

Infecção natural por tripanosomatídeos (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) em *Lutzomyia umbratilis* (Diptera: Psychodidae) em áreas de leishmaniose tegumentar americana no Amazonas, Brasil

Francimeire Gomes PINHEIRO¹, Sérgio Luís Bessa LUZ², Antonia Maria Ramos FRANCO^{1,3}

RESUMO

Durante o período de 2002 a 2003 foram realizadas coletas de flebotomíneos em duas áreas do estado do Amazonas (Base de treinamento militar – BI1 e Tarumã Mirim). Nessas coletas foram capturadas um total de 1.440 fêmeas de *Lutzomyia (Nyssomyia) umbratilis*. *Lu.umbratilis* é a principal responsável pela transmissão da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) ao norte do Rio Amazonas. Do total coletado apenas 15 espécimens (ou 1,04%) apresentaram infecção natural por tripanosomatídeos, sendo 12 na BI1 e 3 em Tarumã-Mirim. Isso representou uma taxa de infecção de 1,66% (12 dos 720 capturados em BI1) e 0,42% (3 dos 720 em Tarumã-Mirim). Estes resultados confirmam as informações prévias por outros autores de reduzidos valores de infecção natural por tripanosomatídeos em flebotomíneos, mesmo em áreas altamente endêmicas para leishmaniose.

PALAVRAS-CHAVE: Infecção natural, *Lutzomyia umbratilis*, Leishmaniose Tegumentar Americana, Trypanosomatidae, variação mensal.

Natural infection rate of *Lutzomyia umbratilis* (Diptera: Psychodidae) by trypanosomatids (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in endemic areas of American Tegumentary Leishmaniasis in the Amazonas State, Brazil

ABSTRACT

During the period of 2002 to 2003, there were collected sand flies in two areas of Amazon State (Forest Combat Training Base – BI1 and Tarumã-Mirim). Were collected the 1440 *L. (Nyssomyia) umbratilis* female. *Lu. umbratilis* is the main responsible for the transmission of American Tegumentary Leishmaniasis (ATL) in the northern of Amazon River. Only 15 specimens (or 1,04%) presented natural infection with trypanosomatids, being 12 at BI1 and 3 at Tarumã-Mirim. The infection rate was 1,66% (12 of the 720 collected at BI1) and 0,42% (3 of the 720 at Tarumã-Mirim). These results confirm the previous informations described by other authors that insects have low rates of natural infection by trypanosomatids even in high endemic areas for leishmaniasis.

KEYWORDS: Natural infection, *Lutzomyia umbratilis*, American Tegumentary Leishmaniasis, Trypanosomatidae, mensal variation.

¹ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Coordenação de Pesquisa em Ciências da Saúde. André Araújo, 2936 – Aleixo. CEP 69060-001. Manaus-AM-Brasil. e-mail: meireg@inpa.gov.br

² CPqL&MD/FIOCRUZ-AM

³ INPA/CPCS. e-mail: afranco@inpa.gov.br

INTRODUÇÃO

Na Amazônia, as condições ecológicas são favoráveis à manutenção ou aumento da transmissão de doenças endêmicas, principalmente aquelas que possuem insetos como vetores (Arias *et al.* 1977b). Entre essas, estão as leishmanioses que têm os flebotomíneos como transmissores.

Nas Américas, as leishmanioses são zoonoses produzidas por várias espécies de parasitos do gênero *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) mostrando graus variáveis de especificidade para o hospedeiro. É considerada a segunda doença causada por protozoários de importância em saúde pública, superada apenas pela malária (Desjeux, 1991). As leishmanioses caracterizam-se por afecções dermatológicas e são endêmicas em 88 países com uma incidência anual de 600.000 casos e uma prevalência de 12 milhões de casos (WHO, 2000; Marcondes, 2001). As leishmanioses apresentam diferentes manifestações clínicas, dentre elas as formas visceral e tegumentar. A forma tegumentar, está entre as 8 doenças infecto-parasitárias listadas como de maior importância pela Organização Mundial de Saúde (Pereira & Fonseca, 1994). A transmissão da leishmania ocorre pela picada do inseto infectado. Várias espécies de flebotomíneos são incriminadas como vetor, enquanto diversas espécies de mamíferos podem ser hospedeiras (Lainson & Shaw, 1978; Grimaldi & Tesh, 1989). O vetor do Novo Mundo inclui espécies do gênero *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae), genericamente conhecidos como flebótomos (Grimaldi *et al.*, 1989; Silveira *et al.*, 1991; Young & Duncan, 1994). Devido à devastação das florestas estes insetos vêm se adaptando às proximidades das áreas rurais e urbanas (Andrade Filho, 2001) e aumentando a incidência de leishmanioses nestas áreas (Araújo Filho, 1981).

A análise epidemiológica tem evidenciado um aspecto predominantemente endêmico da leishmaniose tegumentar americana (LTA) em áreas de colonização em que a floresta primária deu lugar à mata remanescente ou residual (Forattini *et al.*, 1976; Talhari *et al.*, 1988; Lemos *et al.*, 2001). No tipo clássico de cadeia epidemiológica, o ciclo do parasito é mantido entre flebotomíneos e animais silvestres, sendo o homem considerado um hospedeiro acidental (Lainson *et al.*, 1981; Biancardi & Castellón, 2000).

Dentre os diversos fatores a serem considerados na epidemiologia da LTA, encontram-se os treinamentos militares e projetos de assentamentos. A prestação do serviço militar obrigatório em atividades florestais e o assentamento de populações humanas nas florestas sem infra-estrutura adequada propicia o contato do homem com flebotomíneos vetores da LTA (Paes, 1991; Alecrim, 2001).

No Amazonas a incidência da LTA vem aumentando significativamente acompanhando a abertura de novas estradas e a instalação de novos núcleos residenciais em áreas

onde previamente existia densa floresta tropical. Em áreas de assentamento próximo às rodovias o índice de casos é relevante. Isso é o que acontece no assentamento Tarumã-Mirim, onde até o mês de abril de 1999 foram registrados 300 casos de LTA (INCRA-AM, 2000).

Azulay & Salgado (1966) foram os que inicialmente relataram a ocorrência de LTA em militares na Amazônia. Posteriormente, Mattos *et al.* (1998) descreveram os aspectos clínico-epidemiológicos da doença em um grupo de militares que estiveram em 4 áreas endêmicas diferentes, observando-se 76% (27/35) com Intradermorreação de Montenegro (IDRM) positiva e 24% (8/35) com lesões de LTA, provavelmente contraídas em operações de selva em Manaus, pois a espécie de *Leishmania* isolada de todos os casos foi a *L. (Viannia) guyanensis*.

O objetivo deste estudo foi coletar *Lutzomyia umbratilis* a principal espécie vetora de LTA no Amazonas e avaliar a taxa de infecção natural por tripanosomatídeos, principalmente do gênero *Leishmania*, em duas áreas endêmicas de LTA no Amazonas.

MATERIAL E MÉTODOS

ÁREAS DE ESTUDO

O Centro de Instrução de Guerra na Selva-CIGS do Exército Brasileiro no Amazonas, possui uma área conhecida como base B11 dentre as várias unidades especializadas em treinamento na selva. Nesta região, na década de 80 ocorreu um surto de LTA em militares, envolvendo acima de 80% do efetivo de soldados que realizavam treinamento nesta área (Departamento de Doutrina e Pesquisa-CIGS, comunicação pessoal).

A unidade Marechal Rondon (B11) está localizada na Rodovia AM-010 no km 65 (2°43'55"S e 59°47'44"W), às margens da rodovia AM-010, que liga a cidade de Manaus à cidade de Itacoatiara. A área B11 serve como ponto inicial dos Cursos de Operação na Selva (COS). A vegetação da área é constituída por floresta primária de terra firme, com relevos altos e baixos, solo argiloso nas partes mais altas e areno-argiloso nas partes mais baixas. O dossel da floresta pode variar de 34 a 40 m.

O assentamento Tarumã-Mirim está situado no ramal da rodovia BR-174 conhecido como Pau-Rosa, adentrando 8 km no km 21 da BR-174, no município de Manaus-AM (Figura 1). Possui uma área de aproximadamente 43 mil hectares de floresta primária de terra firme, onde 1042 famílias foram assentadas. As principais doenças que atingem a população do assentamento são: leishmaniose (onde em abril de 1999 aproximadamente 300 casos foram registrados), malária, gripes, helmintoses, hepatites e varicela (INCRA, 2000).

Tanto o assentamento Tarumã-Mirim como a unidade BI-1 são áreas endêmicas para LTA com características diferenciadas. Tarumã-Mirim apresenta população humana residente assentada. A unidade BI-1 apresenta indivíduos migrantes oriundos de diversas localidades do Brasil em diferentes épocas do ano para treinamento militar. Ambas áreas estão localizadas na calha norte do rio Amazonas e leste do Rio Negro, onde *Lu. umbratilis* foi incriminada como principal vetor de LTA, causada pela *L. (V.) guyanensis* (Lainson *et al.*, 1976; Arias *et al.*, 1985; Cabanillas & Castellón, 1999).

COLETA DE INSETOS

As coletas foram realizadas durante o período de novembro de 2002 a outubro de 2003, duas vezes ao mês, com intervalos quinzenais em cada uma das áreas de estudo. Os insetos foram coletados em base de árvores utilizando-se armadilha luminosa do tipo “CDC modificada”, que funciona como um aspirador manual (CDC “miniature” - Hausherr Machine Works, New Jersey, EUA). O horário de coletas foi entre 7:00 e 10:00h em 10 árvores escolhidas apresentando as seguintes características: troncos largos e raízes tabulares.

Esta técnica de aspiração em base de árvore é considerada como um método útil para se obter uma grande quantidade de espécimens de espécies que habitam um dado local. A escolha do horário e das características das árvores onde foram coletados os flebotomíneos está de acordo com o observado anteriormente para a espécie *Lu. umbratilis* (Lainson *et al.* 1973; Arias & Freitas, 1978; Biancardi, 1981; Balbino *et al.* 2001).

Os flebotomíneos coletados foram transportados ao laboratório de Leishmaniose e Doença de Chagas (CPCS/INPA/AM) em caixa de poliestireno (isopor), dentro de gaiola de náilon acondicionada em saco plástico contendo

um chumaço de algodão embebido em água, para manter a baixa temperatura e a umidade.

INFECÇÃO NATURAL DOS FLEBOTOMÍNEOS

Um total de 30 fêmeas de *Lu. umbratilis* por coleta foi examinada aleatoriamente para dissecação. Espécie, condições dos ovários e características da infecção foram registradas. A dissecação das fêmeas foi baseada na técnica utilizada por Arias & Freitas (1978) e para a identificação da espécie foram utilizadas as chaves taxonômicas de Young & Duncan (1994).

O conteúdo estomacal das fêmeas infectadas de *Lu. umbratilis* foi semeado em meio de cultura bifásico NNN-Difco (Novy & MacNeal, 1904; Nicolle, 1908). Após os parasitos terem sido semeados, as culturas foram examinadas semanalmente e quando se observava presença de flagelados era feita uma amplificação em meio líquido de Schneider (Hendrichs *et al.* 1978) acrescido de 10% de soro fetal bovino inativado (SFBi) para criopreservação e posterior análise isoenzimática da amostra.

A taxa de infecção natural (TIN) obtida em cada área foi calculada pelo percentual da razão entre o número de fêmeas infectadas e o total de fêmeas dissecadas (Freitas *et al.*, 2002, Rodas & Poletto, 2000-2001).

A precipitação mensal nas 2 áreas durante os períodos de coleta, foram fornecidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA-AM / Figura 2).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de coleta foram examinadas 1.440 fêmeas de *Lu. umbratilis* (720 para cada área estudada). Deste total, 1,04% (15/1.440) das fêmeas apresentaram infecção natural por tripanosomatídeos nas duas áreas, sendo 12 na BI1 e três no assentamento Tarumã-Mirim, demonstrando uma taxa de infecção de 1,66% (12/720) e 0,42% (3/720), respectivamente (Tabela 1).

Conforme observado na tabela 2, das 12 amostras positivas de *Lu. umbratilis* na BI1 apenas 7 cresceram em meio de cultura. As 5 restantes sofreram contaminação por microorganismos e/ou não ocorreu desenvolvimento parasitário. Das amostras 7 positivas, 2 (IUMB/BR/2003/IM5064 e IUMB/BR/2003/IM5060) mostraram mais de 40 parasitos por campo. Em uma das fêmeas os flagelados foram localizados no intestino anterior e posterior, enquanto na outra fêmea os flagelados estavam presentes nas glândulas salivares e no intestino posterior. Em ambas amostras não foi encontrado sangue no trato digestivo. Quatro fêmeas apresentaram entre 21 a 40 parasitos por campo, 3 destas fêmeas estavam com sangue em decomposição no trato digestivo tendo sido os parasitos visualizados no intestino posterior. A fêmea com sangue fresco apresentou parasitos

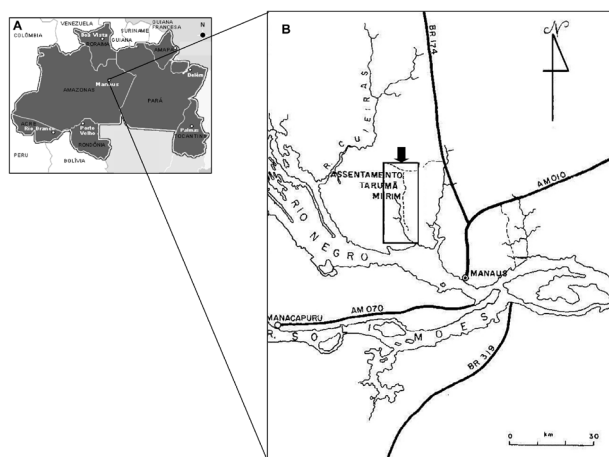


Figura 1 - Mapa da Amazônia Legal brasileira (A) e detalhe da área de estudo (seta) no assentamento Tarumã-Mirim próximo de Manaus, Amazonas, Brasil (B).

Tabela 1 - Taxa de infecção natural por tripanosomatídeos em *Lutzomyia umbratilis* coletados em base de árvore na base BI1 e assentamento Tarumã-Mirim, no período de novembro de 2002 a outubro de 2003, Manaus, Amazonas, Brasil.

Localidade	Total de fêmeas examinadas	Total fêmeas infectadas/mês												Taxa de infecção anual (%)
		nov	dez	jan	fev	mar	abr	mai	jun	jul	ago	set	out	
Base BI-1	720	2	0	0	0	0	0	1	0	0	5	1	3	1,66
Tarumã-Mirim	720	0	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0,42

nos túbulos de Malpighi, intestino médio e posterior. Uma fêmea com carga parasitária entre 06-20 parasitos por campo não apresentou sangue no seu trato digestivo e os parasitos foram encontrados no intestino posterior. Das 5 amostras que sofreram contaminação por microorganismos e/ ou não ocorreu desenvolvimento parasitário (registradas como IUMB/BR/2002/IM5068, IUMB/BR/2003/IM5069, IUMB/BR/2003/IM5070 IUMB/BR/2003/IM5071 e IUMB/BR/2003/IM5072), todas possuíam sangue fresco no trato digestivo. A infecção em 3 fêmeas foi de 06-20 parasitos por campo, e em 2 fêmeas de 21-40, localizados exclusivamente no intestino posterior.

A infecção natural de *Lu. umbratilis* no assentamento Tarumã-Mirim foi baixa. Apenas 3 fêmeas foram encontradas infectadas e nenhuma amostra foi isolada. As fêmeas infectadas

apresentaram baixa carga parasitária com 01-20 parasitos por campo (+) a (++), predominantemente no intestino posterior com sangue em decomposição e ovários desenvolvidos.

Variações na precipitação podem influenciar o número de fêmeas realizando repasto sanguíneo. A figura 2 mostra a sazonalidade da infecção natural das fêmeas de *Lu. umbratilis*. Para a Base BI-1 observa-se que no mês de novembro de 2002 e nos meses de agosto e outubro de 2003 os resultados obtidos corresponderam a períodos de maiores taxas de infecção natural para esta espécie e com a redução da precipitação. Com exceção do mês de dezembro de 2002, onde não foram observadas fêmeas de *Lu. umbratilis* infectadas. Na área do Tarumã-Mirim, foi observada infecção natural somente entre janeiro e junho de 2003 que corresponderam, respectivamente,

Tabela 2 - Localização dos flagelados no tubo digestivo de *Lutzomyia umbratilis* coletados na Base BI1 e Tarumã-Mirim, Manaus, Amazonas, Brasil.

Código da Amostra ¹	Carga ² parasitária	Conteúdo ³ estomacal	Condições ⁴		Distribuição dos flagelados ⁶			
			dos ovários	Flagelados isolados em cultivo ⁵	TM	IM	IP	GS
a) Base BI-1								
IUMB/BR/2002/IM5036	+++	SR	3	AC				
IUMB/BR/2002/IM4953	+++	SD	3	AC				
IUMB/BR/2003/IM5063	+++	SD	3	AC				
IUMB/BR/2003/IM5064	++++	SS	1	AC				
IUMB/BR/2003/IM5062	+++	SD	2	AC				
IUMB/BR/2003/IM5060	++++	SS	2	AC				
IUMB/BR/2003/IM5061	++	SS	2	AC				
IUMB/BR/2002/IM5068	+++	SR	3	SC				
IUMB/BR/2003/IM5069	+++	SR	3	SC				
IUMB/BR/2003/IM5070	++	SR	2	SC				
IUMB/BR/2003/IM5071	++	SR	2	SC				
IUMB/BR/2003/IM5072	++	SR	2	SC				
b) Tarumã-mirim								
IUMB/BR/2003/IM5073	+	SR	3	CO				
IUMB/BR/2003/IM5074	+	SD	3	CO				
IUMB/BR/2003/IM5075	++	SD	2	CO				

1: Código da amostra: I= insecta; UMB= *Lutzomyia umbratilis*/ BR= país de origem (Brasil) / Ano de isolamento/código original utilizado pelo INPA;

2: Quantidade de flagelados observados no exame: em torno de : 1 a 5 (+); 6 a 20 (++); 21 a 40 (+++) e mais de 41 (++++);

3: Sangue recente (SR); sangue em decomposição (SD); ausência de sangue (SS);

4: Ovários em desenvolvimento (1), ovos pequenos (2), ovos grandes (3);

5: AC: amostra criopreservada em Nitrogênio líquido; CO: amostra contaminada; SC: sem crescimento em cultivo.

6: TM= tubos de Malpighi; IM= intestino médio; IP= intestino posterior; GS= glândulas salivares.

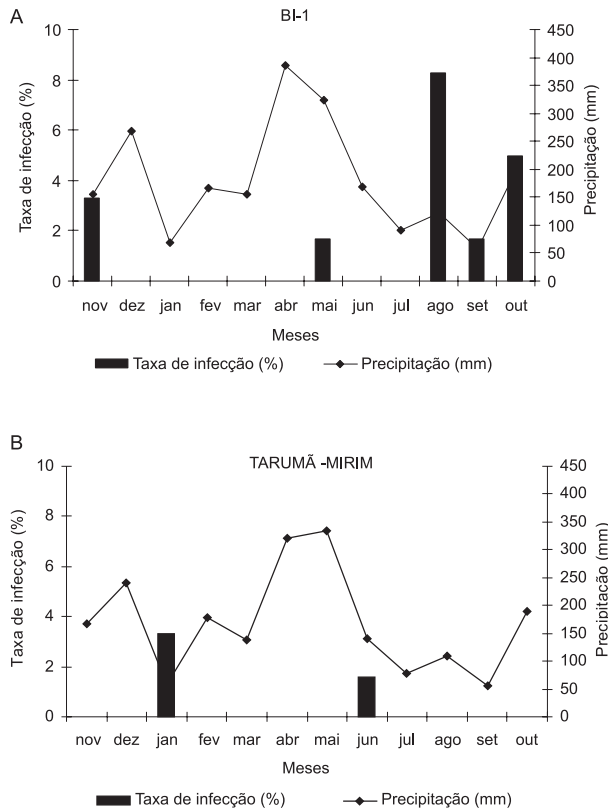


Figura 2 - Distribuição média mensal da precipitação e taxa de infecção natural por tripanosomatídeos em *Lutzomyia umbratilis* no período de novembro de 2002 a outubro de 2003 na (a) Base BI-1 e (b) assentamento Tarumã-Mirim, Manaus, Amazonas, Brasil.

a períodos de menor (janeiro, julho a setembro) e maior precipitação média mensal (abril e maio).

No momento as amostras isoladas estão sendo caracterizadas por isoenzimas (Figueira, 2005) para a identificação das espécies de parasitos isolados.

A *Lu. umbratilis* e *L. (V) guyanensis* são os principais responsáveis pela infecção humana de LTA ao norte do Rio Amazonas (Lainson *et al.*, 1976, 1981; Arias & Freitas, 1977b, 1978, 1982). Em áreas endêmicas de LTA o índice de infecção natural geralmente é baixo, em torno de 0 a 3,0%, o que contrasta com a incidência alta da doença nestas regiões (Arias *et al.*, 1985; Hoch *et al.*, 1986; Miranda, 1998; Miranda *et al.*, 2002). Taxas de infecção de 0,42% em Tarumã-Mirim e 1,66% na Base BI-1 foram obtidas neste estudo.

Das 15 amostras com flagelados das duas áreas, em menos de 50% (7/15) cresceram em meio de cultivo bifásico NNN, algumas destas devido à contaminação. Como é sabido, infecções concomitantes do trato digestivo dos flebotomíneos por bactérias e fungos prejudicam o desenvolvimento dos flagelados nos cultivos (Schlein *et al.*, 1985), principalmente

se a carga parasitária é baixa. Segundo Oliveira *et al.* (2000), bactérias têm sido identificadas no trato digestivo de várias espécies de insetos, e em algumas espécies, elas podem interferir no desenvolvimento de parasitos de importância médica transmitidos por insetos. Os flebotomíneos em condições naturais são capazes de controlar um número limitado de bactérias, pois seu mecanismo de defesa é ineficiente contra infecções maciças. Esse mecanismo, não só é responsável por proteger esses vetores contra infecções no intestino, como também é um fator essencial para susceptibilidade de flebotomíneos em albergar cepas de *Leishmania* (Schlein *et al.*, 1985; Oliveira *et al.*, 2000). Dando-se relevância também ao fato de que alguns flagelados são de difícil isolamento e/ou manutenção em cultivo, para alguns autores, um flebotomíneo é considerado pouco suscetível às leishmanias quando apresenta baixo índice de infecção, principalmente após a digestão do sangue que é quando realmente ocorre a colonização do parasita no tubo digestivo. No entanto, em alguns casos, espécies altamente suscetíveis podem ser infectadas mesmo quando poucas amastigotas são ingeridas (Shortt, 1945; Strangways-Dixon & Lainson, 1966).

Das fêmeas onde foram observadas elevadas cargas parasitárias (++++), o trato digestivo encontrava-se sem sangue, o que nos leva a deduzir que os parasitos já teriam passado pelas barreiras biológicas impostas pelo inseto, conseguindo colonizar o trato digestivo, sendo considerado portanto, um vetor potencial (Pimenta *et al.*, 1994; Killick-Kendrick, 1987, 1990, 1999). Em uma das fêmeas foram visualizados parasitos nas glândulas salivares e no intestino posterior. A presença de parasitos nas glândulas salivares de uma das fêmeas vem confirmar a relevância deste achado quanto ao mecanismo de transmissão de *Leishmania* (Freitas *et al.*, 2002). Barata *et al.* (2004), demonstraram que os flagelados de *Leishmania* podem penetrar tanto nas glândulas salivares dos flebotomos como nas peças bucais.

Em relação à sazonalidade da infecção natural das fêmeas de *Lu. umbratilis* na área da BI1, uma taxa de infecção de 8,3% (5/60) foi observada no mês de agosto de 2003, assim como de 5,0% (3/60) no mês outubro de 2003 (Figura 2a) que coincidiram com os períodos de menores precipitações.

Os resultados do assentamento Tarumã-Mirim, em relação à variação mensal da taxa de infecção e o índice de precipitação (Figura 2b) são muito incipientes, verificando-se que nesta localidade a taxa de infecção de *Lu. umbratilis* foi muito baixa quando comparada a BI-1 (Tabela 1).

Lainson *et al.* (1986), citam que em área endêmica de "pian-bois" (variedade de leishmaniose cutânea proveniente da Guiana Francesa), ao norte do Rio Amazonas, *Lu. umbratilis* encontra-se em grande número na estação chuvosa e dificilmente é encontrado na estação seca. No entanto Gomes (2003), examinando a variação mensal de

Lu. umbratilis na área da BI1, no período de março de 2002 a fevereiro de 2003, demonstrou uma distribuição irregular durante o período estudado, verificando que algumas vezes o aumento na densidade populacional de *Lu. umbratilis* ocorria geralmente no período que antecedia ou sucedia as chuvas. A taxa de infecção natural na área da BI1 sugere que o método tradicional de dissecação nem sempre demonstra a realidade do que está ocorrendo na natureza. Muitas vezes a população de insetos infectados observada se encontra reduzida ou a infecção é tão baixa que impossibilita de ser notada a infecção durante as dissecações. É evidente que o número de indivíduos examinados também influencia este resultado. Este fato pode ser também observado na área do Tarumã-Mirim, no qual apresentou aparentemente taxa de infecção natural mais reduzida do que na área BI1. O Tarumã-Mirim tem como característica ser um ambiente de maior alteração e circulação antrópica, presença de caçadores na mata, apesar de ainda manter uma vegetação de mata primária. As variações existentes entre as taxas de infecção natural de flebotomíneos nos ambientes estudados, sugere que onde uma maior (Tarumã-Mirim) e menor (BI1) alteração antrópica foi observada, possa estar diretamente relacionada a disponibilidade de alimento e fonte de infecção para as fêmeas, assim como, outros fatores podem estar influenciando seja na densidade populacional da espécie, seja na oportunidade de infecção. Entretanto, deve-se levar em consideração a necessidade de estudos que melhor esclareçam os diversos fatores que possam estar relacionados as variações nas taxas de infecção por tripanosomatídeos nestas áreas.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- Alecrim, W.D. 2001. Doenças Tropicais e o Desenvolvimento da Amazônia. *Ver. Pat. Trop.* 30(2): 143-152.
- Andrade Filho, J.D.; Valente, M.B.; Andrade, W.A.; Brazil, R.P.; Falcão, A.L. 2001. Flebotomíneos do estado de Tocantins, Brasil (Diptera: Psychodidae). *Rev. Soc. Soc. Bras. Méd. Trop.*, 34(4):323-329.
- Araújo Filho, N.A. 1981. Leishmaniose Tegumentar Americana e o desmatamento da Amazônia. *Acta Amazonica*, 11(1): 187-189.
- Arias, J. R.; Freitas, R.A. 1977b. Flebotomos da Amazônia Central do Brasil. I. Resultados obtidos das capturas feitas com isca humana e equina. *Acta Amazonica*, 7(4): 507-527.
- Arias, J.R.; Freitas, R.A. 1978. Sobre os vetores da Leishmaniose cutânea na Amazônia Central do Brasil. II. Incidência de flagelados em flebotomos silváticos. *Acta Amazonica*, 8: 387-396.
- Arias, J.R.; Freitas, R.A. 1982. The known geographical distribution of sand flies in the State of Acre, Brazil (Diptera: Psychodidae). *Acta Amazonica*, 12(2): 401-408.
- Arias, J.R.; Miles, M.A.; Naiff, R.D.; Póvoa, M.M.; Freitas, R.A.; Biancardi, C.B.; Castellon, E.G. 1985. Flagellate infection of Brazilian sandflies (Diptera: Psychodidae): Isolation *in vitro* and biochemical identification of *Endotrypanum* and *Leishmania*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 34: 1098-1108.
- Azulay, R.D.; Salgado, U. 1966. Surto epidêmico de Leishmaniose Tegumentar observado em paraquedistas do exército na Amazônia. *Med. Cut. Ibero Lat.-america*. 4: 347-52.
- Balbino, V.Q.; Marcondes, C.B.; Alexander, B.; Luna, L.K.S.; Lucena, M.M.M.; Mendes, A.C.S.; Andrade, P.P. 2001. First report of *Lutzomyia (Nyssomyia) umbratilis* Ward & Fraiha, 1977 outside of Amazonian Region, in Recife, State of Pernambuco, Brazil (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 96(3): 315-317.
- Barata, R.A.; França-Silva, J.C.; Fortes-Dias, C.L.; Costa, R.T.; Silva, J.C.; Vieira, E.P.; Prata, A.; Michalsky, E.M.; Dias, E.S. 2004. Phlebotomine sand flies in Porteirinha, na endemic area of American visceral leishmaniasis in the State of Minas Gerais, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 99: 481-487.
- Bejaro, E.E.; Uribe, S.; Rojas W.; Vélez, I.D. 2002. Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) associated with the appearance of urban Leishmaniasis in the city of Sincelejo, Colômbia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 97(5): 645-647.
- Biancardi, C.B. 1981. *Aspecto da epidemiologia da leishmaniose cutânea na Rodovia BR. 364. Território Federal de Rondônia*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia /Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 90p p.
- Biancardi, C.B.; Castellón, E.G. 2000. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no estado do Mato Grosso, município de Chapada dos Guimarães, Brasil. *Acta Amazonica*, 30(1): 115-128.
- Cabanillas, M.R.S.; Castellón, E.G. 1999. Distribution of sandflies (Diptera: Psychodidae) on tree-trunks in a non-flooded area of the Ducke Forest Reserve, Manaus, AM, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 94(3): 289-296.
- Corn, J.L.; Comer, J.A.; Erickson, G.A.; Nettles, V.F. 1990. Isolation of vesicular stomatitis virus New Jersey serotype from phlebotomine sandflies in Georgia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 42: 476-482.
- Deane, L.M. 1956. Leishmaniose Visceral no Brasil. Serviço Nacional de Educação Sanitária. Rio de Janeiro.
- Desjeux, P. 1991. Information on the epidemiology and control of the leishmaniasis by country or territory. WHO/LEISH/91.30. Geneva: CTD/TRY, WHO.
- Figueira, L.P. 2005. *Caracterização molecular de isolados humanos de Leishmania (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) dos municípios de Rio Preto da Eva e Manaus, Amazonas, Brasil*. Dissertação de Mestrado, Mestrado Multidisciplinar em Patologia Tropical/ Fundação Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 72pp.
- Freitas, R.A.; Barrett, T.V. 2002. Descriptions of *Lutzomyia georgii* n. sp. and a synopsis of the series *infraspinoza* (Diptera: Psychodidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 97(2): 239-245.
- Galati, E.; Nunes, V.L.B.; Rego-Jr. F. A.; Oshiro, E. T.; Chang, M.R. 1997. Estudo de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Ver. Saúde Pública*, 31: 378-390.

- Gomes, L.H.M. 2003. *Variação mensal e infecção em Lutzomyia umbratilis Ward & Fraiha 1977, Lutzomyia anduzei Rozeboom 1942, Lutzomyia flaviscutellata Mangabeira 1942 e Lutzomyia olmeca nociva Young & Arias 1982 (Diptera: Psychodidae) por tripanosomatídeos (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) em áreas de treinamento militar na Amazônia*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia /Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 101pp.
- Grimaldi Jr., G.; Tesh, R.B.; MacMahon-Pratt, D. 1989. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the New World. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 41:687-725.
- Hendricks, L.D.; Wood, D.E.; Hadjuk, M.E. 1978. Haemoflagellates: commercially available liquid media for rapid cultivation. *Parasitol.*, 76: 309-316.
- Hoch, A.; Ryan, L.; Vexenat, J.A.; Rosa, A.C.O.C.; Barreto, A.C. 1986. Isolation of *Leishmania braziliensis braziliensis* and other trypanosomatids from Phlebotomine in a mucocutaneous leishmaniasis endemic area, Bahia, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 81(Suppl.): 62.
- Instituto Nacional de colonização e Reforma Agrária-INCRA. 2000. Anteprojeto de assentamento Tarumã-Mirim. Superintendência Estadual do Amazonas-SR (15) AM/ nº 687/86.
- Killick-Kendrick, R.; Killick-Kendrick, M. 1987. The laboratory colonization of *Phlebotomus ariasi* (Diptera: Psychodidae). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 52: 354-356.
- Killick-Kendrick, R. 1990. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: A review. *Med. Vet. Ent.*, 4: 1-24.
- Killick-Kendrick, R. 1999. The Biology and Control of Phlebotomine Sand Flies. *Clin. Dermat.*, 17: 279-289.
- Lainson, R.; Shaw, J.J.; Ward, R.D.; Fraiha, H. 1973. Leishmaniasis in Brazil: IX. Considerations on the *Leishmania braziliensis* complex: Importance of sandflies of the genus *Psychodopygus* (Mangabeira) in the transmission of *L. braziliensis braziliensis* in north Brazil. *Trans. Roy. Soc. Trop. M. Hyg.*, 67: 184-196.
- Lainson, R.; Ward, R.D.; Shaw, J.J. 1976. Cutaneous leishmaniasis in north Brazil: *Lutzomyia anduzei* as a major vector. *Trans. Roy. Soc. Trop. M. Hyg.*, 70: 171-172.
- Lainson, R.; Shaw, J.J. 1978. Epidemiology and ecology of leishmaniasis in Latin-america. *Nature*. 273: 595-600.
- Lainson, R.; Shaw, J.J.; Ready, P.D.; Miles, M.A.; Povoas, M.M. 1981. Leishmaniasis in Brazil XVI. Isolation and identification of *Leishmania* species from sand flies, wild mammal and man in north Pará state with particular reference to *Leishmania braziliensis guyanensis*, causative agent of "pianbois". *Trans. Roy. Soc. Trop. M. Hyg.*, 75: 530-536.
- Lemos, J.C.; Lima, S. C.; Costa, M. B.; Magalhães, M. J. 2001. Leishmaniose Tegumentar Americana: Fauna flebotomínica em áreas de transmissão no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. *Caminhos de Geografia*, 2(3): 57-73.
- Mattos, M.S.; Caiza, A.; Fernandes, O.; Gonçalves, A.J.S.; Pirmez, C.; Souza, C.F.S.; Oliveira-Neto, M. P. 1998. American Cutaneous Leishmaniasis associated with HIV Infection: Report of four cases. *J. Eur. Acad. Der Ven.* 10: 215-218.
- Miranda, J.C. 1998. Combinação de captura dirigida e PCR na detecção de flebotomíneos naturalmente infectados por leishmanias. Dissertação de Mestrado do Curso de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular/Fundação Oswaldo Cruz - Rio de Janeiro. 75pp.
- Miranda, J.C.; Reis, E.; Schriefer, A.; Gonçalves, M.; Reis, M.G.; Carvalho, L.; Fernandes, O.; Barral-Netto, M.; Barral, A. 2002. Frequency of infection of *Lutzomyia* phlebotomines with *Leishmania braziliensis* in a Brazilian endemic area as assessed by pinpoint capture and polymerase chain reaction. *Mem Inst. Oswaldo Cruz*, 97(2): 185-8.
- Marcondes, C.B. 2001. *Entomologia Médica e Veterinária*. Ed. Atheneu, São Paulo. 432pp.
- Nicolle, G.L. 1908. Culture du parasite du Bouton d'Orient. *C.R. Acad. Sci.*, 146: 842-843.
- Novy, F.G., MacNeal, W.J. 1904. On the cultivation of *Trypanosoma brucei*. *J. Infect. Dis.*, 1: 1-30.
- Oliveira, S.M.P.; Morais, B.G.; Gonçalves, C.A.; Giordano-Dias, C.M.; d'Almeida, J.M.; Asensi, M.D.; Mello, R.P.; Brazil, R.P. 2000. Prevalência da microbiota no trato digestivo de fêmeas de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae) provenientes do campo. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 33(3): 319:322.
- Paes, M.G. 1991. *Estudo de quatro espécies de Lutzomyia França, 1924 (Diptera: Psychodidae), em área endêmica de Leishmaniose Tegumentar Americana na periferia de Manaus (Amazonas-Brasil)*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 128pp.
- Pereira, G.F.M.; Fonseca, H.H.R. 1994. Leishmaniose Tegumentar Americana: epidemiologia e controle. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 27(supl.): 45-50.
- Pessoa, S.B.; Martins, A.V. 1977. *Parasitologia médica*. 10ª ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 986 pp.
- Pimenta, P.F.P.; Saraiva, E.M.B.; Rowton, E.; Modi, G.B.; Garraway, L.A.; Belderley, S.M.; Turco, S.J.; Sacks, D.L. 1994. Evidence that the vectorial competence of phlebotomine sand flies for different species of *Leishmania* is controlled by structural polymorphisms in the surface lipophosphoglycan. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 91: 9155-9159.
- Rodas, L.A.C.; Poletto, D.W. 2000-2001. Leishmaniose Visceral Americana. Superintendência de Controle de Endemias-SUCEN, Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretária de Estado de Saúde de São Paulo. <http://www.sucem.sp.gov.br/doencas/index.htm>. Acesso em 31/01/2007.
- Schlein, Y.; Polacheck, I.; Yuval, B. 1985. Mycoses, bacterial infections and antibacterial activity in sandflies (Psychodidae) and their possible role in the transmission of leishmaniasis. *Parasitology*, 90: 67-66.
- Sherlock, I.A.; Guitton, H. 1969. Observações sobre o calazar em Jacobina, Bahia III. Alguns dados sobre o *Phlebotomus longipalpis*, o principal transmissor. *Rev. Bras. Malariol D. Trop.*, 21: 541-548.

- Shortt, H.E. 1945. Recent research on kala-azar in Índia. *Trans. Roy. Soc. Trop. M. Hyg.*, 39: 13-41.
- Silveira, F.T.; Souza, A.A.A.; Lainson, R.; Shaw, J.J.; Braga, R.R.; Ishikawa, E.A.Y. 1991. Cutaneous leishmaniasis in the Amazon Region: natural infection of the sandfly *Lutzomyia ubiquitousalis* (Psychodidae: Phlebotominae) by *Leishmania (Viannia) lainsoni* in Pará State, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 86: 127-130.
- Strangways-Dixon, J.; Lainson, R. 1966. The epidemiology of dermal leishmaniasis in British Honduras. Part III. The transmission of *Leishmania mexicana* to man by *Phlebotomus pessoanyis*, with observations on the development of the parasite in different species of *Phlebotomus*. *Trans. Roy. Soc. Trop. M. Hyg.* 60: 192-207.
- Talhari, S.; Arias, J. A.; Cunha, M. G. S.; Naiff, R. D.; Naiff, M. E.; Freitas, R. A.; Barrett, T. 1988. Leishmaniose no Estado do Amazonas-Aspectos epidemiológicos, clínicos e terapêuticos. *An. Bras. Derm.*, 63(6): 433-438.
- World Health Organization (WHO), 2000. Control of the Leishmaniasis. Technical Report series nº 793. World Health Organization, Geneva, 158pp.
- Young, D.G.; Duncan, M.A., 1994. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Mem. Am. Entomol. Inst.*, nº 54, 881pp.

Recebido em 03/05/2006

Aceito em 06/09/2007