital Veterinário da UFMT, em Cuiabá, até o momento do processamento.

3.8 Classificação taxonômica dos roedores

Os roedores foram conservados sob imersão em álcool 70% e enviados ao Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, localizado no Departamento de Medicina Tropical da Fundação Oswaldo Cruz - IOC (RJ), para estudo taxonômico. Posteriormente, os esqueletos e peles taxidermizadas serão depositados como material testemunho na coleção do Museu Nacional, UFRJ (RJ). Os animais foram identificados pela análise de sua morfologia externa e craniana.

3.9 Diagnóstico Molecular dos tecidos

3.9.1 EXTRAÇÃO DE DNA

As amostras de pele e medula óssea foram processadas de acordo com Gomes e colaboradores (2007). Resumidamente, as amostras foram dissolvidas em tampão de lise contendo 10 mM Tris-HCl, pH 8,0; 25 mM EDTA; 0,5% SDS; 100 mM NaCl e 100 µg/ml de proteinase K. Esta mistura, após homogenizada, foi incubada a 56°C até a completa lise celular, durante 12 horas, independentemente do tecido. Após esta incubação iniciou-se a extração de DNA pelo método fenol/clorofórmio, seguida de lavagem com etanol 70% por 10 minutos a 10.000 g, sendo o precipitado de DNA dissolvido em água ultra-pura e mantido em temperatura de congelamento (-20°C).

3.9.2 REAÇÃO EM CADEIA PELA POLIMERASE (PCR)

A PCR utilizou como alvo de amplificação molecular uma sequência conservada do minicírculo do kDNA contendo 120 pb, sendo gênero específica (DEGRAVE et al., 1994). Para cada reação 1 µM dos *primers* 150 (sense) [5'-GGG(G/T)AGGGGCGTTCT(G/C)CGAA-3'] e 152 (antisense) [5'-(G/C)(G/C)(G/C)(A/C)CTAT(A/T)TTACACCAACCCC-3'] foram utilizados segundo Passos e colaboradores (1999), junto com 200µM de dNTPs, solução tampão

(10mM Tris-HCl, 50mM KCl, pH 8,3), 2,5 mM MgCl₂, 1,5 U de *Taq* DNA polimerase e 5µl de DNA da amostra analisada, obtendo volume final de 20µl. As condições de temperatura e tempo para amplificação foram de: desnaturação inicial a 94°C por 4 minutos, seguidos de 30 ciclos de 94°C por 30 segundos, 56°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos e uma extensão final de 72°C por 10 minutos. Em todas as reações foram incluídos um controle negativo (reagentes sem DNA) e um controle positivo de *L. (L.) infantum chagasi*, evitando possíveis resultados falsos positivos (contaminação da reação), ou resultados falsos negativos (inibição da amplificação). O produto amplificado foi fracionado por eletroforese em gel de agarose 2,0% corados com brometo de etídeo e analisado em transluminador (UV-300nm).

3.9.3 POLIMORFISMO DOS FRAGMENTOS DE RESTRIÇÃO (PCR-RFLP)

Para a caracterização das espécies de *Leishmania* foi realizada a técnica de PCR-RFLP de acordo com Volpini e colaboradores (2004), modificada, onde 5 µl do produto da amplificação foi digerido por 1U da enzima HaeIII e incubado durante a noite a 37°C em solução tampão. Também foram digeridas amostras de referência de *L. (L.) infantum chagasi* (MHOM/BR/74/PP75) e de *L. (V.) braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903) cedidas gentilmente pela FIOCRUZ/RJ. Os fragmentos gerados foram separados em gel de poliacrilamida a 8%, em cuba de eletroforese vertical, e corados com brometo de etídeo. As bandas formadas pela fragmentação foram comparadas com as observadas nos DNAs de referência digeridos pela mesma enzima. Os 120 pb foram fragmentados em quatro bandas de 40, 60, 80 e 120 pb nos DNAs de *L. (L.) infantum chagasi* e em duas bandas com 40 e 80 pb nos DNAs de *L. (V.) braziliensis*.

3. 10 Análise estatística

Para avaliar as associações entre diferentes variáveis, utilizou-se Teste do Qui-quadrado (χ^2) corrigidos por Yates, ou Exato de Fischer, quando algum valor esperado foi igual ou inferior a 5. Considerou-se o valor de $p \leq 0,05$, estaticamente significativo.

3. 11 Biossegurança da equipe

A Vigilância Epidemiológica do Estado de Mato Grosso notifica, em alguns municípios, casos e óbitos por hantavirose, por este motivo todo o trabalho a campo, bem como a manipulação dos animais capturados e coleta de material biológico seguiram normas de biossegurança nível 3 (NB3), com utilização de equipamentos de proteção individual adequados para o trabalho a campo e para a coleta de material biológico em laboratório montado especificamente para realizar estes procedimentos durante as expedições.

3. 12 Bioética e legislação

A captura e procedimentos para coleta de tecidos de pequenos mamíferos foi aprovada pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Mato Grosso (CEPA) sob protocolo nº 23108.018419/08-0, bem como, licenciadas para os mesmos fins pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) em licença permanente nº13373-1, acompanhada do registro de expedição nº 539-1.

4 RESULTADOS

4.1 Capturas de flebotomíneos em bairros de Cuiabá

Durante o período estudado, o valor médio da temperatura manteve-se em torno dos 28,9°C, enquanto a umidade relativa média variou de acordo com as estações, apresentando médias superiores a 60% (71,1%) durante a estação chuvosa (de dezembro a junho) e inferiores ao mesmo valor (28,9%) na seca (de julho a outubro), enquanto os índices pluviométricos médios captados foram de 178,0 mm e 6,6 mm, respectivamente.

Foram capturados 45 flebotomíneos, sendo 24 machos (53,3%) e 21 fêmeas (46,7%), dos quais 12 (26,7%) pertenciam ao gênero *Brumptomyia* e 33 (73,3%) ao gênero *Lutzomyia*.

Entre os flebotomíneos, apenas os pertencentes ao gênero *Lutzomyia* foram identificados em nível específico. Assim, neste período foram capturadas nove diferentes espécies: *L. antunesi*, *L. evandroi*, *L. lenti*, *L. hermanlenti*, *L. walkeri*, *L. sallesi*, *L. saulensis*, *L. sordellii* e um exemplar, fêmea, pertencente ao Complexo *longipalpis*, onde estão inseridas as espécies *L. longipalpis* e *L. cruzi* (Tabela 1). *L. sallesi* foi a espécie mais abundante dentro do gênero (66,7%) e representou 49% do total de flebotomíneos capturados.

Tabela 1 - Flebotomíneos capturados em quatro bairros distribuídos entre as quatro regionais da Região Metropolitana de Cuiabá - período nov 2007-out 2008

Identificação	Morada do		Coophema		Jardim		Cidade Alta		N	%
	Bairros		Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho		
	Ouro									
<i>Brumptomyia</i> spp.	-	-	3	3	-	-	4	2	12	26,7
Complexo										
<i>longipalpis</i> *	-	-	-	-	-	-	1	-	1	2,2
<i>L. antunesi</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	1	2,2
<i>L. evandroi</i>	-	-	1	-	-	-	-	1	2	4,4
<i>L. hermanlenti</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	1	2,2
<i>L. lenti</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	1	2,2
<i>L. sallesi</i>	-	-	2	7	3	1	5	4	22	49
<i>L. saulensis</i>	-	-	1	-	1	1	-	-	3	6,7
<i>L. sordellii</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	1	2,2
<i>L. walkeri</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	1	2,2
Total	1	1	7	10	5	4	10	7	45	100

* onde estão inseridas as espécies *L. longipalpis* e *L. cruzi*.

4.2 Captura de pequenos mamíferos em Rondonópolis

No total foram capturados 97 pequenos mamíferos, entre roedores e marsupiais, no período de cinco a nove de julho de 2008. Destes, 88 roedores de seis diferentes espécies: Cricetidae: Sigmodontinae - *Necromys lasiurus*, *Oecomys mamorae* e *Oligoryzomys* sp.; Caviidae – *Cavia* cf. *porcellus*; Muridae - *Mus*

musculus e *Rattus rattus* e nove marsupiais da espécie *Didelphis albiventris* (Didelphimorphia: Didelphidae).

A espécie mais abundante foi *N. lasiurus* (n=76) (Figura 6), representando 78,35% do total e 86,36% dentro da Ordem Rodentia dos animais capturados neste município, seguido pela captura de oito *R. rattus* (8,25%), além de um espécime de *C. cf. porcellus*, *M. musculus*, *Oligoryzomys* sp. e *O. mamorae*.



Figura 6: Fotografia do espécime de roedor silvestre *Necromys lasiurus* após a administração de anestesia.

Entre os marsupiais foram capturados sete fêmeas (uma jovem e seis adultas), e dois machos (um jovem e um adulto) e entre roedores foram capturados 47 machos e 30 fêmeas de *N. lasiurus*, cinco machos e três fêmeas de *R. rattus*, um macho das espécies *O. mamorae* e *Oligoryzomys* sp. e uma fêmea das espécies *C. cf. porcellus* e *M. musculus*.

No transecto (A), Região de Carlos Bezerra (Figura 1), houve a captura do maior número de roedores (n=75) e marsupiais (n=4), bem como a maior diversidade de espécies de roedores, silvestres (*N. lasiurus*, *O. mamorae* e *Oligoryzomys* sp.) e sinantrópicos (*M. musculus* e *R. rattus*) (Tabela 2).

Tabela 2 - Pequenos mamíferos capturados no município de Rondonópolis, por transecto: A (Carlos Bezerra), B (Marechal Rondon), C (Pindorama) e D (Kênia) - período 05.07.2008 – 09.07.2008

			TRANSECTOS				n total	%
			A	B	C	D		
Ordem	Família	Gênero/ Espécie						
Marsupialia	Didelphidae	<i>Didelphis albiventris</i>	4	1	2	2	9	9,28
Rodentia	Caviidae	<i>Cavia cf. porcellus</i>				1	1	1,03
	Sigmodontinae	<i>Necromys lasiurus</i>	71	5			76	78,35
		<i>Oecomys mamorae</i>	1				1	1,03
		<i>Oligoryzomys</i> sp.	1				1	1,03
	Muridae	<i>Mus musculus</i>	1				1	1,03
		<i>Rattus rattus</i>	1		3	4	8	8,25
		Total	79	6	5	7	97	100

4.3 Diagnóstico molecular de infecção por *L. (L.) infantum chagasi* e *L. (V.) braziliensis* em pequenos mamíferos

Dos nove marsupiais capturados foram analisadas seis amostras de pele, oito de sangue e nove de medula óssea (Tabela 3).

Foram detectadas taxas de infecção entre marsupiais de 11,11% para *L. (L.) infantum chagasi* (1/9) e de 11,11% para *L. (V.) braziliensis* (1/9), resultando em uma taxa de 22,22% de animais desta ordem (2/9) infectados por *Leishmania* na área de estudo (Tabela 4).

Entre os marsupiais foram observadas taxas de infecção de 16,66% (1/6) por *L. (L.) infantum chagasi*, na análise de fragmento de pele de um jovem espécime macho e de 16,66% (1/6) por *L. (V.) braziliensis*, nas análises de amostras de pele e de 12,50% (1/8) em amostras de sangue de outro espécime adulto, fêmea (Tabela 3). Não houve diferença significativa na comparação entre sexo e infecção por *L. (L.) infantum chagasi* ($p=0,22$) ou *L. (V.) braziliensis* ($p=0,70$), bem como na comparação

entre faixa etária e detecção de infecção por *L. (L.) infantum chagasi* ($p=0,22$) ou *L. (V.) braziliensis* ($p=0,77$). Em todas as amostras de medula óssea de *D. albiventris* analisados ($n=9$) não houve amplificação de kDNA de *Leishmania* spp..

Tabela 3 – Taxas de infecção por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* e *Leishmania (Viannia) braziliensis*, em tecidos (pele, medula óssea e sangue) de pequenos mamíferos – Rondonópolis - MT - 05.07.2008–09.07.2008

Agente Amostras	<i>L. (L.) infantum chagasi</i>						<i>L. (V.) braziliensis</i>						
	Pele		m.o.*		Sangue		Pele		m.o.*		Sangue		
	+/A	%	+/A	%	+/A	%	+/A	%	+/A	%	+/A	%	
Espécie													
<i>D. albiventris</i>	1/6	16,66	0/9	0	0/8	0	1/6	16,66	0/9	0	1/8	12,50	
<i>N. lasiurus</i>	8/74	10,81	12/72	16,66	5/74	6,75	2/72	2,77	
<i>R. rattus</i>	1/7	14,28	1/8	12,50	1/7	14,28	1/8	12,50	

*Abreviatura de medula óssea. Símbolo positivo (+) significa número de positivos, letra (A) número total de analisados e três pontos seguidos (...) dado não disponível.

Tabela 4 – Taxas de infecção (%) por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* e *Leishmania (Viannia) braziliensis* entre marsupiais e roedores - Rondonópolis - MT - 05.07.2008–09.07.2008

	<i>L. (L.) infantum chagasi</i>			<i>L. (V.) braziliensis</i>		Total de infectados	
	N	+	%	+	%	+	%
Marsupiais	9	1	11,11	1	11,11	2	22,22
Roedores	88	14	15,90	7	7,95	21	23,86
Total	97	15	15,46	8	8,25	23	23,71

Letra N representa o número total de analisados e o símbolo positivo (+) o número de infectados.

Dos 88 roedores capturados foram analisadas 84 amostras de pele e 84 amostras de medula óssea. Destas, 74 amostras de pele e 72 de medula óssea de *N. lasiurus* (n=76), sete amostras de pele e oito de medula óssea de *R. rattus* (n=8), uma amostra de medula óssea de *O. mamorae* (n=1) e de *Oligoryzomys* sp. (n=1) e dos espécimes *C. cf. porcellus* (n=1) e *M. musculus* (n=1) foram analisados ambos os tecidos.

Foram observadas taxas de infecção entre roedores de 15,90% nos infectados por *L. (L.) infantum chagasi* (14/88) e de 7,95% nos infectados por *L. (V.) braziliensis* (7/88), totalizando em uma taxa de 23,86%, ao se considerar o número de roedores infectados por *Leishmania* (Tabela 3). Apenas espécimes de *N. lasiurus* e *R. rattus* foram encontrados infectados.

Entre os espécimes de *N. lasiurus* 25% (19/76) encontravam-se infectados, apresentando taxas de infecção de 10,81% em amostras de pele (8/74) e de 16,66% em amostras de medula óssea (12/72) nos infectados por *L. (L.) infantum chagasi* (Tabela 3), onde sete eram fêmeas (7/30) e seis machos (6/46). Foram detectadas infecções em ambos os tecidos em sete espécimes (7/76). Não houve diferença significativa ($p=0,39$) na comparação entre sexo e infecção por *L. (L.) infantum chagasi* entre roedores desta espécie. Em *N. lasiurus* foram observadas taxas de infecção de 6,75% em amostras de pele (5/74) e de 2,77% em amostras de medula óssea (2/72) nos infectados por *L. (V.) braziliensis* (Tabela 3), apenas entre espécimes machos. Foram detectadas infecções em ambos os tecidos em um espécime (1/76). Houve diferença significativa ($p=0,04$) na comparação entre sexo e infecção por *L. (V.) braziliensis* em *N. lasiurus*.

Entre *R. rattus*, infecções foram detectadas apenas entre machos, estando um espécime infectado por *L. (L.) infantum chagasi* e outro por *L. (V.) braziliensis*, nas análises de ambos os tecidos, resultando nas seguintes taxas de infecção, 14,28% (1/7) em amostras de pele e 12,50% (1/8) em amostras de medula óssea (1/8) (Tabela 3). Não houve diferença significativa na comparação entre sexo e infecção causada por *L. (L.) infantum chagasi* ($p=0,62$) e *L. (V.) braziliensis* ($p=0,62$) em *R. rattus*. Dados individuais de roedores infectados foram apresentados na tabela 5.

Não foi detectada infecção em *C. cf. porcellus*, *M. musculus*, *O. mamorae* e *Oligoryzomys* sp..

Tabela 5 - Resultados individuais em roedores infectados por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* e *Leishmania (Viannia) braziliensis*, por espécie, sexo, transecto e tecidos analisados (PCR-RFLP) - Rondonópolis - MT - 05.07.2008 - 09.07.2008

Espécie	Sexo	Transecto	<i>L. (L.) infantum chagasi</i>		<i>L. (V.) braziliensis</i>	
			pele	m.o.*	pele	m.o.*
<i>N. lasiurus</i>	Macho	A	+	+	-	-
<i>N. lasiurus</i>	Macho	A	+	+	-	-
<i>N. lasiurus</i>	Macho	A	-	-	+	-
<i>N. lasiurus</i>	Fêmea	A	+	+	-	-
<i>N. lasiurus</i>	Macho	A	-	+	-	-
<i>N. lasiurus</i>	Macho	A	-	-	+	+
<i>N. lasiurus</i>	Macho	A	-	-	-	+
<i>N. lasiurus</i>	Fêmea	A	+	-	-	-
<i>N. lasiurus</i>	Macho	A	-	-	+	-
<i>N. lasiurus</i>	Macho	A	-	+	-	-
<i>N. lasiurus</i>	Fêmea	A	+	+	-	-
<i>N. lasiurus</i>	Macho	A	-	-	+	-
<i>N. lasiurus</i>	Macho	A	-	-	+	-
<i>N. lasiurus</i>	Macho	A	+	+	-	-
<i>N. lasiurus</i>	Fêmea	A	+	+	-	-
<i>N. lasiurus</i>	Macho	A	-	+	-	-
<i>N. lasiurus</i>	Fêmea	B	+	-	-	-
<i>N. lasiurus</i>	Fêmea	B	+	-	-	-
<i>N. lasiurus</i>	Fêmea	B	+	+	-	-
<i>R. rattus</i>	Macho	C	+	+	-	-
<i>R. rattus</i>	Macho	C	-	-	+	+

*Abreviatura de medula óssea.

Símbolo (+) significa positivo e (-) negativo.

5 DISCUSSÃO

No Brasil, por sua diversidade de ecossistemas, os estudos dos elos que compõem a cadeia de transmissão das leishmanioses são necessários para elucidar os ciclos de acordo com a região de ocorrência. Assim, levantamentos entomológicos que objetivem demonstrar a fauna flebotomínica devem fazer parte do estudo epidemiológico em áreas endêmicas, como o realizado nesta pesquisa em bairros com ocorrência de casos humanos e/ou caninos de LVA em Cuiabá.

A pequena quantidade de flebotomíneos obtidos em Cuiabá talvez se deva a uma flutuação temporária ou sazonal das densidades populacionais. Entretanto, para confirmação desta hipótese seriam necessários estudos de longo prazo para constatação de ciclos anuais ou plurianuais. Não foi possível obter informações a respeito de borrifações nas áreas focais de LV ou para controle do vetor da dengue, antes ou durante o período de capturas desta pesquisa, o que também poderia justificar esse achado.

Não foi constatado um aumento do número de flebotomíneos, logo após o período das chuvas, como foi observado nos dados obtidos em Várzea Grande, onde se percebeu um aumento principalmente de exemplares de *L. longipalpis* (MISSAWA e DIAS, 2007).

Também não foi possível fazer uma relação entre maior ou menor captura devido à presença ou ausência de animais domésticos no peridomicílio, nem entre áreas mais ou menos iluminadas artificialmente.

Todas as espécies de *Lutzomyia* identificadas nos bairros de Cuiabá estudados, já foram descritas para o Estado de Mato Grosso (MISSAWA e MACIEL, 2007; RIBEIRO et al., 2007). Porém, somente as espécies incluídas no Complexo *longipalpis* são consideradas veiculadoras de parasitos da espécie *L. (L.) infantum chagasi* (YOUNG e DUNCAN, 1994; MS, 2006; RIBEIRO et al., 2007; RANGEL e VILELA, 2008).

A identificação específica do exemplar pertencente ao Complexo *longipalpis* não foi possível por se tratar de uma fêmea, que é morfologicamente indistinguível entre as espécies *L. longipalpis* e *L. cruzi* (MARTINS et al., 1984), sendo esta diferenciação só possível entre machos destas espécies. A espécie *L. longipalpis* é considerada a principal vetora de *L. (L.) infantum chagasi* nas Américas (MS, 2006; RANGEL e VILELA, 2008) e *L. cruzi* responsabilizado pela transmissão deste agente

em municípios de Mato Grosso do Sul (Corumbá e Ladário), na ausência do primeiro (SANTOS et al., 1998).

Em Várzea Grande, município vizinho à Cuiabá, outra área endêmica de LVA, não houve captura de *L. cruzi* durante uma pesquisa entomológica entre os anos de 2004 e 2006 (MISSAWA e DIAS, 2007), o que confirmou um estudo retrospectivo de pesquisas entomológicas que avaliou a distribuição espacial de *L. cruzi* e *L. longipalpis* neste estado (MISSAWA e LIMA, 2006). Porém, mais recentemente em outros bairros localizados na periferia de Cuiabá, observou-se simpatria destas espécies, com predomínio de *L. cruzi* (PEDROSO et al., 2009).

A espécie *L. antunesi* foi apontada como vetor alternativo na transmissão de LVA na Ilha de Marajó, no Pará (RYAN et al., 1984) devido a detecção de infecção suprapilaria por promastigotas em alguns exemplares, porém não foi possível a caracterização específica da *Leishmania* infectante. Esta espécie é responsabilizada pela transmissão vetorial de *L. (V.) lindenbergi* (SILVEIRA et al., 2002), uma das sete espécies causadoras de leishmaniose tegumentar no Brasil, até agora somente diagnosticada em Belém, também no Pará. Segundo Ribeiro e colaboradores (2007) *L. antunesi* já havia sido catalogada em Cuiabá em levantamentos entomológicos não publicados realizados pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA).

A espécie mais frequente neste estudo foi *L. sallesi*, que em município com transmissão de LVA em Minas Gerais (Lassance), apresentou um espécime naturalmente infectado por *L. (L.) infantum chagasi*, através da dissecação de fêmeas, inoculação em hamsters e posterior realização de PCR/hibridização de órgãos e pele. Mas por não apresentarem antropofilia, os autores sugeriram uma possível participação nos ciclos enzoóticos de transmissão silvestre e peridoméstico (SARAIVA et al., 2009). Este dado merece atenção, pois nos mesmos bairros onde a fauna flebotomínica foi analisada em Cuiabá, muitos cães foram sororeagentes demonstrando o contato com este agente infectante (ALMEIDA et al., 2009).

Desta forma, a pesquisa de infecção natural em diferentes espécies de flebotomíneos, principalmente as mais frequentes em áreas de ocorrência de LVA, deve ser incentivada, já que vetores alternativos podem participar da cadeia de transmissão das leishmanioses, mesmo que perpetuando o ciclo enzoótico.

Os dois resultados mais expressivos de sorologia canina foram obtidos nos bairros aonde foram capturados o exemplar do Complexo *longipalpis* e *L. antunesi*, Cidade Alta e Morada do Ouro, respectivamente.

Monitoramentos entomológicos em áreas urbanizadas, com transmissão de LVA, devem ser incentivados para que se confirme a possível adaptação de algumas espécies de flebotômíneos ao ambiente antropizado. Apesar do diminuto número de vetores identificados neste estudo, a coincidência entre captura de espécies transmissoras e o resultado de soroprevalência canina, indicam a necessidade da continuação de pesquisas entomológicas, que poderão demonstrar com maior precisão a fauna flebotomínica da cidade de Cuiabá e outros aspectos não revelados por esta pesquisa.

Com relação a pesquisa sobre a participação de possíveis hospedeiros, não canídeos de *L. (L.) infantum chagasi* e *L. (V.) braziliensis* entre pequenos mamíferos, Rondonópolis foi escolhida como área de estudo devido ao surto de LVA ocorrente, apesar das medidas de controle preconizadas estarem sendo seguidas naquele município.

Assim, neste estudo epidemiológico transversal, utilizando ferramentas moleculares (PCR-RFLP) foi possível identificar roedores e marsupiais com infecções naturais por *L. (L.) infantum chagasi* e *L. (V.) braziliensis*, em amostras de pele e/ou de medula óssea, e em amostra de sangue de um marsupial, nas localidades onde haviam sido notificados casos humanos e caninos de LVA em Rondonópolis.

A detecção de infecção natural do marsupial *D. albiventris* por *L. (L.) infantum chagasi* já havia sido descrita no Brasil em Jacobina, Bahia (SHERLOCK *et al.*, 1984; 1988) e em Bauru, São Paulo (SANTIAGO *et al.*, 2007), bem como em exemplares de *D. marsupialis* em Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro (CABRERA *et al.*, 2003) e em Belo Horizonte, Minas Gerais (SCHALLIG *et al.*, 2007), porém não haviam resultados relativos no Estado de Mato Grosso.

Neste estudo, apenas marsupiais de grande porte, pertencentes à espécie *D. albiventris*, foram capturados. Dos nove marsupiais analisados, em um foi determinada infecção por *L. (L.) infantum chagasi*, em fragmento de pele, demonstrando uma taxa de infecção de 16,66% (1/6). Este resultado foi consideravelmente inferior aos 91,6% (103/112) encontrados na análise molecular (PCR) de amostras de medula óssea de *Didelphis* spp. em área endêmica de LVA em São Paulo (SANTIAGO *et al.*, 2007), porém superior aos 2,3% (2/84) encontrados em Jacobina, através de isolamento, densidade específica de DNA, anticorpos monoclonais e composição isoenzimática (SHERLOCK *et al.*, 1988).

Na publicação de Santiago e colaboradores (2007) a espécie de *Leishmania* não foi caracterizada, e infecções por outras espécies deste agente etiológico foram detectadas em marsupiais deste gênero no Brasil (ARIAS e NAIFF, 1981; LAINSON et al., 1981; SHERLOCK et al., 1988; YOSHIDA et al., 1993; BRANDÃO-FILHO et al., 2003; SCHALLIG et al., 2007), porém, contrariamente a esta publicação, não se obteve amplificação de kDNA de *Leishmania* em amostras de medula óssea (n=9) analisadas neste estudo. Na publicação de Schallig e colaboradores (2007) o agente infectante foi identificado, como pertencendo ao Complexo *donovani* (PCR-RFLP) em amostras de sangue periférico, divergindo deste estudo onde não foram detectadas infecções por *L. (L.) infantum chagasi* na análise molecular deste tecido (n=8).

Na Venezuela, em *D. marsupialis*, foi detectada taxa de infecção inferior (7,14%) a este estudo (11,11%), analisando outros tecidos (sangue, fígado e baço) e utilizando *primer* Complexo específico para *L. (L.) donovani* (no qual se inclui *L. (L.) infantum chagasi*), porém não houve amplificação na análise das amostras de pele (ZULUETA et al., 1999), como observado nesta área de estudo. Porém, na Colômbia em regiões endêmicas para LVA, as taxas de infecção detectadas em marsupiais da espécie supracitada, foram superiores a encontrada neste estudo, com 32,43% (12/37) detectados através de isolamento e eletroforese isoenzimática (amostras de baço) (CORREDOR et al., 1989) e 14,3% (3/21) detectadas através de PCR/hibridização (aspirado de baço e amostras de pele) (TRAVI et al., 1998). Em outra localidade da Colômbia a taxa de infecção por *L. (L.) infantum chagasi* em *D. marsupialis* foi inferior, 9,5% (13/137), ao resultado encontrado neste estudo (TRAVI et al., 1998).

Também em *D. marsupialis*, em pesquisas realizadas na Região Sudeste em áreas endêmicas para LVA, foram obtidas soroprevalências de 29% (CABRERA et al., 2003) e de 8 a 22% (SCHALLIG et al., 2007), sugerindo o contato prévio com este agente etiológico.

Os resultados obtidos em Rondonópolis corroboram com os de Travi e colaboradores (1998), pois não foi detectada diferença na condição sexual para a ocorrência de infecção causada por *L. (L.) infantum chagasi* em marsupiais, porém, nos espécimes capturados na área estudada, não foi observada maior ocorrência de infecção entre adultos, como observado por estes autores, que sugeriram que o

maior tempo de exposição dos animais ao ambiente, aumentariam a chance de contato com flebotomíneos infectados.

As taxas de infecção por *L. (V.) braziliensis* encontradas foram de 12,5%, em amostras de sangue (1/8) e de 16,66% em amostras de pele (1/6), do mesmo espécime de *D. albiventris*, sendo o resultado obtido na pele superior ao encontrado na análise de amostras de baço, 13,51% (5/37), dos espécimes de *D. marsupialis* analisados em Pernambuco (BRANDÃO-FILHO et al., 2003). Mas a diferença entre os tecidos analisados, possivelmente, interfere na comparação dos resultados.

Schallig e colaboradores (2007) encontraram em Minas Gerais espécimes de *D. marsupialis* infectados (2/20) por parasito do Complexo *braziliensis*, em amostras de sangue periférico utilizando técnica semelhante (PCR-RFLP) e encontrando uma taxa de infecção (10%) próxima a descrita neste estudo (12,5%). Possivelmente o encontro de *Leishmania* em sangue periférico demonstre a disseminação do parasito pelo organismo animal, após a inoculação pelo flebotomíneo e fagocitose pelas células macrofágicas circulantes.

Neste município, didelfídeos foram capturados em todas as localidades onde transectos foram montados, confirmando sua capacidade de adaptação aos ambientes degradados (TRAVI et al., 1998; LEGEY et al., 1999). O exemplar infectado por *L. (L.) infantum chagasi* foi capturado no transecto A, Região de Carlos Bezerra (Figura 2), uma localidade eminentemente residencial, apesar de manter um caráter bucólico. Cabrera e colaboradores (2003) estimaram que a presença de marsupiais em peridomicílio elevaria em 12,6% o risco de transmissão na área endêmica de LVA estudada. Nesta localidade de Rondonópolis, a presença deste animal infectado levanta a questão da possível participação de marsupiais na cadeia de transmissão em áreas urbanizadas, porém este estudo deve ser aprofundado, com mais elementos que confirmem esta hipótese.

O outro marsupial infectado por leishmania dermatrópica (*L. (V.) braziliensis*) foi capturado próximo a uma residência (cerca de 50 metros), no início do transecto D, Kênia (Figura 4), onde havia relato da presença freqüente de gambás no peridomicílio pelos moradores, e onde permaneciam os cães. A localidade Kênia, fica em uma região menos ocupada de Rondonópolis, tendo ao final deste transecto despejo de detritos pela população, que utiliza a área como um "lixão", porém mantém características do ambiente natural.

O roedor silvestre mais abundante neste estudo foi *N. lasiurus* (n=76), uma espécie típica do Cerrado Brasileiro, largamente distribuída pelo Brasil (BONVICINO et al., 2008), que demonstra facilidade de adaptação a ambientes degradados, como plantações de cana e pastagens de *Brachiaria*. Apresenta comportamento alimentar oportunista, principalmente baseado em sementes e vegetais (TALAMONI et al., 2008) e dificilmente colonizam construções humanas (SUZUKI et al., 2004). Estas características foram observadas nas duas localidades com captura de *N. lasiurus*, transecto A (n=71) e B (n=5), onde predomina vegetação de campo limpo (*Brachiaria*).

Nos roedores analisados neste estudo, foi detectada prevalência de infecção por *Leishmania* spp. de 23,86% (21/88) (Tabela 4), resultado superior a taxa de infecção de 12% (15/23) encontrada por Oliveira e colaboradores (2005a) em amostras de pele e sangue de roedores silvestres e sinantrópicos, analisadas por métodos moleculares (PCR e hibridização). Porém, no estudo supracitado, os agentes infecciosos foram caracterizados como pertencendo a três diferentes espécies, o que eleva o resultado deste estudo, com caracterização de duas espécies.

Na pesquisa de Oliveira e colaboradores (2005a), foi relatada a primeira infecção por *L. (L.) infantum chagasi* em roedor silvestre da espécie *T. apereoides* (Rodentia: Echimyidae), na análise de amostras de pele (2/18), o que resulta em taxa de infecção de 11,11%, semelhante a taxa detectada neste estudo (10,81%) nas análises do mesmo tecido em *N. lasiurus*. Porém, estes autores não encontraram infecção nas análises de quatro espécimes de *B. lasiurus* (= *Necromys lasiurus*) em Minas Gerais (OLIVEIRA et al., 2005a). Não há relato na literatura de infecção natural por *L. (L.) infantum chagasi* em *N. lasiurus*, sendo este o primeiro registro.

Cabe ressaltar que esta espécie de roedor silvestre foi considerada reservatório primário de *L. (V.) braziliensis*, a partir do isolamento e caracterização do agente, em localidade endêmica da Zona da Mata de Pernambuco (BRANDÃO-FILHO et al., 2003) e é o principal reservatório de hantavírus no bioma Cerrado (SUZUKI et al., 2004).

Em Rondonópolis foi detectada taxa de infecção de 7,95% em infecções por *L. (V.) braziliensis* encontradas nas análises em amostras de pele e medula óssea de roedores (7/88) (Tabela 4), indicando um resultado inferior ao descrito por

Brandão-Filho e colaboradores (2003), 18,7% (kDNA) e 18,2% (rDNA), também com análises moleculares (PCR) em amostras de baço de roedores silvestres (*B. lasiurus*, *Holochilus scieurus* e *A. arviculoides*) e no sinantrópico (*R. rattus*). Mas a diferença entre os tecidos analisados, possivelmente, interfere na comparação dos resultados.

Nesta área estudada infecções por *L. (V.) braziliensis* em *N. lasiurus* foram detectadas em exemplares originários da transecto A, Região de Carlos Bezerra, o que confirma uma das hipóteses do novo perfil epidemiológico das leishmanioses, o da manutenção de um foco silvestre de LTA em proximidade com áreas recentemente urbanizadas (AGUILAR et al., 1987; GOMES e NEVES, 1998). Sendo *L. (V.) braziliensis* a espécie responsabilizada pela maioria dos casos de leishmaniose tegumentar neste estado (CARVALHO et al., 2006).

Este estudo não encontrou infecção por *Leishmania* nos espécimes únicos de roedores silvestres capturados, porém, infecções naturais foram registradas no Brasil em *Cavia porcellus* por *L. (L.) enriettii* (MUNIZ e MEDINA, 1948 apud LAINSON, 1997; MACHADO et al., 1999) e na Bolívia em *Oligoryzomys* sp. por *L. (L.) amazonensis* (TELLERIA et al., 1999). Ainda não há relato de infecção natural por *Leishmania* em espécimes do gênero *Oecomys*. Todavia, o pequeno número destes roedores destas espécies analisados, reduziu a possibilidade de detecção de infecção.

Entre os roedores sinantrópicos (*M. musculus* e *R. rattus*), analisados neste estudo, foi detectada infecção por *L. (L.) infantum chagasi* e *L. (V.) braziliensis* apenas em *R. rattus*, corroborando com outros estudos relativos no Brasil (ALENCAR et al., 1960; VASCONCELOS et al., 1994; BRANDÃO-FILHO et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2005a). Enquanto infecção por *Leishmania* em *M. musculus* foram relatadas apenas no Continente Europeu.

Entre os poucos *R. rattus* capturados (n=8), em um espécime foi detectado DNA de *L. (L.) infantum chagasi*, em amostras de medula óssea (1/8) e de pele (1/7), resultando em taxas de infecção de 12,50% e 14,28%, respectivamente, sendo estes resultados mais elevados que o descrito em Minas Gerais, 4,6% (1/21), na detecção de infecção em *R. rattus* através de análise de sangue coletado em papel filtro (PCR/dot-blot hibridização) (OLIVEIRA et al., 2005a). Estes autores obtiveram amplificação em amostras de pele, mas como a hibridização falhou, impossibilitando a caracterização, os resultados não foram incluídos na publicação.

A detecção de infecção por *L. (L.) infantum chagasi* em roedor sinantrópico neste estado, torna ainda mais relevante o resultado do estudo de preferência alimentar em *L. longipalpis*, através do teste de precipitina, realizado em Várzea Grande, já que os roedores constituíam a segunda opção de repasto sanguíneo de fêmeas (21,2%) capturadas naquele município endêmico (MISSAWA et al., 2008a).

Neste estudo outro espécime de *R. rattus* (1/8) foi detectado infectado por *L. (V.) braziliensis*, em amostras de medula óssea (1/8) e de pele (1/7), resultando em taxas de infecção de 12,5% e 14,28%, respectivamente. Infecções detectadas entre *R. rattus* por este agente, utilizando métodos moleculares, foram descritas na Bahia (VASCONCELOS et al., 1994), em Pernambuco (BRANDÃO-FILHO et al., 2003) e em Minas Gerais (OLIVEIRA et al., 2005a). No primeiro estudo citado, foram obtidos isolados em três espécimes, caracterizados por eletroforese enzimática e kDNA/hibridização, mas não foi possível estimar a taxa de infecção encontrada naquela localidade com os dados apresentados (VASCONCELOS et al., 1994). Porém, a taxa de infecção observada em nosso estudo foi inferior a encontrada por Brandão-Filho e colaboradores (2003), 16%, nas análises de amostras de baço (13/81) através de PCR com sonda Complexo específica, porém, mais elevada que o resultado obtido por Oliveira e colaboradores (2005a), 4,76%, em amostras de sangue (1/21). Mas a diferença entre os tecidos analisados, possivelmente, interfere na comparação dos resultados.

Em Rondonópolis, os dois roedores sinantrópicos (*R. rattus*) infectados foram capturados no transecto C, Bairro Jardim Tropical/Pindorama, uma localidade residencial, sendo o transecto montado no terreno aos fundos de uma residência, onde haviam plantações de subsistência, vegetação de campo sujo e um córrego ao final, utilizado como depósito de lixo pelos moradores.

O Bairro Pindorama demonstra características de ocupação desordenada, faltando infra-estrutura principalmente com relação ao despejo sanitário. Alvar e colaboradores (2006) associaram as precárias condições de moradia, e conseqüentemente, de infra-estrutura sanitária, má nutrição e menor acesso à assistência médica, ao aumento do risco de pessoas tornarem-se clinicamente doentes, sendo fatores que incluem esta zoonose como uma das doenças negligenciadas do nosso tempo (WHO, 2009).

O encontro de *R. rattus* infectados por leishmanias patogênicas reveste-se de grande importância epidemiológica, devido a seu comportamento adaptativo aos

ambientes antropizados, como as áreas urbanas. Podendo também no encontro do roedor sinantrópico infectado por *L. (V.) braziliensis*, demonstrar a domesticação do ciclo das LTAs, antes associado a áreas florestais, mas apesar do contínuo desmatamento e da expansão urbana surgem como novos focos da doença, principalmente relacionados a adaptação do vetor flebotomíneo às mudanças ambientais (WHO, 2002).

O principal flebotomíneo vetor de *L. (V.) braziliensis* nas Regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil (COSTA et al., 2007), *L. whitmani*, foi catalogado em pesquisas entomológicas no município de Rondonópolis (MISSAWA et al., 2008b). Seu comportamento alimentar altamente antropofílico, já havia sido comprovado em Baturité (Ceará), o que divergia do comportamento apresentado em espécimes estudados no Norte do país (BRAZIL et al., 1991). Somando esta preferência alimentar, a sua grande capacidade de adaptação a ambientes antropizados tornam esta espécie de flebotomíneo, possivelmente responsabilizada pelo novo perfil eco-epidemiológico das LTAs em grande parte do país (BRAZIL et al., 1991; LAINSON e RANGEL; 2003). Sendo estes aspectos observados em recente estudo, conduzido em Mato Grosso do Sul, demonstrando a preferência alimentar de fêmeas desta espécie por aves, humanos, cães e porcos (OLIVEIRA et al., 2008).

Completando a cadeia de transmissão zoonótica, e sendo a *Leishmania* um parasito multihospedeiro, alguns fatores são necessários para que um mamífero mantenha a sua transmissão, como sua densidade populacional (abundância), duração da infecção (longevidade do hospedeiro), a localização do parasito no hospedeiro e seu estado imunológico (ASHFORD, 2000).

Como descrito anteriormente por outros autores (TRAVI et al., 1998; TELLERIA et al., 1999; BRANDÃO-FILHO et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2005a; VAN WYNSBERGHE et al., 2009), foi observada uma relação entre abundância e detecção de infecção por *Leishmania* entre pequenos mamíferos analisados neste estudo, visto que as três espécies mais abundantes, *D. albiventris*, *N. lasiurus* e *R. rattus*, foram encontradas infectadas em Rondonópolis, cumprindo um dos critérios para se considerar hospedeiros mamíferos como reservatórios de *Leishmania* (ASHFORD, 2000).

Devido a natureza deste estudo epidemiológico (transversal), não foi possível determinar a existência de relação entre flutuação sazonal e elevação do número de

infectados na população de *N. lasiurus* analisada. Esta relação foi confirmada em pesquisa na Zona da Mata de Pernambuco por Brandão-Filho e colaboradores (2003), sendo o isolamento do parasito obtido somente durante a estação chuvosa, período reprodutivo da espécie, devido ao maior número de suscetíveis (jovens). As capturas, em Rondonópolis, ocorreram no mês de julho, coincidindo com o início da estação seca. Este fato, possivelmente, justifica não encontrar fêmeas em gestação, entre as 30 analisadas, dificultando a estimativa da idade dos roedores desta área de estudo, através da relação entre peso corpóreo e maturidade sexual dos indivíduos, principalmente fêmeas prenhes.

Neste estudo foram detectadas infecções por duas espécies de *Leishmania* patogênicas para o homem em fragmentos de pele, coletadas do pavilhão auricular, e em amostras de medula óssea femoral de pequenos mamíferos. A infecção em pele pode determinar a capacidade mais provável do hospedeiro mamífero para infectar o inseto vetor (SILVA et al., 2006), uma questão de importância epidemiológica, cumprindo um dos fatores assinalados por Ashford (2000), o da localização do parasito no hospedeiro. Em todos os animais analisados, este tecido encontrava-se íntegro, tanto nos infectados por *Leishmania* dermatrópica como pelo agente causador da forma visceral, corroborando com esta observação em estudos anteriores, que relataram encontro do parasito em tecido tegumentar não lesionado em pequenos mamíferos (HERRER e CHRISTENSEN, 1975; TELLERIA et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2005a).

Enquanto a detecção dos parasitos em amostras de medula óssea indica disseminação pelo organismo do hospedeiro, em via não acessível aos flebotômíneos (naquele momento), mas confirma a visceralização dos agentes etiológicos dos dois subgêneros (*Leishmania* e *Viannia*) nos pequenos mamíferos, como descrito por Lainson e colaboradores (1981).

Foi possível o diagnóstico *intra-vitam* de infecção por *Leishmania* em marsupiais com amostras de tecidos pouco invasivas, pois todos os animais foram liberados após recobrem da anestesia. Entre os roedores não foi possível acessar amostras de medula óssea sem o sacrifício dos mesmos, porém, foram obtidos resultados de infecção nas análises de amostras de pele em animais desta ordem, o que corrobora com a hipótese de Oliveira e colaboradores (2005a), do possível diagnóstico sem remoção. A não remoção (sacrifício) viabiliza estudos de longo prazo, sem impacto ecológico, já que populações de roedores demonstram maior

suscetibilidade a este método do que populações de marsupiais (D`ANDREA et al., 2007).

Nos estudos epidemiológicos em animais silvestres, o isolamento dos parasitos em meio de cultivo é necessário para verificar sua viabilidade para os flebotomíneos e para caracterização do parasito através do método padrão-ouro (eletroforese de enzimas), o que possibilitará determinar a qual zimodema pertence, visto que alguns zimodemas são detectados apenas em animais silvestres, em ciclos enzoóticos de transmissão (CUPOLILLO et al., 2003; BRANDÃO-FILHO e SHAW, 2006; BRITO et al., 2009). Apenas com a identificação do mesmo parasito em humanos, flebotomíneos e animais silvestres, de uma mesma área, se pode determinar o hospedeiro reservatório naquele ecótopo (BRANDÃO-FILHO e SHAW, 2006; SILVA et al., 2006).

Porém, devido a grande sensibilidade dos métodos empregados neste estudo epidemiológico transversal, foi possível detectar infecções em pequenas amostras de tecidos íntegros de pele de pequenos mamíferos, resultando em elevadas taxas de infecção causadas por *L. (L.) infantum chagasi* em *D. albiventris*, *N. lasiurus* e *R. rattus*, de *L. (V.) braziliensis* em *D. albiventris* e *R. rattus* e infecções causadas por *L. (V.) braziliensis* em *N. lasiurus*, demonstrando a necessidade do aprofundamento desta pesquisa, o que talvez resulte em respostas para tais dúvidas nesta área estudada.

6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos nestes dois estudos se pode concluir que:

1. Nesta pesquisa a espécie mais abundante de flebotomíneos capturados nos bairros CoopHEMA, Jardim Universitário e Cidade Alta foi *Lutzomyia sallesi*.
2. Nos bairros, Cidade Alta e Morada do Ouro, foram capturadas espécies implicadas na transmissão de leishmanioses: Complexo *longipalpis*: *Lutzomyia longipalpis* ou *L. cruzi* e *Lutzomyia antunesi*.
3. Ocorre circulação de *L. (L.) infantum chagasi* e *L. (V.) braziliensis* entre marsupiais da espécie *D. albiventris* em Rondonópolis (MT), em tecidos (pele e sangue) acessíveis ao repasto pelo inseto vetor.
4. Ocorre circulação de *L. (L.) infantum chagasi* e *L. (V.) braziliensis* entre roedores silvestres (*N. lasiurus*) e sinantrópicos (*R. rattus*), em áreas mantendo características da paisagem natural e mais antropizadas em Rondonópolis (MT), sendo a primeira descrição de infecção natural por *L. (L.) infantum chagasi* em *N. lasiurus*.
5. É possível o diagnóstico *intra-vitam* em marsupiais e roedores com amostras de tecidos pouco invasivas (pele e sangue).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

São recomendados que monitoramentos entomológicos de longa duração (24 a 36 meses) sejam realizados em bairros com ocorrência de LV em Cuiabá, objetivando determinar os flebotomíneos vetores que participam do ciclo de transmissão neste município, acrescentando a detecção da espécie de agente infectante e o estudo de preferência alimentar de fêmeas.

Outros métodos de captura, com uso de armadilhas de Shannon e capturador de sucção (de Castro), devem ser aplicados para aumentar a chance de captura, obtendo insetos vivos para posterior estudo de infecção e caracterização do agente infectante.

Quanto a participação de roedores e marsupiais na cadeia de transmissão, os futuros estudos devem envolver isolamento dos parasitos em meios de cultivo, para que se realizem estudos bioquímicos e moleculares, objetivando investigar se os parasitos são os mesmos envolvidos nas infecções humanas e de animais domésticos naquele município.

Paralelamente são recomendados estudos da biologia dos possíveis hospedeiros reservatórios, utilizando capturas sistemáticas (captura, marcação e recaptura), avaliando o tempo de vida, uso do espaço e o diagnóstico de infecção com coletas de tecidos menos invasivas (pele e sangue), comparando a flutuação dos hospedeiros, flebotomíneos vetores e o diagnóstico de infecção, em mamíferos e flebotomíneos, para uma investigação ecoepidemiológica mais completa da cadeia de transmissão das leishmanioses nesta localidade.

REFERÊNCIAS

ADAUTO, L. V. N.; CRUZ, M. L.; CORTOPASSI, S. R. G. **Anestesiologia**. In: CUBA, Z. S.; SILVA, J. C. R. Tratado de Animais Selvagens – Medicina Veterinária. São Paulo: Roca, 1ª. ed., p.1053, 2007.

AGUILAR, C. M.; RANGEL, E. F.; Fo. GRIMALDI, G.; MOMEM, H. **Human, canine and equine leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis* in a endemic area in the state of Rio de Janeiro**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 82, 143, 1987.

ALENCAR, J. E.; PESSOA, E. P.; FONTENELLE, Z. F. **Infecção natural de *Rattus rattus alexandrinus* por *Leishmania* (provavelmente *L. braziliensis*) em zona endêmica de Leishmaniose Tegumentar do Estado do Ceará, Brasil**. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo: 2, 347-348, 1960.

ALEXANDER, B.; LOZANO, C.; BARKER, D. C.; MCCANN, S. H. E.; ADLER, G. H. **Detections of *Leishmania (Viannia) braziliensis* complex in wild mammals from Colombian coffee plantations by PCR and DNA hybridization**. Acta Tropica: 69, 41-50, 1998.

ALMEIDA, A. B. P. F.; FARIA, R. P.; PIMENTEL, M. F. A.; DAHROUG, M. A. A.; TURBINO, N. C. M. R.; SOUSA, V. R. F. **Inquérito soroepidemiológico de leishmaniose canina em áreas endêmicas de Cuiabá, Estado de Mato Grosso**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical: 42, 156-159, 2009.

ALTAMIRANO-ENCISO, A. J.; MARZOCHI, M. C. A.; MOREIRA, J. S.; SCHUBACH, A. O.; MARZOCHI, K. B. F. **Sobre a origem e dispersão das leishmanioses cutânea e mucosa com base em fontes históricas pré e pós colombianas**. História, Ciências e Saúde - Manguinhos: 10, 853-882, 2003.

ALVAR, J.,; YACTAYO, S.; BERN, C. **Leishmaniasis and poverty**. Trends in Parasitology: 22, 552-557, 2006.

ANDRADE, S. L.; FÉ, N. F.; FÉ, F. F.; TOLEDO, L. M.; ROMERO, G. A. S. **Leishmaniose tegumentar americana em área de ocupação recente na periferia da cidade de Manaus, estado do Amazonas, Brasil – Avaliação entomológica.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical: 32 (supl I): 11-12, 1999.

ANON. **The twenty-ninth annual report of the work and operation of the Gorgas Memorial Laboratory, covering the fiscal year ended June 30, 1956.** United States Government Printing Office: Washington, 1957.

ANON. **Thirty-first annual report of the work and operation of the Gorgas Memorial Laboratory, covering the fiscal year ended June 30, 1958.** United States Government Printing Office: Washington, 1959.

ARIAS, J. R.; NAIFF, R. D. **The principal reservoir host of cutaneous leishmaniasis in the urban areas of Manaus, Central Amazon of Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 76, 279-286, 1981.

ARIAS, J. R.; NAIFF, R. D.; MILES, M. A.; DE SOUZA, A. A. **The opossum, *Didelphis marsupialis* (Marsupialia: Didelphidae) as a reservoir host of *Leishmania braziliensis guyanensis* in the Amazon Basin of Brazil.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 75, 537-541, 1981.

ASHFORD, R. W. **Leishmaniasis reservoirs and their significance in control.** Clinics in Dermatology: 14, 523-532, 1996.

ASHFORD, R. W.; BATES, P. A. **Leishmaniasis in the Old World.** In: Topleys & Wilson's. Microbiology and Microbial Infections, 9 ed., v.5, cap 12. Parasitology, 1998.

ASHFORD, R.W. **The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses.** International Journal for Parasitology: 30, 1269-1281, 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: 97, 459-464, 2002.

BARBOSA, F. S.; MELLO, D. A.; COURA, J. R. **Nota sobre a infecção natural de roedores por *Leishmania* sp. nos limites dos municípios Teresópolis-Nova Friburgo, Estado do Rio de Janeiro.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical: 4, 113-115, 1970.

BETTINI, S.; GRADONI, S.; POZZIO, E. **Isolation of *Leishmania* strains from *Rattus rattus* in Italy.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 72, 441-442, 1978.

BETTINI, S.; POZZIO, E.; GRADONI, L. **Leishmaniasis in Tuscany (Italy): (II) *Leishmania* from wild Rodentia and Carnivora in a human and canine leishmaniasis focus.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 74, 77-83, 1980.

BONVICINO, C. R.; OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA, P. S. **Guia dos Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos.** Centro Pan-Americano de Febre Aftosa – OPAS/OMS: Rio de Janeiro, 2008.

BRAGA, R. R.; LAINSON, R.; ISHIKAWA, E. A. Y.; SHAW, J. J. ***Leishmania (Viannia) utingensis* n. sp., a parasite from the sandfly *Lutomyia (Viannamyia) tuberculata* in Amazonian Brazil.** Parasite: 10, 111-118, 2003.

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 the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 97, 291-296, 2003.

BRANDÃO-FILHO, S. P.; SHAW, J. J. **Molecular tools versus parasite isolation for evaluating the hosts of *Leishmania braziliensis*.** Trends in Parasitology: 22, 500-501, 2006.

BRAZIL, R. P., MORTON, I. E., WARD, R. D. **Notes of the feeding habits of *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* (Diptera Psychodidae) in Ceara, State, Northeast Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 497-498, 1991.

BRAZIL, R. P.; BRAZIL, B. G. **Bionomia: Biologia de flebotomíneos neotropicais.** In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. Flebotomíneos do Brasil. FIOCRUZ: Rio de Janeiro, 257-274, 2003.

BRITO, M. E. F.; ANDRADE, M. S.; MENDONÇA, M. G.; SILVA, C. J.; ALMEIDA, E. L.; LIMA, B. S.; FÉLIX, S. M.; ABATH, F. G. C.; GRAÇA, G. C.; PORROZZI, R.; ISHIKAWA, E. A.; SHAW, J. J.; CUPOLILLO, E.; BRANDÃO-FILHO, S. P. **Species diversity of *Leishmania (Viannia)* parasites circulating in an endemic area for cutaneous leishmaniasis located in the Atlantic rainforest region of northeastern Brazil.** Tropical Medicine and International Health: 14, 1278-1286, 2009.

CABRERA, M. A. A.; PAULA, A. A.; CAMACHO, L. A. B.; MARZOCHI, M. C. A.; XAVIER, S. C.; SILVA, A. V. M.; JANSEN, A. M. **Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: Assessment of risk factors.** Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo: 45, 79-83, 2003.

CARVALHO, M. L. R.; ANDRADE, A. S. R.; FONTES, C. J. F.; HUEB, M.; SILVA, S. O.; MELO, M. N. ***Leishmania (Viannia) braziliensis* is the prevalent species infecting patients with tegumentary leishmaniasis from Mato Grosso State, Brazil.** Acta Tropica: 98, 277-285, 2006.

CARVALHO, G. M. L., ANDRADE FILHO, J. D., FALCÃO, A. L., LIMA, A. C. V. M. R., GONTIJO, C. M. F. **Naturally infected *Lutzomyia* sandflies in an endemic area of leishmaniasis in Brazil.** Vector-Borne Zoonotic Diseases: 8, 407-414, 2008.

CASTILHO, T.; SHAW, J. J.; FLOETER-WINTER, L. M. **New PCR assay using glucose-6-phosphate dehydrogenase for identification of *Leishmania* species.** Journal of Clinical Microbiology: 41, 3147-3153, 2003.

CASTILHO, T. M.; CAMARGO, L. M. A.; MCMAHON-PRATT, D.; SHAW, J. J.; FLOETER-WINTER, L. M. **A real-time chain reaction assay for the identification and quantification of American *Leishmania* species on the basis of glucose-6-phosphate dehydrogenase.** American Journal of Tropical Medicine and Hygiene: 78, 122-123, 2008.

Centro Estadual de Vigilância em Saúde do Rio Grande do Sul – CEVS. **Leishmaniose visceral no estado.** Nota técnica de 12 fev. 2009. Disponível em <<http://www.saude.rs.gov.br/wsa/portal>>. Acesso em 15 nov. 2009.

CHAPUIS, F.; SUNDAR, S.; HAILU, A.; GHALIB, H.; RIJAL, S.; PEELING, R. W.; ALVAR, J. BOELAERT, M. **Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control?** Nature Reviews Microbiology: 5, S7-S16, 2007.

CHRISTENSEN, H. A.; ARIAS, J. R.; DE VASQUEZ, A. M.; DE FREITAS, R. A. **Hosts of sandfly vectors of *Leishmania braziliensis guyanensis* in the central Amazon of Brazil.** American Journal of Tropical Medicine and Hygiene: 31, 239-242, 1982.

Conselho Federal de Medicina Veterinária - CFMV. **Procedimentos e métodos de eutanásia em animais.** Resolução nº722. Disponível em <http://www.cfmv.org.br/portal/legislacao_resolucoes.php?mn=cfmv>. Acesso em 22 abr. 2008.

CORREDOR, A.; GALLEGU, J. F.; TESH, R. B.; MORALES, A.; DE-CARRASQUILLA, C. F.; YOUNG, D. G.; KREUTZER, R. D.; BOSHELL, J.; PALAU, M. T.; CACERES, E.; PELAEZ, D. **Epidemiology of visceral leishmaniasis in Colombia.** American Journal of Tropical Medicine and Hygiene: 40, 480-486, 1989.

COSTA, C. H. N. **Urbanization of kala-azar in Brazil: kala-azar in Teresina, Piauí, Brazil.** In: Research and Control of Leishmaniasis in Brazil. Proceedings of a National Workshop. Fundação Oswaldo Cruz: Rio de Janeiro, 109-124, 1993.

COSTA, C. H.; GOMES, R. B.; SILVA, M. R.; GARCEZ, L. M.; RAMOS, P. K. S.; SANTOS, R. S.; SHAW, J. J.; DAVID, J. R.; MAGUIRE, J. H. **Competence of the human host as a reservoir for *Leishmania chagasi***. Journal of Infectious Diseases: 2000, 982-1000, 2000.

COSTA, C. H. N.; VIEIRA, J. B. F. **Mudanças no controle da leishmaniose visceral no Brasil**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical: 34, 223-228, 2001.

COSTA, C. H. N. ; STEWART, J. M.; GOMES, R. B. B.; GARCEZ, L. M.; RAMOS, P. K. S.; BOZZA, M.; SATOSKAR, A.; DISSANAYAKE, S.; SANTOS, R. S.; SILVA, M. R. B.; SHAW, J. J.; DAVID, J. R.; MAGUIRE, J. H. **Asymptomatic human carriers of *Leishmania chagasi***. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene: 66, 334-337, 2002.

COSTA, J. M. L. **Epidemiologia das Leishmanioses no Brasil**. Gazeta Médica da Bahia: 75, 3-17, 2005.

COSTA, S. M.; CECHINEL, M.; BANDEIRA, V.; ZANNUNCIO, J. C.; LAINSON, R.; RANGEL, E. F. ***Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* s. l. Antunes & Coutinho, 1939) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): geographical distribution and the epidemiology of American cutaneous leishmaniasis in Brazil – Mini-review**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 102, 149-153, 2007.

COURTENAY, O.; SANTANA, E. W.; JOHNSON, P. J.; VASCONCELOS; VASCONCELOS, A. W. **Visceral leishmaniasis in the hoary zorro *Dusicyon vetulus*: a case of mistaken identify**. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 90, 498-502, 1996.

COURTENAY, O.; QUINNELL, R. J.; GARCEZ, L. M.; DYE, C. **Low infectiousness of a wildlife host of *Leishmania infantum*: the crab-eating fox is not important for transmission**. Parasitology: 125, 407-414, 2002.

CRUZ, M. A., RANGEL, E. F., GARCIA, L., FERNANDEZ, E., MOMEM, H., GRIMALDI-FILHO, G.; VARGAS, Z. **Zoonotic cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) braziliensis* associated with domestic animals in Venezuela and Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 84, 19-28, 1989.

CRUZ, A. K.; TOSI, L. R. **Molecular Biology.** Clinics in Dermatology: 14, 533-540, 1996.

CUNHA, A. M.; CHAGAS, E. **Nova espécie de protozoário do gênero *Leishmania* patogênico para o homem, *Leishmania chagasi* n. sp. (Nota prévia).** O Hospital: 11, 3-9, 1937.

CUPOLILLO, E.; GRIMALDI Jr., MOMEM, H. **A general classification of New World *Leishmania* using numerical zymotaxonomy.** American Journal of Tropical Medicine and Hygiene: 50, 296-311, 1994.

CUPOLILLO, E., MEDINA-ACOSTA, E., NOYES, H., MOMEM, H.; Jr. GRIMALDI, G. **A revised classification for *Leishmania* and *Endotrypanum*.** Parasitology Today: 16, 142-144, 2000.

CUPOLILLO, E.; BRAHIM, L. R.; TOALDO, C. B.; OLIVEIRA-NETO, M. P.; BRITO, M. E. F.; FALQUETO, A.; NAIFF, M. F.; GRIMALDI Jr., G. **Genetic polymorphism and molecular epidemiology of *Leishmania (Viannia) braziliensis* from different hosts and geographic areas in Brazil.** Journal of Clinical Microbiology: 41, 3126-3132, 2003.

CURI, N. H. A.; MIRANDA, I.; TALAMONI, S. A. **Serologic evidence of *Leishmania* infection in free-ranging wild and domestic canids around a Brazilian National Park.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 101, 99-101, 2006.

DA-CRUZ, A. M.; PIRMEZ, C. **Leishmaniose Tegumentar Americana.** In: COURA. J. R. Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 697-712, 2005.

DAHROUG, M. A. A.; ALMEIDA, A. B. P. F.; SOUSA, V. R. F., DUTRA, V.; TURBINO, N. C. M. R.; NAKAZATO, L.; SOUZA, R. L. ***Leishmania (Leishmania) chagasi* in captive wild felids in Brazil.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 104 (1), 73-74, 2010.

D'ANDREA, P. S.; CERQUEIRA, R.; HINGST, E. D. **Age estimation of the gray four eyed opossum, *Philander opossum* (Didelphimorphia: Didelphidae).** Mammalia: 58, 283-291, 1994.

D'ANDREA, P. S.; GENTILE, R.; MAROJA, L. S.; FERNANDES, F. A.; COURA, R.; CERQUEIRA, R. **Small mammal populations of na agroecosystem in the Atlantic Forest domain, southeastern Brazil.** Brazilian Journal of Biology: 67, 179-186, 2007.

DEANE, L. M.; DEANE, M. P. **Observações preliminares sobre a importância comparativa do homem, do cão e da raposa (*Lycalopex vetulus*) como reservatórios da *Leishmania donovani*, em área endêmica de calazar no Ceará.** O Hospital: 48, 61-76, 1955.

DEANE, L. M.; DEANE, M. P. **Visceral leishmaniasis in Brazil: Geographical distribution and transmission.** Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo: 4, 198-212, 1962.

DEDET, J. P.; GAY, F.; CHATENAY, G. **Isolation of *Leishmania* species from wild mammals in French Guiana.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 83, 613-615, 1989.

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

DEGRAVE, W.; FERNANDES, O.; CAMPBELL, D.; BOZZA, M.; LOPES, U. **Use of molecular probes and PCR for detection and typing of *Leishmania* – a Mini-Review.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 89, 463-469, 1994.

DESJEUX, P. **The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 95, 239-243, 2001.

DESJEUX, P. **Leishmaniasis.** Nature Reviews: 2, 692-693, 2004.

DE-SOUZA, A. I.; BARROS, E. M. S.; ISHIKAWA, E.; ILHA, I. M. N. **Feline leishmaniasis due to *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in Mato Grosso do Sul State, Brazil.** Veterinary Parasitology: 128, 41-45, 2005.

Departamento de Vigilância Epidemiológica - DEVEP/SVS/MS. **Casos confirmados de Leishmaniose Visceral, segundo UF de residência.** Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas, 1990 a 2008. Fonte: DEVEP/SVS/MS. Disponível em <http://www.saude.df.gov.br/sites/100/163/00008052.pdf>. Acesso em 9 dez. 2009.

DIAS, F. O. P.; LOROSA, E. S.; REBELO, J. M. M. **Fonte alimentar sanguínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae).** Cadernos de Saúde Pública: 19, 1373-1380, 2003.

DI-BELLA, C.; VITALE, F.; RUSSO, G.; GRECO, A.; MILAZZO, C.; ALOISE, G.; CAGNIN, M. **Are rodents a potential reservoir for *Leishmania infantum* in Italy?** Journal of Mountain Ecology: 7, 125-129, 2003.

DISNEY, R. H. L. **Observations on a zoonosis: Leishmaniasis in British Honduras.** Journal of Applied Ecology: 5, 1-59, 1968.

ELNAIEM, D. A.; WARD, R. D.; YOUNG, P. E. **Development of *Leishmania chagasi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in the second blood-meal of its vector *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae).** Parasitology Research: 80, 414-419, 1994.

FALQUETO, A.; GRIMALDI Jr., G.; SESSA, P. A.; VAREJÃO, J. B. M.; DEANE, L. M. ***Lutzomyia gasparviannai* Martins, Godoy & Silva, 1962, probable vector of *Leishmania mexicana* ssp. in Viana municipality, Espírito Santo State, Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 80, 497, 1985.

FALQUETO, A.; COURA, J. R.; BARROS, C. G.; GRIMALDI, Jr, G.; SESSA, P. A.; CARIAS, V. R. D.; JESUS, A. C.; ALENCAR, J. T. A. **Participação do cão no ciclo de transmissão da leishmaniose tegumentar no município de Vianna, estado do Espírito Santo, Brasil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 81, 155-163, 1986.

FALQUETO, A.; CUPOLILLO, E.; MACHADO, G. M. C.; CARVALHO-PAES, L. E.; GRIMALDI Jr., G. **A new enzymatic variant of *Leishmania (Leishmania) forattini* isolated from *Proechimys iheringi* (Rodentia: Echimyidae) in Espírito Santo, Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 93, 795-798, 1998.

FALQUETO, A.; FERREIRA, A. L. **Reservatórios e Transmissão de Leishmânias.** In: COURA, J. R. Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 739-752, 2005.

FIGUEIREDO, F. B.; GREMIÃO, I. D. F.; PEREIRA, S. A.; FEDULO, L. P.; MENEZES, R. C.; BALTHAZAR, D. A.; SCHUBACH, T. M. P.; MADEIRA, M. F. **First report of natural infection of a bush dog (*Speothos venaticus*) with *Leishmania (Leishmania) chagasi* in Brazil.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 102, 200-201, 2008.

FLECKNELL, P. A.; RICHARDSON, C. A.; POPOVIC, A. **Laboratory Animals.** In: TRANQUILI, W. J.; THURMON, J. C.; GRIMM, K. A. Lumb & Jone's Veterinary Anesthesia and Analgesia. Blackwell Publishing: Iowa, 775, 2007.

FORATTINI, O. P. **Sobre os reservatórios naturais da leishmaniose tegumentar americana.** Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo: 2, 195-203, 1960.

FORATTINI, O. P.; PATTOLI, D. B. G.; RABELLO, E. X.; FERREIRA, O. A. **Infecções naturais de mamíferos silvestres em área endêmica de Leishmaniose Tegumentar do Estado de São Paulo.** Revista de Saúde Pública: 6, 255-261, 1972.

GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L. B.; REGO, F. A.; OSHIRO, E. T.; CHANG, M. R. **Estudo de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil.** Revista de Saúde Pública: 31, 378-390, 1997.

GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L. B.; BOGGIANI, P. C.; DORVAL, M. E. C.; CRISTALDO, G.; ROCHA, H. CL.; OSHIRO, E. T.; DAMASCENO-JÚNIOR, G. A. **Phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in forested areas of the Serra da Bodoquena, state of Mato Grosso do Sul, Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 101, 175-193, 2006.

GOMES, A. C.; CAMARGO-NEVES, V. L. F. **Estratégia e perspectivas de controle da Leishmaniose Tegumentar Americana no Estado de São Paulo.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical: 31, 553-558, 1998.

GOMES, A. H. S.; FERREIRA, I. M. R.; LIMA, M. L. S. R.; CUNHA, E. A.; GARCIA, A. S.; ARAÚJO, M. F. L.; PEREIRA-CHIOCCOLA, V. L. **PCR identification of *Leishmania* in diagnosis and control of canine leishmaniasis.** Veterinary Parasitology: 144, 234-241, 2007.

GRADONI, L.; POZIO, E.; GRAMICCIA, M.; MAROLI, M.; BETTINI, S. **Leishmaniasis in Tuscany (Italy): VII. Studies on the role of the black rat, *Rattus rattus*, in the epidemiology of visceral leishmaniasis.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 77, 427-431, 1983.

GRAMICCIA, M.; MAAZOUN, R.; LANOTTE, G.; RIOUX, J. A.; LE-BLANCQ, S.; EVANS, D. A.; PETERS, W.; BETTINI, S.; POZZIO, E. **Typage enzymatique de onze souches de *Leishmania* isolées et Italie continentale, à partir de formes viscerales murines, canines et vulpines.** Annales de Parasitologie Humaine et Comparée: 57, 527-531, 1982.

GRIMALDI, G. JR.; DAVID, J. R.; MACMAHON-PRATT, D. **Identification and distribution of New World *Leishmania* species characterized by serodeme analysis using monoclonal antibodies.** American Journal of Tropical Medicine and Hygiene: 36, 270-287, 1987.

GRIMALDI Jr., G.; MOMEM, H.; NAIFF, R. D.; MACMAHON-PRATT, D.; BARRET, T. V. **Characterization and classification of leishmanial parasites from humans, wild animals, and sand flies in the Amazon region of Brazil.** American Journal of the Tropical Medicine and Hygiene: 44, 645-661, 1991.

GRIMALDI Jr.; G.; TESH, R. B. **Leishmaniasis of the New World: Current concepts and Implications for future research.** Clinical Microbiology Reviews: 23-250, 1993.

HAOUAS, N.; PESSON, B.; BOUDABOUS, R.; DEDET, J. P.; BABBA, H.; RAVEL, C. **Development of a molecular tool for the identification of *Leishmania* reservoir hosts by blood meal analysis in the insect vectors.** American Journal of Tropical Medicine and Hygiene: 77, 1054-1059, 2007.

HERRER, A.; CHRISTENSEN, H. A.; BEUMER, R. J. **Reservoir hosts of cutaneous leishmaniasis among Panamanian forest mammals.** The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene: 22, 585-591, 1973.

HERRER, A.; CHRISTENSEN, H. A. **Infrequency of gross skin lesions among Panamanian forest mammals with cutaneous leishmaniasis.** Parasitology: 71, 87-92, 1975.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. 2004. **Mapa de Biomas e de vegetação do Brasil.** Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomashtml.shtm>>Acesso em: 05 dez. 2009.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. 2007. **Cidades**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>. Acesso em: 10 dez. 2009.

IBRAHIM, E. A.; AL-ZAHARANI, M. A.; AL-TUWAIGRI, A. S.; AL-SHAMMARY, F. J.; EVANS, D. A. ***Leishmania* infecting man and wild animals in Saudi Arabia. 9. The black rat (*Rattus rattus*) a probable reservoir of visceral leishmaniasis in Gizan province, south-west Saudi Arabia.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 86, 513-514, 1992.

KAMHAWI, S. **Phlebotomine sand flies and *Leishmania* parasites: friends or foes?** Trends in Parasitology: 22, 439-445, 2006.

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

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 the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 62, 385-395, 1968.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. **Some reservoir-hosts of *Leishmania* in wild animals of Mato Grosso State, Brazil. Two distinct strains of parasites isolated from man and rodents.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 63, 408-409, 1969.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. **Leishmaniasis in Brazil: V. Studies on the epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Mato Grosso State, and observations on two distinct strains of *Leishmania* isolated from man and forest animals.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 64, 654-667, 1970.

LAINSON, R.; SHAW, J. J.; READY, P. D.; MILES, M. A.; PÓVOA, M. **Leishmaniasis in Brazil: XVI. Isolation and identification of, *Leishmania* species from sandflies, wild mammals and man in north Pará State, with particular reference to *L. braziliensis guyanensis* causative agent of “pian-bois”.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 75, 530-536, 1981.

LAINSON, R. **The American Leishmaniasis: some observations on their ecology and epidemiology.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 77, 569-596, 1983.

LAINSON, R.; SHAW, J. J.; MILES, M. A.; PÓVOA, M. **Leishmaniasis in Brazil: XVII. Enzymic characterization of a *Leishmania* from the armadillo, *Dasypus novemcinctus* (Edentata), from Pará State.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 76, 810-811, 1982.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. **Evolution, classification and geographical distribution.** In: PETERS, W.; KILLICK-KENDRICK, R. The Leishmaniasis in Biology and Epidemiology. Academic Press: London, 1-120, 1987.

LAINSON, R. **Ecological interactions in the transmission of the leishmaniasis.** Philosophical Transactions of Royal Society of London B: 321, 380-404, 1988.

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: 64, 3-9, 1989a.

LAINSON, R.; BRAGA, R. R.; DE SOUZA, A. A.; PÓVOA, M. M.; ISHIKAWA, E. A.; SILVEIRA, F. T. ***Leishmania* (*Viannia*) *shawi* sp. n., a parasite of monkeys, sloths and procyonids in Amazonian Brazil.** Annales de Parasitologie Humaine et Comparee: 64, 200-207, 1989b.

LAINSON, R. **On *Leishmania enriettii* and other enigmatic *Leishmania* species of the Neotropics.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 92, 377-387, 1997.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. **New World leishmaniasis – The Neotropical *Leishmania* species.** In: COX, F. E. G.; KREIER, J. P.; WAKELIN, D. Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections. Parasitology. Arnold: London, 242-266, 1998.

LAINSON, R.; ISHIKAWA, E. A. Y.; SILVEIRA, F. T. **American visceral leishmaniasis: wild animal hosts.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 96, 630-631, 2002.

LAINSON, R.; RANGEL, E. F. **Ecologia das Leishmanioses: *Lutzomyia longipalpis* e a Eco-epidemiologia da Leishmaniose Visceral Americana (LVA) no Brasil.** In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. Flebotomíneos do Brasil. FIOCRUZ: Rio de Janeiro, 311-336, 2003.

LAINSON, R.; RANGEL, E. F. ***Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – A review.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 100, 811-827, 2005.

LEGEY, A. P.; PINHO, A. P. S.; XAVIER, S. C. C.; LEON, L. L.; JANSEN, A. M. **Humoral immune response kinetics in *Philander opossum* and *Didelphis albiventris* infected and immunized by *Trypanosoma cruzi* employing and immunofluorescence antibody test.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 94, 371-376, 1999.

LIMA Jr., M. S. C.; ANDREOTTI, R.; DORVAL, M. E. M. 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: 42, 303-308, 2009.

LUPPI, M. M.; MALTA, M. C. C.; SILVA, T. M. A.; SILVA, F. L.; MOTTA, R. O. C.; MIRANDA, I.; ECCO, R.; SANTOS, R. L. **Visceral leishmaniasis in captive wild canids in Brazil.** Veterinary Parasitology: 155, 146-151, 2008.

LUZ, Z. M. P.; PIMENTA, D. N.; CABRAL, A. L. L. V.; FIÚZA, V. O. P.; RABELLO, A. **A urbanização das leishmanioses e a baixa resolutividade diagnóstica em municípios da Região Metropolitana de Belo Horizonte.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical: 34, 249-254, 2001.

MACHADO, M. I., MILDNER, R. V.; PACHECO, R. S.; SILVA, M.; BRAGA, R. R.; LAINSON, R. **Naturally acquired infections with *Leishmania enriettii* Muniz and Medina 1948 in guinea-pigs from São Paulo, Brazil.** Parasitology: 109, 135-138, 1994.

MADEIRA, M. F.; UCHÔA, C. M. A.; LEAL, C. A.; SILVA, R. M. M.; DUARTE, R.; MAGALHÃES, C. M.; SERRA, C. M. B. ***Leishmania (Viannia) braziliensis* in naturally infected dogs.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical: 36, 551-555, 2003.

MADEIRA, M. F.; SCHUBACH, A.; SCHUBACH, T. M. P.; PACHECO, R. S.; OLIVEIRA, F. S.; PEREIRA, S. A.; FIGUEIREDO, F. B.; BAPTISTA, C.; MARZOCHI, M. C. A. **Mixed infection with *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Leishmania) chagasi* in a naturally infected dog from Rio de Janeiro, Brazil.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 100, 442-445, 2006.

MAGALHÃES-ROCHA, N. M.; MELO, M. N.; BABÁ, E. H.; DIAS, M.; MICHALICK, M. S. M.; DA-COSTA, C. A.; WILLIAMS, P.; MAYRINK, W. ***Leishmania braziliensis braziliensis* from *Akodon arviculoides* captured in Caratinga, Minas Gerais, Brazil.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 82, 68, 1988.

MARTINS, A., V.; FALCÃO, A. L.; DA-SILVA, J. E.; DIAS, E. S. **Nota sobre *Lutzomyia (Lutzomyia) cruzi* (Mangabeira, 1938), com a descrição da fêmea (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae).** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 79, 439-442, 1984.

MARZOCHI, M. C.; COUTINHO, S. G.; SABROZA, P. C.; DE SOUZA, W. J. **Indirect immunofluorescence reaction and intradermoreaction for American cutaneous leishmaniasis in residents of the Jacarepaguá region (Rio de Janeiro). Comparative study of results observed in 1974 and 1978.** Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo: 22, 149-155, 1980.

MAURICIO, I. L.; HOWARD, M. K.; STOTHARD, J. R.; MILES, M. A. **Genomic diversity in the *Leishmania donovani* complex.** Parasitology: 119, 237-246, 1999.

MESTRE, G. L. C.; FONTES, C. J. F. **A expansão da epidemia da leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso, 1998-2005.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical: 40, 42-48, 2007.

MIGONE, L. E. **Um caso de Kalazar em Assunción (Paraguay).** Bulletin de La Société de Pathologie Exotique: Paris, p.118-120, 1913.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral.** Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília, DF, 122 p., 2006.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana.** 2ª Ed., Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília, DF, 184 p., 2007.

Ministério da Saúde – MS. COVEV/CGDT/DEVEP/SVS/MS. Nota Técnica nº04/2008. **Surto de leishmaniose visceral no município de Rondonópolis, Mato Grosso, 2007-2008.** Ministério da Saúde: Brasília, 25 jan. 2008.

MISSAWA, N. A.; LIMA, G. B. M. **Distribuição espacial de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) e *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) no Estado de Mato Grosso.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical: 39, 337-340, 2006.

MISSAWA, N. A.; MACIEL, G. B. M. L. **List of species in the genus *Lutzomyia*, França, 1924 (Psychodidae, Phlebotominae) from the State of Mato Grosso.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical: 40, 11-14, 2007.

MISSAWA, N. A.; DIAS, E. S. **Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the municipality of Várzea Grande: an area of transmission of visceral leishmaniasis in the state of Mato Grosso, Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 102, 913-918, 2007.

MISSAWA, N. A.; LOROSA, E. S.; DIAS, E. S. **Preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) em área de transmissão de leishmaniose visceral em Mato Grosso.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical: 41, 365-368, 2008a.

MISSAWA, N. A.; MACIEL, G. B. M. L.; RODRIGUES, H. **Distribuição geográfica de *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) no Estado de Mato Grosso.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical: 41, 369-373, 2008b.

MOMEM, H.; Jr GRIMALDI, G.; DEANE; L. M. ***Leishmania infantum*, the aetiological agent of American Visceral Leishmaniasis (AVL)?** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 87, 447-448, 1987.

MOURA, S. T.; FERNANDES, C. G. N.; PANDOLPHO, V. C.; RODRIGUES-SILVA, R. **Diagnóstico de leishmaniose canina na área urbana do município de Cuiabá, Estado de Mato Grosso, Brasil.** Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science: 36, 1999.

MUNIZ, J.; MEDINA, H. S. G. **Leishmaniose tegumentar do cobaio (*Leishmania enrietti* n.sp).** Hospital (Rio de Janeiro): 33, 7-25, 1948.

NERY-GUIMARÃES, F.; AZEVEDO, M.; DAMASCENO, R. **Leishmaniose tegumentar – zoonose de roedores silvestres na Amazônia.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 66, 151-168, 1968.

OLIVEIRA, A. G.; FALCÃO, A. L.; BRAZIL, R. P. **Primeiro encontro de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) na área urbana de Campo Grande, MS, Brasil.** Revista de Saúde Pública: 34, 654-655, 2000.

OLIVEIRA, F. S., PIRMEZ, C.; PIRES, M. Q.; PIRES, M. Q.; BRAZIL, R. P.; PACHECO, R. S. **PCR-based diagnosis for detection of *Leishmania* in skin and blood of rodents from an endemic area of cutaneous and visceral leishmaniasis in Brazil.** Veterinary Parasitology: 129, 219-227, 2005a.

OLIVEIRA, R. L. **Principais insetos vetores e mecanismos de transmissão das doenças infecciosas e parasitárias.** In: COURA, J. R. Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 75-98, 2005b.

OLIVEIRA, A. G.; GALATI, E. A. B.; OLIVEIRA, O.; OLIVEIRA, G. R.; ESPINDOLA, I. A. C.; DORVAL, M. E.; BRAZIL, R. P. **Abundance of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) and urban transmission of visceral leishmaniasis in Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 101, 869-874, 2006.

OLIVEIRA, A. G.; MARASSÁ, A. M.; CONSALES, C. A.; DORVAL, M. E. C.; FERNANDES, C. E.; OLIVEIRA, G. R.; BRAZIL, R. P.; GALATI, E. A. B. **Observations on the feeding habits of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Campo Grande, na endemic area of visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul, Brazil.** Acta Tropica: 107, 238-241, 2008.

Pan American Health Organization - PAHO. Protozoonoses: **Cutaneous leishmaniasis.** In: ACHA, X; ZYFRES, X. Zoonoses and Communicable Diseases common to man and animals. Washington. D. C.: 55-64, 2003a.

Pan American Health Organization - PAHO. Protozoonoses: **Visceral leishmaniasis.** In: ACHA, X; ZYFRES, X. Zoonoses and Communicable Diseases common to man and animals. Washington. D. C.: 55-64, 2003b.

PASSOS, V. M. A.; FERNANDES, O.; LACERDA, P. A. F.; VOLPINI, A. C.; GONTIJO, C. M. F.; DEGRAVE, W.; ROMANHA, A. J. ***Leishmania (Viannia) braziliensis* is the predominant species infecting patients with American cutaneous leishmaniasis in the State of Minas Gerais, Southeast Brazil.** Acta Tropica: 72, 251-258, 1999.

PEDROSO, L. M. G.; MIYAZAKI, R. D.; RIBEIRO, A. L. M.; RODRIGUES, J. S. V.; MESTRE, G. L. C.; MISSAWA, N. A. **Resultados preliminares da diversidade de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em bairro de ocorrência de Leishmaniose Visceral no Município de Cuiabá, Mato Grosso.** In: 45° Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Recife, p. 417, 2009.

PESSOA, S. B.; BARRETO, M. P. **Leishmaniose tegumentar americana.** Imprensa Nacional: Rio de Janeiro, 169-190, 1948.

PETERS, W. **Peritrophic Membranes.** New York: Springer Verlag, 1992.

PIMENTA, P. F. P.; TURCO, S. J. **Stage-specific adhesion of *Leishmania* promastigotas to the sand fly midgut.** Science: 256 (5065), 1812-1815, 1992.

PIMENTA, P. F. P.; SECUNDINO, N. F. C.; BLANCO, E. E. N. **Interação vetor-hospedeiro: Interação *Leishmania*-hospedeiro invertebrado.** In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. Flebotomíneos do Brasil. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 275-289, 2003.

PITTA-PEREIRA, D.; CARDOSO, M. A. B.; ALVES, C. R.; BRAZIL, R. P.; BRITO, C. **Detection of natural infection in *Lutzomyia cruzi* and *Lutzomyia forattini* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) by *Leishmania infantum chagasi* in an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil using a PCR multiplex assay.** Acta Tropica: 107, 66-69, 2008.

POZZIO, E.; GRADONI, L.; BETTINI, S.; GRAMICCIA, M. **Leishmaniasis in Tuscany (Italy). V. Further isolation of *Leishmania* from *Rattus rattus* in the**

Province of Grosseto. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*: 75, 393-395, 1981.

PRATA, A.; SILVA, L. A. **Calazar.** *In*: COURA, J. R. *Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias.* Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 713-732, 2005.

QUINNELL, R. J.; COURTENAY, O. **Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis.** *Parasitology*: 136, 1915-1934, 2009.

RANGEL, E. F.; LAINSON, R. **Ecologia das Leishmanioses: Transmissores de Leishmaniose Tegumentar Americana.** *In*: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. *Flebotomíneos do Brasil.* FIOCRUZ: Rio de Janeiro, 291-309, 2003.

RANGEL, E. F.; VILELA, M. L. ***Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil.** *Caderno de Saúde Pública*: 24, 2948-2952, 2008.

REED, S. G. **Diagnosis of Leishmaniasis.** *Clinics in Dermatology*: 14, 471-478, 1996.

REITHINGER, R.; DAVIES, C. R. **Is the domestic dog (*Canis familiaris*) a reservoir host of American cutaneous leishmaniasis? A critical review of the current evidence.** *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*: 61, 530-541, 1999.

REITHINGER, R.; DAVIES, C. R. **American cutaneous leishmaniasis in domestic dogs: an example of the use of the polymerase chain reaction for mass screening in epidemiological studies.** *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*: 96 (Suppl. 1), S1/123-S1/126, 2002.

REITHINGER, R.; ESPINOZA, J. C.; COURTENAY, O.; DAVIES, C. R. **Evaluation of PCR as a diagnostic mass-screening tool to detect *Leishmania* (*Viannia*) spp. in domestic dogs (*Canis familiaris*).** *Journal of Clinical Microbiology*: 41, 1486-1493, 2003.

REY, L. C. ***Leishmania* e Leishmaníases: Os parasitos.** In: REY, L. C. Parasitologia. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 211-226, 2001.

RIBEIRO, A. L. M.; MISSAWA, N. A.; ZEILHOFFER, P. **Distribution on phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) of medical importance in Mato Grosso State, Brazil.** Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo: 49, 317-321, 2007.

RICHARDS, A. G.; RICHARDS, P. A. **The peritrophic membranes of insects.** Annual Review of Entomology: 22, 219-240, 1977.

RODGERS, M.R.; POPPER, S. J.; WIRTH, D. F. **Amplification of kinetoplast DNA as a tool in the detection and diagnosis of *Leishmania*.** Experimental Parasitology: 71, 267-275, 1990.

ROGERS, M. E.; BATES, P. A. ***Leishmania* manipulation of sand fly feeding behavior results in enhanced transmission.** PLoS Pathogens: 3, e91, 2007.

ROMERO, G. A. S.; GUERRA, M. V. F.; PAES, M. G.; MACEDO, V. O. **Comparation of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (V.) guyanensis* in Brazil: clinical findings and diagnostic approach.** Clinical Infections Diseases: 32, 1304-1312, 2001.

ROSS, R. **Note on the bodies recently described by Leishman and Donovan.** British Medical Journal: 2, 1261-1262, 1903.

ROTUREAU, B. **Are New World leishmaniasis becoming anthroponoses?** Medical Hypotheses: 67, 1235-1241, 2006.

RYAN, L.; SILVEIRA, F. T.; LAINSON, R.; SHAW, J. J. **Leishmanial infections in *Lutzomyia longipalpis* and *Lu. antunesi* (Diptera: Psychodidae) on the island of Marajó, Pará State, Brazil.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 78, 547-548, 1984.

SANTIAGO, M. E. B.; VASCONCELOS, R. O.; FATTORI, K. R.; MUNARI, D. P.; MICHELIN, A. F.; LIMA, V. M. F. **An investigation of *Leishmania* spp. in *Didelphis* spp. from urban and peri-urban areas in Bauru (São Paulo, Brazil).** Veterinary Parasitology: 150, 283-290, 2007.

SANTOS, S. O.; ARIAS, J.; RIBEIRO, A. A.; HOFFMANN, M. P.; FREITAS, R. A.; MALACCO, M. A. F. **Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American Visceral Leishmaniasis.** Medical and Veterinary Entomology: 12, 315-317, 1998.

SANTOS, S. O.; ARIAS, J. R.; HOFFMANN, M. P.; FURLAN, M. B. G.; FERREIRA, W. F.; PEREIRA, C.; FERREIRA, L. **The presence of *Lutzomyia longipalpis* in a focus of American visceral leishmaniasis where the only proven vector is a *Lutzomyia cruzi*. Corumbá, Mato Grosso do Sul State.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical: 36, 633-634, 2003.

SARAIVA, L.; CARVALHO, G. M. L.; GONTIJO, C. M. F.; QUARESMA, P. F.; LIMA, A. C. V. M. R.; FALCÃO, A. L.; ANDRADE, J. D. **Natural infection of *Lutzomyia neivai* and *Lutzomyia sallesi* (Diptera: Psychodidae) by *Leishmania infantum chagasi* in Brazil.** Journal of Medical Entomology: 46, 1159-1163, 2009.

SAVANI, E. S. M. M.; CAMARGO, M. C. G. O.; CARVALHO, M. R.; ZAMPIERI, R. A.; SANTOS, M. G.; D'AURIA, S. R. N.; SHAW, J. J.; FLOETER-WINTER, L. M. **The first record in the Americas of an autochthonous case of *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* in a domestic cat (*Felix catus*) from Cotia County, São Paulo, Brazil.** Veterinary Parasitology: 120, 229-233, 2004.

SAVANI, E. S. M.; NUNES, V. L. B.; GALATI, E. A. B.; CASTILHO, T. M.; ZAMPIERI, R. A.; FLOETER-WINTER, L. M. **The finding of *Lutzomyia almerioi* and *Lutzomyia longipalpis* naturally infected by *Leishmania* spp. in a cutaneous and canine visceral leishmaniasis focus in Serra da Bodoquena, Brazil.** Veterinary Parasitology: 160, 1824, 2009.

SCHALLIG, H. D. F. H.; DA-SILVA, E. S.; VAN-DER-MEIDE, W. F.; SCHOONE, G. J.; GONTIJO, C. M. F. ***Didelphis marsupialis* (Common Opossum): A potential reservoir host for zoonotic leishmaniasis in the metropolitan region of Belo Horizonte (Minas Gerais, Brazil).** Vector-Borne and Zoonotic Diseases: 7, 387-393, 2007.

SCHUBACH, T. M. P.; FIGUEIREDO, F. B.; PEREIRA, S. A.; MADEIRA, M. F.; SANTOS, I. B.; ANDRADE, M. V.; CUZZI, T.; MARZOCHI, M. C. A., SCHUBACH, A. **American cutaneous leishmaniasis in two cats from Rio de Janeiro, Brazil: first report of natural infection with *Leishmania (Viannia) braziliensis*.** Transactions of the Royal Society and Tropical Medicine Hygiene:98, 165-167, 2004.

SHAW, J. J.; LAINSON, R. **Ecology and epidemiology: New World.** In: PETERS, W.; KILLICK-KENDRICK, R. The Leishmaniasis in Biology and Epidemiology. v.1, Academic Press: London, 292-363, 1987.

SHAW, J.; ROSA, A. T.; SOUZA, A.; CRUZ, A. C. **Transmissão de colaboradores agentes: Os flebotomíneos brasileiros como hospedeiros e vetores de determinadas espécies.** In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. Flebotomíneos do Brasil. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 337-351, 2003.

SHAW, J.; GRIMALD, G.; CUPOLILLO, E. **Identificação de *Leishmania*.** In: COURA, J. R. Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 733-737, 2005.

SHAW, J. **The leishmaniasis – survival and expansion in a changing world. A mini-review.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 102, 541-547, 2007.

SHERLOCK, I. A.; MIRANDA, J. C.; SADIGURSKY, M.; GRIMALDI Jr.; G. **Natural infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia, Didelphidae) with *Leishmania donovani*, in Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 79, 511, 1984.

SHERLOCK, I. A.; MIRANDA, J. C.; SADIGURSKY, M.; JR. GRIMALDI, G. **Observações sobre calazar em Jacobina, Bahia. VI – Investigações sobre reservatórios silvestres e comensais.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical: 21, 23-27, 1988.

SILVA, E. S.; PIRMEZ, C.; GONTIJO, C. M. F.; FERNANDES, O.; BRAZIL, R. P. **Visceral leishmaniasis in the crab-eating Fox (*Cerdocyon thous*) in south-east Brazil.** Veterinary Record: 147, 421-422, 2000.

SILVA, E. S.; GONTIJO, C. M.; PACHECO, R. S.; FIUZA, V. O.; BRAZIL, R. P. **Visceral leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 96, 285-291, 2001.

SILVA, E. S.; GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. **Contribution of molecular techniques to the epidemiology of neotropical *Leishmania* species.** Trends in Parasitology: 21, 550-553, 2005.

SILVA, E. S.; GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. **Response to Brandão-Filho and Shaw: Molecular markers for *Leishmania* diagnosis.** Trends in Parasitology: 22, 501-502, 2006.

SILVA, A. V. M.; CANDIDO, C. D. S.; PITA-PEREIRA, D.; BRAZIL, R. P.; CARREIRA, J. C. A. **The first record of American visceral leishmaniasis in domestic cats from Rio de Janeiro, Brazil.** Acta Tropica: 105, 92-94, 2008.

SILVEIRA, F. T.; LAINSON, R.; SHAW, J. J.; POVOA, M. M. **Leishmaniasis in Brazil: XVIII. Further evidence incriminating the fox *Cerdocyon thous* (L.) as a reservoir of Amazonian visceral leishmaniasis.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene: 76, 830-832, 1982.

SILVEIRA, F. T.; LAINSON, R.; SHAW, J. J.; BRAGA, R. R.; ISHIKAWA, E. E.; SOUZA, A. A. **Cutaneous leishmaniasis in Amazonia: isolation of *Leishmania* (*Viannia*) *lainsoni* from the rodent *Agouti paca* (Rodentia: Dasyproctidae), in**

the state of Pará, Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo: 33, 18-22, 1991.

SILVEIRA, F. T.; ISHIKAWA, E. A. Y.; DE SOUZA, A. 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: 9, 43-50, 2002.

Sistema de Informação de Agravos de Notificações. SINAN/SVS/MS. **Letalidade de Leishmaniose Visceral.** Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 2000 a 2008. Fonte: SINAN/SVS/MS. Atualizado em 09/09/09. Disponível em <http://portal2.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/letalidade_lv_br_gr_uf_2000_2008.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2009.

SOARES, M. B. P.; TITUS, R. G.; SHOEMAKER, C. B.; DAVID, J. R.; BOZZA, M. **The vasoactive peptide maxadilan from sand fly saliva inhibits TNF- α and induces IL-6 by mouse macrophages through interaction with the Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide (PACAP) receptor.** The Journal of Immunology: 160, 1811-1816, 1998.

SOARES, R. P. P.; CARDOSO, T. L.; BARRON, T.; ARAÚJO, M. S. S.; PIMENTA, P. F. P.; TURCO, S. J. ***Leishmania braziliensis*: a novel mechanism in the lipophosphoglycan regulation during metacyclogenesis.** International Journal for Parasitology: 35, 245-253, 2005.

STEINER, C.; TILAK, M.; DOUZERY, E. J. P.; CATZEFLIS, F. M. **New DNA data from a transthyretin nuclear intron suggest an Oligocene to Miocene diversification of living South America opossums (Marsupialia: Didelphidae).** Molecular Phylogenetics and Evolution: 35, 363-379, 2005.

SUZUKI, A.; BISORDI, I.; LEVIS, S.; GARCIA, J.; PEREIRA, L. E.; SOUZA, R. P.; SUGAHARA, T. K. N.; PINI, N.; ENRIA, D.; SOUZA, L. T. M. **Identifying rodent hantavirus reservoirs, Brazil.** Emerging Infectious Diseases: 10, 2127-2134, 2004.

TALAMONI, S. A.; COUTO, D.; CORDEIRO Jr.; D. A.; DINIZ, F. M. **Diet of some species of Neotropical small mammals.** *Mammalian Biology*: 73, 337-341, 2008.

TELLERIA, J.; BOSSENO, M. F.; TARIFA, T.; BUITRAGO, R.; MARTINEZ, E.; TORREZ, M.; LE-PONT, F.; BRENIÈRE, S. F. **Putative reservoirs of *Leishmania amazonensis* in a sub-Andean focus of Bolivia identified by kDNA-Polimerase Chain Reaction.** *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*: 94, 5-6, 1999.

TOLEZANO, J. E.; ULIANA, S. R. B.; TANIGUCHI, H. H.; ARAÚJO, M. F. L.; BARBOSA, J. A. R.; BARBOSA, J. E. R.; FLOETER-WINTER, L. M.; SHAW, J. J. **The first records of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in dogs (*Canis familiaris*) diagnosed clinically as having canine visceral leishmaniasis from Araçatuba County, São Paulo State, Brazil.** *Veterinary Parasitology*: 149, 280-284, 2007.

TRAVI, B. L.; JARAMILLO, C.; MONTOYA, J.; SEGURA, I.; ZEA, A.; GONCALVES, A.; VELEZ, I. D. ***Didelphis marsupialis* na important reservoir of *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* and *Leishmania (Leishmania) chagasi* in Colombia.** *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*: 50, 557-565, 1994.

TRAVI, B. L.; OSORIO, Y.; BECERRA, M. T.; ADLER, G. H. **Dynamics of *Leishmania chagasi* infection in small mammals of the undisturbed and degraded tropical dry forests of northern Colombia.** *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*: 92, 275-278, 1998.

ULIANA, S. R. B.; ISHIKAWA, E.; STEMPLIUK, V. A.; DE-SOUZA, A.; SHAW, J. J.; FLOETER-WINTER, L. M. **Geographical distribution of neotropical *Leishmania* of the subgenus *Leishmania* analysed by ribosomal oligonucleotides probes.** *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*: 94, 261-264, 2000.

VAN WYNSBERGUE, N. R.; CANTO-LARA, S. B.; DAMIÁN-CENTENO, A. G.; ITAZÁ-ORTIZ, M. F.; ANDRADE-NARVÁEZ, F. J. **Retention of *Leishmania***

(*Leishmania*) mexicana in naturally infected rodents from the State of Campeche, Mexico. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*: 95, 595-600, 2000.

VAN WYNSBERGUE, N. R.; CANTO-LARA, S. B.; SOSA-BIBIANO, E. I.; RIVERO-CÁRDENAS, N. A.; ANDRADE-NARVÁEZ, F. J. **Comparison of small mammal prevalence of *Leishmania (Leishmania) mexicana* in five foci of cutaneous leishmaniasis in the State of Campeche, México.** *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*: 51, 87-94, 2009.

VASCONCELOS, I. A. B.; VASCONCELOS, A. W.; FE-FILHO, N. M.; QUEIROZ, R. G.; SANTANA, E. W.; BOZZA, M.; SALLENAVE, S. M.; VALIM, C.; DAVID, J. R.; LOPES, U. G. **The identify of *Leishmania* isolated from sand flies and vertebrate hosts in a major focus of cutaneous leishmaniasis in Baturite, Northeastern Brazil.** *American Journal Tropical Medicine and Hygiene*: 50, 158-164, 1994.

VEDOVELLO Fo., D.; JORGE, F. A.; LONARDONI, M. V. C.; TEODORO, U.; SILVEIRA, T. G. V. **American cutaneous leishmaniasis in horses from endemic áreas in the North-central mesoregion of Paraná State, Brazil.** *Zoonoses and Public Health*: 55, 149-155, 2008.

VOLF, P.; HAJMOVA, M.; SADLOVA, J.; VOTYPKA, J. **Blocked stomodeal valve of the insect vector: similar mechanism of transmission in two trypanosomatid models.** *International Journal for Parasitology*: 34, 1221-1227, 2004.

VOLF, P.; MYSKOVA, J. **Sand flies and *Leishmania*: specific versus permissive vectors.** *Trends in Parasitology*: 23, 91-92, 2007.

VOLPINI, A. C.; PASSOS, V. M .A.; ROMANHA, A. J. **Attempt to differentiate *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *L. (L.) chagasi*, *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L. (V.) guyanensis* using the SSR-PCR technique.** *Parasitology Research*: 87, 1056-1059, 2001.

VOLPINI, A. C.; PASSOS, V. M. A.; OLIVEIRA, G. C.; ROMANHA, A. J. **PCR-RFLP to identify *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L. (Leishmania) amazonensis* causing American cutaneous leishmaniasis.** Acta Tropica: 90, 31-37, 2004.

VYACHESLAV, Y.; LUKES, J.; XU, X.; MASLOV, D. A. **An integrated morphological and molecular approach to a new species description in the Trypanosomatidae: the case of *Leptomonas podlipaevi* n. sp., a parasite of *Boisea rubrolineata* (Hemiptera: Rhopalidae).** Journal of Eukaryotic Microbiology: 53, 103-111, 2006.

WARBURG, A.; SARAIVA, E.; LANZARO, G. C.; TITUS, R. G.; NEVA, F. **Saliva of *Lutzomyia longipalpis* sibling species differs in its composition and capacity to enhance leishmaniasis.** Philosophical Transactions of the Royal Society of London B Biological Sciences: 345, 223-230, 1994.

World Health Organization - WHO. **Urbanization: an increasing risk factor for leishmaniasis.** Weekly epidemiological record: 44, 365-372, 2002.

World Health Organization - WHO. **Leishmaniasis.** Disponível em <<http://www.who.int/topics/leishmaniasis/en/>>. Acesso em 10 dez. 2009.

YOSHIDA, E. L. A.; CORREA, F. M. A.; MARQUES, S. A.; STOLF, H. O.; DILLON, N. L.; MOMEM, H.; GRIMALDI Jr, G. **Human, canine and equine (*Equus caballus*) leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis* (= *L. braziliensis braziliensis*) in the south-west region of São Paulo State, Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 85, 133-134, 1990.

YOSHIDA, E. L. A.; CUBA, C. A. C.; PACHECO, R. S.; CUPOLILLO, E.; TAVARES, C. C.; MACHADO, G. M. C.; MOMEM, H.; Jr GRIMALDI, G. **Description of *Leishmania (Leishmania) forattini* sp. n., a new parasite infecting opossums and rodents in Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 88, 397-406, 1993.

YOUNG, D. G.; DUNCAN, M. A. **Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sandflies in Mexico, the West Indies, Central and**

South America (Diptera: Psychodidae). American Entomological Institute. Flórida (Eds.), 1994.

ZULUETA, A. M.; VILLARROEL, E.; RODRIGUEZ, N.; FELICIANGELI, M. D.; MAZZARRI, M.; REYES, O.; RODRIGUEZ, V.; CENTENO, M.; BARRIOS, R. M.; ULRICH, M. **Epidemiology aspects of american visceral leishmaniasis in an endemic focus in Eastern Venezuela.** American Journal of Tropical Medicine and Hygiene: 61, 945-950, 1999.

APENDICE A

Artigo científico: **Flebotomíneos em área urbana, endêmica para leishmaniose visceral de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.**

Autores:

Tatiana Pádua Tavares de Freitas

Rosina Djunko Miyazaki

Nanci Akemi Missawa

Maria José Paes Santos

Agrádia Gonçalves de Freitas

Loane Melo Garay Pedroso

Valéria Régia Franco Sousa

Artigo submetido à Revista Acta Scientia Veterinariae em 16 de dezembro de 2009.

Flebotomíneos em área urbana, endêmica para leishmaniose visceral de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.

Sand flies in urban area, endemic to visceral leishmaniasis at Cuiabá, Mato Grosso, Brazil

Tatiana Pádua Tavares de Freitas¹, Rosina Djunko Miyazaki², Nanci Akemi Missawa³, Maria José Paes Santos², Agrádia Gonçalves de Freitas⁴, Loane Melo Garay Pedroso⁵, Valéria Régia Franco Sousa²

Resumo

A leishmaniose visceral (LV), no Brasil, tem apresentado uma mudança no seu perfil epidemiológico, com detecção de casos humanos e caninos em ambientes urbanos, devido a uma possível adaptação dos vetores às alterações antrópicas. Em Cuiabá, a capital de Mato Grosso, em bairros localizados na região metropolitana, foi investigada a fauna flebotomínica para determinar estes elementos da cadeia de transmissão. Para tal, foram utilizadas armadilhas luminosas durante três noites por mês (12 meses), em residências de quatro bairros, resultando em nove espécies de *Lutzomyia*. A espécie mais prevalente foi *Lutzomyia sallesi*, que foi encontrada naturalmente infectada por *Leishmania i. chagasi* em Minas Gerais, dado que merece atenção, pois nos mesmos bairros onde a fauna flebotomínica foi analisada, muitos cães foram sororreagentes demonstrando o contato com o agente infectante. Nos bairros com maior prevalência de leishmaniose canina vista anteriormente, foram capturados vetores pertencentes ao Complexo *longipalpis* e *Lutzomyia antunesi*, demonstrando a importância de monitoramentos entomológicos em áreas endêmicas para leishmanioses.

Palavras-chave: Flebotomíneos, *Lutzomyia*, leishmaniose visceral, Cuiabá

Abstract

The visceral leishmaniasis (VL), in Brazil, has shown a change in its epidemiological profile, with detection of human and canine cases in urban environments, owing to possible adaptation of vectors to antropic changes. In Cuiabá, a endemic municipality of Mato Grosso, in neighborhoods located in the metropolitan region, was investigated the sand flies fauna to determine these elements of transmission chain. To this end, were used light trap during three nights a month (12 months), in houses of four neighborhoods, resulting in nine species of *Lutzomyia*. The most prevalent species was *Lutzomyia sallesi*, which was found naturally infected by *Leishmania i. chagasi* in Minas Gerais, given that deserves attention, because in the same neighborhoods where the sand flies was analyzed, many dogs were positive showing contact with the infecting agent. In districts with a higher prevalence of canine leishmaniasis seen before, were captured vectors belonging to the Complex *longipalpis* and *Lutzomyia antunesi*, demonstrating the importance of entomological monitoring in areas endemic for leishmaniasis.

Key words: Sand flies, *Lutzomyia*, visceral leishmaniasis, Cuiabá

Introdução

Nas Américas a leishmaniose visceral (LV) é causada por protozoários da espécie *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* Cunha & Chagas 1937 (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), sendo transmitidos, principalmente, por fêmeas de *Lutzomyia longipalpis* Lutz & Neiva 1912 (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) [11]. Os canídeos domésticos (*Canis familiaris*) e silvestres (*Cerdocyon thous*) são os principais reservatórios deste agente [6], além de marsupiais poderem atuar como elo entre os ciclos de transmissão silvestre e urbano [2, 16].

Atualmente no Brasil a LV se distribui entre as cinco regiões, estando em expansão no Centro-Oeste, Nordeste, Sudeste e Sul do país [4, 6]. O Estado de Mato Grosso notificou 74 casos de LV nos últimos três anos [7], sendo alguns autóctones de áreas urbanizadas, como na capital Cuiabá. Neste ciclo os cães representam o principal reservatório, sendo, por isso, focalizados nos inquéritos

epidemiológicos [6]. Em bairros da região metropolitana de Cuiabá, onde há transmissão de LV, um recente inquérito sorológico canino revelou as seguintes prevalências: 7,7% (Cidade Alta), 5,7% (Morada do Ouro II), 1,5% (Jardim Universitário) e 0% (Coophema) [1].

Esta transmissão em áreas antropizadas confirma uma mudança no perfil epidemiológico da doença no Brasil, demonstrando uma adaptação dos vetores a estes ambientes [11]. Estudos entomológicos nestas localidades podem contribuir para elucidar as peculiaridades de cada ciclo. Assim, através de capturas mensais, se objetivou conhecer a fauna flebotomínica dos mesmos bairros analisados no inquérito de soroprevalência canina supracitado [1], buscando esclarecer aspectos da epidemiologia da LV nesta cidade.

Material e métodos

Cuiabá está localizada no centro-sul do estado, em bioma cerrado, possuindo área territorial de 3.538 km quadrados e população estimada em 2007 de 526.830 habitantes [4]. Quatro bairros, distribuídos nas quatro regionais da cidade, foram selecionados a partir da detecção de casos humanos e/ou caninos de LV: regional norte, Morada do Ouro II (S 15.38.164, W 56.031.618); regional sul, Coophema (S 15.38.273, W 56.03.729); regional leste, Jardim Universitário (S 15.36.816, W 56.01.781) e regional oeste, Cidade Alta (S 15.33.906, W 56.03.720). Em cada bairro foram selecionadas três residências para instalação das armadilhas. Sendo instaladas duas armadilhas luminosas de sucção tipo HP (modelo CDC) em cada residência, uma em intradomicílio e outra no peridomicílio, expostas durante 12 horas seguidas (18:00 às 6:00 horas). Durante as noites de captura foram aferidos dados de umidade relativa do ar (UR) e temperatura (TP) dos bairros analisados, enquanto os índices pluviométricos (IP) totais da cidade, relativos ao período, são oriundos do Instituto Nacional de Meteorologia. As capturas se realizaram durante três noites consecutivas de cada mês, de novembro de 2007 a outubro de 2008. Os flebotomíneos triados foram conservados em álcool 70%, clarificados, montados e identificados [18].

Resultados

Durante o período estudado, o valor médio de TP manteve-se em torno dos 28,9°C, enquanto a UR média variou de acordo com as estações, apresentando médias superiores a 60% (71,1%) durante a estação chuvosa (de dezembro a junho) e inferiores ao mesmo valor (28,9%) na seca (de julho a outubro), enquanto os índices pluviométricos médios captados foram de 178,0 mm e 6,6 mm, respectivamente.

Foram capturados 45 flebotomíneos, sendo 24 machos (53,3%) e 21 fêmeas (46,7%), dos quais 12 (26,7%) pertenciam ao gênero *Brumptomyia* e 33 (73,3%) ao gênero *Lutzomyia*. Entre os flebotomíneos, apenas os pertencentes ao gênero *Lutzomyia* foram identificados em nível de espécie. Assim, neste período foram capturadas nove diferentes espécies: *L. antunesi*, *L. evandroi*, *L. lenti*, *L. hermanlenti*, *L. walkeri*, *L. sallesi*, *L. saulensis*, *L. sordellii* e um exemplar, fêmea, pertencente ao Complexo *longipalpis*, onde estão inseridas as espécies *L. longipalpis* e *L. cruzi* (Tabela 1). *L. sallesi* foi a espécie mais abundante dentro do gênero (66,7%) e representou 49% do total de flebotomíneos.

Discussão

Os resultados desta pesquisa não corroboram com os dados obtidos em Várzea Grande, município vizinho à Cuiabá, onde houve uma nítida relação entre densidade vetorial e o período do ano analisado [9].

Todas as espécies de *Lutzomyia* identificadas já foram descritas no Estado de Mato Grosso [8, 12]. Porém, somente as espécies incluídas no Complexo *longipalpis* são consideradas veiculadoras de *Leishmania* [6, 11, 12, 18]. A identificação específica do exemplar pertencente ao Complexo *longipalpis* não foi possível por se tratar de uma fêmea, que é morfológicamente indistinguível nas espécies *L. longipalpis* e *L. cruzi* [5]. Sendo *L. longipalpis* considerado o principal vetor de *L. infantum chagasi* nas Américas [6, 11], enquanto *L. cruzi* foi responsabilizada pela transmissão deste agente

em municípios de Mato Grosso do Sul, na ausência do primeiro [14]. No município vizinho, Várzea Grande, outra área endêmica de LV, não houve captura de *L. cruzi* [9], porém em outros bairros localizados na periferia de Cuiabá, ambas as espécies foram identificadas [10], logo somente com a captura de machos, pertencentes a este complexo, a identificação seria possível.

Lutzomyia antunesi foi apontado como vetor alternativo na transmissão de LV na Ilha de Marajó, no Pará [13] devido a detecção de infecção suprapilaria por promastigotas em alguns exemplares, porém não foi possível a caracterização específica da *Leishmania* infectante. Esta espécie é responsabilizada pela transmissão vetorial de *Leishmania (Viannia) lindenbergi* [17], uma das sete espécies causadoras de leishmaniose tegumentar no Brasil, até agora somente diagnosticada em Belém, no Pará.

A espécie mais prevalente foi *Lutzomyia sallesi*, que foi encontrada naturalmente infectada por *Leishmania i. chagasi* em Minas Gerais, mas por não apresentar antropofilia sugeriu-se uma possível participação no ciclo enzoótico de transmissão [15]. Este dado merece atenção, pois nos mesmos bairros onde a fauna flebotomínica foi analisada, muitos cães foram sororeagentes demonstrando o contato com este agente infectante [1]. Os dois resultados mais expressivos de sorologia canina foram obtidos nos bairros onde se capturaram *L. longipalpis* e *L. antunesi*, Cidade Alta e Morada do Ouro II, respectivamente.

Conclusão

Monitoramentos entomológicos em áreas urbanizadas, com transmissão de LV, devem ser incentivados para que se confirme a possível adaptação de algumas espécies de flebotomíneos ao ambiente antropizado. Apesar do diminuto número de vetores identificados neste estudo, a coincidência entre captura de espécies transmissoras e o resultado de soroprevalência canina, indicam a necessidade da continuação de pesquisas entomológicas, que poderão demonstrar com

maior precisão a fauna flebotomínica da cidade de Cuiabá e outros aspectos não revelados por esta pesquisa.

Agradecimentos

Aos moradores das residências onde foram feitas as capturas de flebotomíneos pela colaboração e confiança depositadas ao grupo de pesquisadores.

Referências bibliográficas

1 Almeida A.B.P.F., Faria R.P., Pimentel M.F.A., Dahroug M.A.A., Turbino N.C.M.R. & Sousa V.R.F. 2009. Inquérito soroepidemiológico de leishmaniose canina em áreas endêmicas de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 42: 156-159.

2 Cabrera M.A., Paula A.A., Camacho L.A.B., Marzochi M.C.A., Xavier S.C., Silva A.V.M. & Jansen A.M. 2003. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of risk factors. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 45: 79-83.

3 Centro Estadual de Vigilância em Saúde do Rio Grande do Sul (CEVS). 2009. Leishmaniose visceral no estado. Nota Técnica de 12/02/09. [Fonte: <<http://www.saude.rs.gov.br/wsa/portal>>].

4 Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2009. Cidades. [Fonte: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat>>].

5 Martins A.V., Falcão A.L., Silva J.E. & Dias E.S. 1984. Nota sobre *Lutzomyia (Lutzomyia) cruzi* (Mangabeira, 1938), com descrição da fêmea (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 79: 439-442.

6 Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2006. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral*. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília, DF.

7 Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2009. *Sistema de Informação de Agravos de Notificação*. Brasília, Distrito Federal. [Fonte: < http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/CASOS_CONF_2008LV.pdf |>].

8 Missawa N.A. & Maciel, G.B.M.L. 2007. List of species in the genus *Lutzomyia*, França, 1924 (Psychodidae, Phlebotominae) from the State of Mato Grosso. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 40: 11-14.

9 Missawa N.A. & Dias E.S. 2007. Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the municipality of Várzea Grande: an area of transmission of visceral leishmaniasis in the state of Mato Grosso, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 102: 913-918.

10 Pedroso L.M.G., Miyazaki R.D., Ribeiro A.L.M., Rodrigues J.S.V., Mestre G.L.C. & Missawa N.A. 2009. Resultados preliminares da diversidade de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em bairros de ocorrência de Leishmaniose Visceral no Município de Cuiabá, Mato Grosso. In: *45^o Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. Recife, 417.

11 Rangel E.F. & Vilela M.L. 2008. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*. 24: 2948-2852.

12 Ribeiro A.L., Missawa N.A. & Zeilhofer P. 2007. Distribution of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) of medical importance in Mato Grosso, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 49: 317-321.

13 Ryan L., Silveira F.T., Lainson R. & Shaw J.J. 1984. Leishmanial infections in *Lutzomyia longipalpis* and *Lu. antunesi* (Diptera: Psychodidae) on the island of Marajó, Pará State, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 78: 547-548.

- 14 Santos S.O., Arias J., Ribeiro A.A., Hoffmann M.P., Freitas R.A., Malacco M.A.F. 1998.** Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American Visceral Leishmaniasis. *Medical and Veterinary Entomology*. 12: 315-317.
- 15 Saraiva L., Carvalho G.M.L., Gontijo C.M.F., Quaresma P.F., Lima A.C.V.M.R., Falcão A.L. & Andrade-Filho, J. 2009.** Natural infection of *Lutzomyia neivai* and *Lutzomyia sallesi* (Diptera: Psychodidae) by *Leishmania infantum chagasi* in Brazil. *Journal of Medical Entomology*. 46: 1160-1163.
- 16 Sherlock I.A., Miranda J.C., Sadisgursky M. & Jr Grimaldi G. 1984.** Natural infections of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia: Didelphidae) with *Leishmania donovani*, in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 79: 511.
- 17 Silveira F.T., Ishikawa E.A., De Souza A.A., Lainson R. 2002.** 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*. 9: 43-50.
- 18 Young D.G. & Duncan M.A. 1994.** Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in México, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *American Entomological Institute*. Flórida (Eds.).

Tabela 1: Flebotomíneos capturados em quatro bairros da região metropolitana de Cuiabá, no período de novembro de 2007 a outubro de 2008.

Bairros	Morada do Ouro		Coophema		J. Universitário		Cidade Alta		n	%
	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho		
<i>Brumptomyia</i> sp.	-	-	3	3	-	-	4	2	12	26,7
Complexo <i>longipalpis</i>*										
	-	-	-	-	-	-	1	-	1	2,2
<i>L. antunesi</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	1	2,2
<i>L. evandroi</i>	-	-	1	-	-	-	-	1	2	4,4
<i>L. hermalenti</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	1	2,2
<i>L. lenti</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	1	2,2
<i>L. walkeri</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	1	2,2
<i>L. sallesi</i>	-	-	2	7	3	1	5	4	22	49
<i>L. saulensis</i>	-	-	1	-	1	1	-	-	3	6,7
<i>L. sordellii</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	1	2,2
Total	1	1	7	10	5	4	10	7	45	100

* Onde estão incluídos *L. cruzi* e *L. longipalpis*

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)