



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO (UFERSA)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE, TECNOLOGIA E
SOCIEDADE

SUZANE DA PAZ DE OLIVEIRA

**MANEJO AMBIENTAL PARA O CONTROLE VETORIAL DA
LEISHMANIOSE VISCERAL EM ÁREAS ENDÊMICAS DO MUNICÍPIO DE
MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE**

MOSSORÓ/RN

2021

SUZANE DA PAZ DE OLIVEIRA

**MANEJO AMBIENTAL PARA O CONTROLE VETORIAL DA
LEISHMANIOSE VISCERAL EM ÁREAS ENDÊMICAS DO MUNICÍPIO DE
MOSSORÓ RIO GRANDE DO NORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semiárido – UFERSA, Campus de Mossoró, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ambiente, Tecnologia e Sociedade.

Orientadora: Profa. Dra. Sthenia Santos Albano Amora - UFERSA.

Coorientador: Wesley Adson da Costa Coelho - FACENE.

MOSSORÓ/RN

2021

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)
Setor de Informação e Referência (SIR)

048m Oliveira, Suzane da Paz de .
MANEJO AMBIENTAL PARA O CONTROLE VETORIAL DA
LEISHMANIOSE VISCERAL EM ÁREAS ENDÊMICAS DO
MUNICÍPIO DE MOSSORÓ RIO GRANDE DO NORTE / Suzane
da Paz de Oliveira. - 2020.
51 f. : il.

Orientador: Sthenia Santos Albano Amora .
Coorientador: Wesley Adson da Costa Coelho.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Ambiente, Tecnologia e Sociedade, 2020.

1. fatores ambientais. 2. calazar. 3.
vigilância entomológica. I. Amora, Sthenia Santos
Albano, orient. II. Coelho, Wesley Adson da
Costa, co-orient. III. Título.

Bibliotecário-Documentalista
Nome do profissional, Bib. Me. (CRB-15/10.000)

SUZANE DA PAZ DE OLIVEIRA

**MANEJO AMBIENTAL PARA O CONTROLE VETORIAL DA LEISHMANIOSE
VISCERAL EM ÁREAS ENDÊMICAS DO MUNICÍPIO DE MOSSORÓ RIO
GRANDE DO NORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semiárido – UFRSA, Campus de Mossoró, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ambiente, Tecnologia e Sociedade.

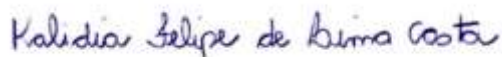
Linha de Pesquisa: Tecnologias Sustentáveis e Recursos Naturais do Semi-Árido.

Defendida em: 30 / 11 / 2020.

BANCA EXAMINADORA



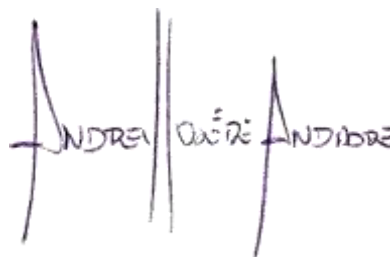
Sthenia dos Santos Albano Amora
Examinador Interno, Prof. Dra. (UFERSA)
Presidente




Kalidia Felipe de Lima Costa
Examinador Externo, Profa. Dra. (UERN)
Membro Examinador



Fabiano Borges Figueiredo
Examinador Externo, Prof. Dr.
(ICC/FIOCRUZ)
Membro Examinador



Andrey José de Andrade
Examinador Externo, Prof. Dr. (UFPR)
Membro Examinador



Wesley Adson da Costa Coelho
Examinador Externo, Prof. Dr. (FACENE)
Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

Agradeço acima de tudo a Deus que sempre esteve ao meu lado.

À minha família a qual tudo devo e tudo dedico, em especial meu esposo Diego Veloso Borges Cardoso, obrigada por tudo.

A professora Sthenia dos Santos Albano Amora, que acreditou no meu potencial para conduzir a sua pesquisa.

À minha aluna Lívia Natany Sousa Morais, por me auxiliar em minha pesquisa e ser sempre tão solícita e empenhada.

Agradeço a Larissa Leykman da Costa Nogueira, por ser minha companheira de viagem, saiba que você se tornou uma grande amiga.

Agradeço a minha amiga Jamile Rodrigues Cosme de Holanda por estar sempre presente, nos momentos bons e ruins e por ser minha revisora de normas, risos!

Aos professores Fabiano Borges Figueiredo e Andrey José de Andrade por terem aceitado participar e me auxiliar nesta pesquisa, e por terem sido tão solícitos e gentis todas as vezes que necessitei.

MANEJO AMBIENTAL PARA O CONTROLE VETORIAL DA LEISHMANIOSE
VISCERAL EM ÁREAS ENDÊMICAS DO MUNICÍPIO DE MOSSORÓ RIO GRANDE
DO NORTE

RESUMO

A Leishmaniose Visceral (LV) é uma zoonose de importância em saúde pública, cuja transmissão ocorre por meio da picada de flebotomíneos fêmeas, sendo a espécie *Lutzomyia longipalpis* o principal vetor da LV nas Américas. Conhecer os fatores de risco e as atividades de manejo ambiental são medidas que irão diminuir a frequência do vetor nas áreas de risco. Dessa forma, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar a interferência do manejo ambiental na transmissão vetorial de LV em áreas endêmicas. Duas áreas foram selecionadas para a avaliação do efeito do manejo ambiental, uma onde houve o manejo ambiental denominada área intervenção e a área que não houve atividade de manejo ambiental, área controle. Em cada área foram utilizadas armadilhas luminosas para coleta dos flebotomíneos. A detecção da infecção de flebotomíneos por *Leishmania infantum* foi realizada por qPCR utilizando o kit comercial DNeasy® Blood & Tissue (Qiagen®, Hilden, Alemanha) para a extração do DNA. Os dados foram analisados pelo programa estatístico Statistical Package for the Social Sciences e o teste de correlação de Spearman para identificar a correlação entre as variáveis. Foram capturados 768 flebotomíneos, e em seguida foi realizada a identificação morfológica dos flebotomíneos, as espécies encontradas foram *L. longipalpis* (751), *Lutzomyia evandroi* (11), *Lutzomyia trinidadensis* (03) e *Lutzomyia sallesi* (03). Houve correlação positiva ($p < 0,05$) entre as variáveis temperatura interna e externa e umidade interna e externa, e correlação positiva entre número total de flebotomíneos no peridomicílio e o número de machos e fêmeas no intra e peridomicílio. O resultado da qPCR demonstrou que a área controle teve maior número de pools (16) e destes, sete foram positivos para infecção por *L. infantum*. Já a área intervenção teve três pools e todos foram positivos. Os resultados da aplicação do manejo ambiental demonstram que a espécie *L. longipalpis* continua predominante na região, e que o manejo ambiental diminui a frequência de captura de flebotomíneos, contribuindo para o controle da população de flebotomíneos. Ainda que no primeiro ano de atividades o manejo ambiental não contribua significativamente para a redução da taxa de infecção de flebotomíneos por *L. infantum*, a longo prazo, a redução da população desses vetores em número, conseqüentemente levará a uma redução da sua taxa de infecção.

PALAVRAS-CHAVE: fatores ambientais, calazar, vigilância entomológica

ENVIRONMENTAL MANAGEMENT FOR THE VECTORIAL CONTROL OF
VISCERAL LEISHMANIASIS IN ENDEMIC AREAS OF THE MUNICIPALITY OF
MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE

ABSTRACT

Visceral Leishmaniasis (VL) is a zoonosis of importance in public health, whose transmission occurs through the bite of female sandflies, with *Lutzomyia longipalpis* being the main vector of VL in the Americas. Knowing the risk factors and environmental management activities are measures that will decrease the frequency of the vector in the risk areas. Thus, the objective of this research was to evaluate the interference of environmental management in the vectorial transmission of VL in endemic areas. Two areas were selected to assess the effect of environmental management, one where there was environmental management called the intervention area and the area where there was no environmental management activity, the control area. In each area, light traps were used to collect sandflies. The detection of sandfly infection by *Leishmania infantum* was performed by qPCR using the commercial kit DNeasy® Blood & Tissue (Qiagen®, Hilden, Germany) for DNA extraction. The data were analyzed using the Statistical Package for the Social Sciences statistical program and Spearman's correlation test to identify the correlation between variables. 768 sandflies were captured, and then the morphological identification of the sandflies was performed, the species found were *L. longipalpis* (751), *Lutzomyia evandroi* (11), *Lutzomyia trinidadensis* (03) and *Lutzomyia sallesi* (03). There was a positive correlation ($p < 0.05$) between the variables indoor and outdoor temperature and indoor and outdoor humidity, and a positive correlation between the total number of sandflies in the peridomicile and the number of males and females in the intra and peridomicile. The qPCR result showed that the control area had a greater number of pools (16) and of these, seven were positive for infection by *L. infantum*. The intervention area had three pools and all were positive. The results of the application of environmental management demonstrate that the species *L. longipalpis* remains predominant in the region, and that environmental management reduces the frequency of capture of sandflies, contributing to the control of the population of sandflies. Even though in the first year of activities, environmental management does not significantly contribute to the reduction of the infection rate of sandflies by *L. infantum*, in the long run, the reduction of the population of these vectors in number, consequently will lead to a reduction in their rate of infection.

KEY WORDS: environmental factors, calazar, entomological surveillance

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Flebotomíneo da espécie <i>Lutzomyia longipalpis</i>	13
Figura 2 - Imagem ilustrativa das fases do ciclo biológico do vetor <i>Lutzomyia longipalpis</i>	13
Figura 3 - Mapa demonstrando os bairros que apresentam maior incidência e prevalência de casos leishmaniose visceral no município de Mossoró-RN selecionados para o presente estudo.....	26
Figura 4 - Processo de identificação das espécies dos flebotomíneos capturados nas áreas estudadas em Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil, endêmicas para leishmaniose visceral, no período de fevereiro/2019 a janeiro/2020.....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Grupos e fatores de riscos relacionados com a presença do flebotomíneo nas áreas estudadas em Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil, endêmicas para leishmaniose visceral, no período de fevereiro/2019 a janeiro/2020.....	17
Tabela 2. Tabela valores de correlação (r) entre as variáveis ambientais entre as áreas estudadas em Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil, endêmicas para leishmaniose visceral, no período de fevereiro/2019 a janeiro/2020.....	31
Tabela 3. Valores de média \pm desvio padrão da quantidade de flebotomíneos encontrados no peridomicílio das áreas do estudo em Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil, endêmicas para leishmaniose visceral, no período de fevereiro/2019 a janeiro/2020.....	32
Tabela 4. Valores de média \pm desvio padrão da quantidade de flebotomíneos encontrados em intradomicílio entre as áreas estudadas, Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil, endêmicas para leishmaniose visceral, no período de fevereiro/2019 a janeiro/2020.....	32

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 LEISHMANIOSE VISCERAL.....	13
2.2 VIGILÂNCIA E CONTROLE DA DOENÇA.....	15
2.3 MANEJO AMBIENTAL.....	16
2.3.1 Fatores de risco.....	17
2.3.2 Presença de animais/reservatórios.....	18
2.3.4 Atitudes preventivas.....	21
2.3.5 Caracterização socioeconômica.....	22
3 OBJETIVOS	25
3.1 OBJETIVO GERAL.....	25
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
4 MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 ÁREA DA PESQUISA.....	26
4.2 INTERVENÇÃO E MANEJO AMBIENTAL.....	26
4.3 INVESTIGAÇÃO ENTOMOLÓGICA.....	27
4.4 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DNA DOS FLEBOTOMÍNEOS PARA A REAÇÃO DE CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL (QPCR).....	28
4.5 QUESTÕES ÉTICAS.....	29
4.6 ANÁLISE DOS DADOS.....	29
5 RESULTADOS	29
6 DISCUSSÃO	33
CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
APÊNDICES	45
ANEXOS	50

1 INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral (LV) é uma zoonose de importância em saúde pública, popularmente conhecida como calazar. A transmissão do patógeno causador da doença ocorre através da picada de flebotomíneos fêmeas que ingeriram o sangue de algum mamífero infectado, sendo a espécie *Lutzomyia longipalpis* uma das poucas que se adaptou facilmente ao ambiente urbano (FIGUEIREDO et al., 2017). O ciclo do parasito ocorre quando a fêmea da espécie se infecta ao realizar a hematofagia e, posteriormente, pica outros animais e humanos infectando com a doença (PINTO; VARGAS, 2017; SILVA et al., 2017; PAIXÃO-MARQUES et al., 2019).

A LV é um problema de saúde pública, com alta taxa de incidência, prevalência, mortalidade, e distribuição generalizada em todo território brasileiro (ZUBEN; DONALÍSIO, 2016; RODRIGUES et al., 2017). Relacionando-se diretamente com as dificuldades em controlar eliminar os reservatórios, diversidade epidemiológica das regiões acometidas, altos custos financeiros para sustentação das ações de controle, alta capacidade de adaptação do vetor no peridomicílio e medidas insuficientes para o seu controle (OLIVEIRA; MORAIS; MACHADO-COELHO, 2008). Associado também com a falta de informação e de atitudes preventivas no Brasil, desta forma dificultando o estabelecimento das estratégias de controle (BRASIL, 2014).

Nos últimos vinte anos, a LV tem reincidido no mundo de forma preocupante (AGUIAR; RODRIGUES, 2017). Esse número crescente de casos está associado com o processo desordenado de ocupação urbana juntamente à migração, assentamentos urbanos não planejados e saneamento precário levando às condições precárias de vida e destruição ambiental, promovendo condições favoráveis para a reprodução do vetor (ABRANTES et al., 2018).

Buscando controlar controlar e prevenir a LV, foi criado pelo Ministério da Saúde, o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVC-LV) com objetivo de reduzir as taxas de letalidade e grau de morbidade humana por meio do diagnóstico e tratamento precoce dos casos, como também diminuir os riscos de transmissão mediante o controle da população de reservatório doméstico, realizando investigações entomológicas levantando informações de caráter quantitativo e qualitativo sobre os flebotomíneos transmissores da LV, bem como, promovendo manejo ambiental (BRASIL, 2014).

O protocolo de manejo ambiental consiste em medidas profiláticas para o combate da doença, e visa reduzir o contato homem-vetor e, assim, novos casos da doença em questão

(CARMO et al., 2016). As medidas ambientais como limpeza, remoção de resíduos orgânicos, poda de árvores e redução de fontes de umidade são medidas que impedem o desenvolvimento das formas imaturas do vetor, uma vez que estas necessitam de matéria orgânica, temperatura e umidade.

A compreensão dos fatores ambientais que influenciam na positividade da doença, o levantamento entomológico e a taxa de infecção dos flebotomíneos podem auxiliar de forma mais eficaz a elaboração de medidas de prevenção e controle da LV, visto que, a identificação dessas características auxilia as ações de manejo ambiental, interrompendo assim o ciclo de transmissão da doença. (ALMEIDA et al., 2014; ABRANTES et al., 2018).

Neste contexto, acredita-se que há um impacto direto na curva populacional de vetores na área em que o manejo ambiental é aplicado, o que demonstra que essa pode ser uma ferramenta positiva para populações expostas ao risco de adquirir LV (ROMERO,2016). Dessa forma, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar o efeito do manejo ambiental na transmissão vetorial de LV em áreas endêmicas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 LEISHMANIOSE VISCERAL

A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose de bastante importância na saúde pública (FIGUEIREDO et al., 2017). De acordo com Silva et al. (2008), as doenças causadas por protozoários do gênero *Leishmania* foram consideradas como uma das doenças tropicais mais importantes pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Sua transmissão ocorre através da picada de flebotomíneos fêmeas que ingeriram o sangue de algum mamífero infectado, sendo a espécie *Lutzomyia longipalpis* (Figura 1) uma das poucas que se adaptou facilmente ao ambiente urbano (FIGUEIREDO et al., 2017). tendo o cão como principal reservatório doméstico e peridoméstico da LV (ABRANTES et al., 2018; SILVA et al., 2016).

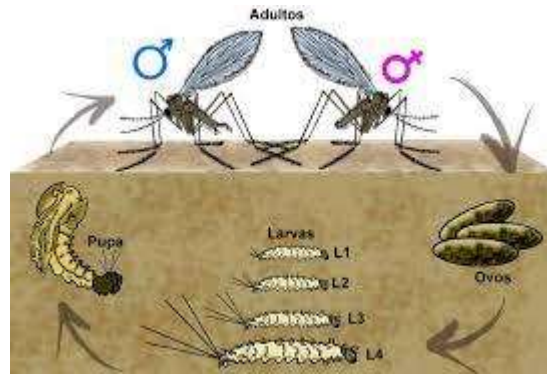
Figura 1 – Flebotomíneo da espécie *Lutzomyia longipalpis*.



Fonte: agencia.fiocruz.br

O ciclo biológico do vetor se processa no ambiente terrestre e compreende quatro fases de desenvolvimento: ovo, larva, pupa e adultos. O período determinado para a mudança entre estágios varia de acordo com a temperatura ambiente, sendo este período maior em temperaturas mais baixas. Ambientes mais úmidos também aceleram o desenvolvimento das fases imaturas, sendo que o ciclo de vida de ovo ao inseto adulto decorre num período de aproximadamente 30 a 40 dias (Figura 2) (WHO, 2010).

Figura 2-Imagem ilustrativa das fases do ciclo biológico de insetos flebotomíneos.



Fonte: agencia.fiocruz.br

Anteriormente conhecida como uma doença de características rurais, a LV vem se tornando endêmica e epidêmica em grandes cidades brasileiras desde a década de 1980. O processo desordenado de ocupação urbana associado à migração, assentamentos urbanos não planejados e saneamento precário leva às condições precárias de vida e destruição ambiental, promovendo condições favoráveis para a reprodução do flebotômio (ABRANTES et al., 2018)

A LV apresenta uma ampla distribuição global e a maioria dos casos ocorrem na África, Ásia e América (PAHO, 2019) a doença é endêmica em mais de 98 países em quatro continentes, e cerca de 700.000 a 1 milhão de novos casos e 20.000 a 30.000 mortes ocorrem anualmente em todo o mundo (MOHEBALI; MORADI-ASL; RASSI 2018). Nas Américas, a LV é endêmica em 12 países e no período de 2001-2017 foram registrados 59.769 casos novos, resultando em uma média de 3.516 casos por ano. Cerca de 96% (57.582) dos casos foram reportados pelo Brasil onde a incidência da doença tem aumentado ao longo das últimas décadas (FERREIRA et al., 2018), entretanto, países Sul-Americanos como Argentina, Colômbia, Paraguai e Venezuela estão entre aqueles com maiores registros de casos (PAHO, 2019).

No Brasil, a região Nordeste apresenta alta taxa de prevalência da doença, segundo dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) em 2017 foram notificados 1.824 casos comprovados de LV, os estados do Maranhão, Ceará, Bahia e Piauí são os que registram maior número de casos em 2017. Embora em menor proporção o estado do Rio Grande do Norte notificou 58 casos da doença, desses 6 vieram a óbito. E se tratando de Mossoró 104 cães foram diagnosticados e 09 casos humanos no ano de 2017 (BRASIL, 2019).

Devido a expansão territorial da doença, e com aumento de municípios afetados, assim como do número de casos e óbitos (CARDIM et al., 2016), faz da LV um importante problema à saúde pública. Para tentar conter esses agravos, o Ministério da Saúde publicou em 2006 o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV), adotando medidas que

incluíam o vetor da doença, seus reservatórios e a população humana (ZUBEN; DONALÍSIO, 2016).

2.2 VIGILÂNCIA E CONTROLE DA DOENÇA

Como forma de contribuir com o controle e combate a LV no Brasil, foi criado o PCLV com o intuito de contribuir com as secretarias municipais de saúde na organização e execução das atividades de prevenção e controle de LV (BRASIL, 2014; ZUBEN; DONALÍSIO, 2016), sendo a vigilância epidemiológica um dos seus componentes.

De acordo com o PCLV, os objetivos adotados pela vigilância epidemiológica têm como base a redução das taxas de letalidade e grau de morbidade da doença, através do diagnóstico e tratamento precoce dos casos, assim como a diminuição dos riscos de transmissão a partir do controle da população de reservatórios e do agente transmissor (BARBOSA, 2016).

As ações são direcionadas ao hospedeiro, a partir de ações de educação e saúde e tratamento dos casos humanos, ao vetor, por investigação entomológica sobre os flebotômíneos transmissores da LV, borrifação de inseticidas no intra e peridomicílio e manejo ambiental; e ao reservatório canino, por meio do controle da população canina e da eutanásia de cães soropositivos (COSTA et al., 2018). Dessa forma, são trabalhados três vieses principais: destruição do inseto vetor, tratamento dos casos humanos e eliminação dos reservatórios (COSTA et al., 2014; SILVA et al., 2017).

O controle do vetor está focado na fase adulta do inseto, as medidas de controle de flebotômíneos adultos incluem o uso de inseticidas para borrifação residual (em moradias e abrigos de animais) mosquiteiros tratados com inseticida, uso de coleiras repelentes em cães, aplicação de repelentes, telagem de portas e janelas, e não se expor nos horários de atividade do vetor (crepúsculo e noite) em ambientes onde este habitualmente pode ser encontrado (BRASIL, 2014).

Depois de anos de investimentos, os objetivos do programa têm sido insuficientes para impedir a propagação da doença, devido à insustentabilidade da realização das atividades preconizadas de forma continuada e integral, principalmente em áreas com alta densidade populacional (SALOMÓN et al., 2015). As dificuldades no controle vetorial vão além da adaptabilidade do vetor a ambientes urbanos e diferentes temperaturas. Isso contribui para a sua dispersão a áreas livres de doença. A complexidade do controle químico e suas diversas dificuldades operacionais, como a elevada recusa à aplicação do inseticida no intra e peridomicílio, contribuindo para manutenção do ciclo do vetor (COSTA et al., 2018).

A falta de recursos humanos e materiais é um entrave para o sucesso do programa em decorrência de déficits desses recursos tanto em aspecto qualitativo como quantitativo. Desse modo, o serviço de vigilância epidemiológica é prejudicado interferindo na implantação de abordagens eficazes de controle e prevenção da doença (ZUBEN; DONALÍSIO, 2016; BARBOSA, 2016). O alto custo das ações do PVCLV, que nem sempre considera a realidade local, leva à descontinuidade dessas atividades, em especial durante as epidemias de dengue, visto que o controle da LV, em geral, utiliza os mesmos recursos humanos e financeiros que são administrados para o controle de outros agravos vigentes no município (COSTA et al., 2018).

Na maioria das áreas onde a LV é endêmica, a informação restringe-se, muitas vezes, às pessoas que já tiveram a doença, casos na família ou vizinhos. Ainda em áreas com alto grau de endemicidade, a desinformação sobre aspectos relacionados à transmissão, ao tratamento e à prevenção é alta, dificultando o estabelecimento das estratégias de controle, por isso a ação da Estratégia de Saúde da Família (ESF) é de grande valor, visto que a equipe será responsável por levar informação à população. Porque a educação em saúde intermediada por profissionais da área, atinge a vida cotidiana das pessoas, uma vez que, a compreensão dos condicionantes do processo saúde-doença oferece subsídios para a adoção de novos hábitos e condutas de saúde (BRITO et al, 2015). Por conseguinte, tudo isso contribui para a implementação do manejo ambiental. E este, por sua vez, tem impacto direto na redução da população de insetos vetores, objetivando quebrar o ciclo de transmissão da doença. (MARTINS et al., 2018).

2.3 MANEJO AMBIENTAL

O Protocolo de Manejo Ambiental (PMA) é um instrumento norteador das atividades a serem desenvolvidas é um documento técnico mediante o qual, com fundamento nos objetivos gerais de controle do flebotomíneo *L. longipalpis*, estabelece o seu planejamento. O manejo ambiental é uma ferramenta que visa reduzir o contato homem-vetor e, assim, novos casos da doença. Mudanças ambientais como limpeza, remoção de resíduos orgânicos, poda de árvores e redução de fontes de umidade são medidas que impedem o desenvolvimento das formas imaturas do vetor, uma vez que estas necessitam de matéria orgânica, temperatura e umidade (BRASIL, 2014; ZUBEM; DONALÍSIO, 2016)

Para desenvolver as atividades de manejo ambiental recomendadas pelo Ministério da Saúde se faz necessário ter o conhecimento prévio da doença em questão, como também saber quais os fatores de risco presentes irão favorecer a presença dos flebotomíneos, uma vez que

eles determinam a continuidade do ciclo de transmissão do vetor (ZUBEN; DONALÍSIO, 2016; BARBOSA et al., 2016).

2.3.1 Fatores de risco

Os fatores de risco mais citados na literatura científica associados à presença do vetor da LV incluem presença de animais domésticos, anexos domiciliares, ausência de atitudes preventivas e características socioeconômicas precárias (Tabela 1). Destaca-se ainda a falta de conhecimento da população sobre o vetor da LV que influencia negativamente nas atitudes da população, sendo que a educação em saúde pode ser um caminho promissor para reverter o cenário de endemicidade da LV. As práticas de educação em saúde podem oferecer à população um processo de empoderamento e articulação do saber necessário à construção de uma prática de saúde nova e duradoura.

Tabela 1 – Grupos e fatores de riscos relacionados com a presença do flebotomíneo nas áreas estudadas em Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil, endêmicas para leishmaniose visceral, no período de fevereiro/2019 a janeiro/2020.

Grupos	Fatores de Risco
Presença de Animais / Reservatórios	Cão Galinheiro Animais Silvestres Gatos Roedores
Anexos Domiciliares	Ausência de saneamento básico Acúmulo de lixo no peridomínio Presença de matéria orgânica Presença de área verde próximo à residência Proximidade da residência à cursos d'água
Atitudes Preventivas	Falta de conhecimento da população Coleta irregular de lixo Dormir ao ar livre (homem) Cão com acesso a rua Ausência de mosquiteiro
Caracterização Socioeconômica	Classe econômica menos favorecida Ocupação desordenada Sexo masculino Idade

2.3.2 Presença de animais/reservatórios

A presença de animais é um fator de risco conhecido para a presença do vetor da LV, bem como o desencadeamento de novos casos da doença, pois alguns funcionam como reservatório da doença e outros como fonte de alimento, as galinhas por exemplo, embora não sejam um reservatório para *Leishmanias* possibilitam um aumento do número dos flebótomos porque o sangue delas funciona como fonte de alimento (GUIMARÃES-SILVA et al., 2017) para esses insetos e, além disso, a matéria orgânica de chiqueiros e galinheiros é um terreno propício para que flebótomos depositem seus ovos (FERREIRA et al., 2018).

Animais domésticos, principalmente cães, promovem a atração e concentração do vetor (DANTAS-TORRES, 2009; LOPES et al., 2016; SILVA et al., 2017). Devido à importância dos cães domésticos no ciclo de transmissão da LV, os fatores de risco para a ocorrência da infecção canina têm sido amplamente analisados (AMORA et al., 2006; ROSALES; YANG, 2006).

A presença do cão como animal de estimação vai desempenhar um papel importante na manutenção da infecção (ABRANTES et al., 2018) além disso, os cães de curto pelo representou a maior percentagem de animais soropositivos, sugerindo que o pelo curto determina maior oportunidade por uma maior propensão a contrair a infecção (BARATA et al., 2013). Cães fêmeas são expostas a maior risco de infecção, isso pode estar associado às variações hormonais e imunológicas que ocorrem nas fêmeas nos períodos de estro e gestação, tornando-as mais susceptíveis à infecção (SILVA et al., 2017). Em contrapartida em um estudo de Silva et al. (2016) a variável sexo foi apontada como fator de risco para a LVC, cães machos apresentaram mais chances de ter a doença.

O fator de risco mais citados entre os autores da pesquisa é a presença de galinheiro nas residências, segundo Borges et al. (2009) a presença de galinhas mostrou uma maior frequência de atração dos flebotomíneos, mostrando a necessidade de maior atenção quanto a estas espécies no controle da doença.

Embora as galinhas não sejam não um reservatório confirmado de *Leishmania*, elas são fontes comuns de sangue para *L. longipalpis*, e merecem destaque pela sua maior frequência nos domicílios, bem como pelo seu potencial de gerar um ambiente favorável à procriação de flebótomos devido aos resíduos orgânicos produzidos por estes animais (AMORIM et al., 2015; SANTOS et al., 2017). Haja vista que, a fase larvária se desenvolve em ambientes terrestres úmidos, foi observado que seres humanos que residem em casas com criatórios de galinhas

possuem quatro vezes mais chance de se infectar do que as pessoas que vivem na mesma área, mas não possuíam as aves em seus quintais (MARCONDES, ROSSI, 2013).

A presença de animais domésticos e silvestres é associada com maior frequência de infecção, tal fato sugere que a presença desses animais pode favorecer a manutenção do ciclo de transmissão da infecção canina, pela atração de flebotomíneos (OLIVEIRA; MORAIS; MACHADO-COELHO, 2008). Residências próximas da mata são mais propícias a presença de animais silvestres nas imediações dos domicílios, tanto de gambás, como de raposas (BARBOSA et al., 2010), e dependendo da região, lobos (MOHEBALI; MORADI-ASL; RASSI, 2018), aumenta significativamente a incidência do vetor naquele local, visto que favorece sua reprodução (GAMA et al., 1998).

No Brasil, dos canídeos silvestres, somente a raposa (*Cerdocyon thous*) é considerada reservatório natural da LV, mas, diversas espécies já foram relatadas com infecção, como lobo guará, raposa-do-campo e cachorro-vinagre, além de outros mamíferos (SOUZA et al., 2010).

Embora poucos abordados na literatura os gatos são infectados pelo protozoário causador da LV (FERNANDES et al., 2016), pesquisas em áreas endêmicas demonstraram que essa espécie animal é capaz de se infectar e desenvolver sintomas da doença, mas, acredita-se que os felinos infectados possuam certo grau de resistência natural à enfermidade (MARCONDES; ROSSI, 2013). Mostrando que a resposta imune à infecção por *Leishmania* em gatos difere da observada em cães (COSTA et al., 2010). Em um estudo de Silva et al. (2012) observou-se que habitações com gatos tinham 58% maior chance de infecção do cão em comparação com habitações sem gatos. Dessa forma gatos podem desempenhar um papel importante na epidemiologia da leishmaniose, atuando como uma possível fonte de infecção (COELHO et al., 2010).

Com relação a presença de roedores Barboza et al., (2009) relataram a frequente ocorrência de roedores, e que isto estaria associado às condições de moradias precárias e com as pessoas com baixa renda. Aumentando o risco de ocorrência de LV em seres humanos (MARCONDES; ROSSI, 2013).

Em um estudo de Missawa, Lorosa e Dias (2008) analisaram o tipo de alimentação das fêmeas de *Lutzomyia longipalpis* através do conteúdo intestinal, o resultado foi que 21% dos vetores se alimentavam de sangue de roedores, corroborando com a pesquisa de Barata et al. (2005) que encontraram resultado parecido 15,8%. A busca por fontes de alimentação é uma resposta comportamental que afeta a reprodução e a densidade populacional das espécies de flebotomíneos (MISSAWA; LOROSA; DIAS, 2008) O caráter oportunista parece predominar

na alimentação desses insetos que podem sugar ampla variedade de vertebrados (BARATA et al., 2005).

2.3.3 Anexos domiciliares

Sobre os fatores de risco para a ocorrência e prevalência de flebotomíneos transmissores de LV estão relacionados com o intra e peridomicílios das residências como os anexos domiciliares, Borges et al. (2014) e Moreno et al. (2002), em suas pesquisas observaram que a deficiência de saneamento básico, lixo exposto na rua ou em locais inadequados estão ligados diretamente ao aparecimento de flebotomíneos. Indo ao encontro com Telles et al. (2015) que constatou em sua pesquisa que a ausência de saneamento básico é um fator desencadeante para o aparecimento do inseto uma vez que o esgoto a céu aberto sirva de substrato para a proliferação do vetor.

A presença de matéria orgânica merece destaque pois é frequentemente citada como uma característica que influencia o aparecimento do vetor (CAMARGO-NEVES et al., 2001; MONTEIRO et al., 2005; ALMEIDA et al., 2009; BARATA et al., 2013 SILVA et al., 2017) favorecendo a manutenção da doença, pois os vetores realizam oviposição e desenvolvimento larval em áreas úmidas, com sombreamento e ricas em matéria orgânica (MARCONDES; ROSSI, 2013). Por isso, é de grande importância que tanto a residência quanto seus anexos sejam mantidos limpos, a fim de evitar a proliferação dos flebotomíneos (MENEZES et al., 2016).

A presença de área verde próximo à residência seja mato primário nos arredores da moradia no âmbito rural e mato secundário no âmbito periurbano, é também uma situação descrita como risco para infestar-se com leishmaniose, as duas situações acercam o homem das áreas onde se encontram os vetores naturalmente infestados (SOSA-ESTANI et al., 2001; MISSAWA; LIMA, 2006). Os cães que vivem próximos a matas apresentam maior prevalência de infecção por LV, como também morar próximo da floresta parece aumentar a probabilidade de soropositividade em humanos (CABRERA et al., 2003; ALMEIDA et al., 2009). Localidades situadas perto de matas atraem animais silvestres em consequência terá uma maior tendência para abundância de vetores e reservatórios, contribuindo para a manutenção e disseminação da doença (BARBOSA et al., 2010).

Com relação a presença de curso d'água próximo a residência (SOSA-ESTANI et al., 2001; MENEZES et al., 2016) relatam que esse fator pode influenciar no mecanismo de transmissão da LV devido a umidade desse ambiente, no estudo de Amorim et al. (2015) evidenciou-se que o lixo das residências onde não há coleta eram despejados no rio próximo às residências, tornando-se um ambiente propício para o aparecimento do vetor, pois a presença

de lixo no rio vai fornecer o tipo de matéria orgânica que é uma fonte de alimento para as moscas da areia imaturos e adultos, corroborando com a pesquisa de Aguiar e Rodrigues (2017).

2.3.4 Atitudes preventivas

Em geral, a população demonstra pouco conhecimento sobre os flebotomíneos, seu ciclo de vida e suas formas de controle e prevenção. Como evidenciado em Costa et al. (2014) os quais observaram que a falta de conhecimento da população influenciou para o crescente números de casos de LVC na área de estudo. Já Borges et al. (2008) evidenciaram que os entrevistados tinham baixo índice de instrução, daí a precariedade de informações sobre a leishmaniose visceral, visto que, essa educação em saúde, é praticada atualmente em diversos momentos durante a formação estudantil.

A falta de conhecimento sobre flebotomíneos faz com que a população mantenha ambientes favoráveis à propagação da LV, deixando a família e os animais expostos à picada do vetor (AMORIM et al., 2015). Caso essas informações fossem efetivamente divulgadas, principalmente as classes menos favorecidas, os indivíduos locais saberiam prevenir a infecção e a procurar por sintomas de LV (DEBROY et al., 2017), assim, diminuindo a incidência de doenças.

Curiosamente, no estudo realizado por Almeida et al. (2012), 69,3% da amostra havia declarado ter conhecimento sobre a doença, mas destes, 78,9% havia cães soropositivos. Assim a falta de conhecimento favorece a continuidade da doença. Portanto, tornando-se imprescindível a implementação de medidas de educação em saúde nas áreas endêmicas (MARCONDES; ROSSI, 2013).

A destinação incorreta do lixo domiciliar está associada a uma maior chance de ocorrência da doença, visto que, oferecem um excelente habitat para o vetor, ou seja, são potenciais criadouros, os quais favorecem o aumento da densidade populacional deste no desenvolvimento de formas imaturas e à manutenção do vetor no ambiente, e conseqüentemente, uma maior incidência da LV tanto no homem quanto nos animais presentes (PONTE et al., 2011; ALMEIDA et al., 2012; MARCONDE; ROSSI, 2013; MENEZES et al., 2016).

Bem como o hábito de dormir ao ar livre, observado por Bantie et al. (2014), pois coloca o indivíduo em um maior contato com o vetor. Eles também indicaram que dormir na cama, dormir fora do quarto e a ausência de mosquiteiros deixam o ser humano predisposto a picada do vetor da LV, devido a acumulação de calor, favorecendo esse contato do vetor com os

humanos, e conseqüentemente a prevalência da LV humana (SOSA-ESTANI et al., 2001; BRASIL, 2009; BSTRAT et al., 2018).

Tal fator também é relevante para os cães, visto que, em pesquisas realizadas já houve a comprovação que os animais que dormem ao ar livre têm maior risco de ser picado pelo flebótomo, do que aqueles que dormem em ambientes fechados, devido a densidade vetorial no peridomicílio (BARBOZA et al., 2009; COURA-VITAL et al., 2011; BANTIE et al., 2014; BSTRAT et al., 2018).

Ressalvando que um dos fatores de risco mais importantes da LV é o contato com o vetor, daí permitir que esses animais tenham livre acesso à rua ou ao redor da residência, é expor eles ao desenvolvimento da LVC devido ao maior contato com os ecótopos do vetor, facilitando sua contaminação (AMORA et al., 2006; ALMEIDA et al., 2012; FERNANDES et al., 2016). Embora, Borges et al. (2009), defendam que a presença do cão no intra ou peridomicílio irá atrair o vetor para este, dessa forma aumentando a probabilidade de os seres humanos adquirirem a LV.

2.3.5 Caracterização socioeconômica

A incidência da infecção da LV humana está associada ao nível socioeconômico na qual a população está enquadrada (BARATA et al., 2013). Apesar de muitos municípios estarem com índices de desenvolvimento maior, a doença está ocorrendo principalmente em áreas carentes desses municípios (MARCONDE; ROSSI, 2013). O que pode ser explicado pela mudança do perfil da LV em áreas urbanas, desencadeado através do êxodo rural de famílias empobrecidas.

Na pesquisa que Nascimento et al. (2005) desenvolveram, evidenciou-se que a população estudada apresentou rendimento predominantemente menor que um salário-mínimo vigente. Conforme Coura-Vital et al. (2011) demonstraram, que a renda familiar é uma variável do nível socioeconômico e provavelmente está associada à estrutura dos domicílios mais vulneráveis, ou seja, a LV é mais frequente em áreas de precário nível socioeconômico.

O que corrobora com Ponte et al. (2011) que um número substancial de indivíduos acometidos pela LV tem baixa renda, o que demonstram condições de pobreza da população estudada. Assim como o evidenciado por Bantie et al. (2014), que aqueles com uma baixa renda familiar tem 3 vezes mais chances de infectar-se com a LV do que aqueles que ganham acima da média, provavelmente pela associação desta com a condições precárias de moradia, más condições de higiene ambiental, baixo status nutricional e aumento do risco de infecções, incluindo HIV/AIDS.

Quanto à ocupação desordenada tem-se que estar havendo uma rápida e desorganizada urbanização nas periferias das cidades com habitações inadequadas, ausência de estrutura sanitária, presença de potenciais criadouros de flebotomíneos em quintais (MARCONDES; ROSSI, 2013).

Tal fato vem sendo desencadeado pelos desmatamentos e queimadas decorrentes do crescimento de locais com aglomerações urbanas superlotadas e favelas, recentemente ocupadas e habitadas, proporcionando um excelente habitat do vetor da LV e um aumento da sua densidade nessas residências (NASCIMENTO et al., 2005).

Essa taxa de migração dar-se-á migração de indivíduos das áreas rurais para as urbanas, ocasionando esse crescimento desordenado com condições habitacionais precárias, normalmente com indivíduos com de baixo nível socioeconômico, proporcionando o aparecimento de novos focos da doença, e na mudança do perfil epidemiológico da LV (MONTEIRO et al., 2005; PONTE et al., 2011; BARATA et al., 2013).

No que diz respeito à prevalência da LV em seres humanos tem-se que ambos os sexos podem ser infectados, no entanto os homens têm duas vezes mais chances de desenvolver a doença que as mulheres; tanto as taxas de soroconversão quanto a conversão de testes cutâneos foram maiores em homens que em mulheres (NASCIMENTO et al., 1996; PINEDA et al., 1998; BORGES et al., 2008).

Como também evidenciado no estudo realizado por Cavalcante e Vale (2014), sobre a distribuição de casos de LV no Ceará de 2007 a 2011, onde os casos de LV aumentam principalmente na população adulta masculina. E por Scandar et al. (2011), num estudo sobre a incidência da LV na região de São José do Rio Preto, a qual de 2008 à 2010 foram notificados 11 casos de LV, onde 81,8% eram do sexo masculino.

De acordo com Bantie et al. (2014), que também demonstrou uma associação significativa do gênero com a LV, levando ao entendimento de que o sexo masculino está mais exposto ao contato com o flebotomíneo devido suas atividades ao ar livre, ou o trânsito do trabalho para casa ou por dormirem ao ar livre, coincidindo esses horários com os de alimentação do flebótomo.

Nascimento et al. (1996), além da predominância da LV no sexo masculino, observou que os casos de LV ocorreram em indivíduos de 3 meses a 79 anos de idade. Destes casos, 58,04% eram menores de 0 a 4 anos, já na pesquisa realizada por Scandar et al. (2011), evidenciou-se mais incidência em crianças de 2 a 4 anos. Como também foi evidenciado por Barata et al. (2013), Ponte et al. (2011), Marconde e Rossi (2013) e Gontijo e Melo (2004), que

a LV clássica acomete pessoas de todas as idades, mas na maior parte das áreas endêmicas 80% dos casos registrados ocorrem em crianças com menos de 10 anos.

Conforme evidenciado por Borges et al. (2008), que estimou que menores de 10 anos o risco de contrair LV aumenta em 109,77 vezes ao serem comparadas com indivíduos acima desta idade. Contudo, Bantie et al. (2014) e Nascimento et al. (2005), evidenciaram maior prevalência da LV em indivíduos acima dos 5 anos de idade até os 15 anos.

Já Aguiar e Rodrigues (2017) evidenciaram que a maior incidência também se dava em indivíduos menores de 6 meses e acima de 65 anos, o que para ele estava relacionado ao quadro nutricional do cliente e às comorbidades já pré-existentes.

Tal fator da LV ser quantitativamente maior em crianças dar-se-à pela imunodepressão induzida pelos fatores genéticos e nutricionais, no entanto permanece desconhecida se a imunidade à LV adquirida com a idade é sempre adquirida como resultado de uma infecção (NASCIMENTO et al., 1996; NASCIMENTO et al., 2005; PONTE et al., 2011; CAVALCANTE; VALE, 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a interferência do manejo ambiental na transmissão vetorial de leishmaniose visceral em áreas endêmicas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Pesquisar indicadores entomológicos de *Lutzomyia longipalpis* nas áreas de coleta;
- Avaliar o efeito do manejo ambiental sobre a densidade populacional de flebotomíneos;
- Avaliar o efeito do manejo ambiental sobre a taxa de infecção de flebotomíneos por *L. infantum*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ÁREA DA PESQUISA

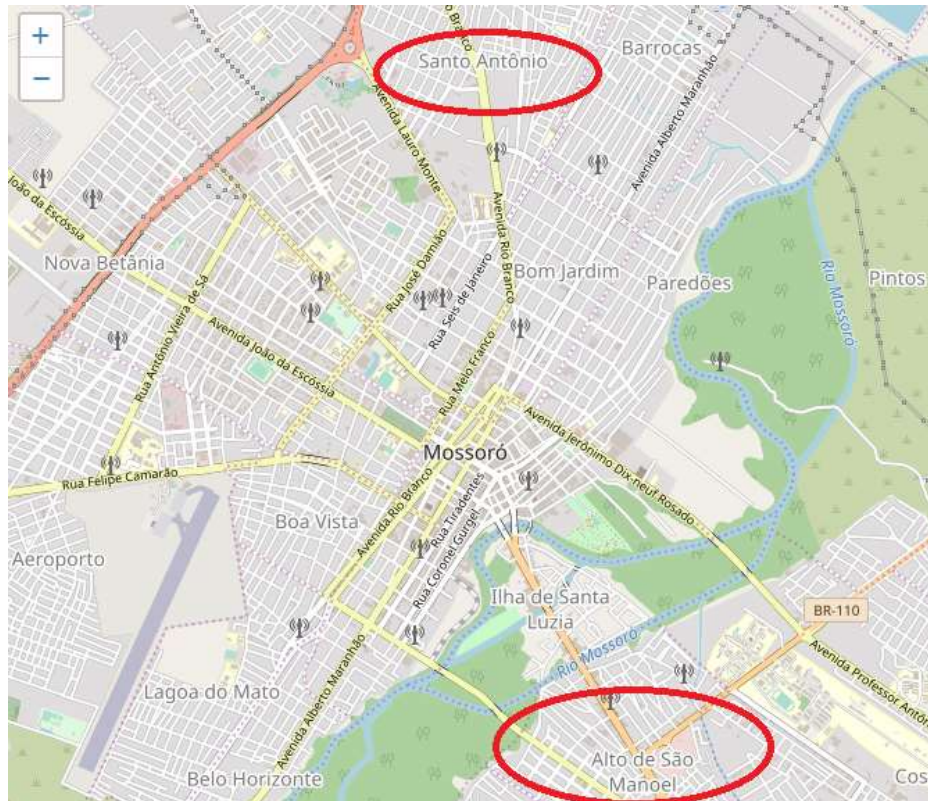
O estudo foi realizado no município de Mossoró, localizado na mesorregião do Oeste Potiguar, estado do Rio Grande do Norte, Brasil. O município apresenta uma área de aproximadamente 2.099,334 km² e está a 16m acima do nível do mar, tendo sua posição determinada pelas seguintes coordenadas geográficas: longitude 37° 20' 39" Oeste e latitude 05° 11' 15" Sul. O clima é quente e semiárido com baixa precipitação ao longo do ano (IBGE, 2019).

4.2 INTERVENÇÃO E MANEJO AMBIENTAL

Mossoró é considerada uma área endêmica para a LV (AMORA *et al.*, 2006), por isso foi selecionado dois bairros que apresentam uma maior incidência e prevalência de casos, além de características ambientais favoráveis a presença do vetor (Apêndice A), são eles o bairro Santo Antônio (S°11'03"S 37°20'47"W) e o grande Alto de São Manoel (S°5'12'46"S 37°19'59"W), sendo em média 4 km de distância entre eles. Como em ambos os bairros, há uma transmissão intensa para a LV de acordo com a Secretaria de Vigilância à Saúde do município, eles foram selecionados para a avaliação do efeito do manejo ambiental, o bairro Santo Antônio foi a área onde houve o manejo ambiental e chamamos de “Área Intervenção” (AI) e o bairro Alto de São Manoel a área que não houve atividade de manejo ambiental “Área Controle” (AC) (Figura 4).

As recomendações de manejo ambiental (Anexo A), incluem as providências a serem adotadas pelos moradores em relação ao peridomicílio, cuidados de higiene e saúde dos animais domésticos que sejam domiciliados nas suas respectivas residências.

Figura 3 – Mapa demonstrando os bairros que apresentam maior incidência e prevalência de casos de leishmaniose visceral no município de Mossoró-RN, selecionados para o presente estudo.



Fonte: <http://www.mapasruasestradas.com>

4.3 INVESTIGAÇÃO ENTOMOLÓGICA

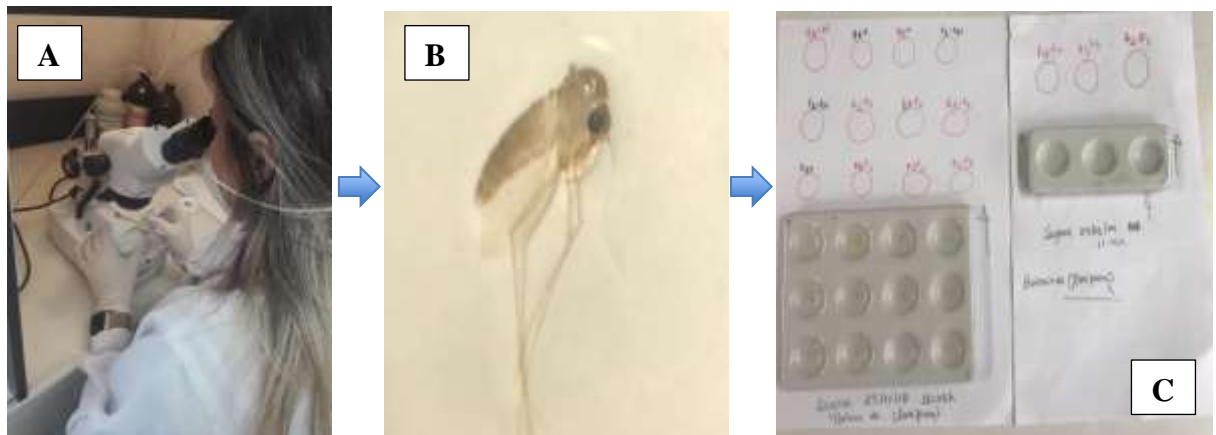
Para coleta dos flebotomíneos foram utilizadas 4 armadilhas luminosas tipo Center for Disease Control (CDC), que foram instaladas às 18h00min e retiradas às 06h00min no intradomicílio e peridomicílio das residências, com distância de 1,5m acima do solo e em ambientes com pouca iluminação. Sendo tal processo repetido durante três noites consecutivas durante 12 meses (BRASIL, 2006).

Após a retirada das armadilhas, os flebotomíneos foram colocados em recipientes resfriados e levados para a Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), onde foi feita uma triagem para a separação dos flebotomíneos dos demais insetos. Estes separados de acordo com o local e captura, mês de coleta, sexo e armazenados em tubos tipo eppendorf contendo álcool isopropílico.

Todos os flebotomíneos foram encaminhados para o Laboratório de Parasitologia Molecular/Parasitologia Ambiental da Universidade Federal do Paraná para identificação das espécies, segundo Galati (2003). Os insetos foram sexados com auxílio de um microscópio esperioscópico. Machos e fêmeas de *L. longipalpis* foram identificados por morfologia externa

e os demais espécimes foram submetidos ao processo de clarificação e montagem entre lâmina e lamínula (Figura 5).

Figura 4 – Processo de identificação das espécies dos flebotomíneos capturados nas áreas estudadas em Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil, endêmicas para leishmaniose visceral, no período de fevereiro/2019 a janeiro/2020.



Fonte: Autoria própria

4.4 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DNA DOS FLEBOTOMÍNEOS PARA A REAÇÃO DE CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL (QPCR)

Os flebotomíneos já triados e identificados foram encaminhados para o Laboratório de Biologia Celular do Instituto Carlos Chagas Fiocruz, Curitiba-PR, Brasil, onde foram separados em *pools* de 10 flebotomíneos para realização do processo de extração de DNA, que foi realizado de acordo com as recomendações do fabricante do kit comercial DNeasy[®] Blood & Tissue (Qiagen[®], Hilden, Alemanha) em plataforma semi automatizada de extração de ácidos nucleicos Qiacube (Qiagen[®]), seguindo as recomendações do fabricante. O DNA purificado foi identificado e estocado a -20°C.

O DNA foi submetido a uma reação de qPCR utilizando o sistema TaqMan[®] para amplificação das amostras na plataforma StepOne[™] (Applied Biosystems[®]). Cada amostra foi realizada em triplicata. Cada reação incluía 05 µL de amostras e 20 µL de mix contendo 12,5 µL de Universal Mastermix (Perkin-Elmer Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA), 1,5 µL dos primers LEISH-1 (5'-AACTTTTCTG-GTCCTCCGGGTAG-3') E LEISH-2 ((5'-ACCCCAGTTTCCCGCC-3') a 900 nM e 2,5 L da sonda a 200 nM, conforme descrito no protocolo de Francino *et al.* (2006). Os seguintes ciclos de temperatura foram usados para a amplificação e detecção de alelos: 50 °C por 2 minutos, 95 °C por 10 minutos, 40 ciclos de 95 °C por 15 segundos e 40 ciclos de 60 °C por 1 minuto. Em cada amplificação foram utilizados controles positivos (extraídos de cultura de *L. infantum* em fase estacionária) e negativos.

4.5 QUESTÕES ÉTICAS

Todo o transcurso da pesquisa foi desenvolvido respeitando os princípios éticos preconizados pelas Resoluções nº 466/12 e 510/16 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde. Sendo a pesquisa aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa, com o número CAAE 71827917.9.0000.5294. Os proprietários das residências que consentiram com a realização da pesquisa de flebotomíneos assinaram o TCLE (Apêndice B).

4.6 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram expressos em média \pm desvio padrão bem como mínimos, máximos através do programa estatístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versão 23.0, sendo expressos em valores de frequência simples e porcentagem. Para verificar a quantidade de *pools* positivos para *L. infantum* de *L. longipalpis* sempre quando necessário, diferenças estatísticas entre as proporções dos insetos encontrados foram obtidas através do teste binomial adotando-se uma proporção esperada de 0,5. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Por fim, a influência das variáveis ambientais no número flebotomíneos foram verificadas através do teste de correlação de Spearman, a força ou magnitude do relacionamento entre as variáveis foi classificada como fraca (coeficiente de correlação entre 0,1 a 0,3), moderada (entre 0,3 a 0,6) e forte (acima de 0,6). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos (SILVA *et al.*, 2014).

5 RESULTADOS

O levantamento entomológico ocorreu no período de fevereiro de 2019 a janeiro de 2020. A temperatura interna mínima foi de 20,5 °C e máxima de 35°C, e a temperatura externa mínima foi de 22 °C e a máxima de 34,6 °C. Umidade interna mínima de 45% já a máxima de 98%. Durante a realização dos inquéritos das áreas estudadas, foram capturados um total de 768 flebotomíneos, quanto às espécies encontradas foram *L. longipalpis* (751) a espécie mais abundante e presente nas áreas de coletas, *Lutzomyia. evandroi* (11) *Lutzomyia. trinidadensis* (03), e por último *Lutzomyia. sallesi* (03).

A investigação entomológica e sua relação com as características ambientais estão apresentadas na Tabela 2. Foi observada correlação significativa entre as variáveis temperatura interna e externa ($r=0,37$) e umidade interna e externa ($r=0,77$) ou seja, são diretamente

proporcionais, e houve também a correlação significant e entre número total de flebotomíneos no peridomicílio e o número de machos e fêmeas tanto no intra como peridomicílio ($p < 0,05$).

Tabela 2. Tabela valores de correlação (r) entre as variáveis ambientais entre as áreas estudadas em Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil, endêmicas para leishmaniose visceral, no período de fevereiro/2019 a janeiro/2020.

	Temp. interna	Tem. Externa	Umidade interna	Umidade externa	Nº total flebotomíneo no peridomicílio	Nº machos no peridomicílio	Nº fêmea no peridomicílio	Nº machos no intradomicílio	Nº fêmea intradomicílio
Temperatura Externa	0,37*	1,0							
Umidade interna	-0,19	-0,49**	1,0						
Umidade externa	-0,12	-0,50**	0,77**	1,0					
Nº total flebotomíneo no peridomicílio	-0,08	-0,26	0,23	0,129	1,0				
Nº machos no peridomicílio	-0,18	-0,16	0,19	0,07	0,95**	1,0			
Nº fêmea no peridomicílio	0,02	-0,22	0,24	0,15	0,89**	0,74**	1,0		
Nº machos no intradomicílio	0,30	-0,60	0,30	0,10	1,00**	0,97**	0,97**	1,0	
Nº fêmea no intradomicílio	-0,10	-0,70	0,50	0,20	0,90*	0,87	0,97**	0,90*	1,0
Nº total fleb no intradomicílio	0,13	0,06	0,06	-0,10	0,54**	0,51**	0,62**	1,00**	0,90*

* Significância estatística (p<0,05)** Significância estatística (p<0,01)

Considerando a captura de machos e fêmeas, a área controle se destaca, visto que, capturou bem mais que a área de intervenção ($p=0,001$). Quando se separou os flebotômíneos por sexo, percebeu-se que a área controle manteve uma média de captura superior a área intervenção para ambos os sexos ($p=0,001$), e em ambas as áreas houve uma maior captura de machos ($p=0,006$) (Tabela 03).

Tabela 3. Valores de média \pm desvio padrão da quantidade de flebotômíneos encontrados no peridomicílio das áreas do estudo em Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil, endêmicas para leishmaniose visceral, no período de fevereiro/2019 a janeiro/2020.

Variáveis	Área do estudo	Média \pm desvio padrão	p-valor
Machos e fêmeas	Área intervenção	5,30 \pm 2,89	0,001*
	Área controle	25,09 \pm 26,06	
Fêmeas	Área intervenção	2,46 \pm 1,39	0,001*
	Área controle	8,67 \pm 7,98	
Machos	Área intervenção	2,85 \pm 1,81	0,006*
	Área controle	16,48 \pm 18,89	

* Significância estatística ($p<0,05$ – Mann-Whitney).

A área controle obteve uma média de captura maior que a área de intervenção ($p=0,014$). Quando se separou os insetos por sexo a média de captura da área controle manteve-se superior a área intervenção na quantidade de machos e fêmeas ($p=0,022$), predominando também maior captura de machos ($p=0,035$) (Tabela 04).

Tabela 4. Valores de média \pm desvio padrão da quantidade de flebotômíneos encontrados em intradomicílio entre as áreas estudadas, Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil, endêmicas para leishmaniose visceral, no período de fevereiro/2019 a janeiro/2020.

Variáveis	Áreas do estudo	Média \pm desvio padrão	p-valor
Machos e fêmeas	Área intervenção	3,75 \pm 1,70	0,014*
	Área controle	22,85 \pm 19,31	
Fêmeas	Área intervenção	1,75 \pm 0,95	0,022*
	Área controle	8,57 \pm 7,48	
Machos	Área intervenção	2,0 \pm 1,15	0,035*
	Área controle	14,29 \pm 12,21	

* Significância estatística ($p<0,05$ – Mann-Whitney).

A qPCR demonstrou que a área controle teve maior número de pools (16) e destes sete foram positivos para infecção por *L. infantum*. Já a área intervenção teve três pools e todos foram positivos. Embora o maior número de pools positivos tenha sido na área controle, esse dado não foi relevante, pois não houve significância estatística entre as áreas e os números de pools positivos.

6 DISCUSSÃO

Com relação aos espécimes capturados neste estudo houve uma predominância de *L. longipalpis* em relação às demais espécies, semelhante ao estudo de Rocha *et al.* (2020), confirmando que esta continua sendo a espécie prevalente na região (AMORA *et al.*, 2006; AMORA *et al.*, 2010; AMORIM *et al.*, 2015). Isso, possivelmente, se dá ao alto nível de adaptação do vetor (CASTRO *et al.*, 2019) ao ambiente peridoméstico, influenciado principalmente pela presença de animais domésticos (CHAGAS *et al.*, 2016, SILVINO *et al.*, 2017). Vale ressaltar que a captura de *L. longipalpis* é predominante o ano inteiro, corroborando com o estudo de Silva *et al.*, (2017).

Após a análise das variáveis da Tabela 2 foi observado que a atividade vetorial foi favorecida pela alta temperatura, visto a atividade de *L. longipalpis* ser maior em altas temperaturas, como demonstrado por Monteiro *et al.* (2005). Além da temperatura, a umidade relativa do ar tem impacto importante no crescimento e desenvolvimento dos flebotomíneos, (GÓMEZ-BRAVO *et al.* (2017) uma vez que os vetores preferem ambientes úmidos (OLIVEIRA *et al.*, 2018; LI; ZHENG, 2019). No estudo de Oliveira *et al.* (2010) concluiu-se que a umidade relativa acima de 70% favorece o aumento populacional dos flebotomíneos, como evidenciado nesse estudo.

Com relação ao número total de flebotomíneos no peridomicílio houve uma relação diretamente proporcional ao número de machos e fêmeas ($p < 0,05$), corroborando com Bastos *et al.* (2016). A presença tanto de machos quanto de fêmeas está relacionada ao comportamento natural dos machos em acompanhar as fêmeas para assegurar a fecundação durante seus deslocamentos (DIAS *et al.*, 2007). Estes insetos também são atraídos pelas armadilhas de luz e o comportamento de agregação em ambientes onde as fêmeas estão em busca de alimentos (AMORIM *et al.*, 2015), favorecendo a formação de criadouros (TEODORO *et al.*, 2001).

Na Tabela 3 é possível notar que os maiores números de flebotomíneos capturados foram no peridomicílio, corroborando com o estudo de Chagas *et al.* (2016). Na pesquisa de Oliveira *et al.* (2010) e Mota *et al.* (2019) os flebotomíneos também são mais abundantes em

áreas peridomésticas. Com relação a presença de fêmeas no intradomicílio na Tabela 4 é bem menor se comparando aos números de machos, segundo Amorim *et al.* (2015) o intradomicílio se caracteriza como um ambiente mais restrito e limpo, devido a isso a captura no ambiente intradomiciliar é menor, indo de encontro com Dias *et al.* (2007) que em sua pesquisa a proporção de insetos capturados no peridomicílio foi de 91,7% enquanto no intradomicílio foi de 8,3%.

A maior captura de flebotomíneos nesse estudo foi na área controle, isso possivelmente ocorreu pela presença de animais domésticos como cães, gatos e a presença do chiqueiro de galinhas (CHAGAS *et al.*, 2016) esses animais funcionam como atrativos para os vetores uma vez que serão fontes de alimentos tanto para machos como para as fêmeas do vetor, segundo Ghatee *et al.* (2019) cães presentes em áreas endêmicas contribuí para manutenção do parasita.

Os animais domésticos, promovem a atração e concentração do vetor por caracterizar-se como principal reservatório em ambiente urbano. A presença do cão como animal de estimação, por exemplo, desempenha um papel importante na manutenção da infecção principalmente os cães de pelo curto, o qual representa uma maior porcentagem de animais soropositivos, sugerindo que estes animais têm maior facilidade de serem picados por insetos (LOPES *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2017; ABRANTES *et al.*, 2018).

Uma característica marcante da área controle era a presença de chiqueiros de galinhas nas residências, e o acúmulo de matéria orgânica. A matéria orgânica acumulada em criadouros de animais como de chiqueiros e galinheiros é um terreno propício para que os flebotomíneos depositem seus ovos, aumentando em até quatro vezes o risco de infecção de pessoas que têm essas aves em casa (BORGES *et al.*, 2009; COSTA *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2017; FERREIRA *et al.*, 2018).

Embora as galinhas não sejam reservatório confirmado de *Leishmania*, elas são fontes comuns de sangue para *L. longipalpis* e merecem destaque pela sua maior frequência nos domicílios, bem como, pelo seu potencial de gerar um ambiente favorável à procriação de flebotomíneos devido aos resíduos orgânicos produzidos por estes animais (FERNANDÉZ *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2012; COSTA *et al.*, 2013).

A alta taxa de infecção natural por *L. infantum* associada à densidade populacional expressiva de *L. longipalpis* indica condições favoráveis para a rápida disseminação de LV (LARA-SILVA *et al.*, 2014). Embora a área controle tenha apresentado uma maior captura de flebotomíneos, não foi possível comprovar se o manejo ambiental influenciou na positividade dos flebotomíneos por *L. infantum*, pois, o resultado da biologia molecular mostrou que houve positividade nas duas áreas de estudo ($p > 0,05$). Considerando que as áreas do estudo

independente do manejo ambiental aplicado eram endêmicas para LV, esse resultado corrobora com Brighente *et al.* (2018). Embora o manejo ambiental não tenha contribuído para a redução da taxa de infecção de flebotomíneos por *L. infantum* no presente estudo, a longo prazo, a redução da população desses vetores em número, o que levará a uma redução da sua taxa de infecção

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos demonstram que a espécie *L. longipalpis* continua predominante na região e que a área em que houve manejo ambiental teve diminuição da frequência de captura de flebotomíneos, evidenciando que as atividades de manejo ambiental contribuem para o controle da população de flebotomíneos. Ainda que no primeiro ano de atividades, o manejo ambiental não contribua significativamente para a redução da taxa de infecção de flebotomíneos por *L. infantum*, a longo prazo, a redução da população desses vetores em valor quantitativo levará a uma redução da sua taxa de infecção e, conseqüentemente, a redução da incidência da doença.

Dessa forma, a atividade de manejo ambiental se apresenta como uma ferramenta promissora para contribuir com o controle da LV em áreas endêmicas. Para tanto, será primordial o investimento na educação em saúde para que tal atividade seja continuada pela população, levando a uma diminuição efetiva dos ambientes propícios ao desenvolvimento do vetor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRANTES T. R. *et al.* Fatores ambientais associados à ocorrência de leishmaniose visceral canina em uma área de recente introdução da doença no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**. v. 34, n. 1, p. 1-12. 2018.
- AGUIAR, P. F.; RODRIGUES, R. K. Leishmaniose visceral no Brasil: artigo de revisão. **Unimontes Científica**. v. 19, n. 01, p.191-204. 2017.
- ALMEIDA, A.B.P.F. *et al.* Inquérito soropidemiológico de leishmaniose canina em áreas endêmicas de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.42, n.2, p.156-159, 2009.
- ALMEIDA, A.B.P.F. *et al.* Canine visceral leishmaniasis: seroprevalence and risk factors in Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.21, n.4, p.359-365, 2012.
- ALMEIDA, A.S.D., WERNECK, G.L., RESENDES, A.P.D.C. Classificação orientada a objeto de imagens de sensoriamento remoto em estudos epidemiológicos sobre leishmaniose visceral em área urbana. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, p. 1639-1653, 2014.
- AMÓRA, S. S. A. *et al.* Fatores relacionados com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Ciência Rural**. v.36, n.6, p. 1854-1859. 2006.
- AMÓRA, S. S. A. *et al.* Control of phlebotomine (Diptera: Psychodidae) leishmaniasis vectors. **Neotropical entomology**, v. 38, n. 3, p. 303-310, 2009.
- AMÓRA, S. S. A. *et al.* Monitoring of *Lutzomyia longipalpis* Lutz & Neiva, 1912 in an area of intense transmission of visceral leishmaniasis in Rio Grande do Norte, Northeast Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 1, p. 39-43, 2010.
- AMORIM, C. F. *et al.* Knowledge of the population about visceral leishmaniasis transmission in endemic areas near the banks of the Mossoró river in Northeastern Brazil. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. v. 12, n. 3, p. 3343-3357. 2015.
- BANTIE, K. *et al.* Factors associated with visceral leishmaniasis infection in North Gondar zone, Amhara region, North West Ethiopia, case control study. **Science Journal of Public Health**, v.2, n.6, p.560-568, 2014.
<https://doi.org/10.11648/j.sjph.20140206.20>
- BARBOSA, D.S. *et al.* Soroprevalência e variáveis epidemiológicas associadas à leishmaniose visceral canina em área endêmica no município de São Luís, Maranhão, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n.3, p.653-659, 2010.
<https://doi.org/10.5216/cab.v11i3.5933>
- BARBOSA, I.R. Leishmaniose Visceral humana no município de Natal-RN: análise clínico-epidemiológica e espacial. **Revista Ciência Plural**, v.2, n.1, p.89-101, 2016.

BARBOZA, D.C.P.M. *et al.* Inquérito epidemiológico da leishmaniose visceral canina em três distritos sanitários do município de Salvador, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, n.2, p.434-447, 2009.

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

BARATA, R.A. *et al.* Epidemiology of visceral leishmaniasis in a reemerging focus of intense transmission in Minas Gerais State, Brazil. **BioMed Research International**, v.2013, p.01-06, 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/405083>

BASTOS, T.S.A. *et al.* Identificação morfológica de flebotomíneos capturados em área urbana. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 3, p. 395-401, 2016.

BORGES, B.K.A. *et al.* Avaliação do nível de conhecimento e de atitudes preventivas da população sobre a leishmaniose visceral em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.24, n.4, p.777-784, 2008.

BORGES B.K.A. *et al.* Presença de animais associada ao risco de transmissão da leishmaniose visceral em humanos em Belo Horizonte, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 61, n. 5, p. 1035-1043, 2009.

BORGES, L.F.N.M. *et al.* Prevalência e distribuição espacial da leishmaniose visceral em cães do município de Juatuba, Minas Gerais, Brasil. **Ciencia Rural**, v.44, n.2, p.352-357, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 1. ed., 5. reimpr. – Brasília : Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL, Ministério da Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/leishmaniose-visceral>>. Acesso em: 07 de maio de 2019.

BRIGHENTE, K. B. S. *et al.* Molecular detection of *Leishmania (Leishmania) infantum* in phlebotomine sandflies from a visceral leishmaniasis endemic area in northwestern of São Paulo State, Brazil. **Acta Tropica**, [S.L.], v. 181, p. 1-5, maio 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.01.012>

BSTRAT, A. *et al.* Serological investigation of visceral *Leishmania* infection in human and its associated risk factors in Welkait District, Western Tigray, Ethiopia. **Parasite Epidemiology and Control**, v.3, p.13-20, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.parepi.2017.10.004>

CABRERA, M.A. *et al.* Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of risk factors. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.45, n.2, p.79-83, 2003.

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

CARMO, R. F. *et al.* Percepções da população e de profissionais de saúde sobre a leishmaniose visceral. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 21, p. 621-628, 2016.

CASTRO, J.C. *et al.* Molecular detection of *Leishmania* spp in *Lutzomyia longipalpis* in the city of Lavras, Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal Of Medical And Biological Research**, [S.L.], v. 52, n. 9, p. 01-04, 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/1414-431x20198224>.

CAVALCANTE, I.J.M; VALE, M.R. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral (calazar) no Ceará no período de 2007 a 2011. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.17, n.4, p.911-924, 2014. <https://doi.org/10.1590/1809-4503201400040010>

CHAGAS, A. P. *et al.* Aspectos ecológicos da fauna de flebotomíneos em focos de leishmaniose na Amazônia Oriental, Estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, [S.i.], v. 7, p. 123-132, dez. 2016. <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-62232016000500014>.

COELHO, W.N.D. *et al.* Occurrence of *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* in a domestic cat (*Felis catus*) in Andradina, São Paulo, Brazil: case report. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.19, n.4, p.256-258, 2010.

COSTA, T.A.C. *et al.* Ocorrência de leishmaniose em gatos de área endêmica para leishmaniose visceral. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.47, n3, p.213-217, 2010.

COSTA P.L. *et al.* Ecology of *Lutzomyia longipalpis* in an area of visceral leishmaniasis transmission in north-eastern Brazil. **Acta Tropica**, v. 126, n. 2 p. 99-102, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.01.011>

COSTA, K.F.L. *et al.* Awareness of visceral leishmaniasis and its relationship to canine infection in riverside endemic areas in Northeastern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.47, n.5, p.607-612, 2014. <https://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0167-2014>

COSTA, Danielle Nunes Carneiro Castro *et al.* Human visceral leishmaniasis and relationship with vector and canine control measures. **Revista de Saúde Pública**, [s.l.], v. 52, p.52-92, 14 nov. 2018. Universidade de Sao Paulo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBiUSP. <http://dx.doi.org/10.11606/s1518-8787.2018052000381>.

COURA-VITAL, W. *et al.* Prevalence and factors associated with *Leishmania Infantum* infection of dogs from an urban area of Brazil as identified by molecular methods. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.5, n.8, p.01-10, 2011.

DANTAS-TORRES, F. Canine leishmaniosis in South America. **Parasites & Vectors**, v.2, n.1, p.01-08, 2009.

DEBROY, S. *et al.* Challenges in modeling complexity of neglected tropical diseases: a review of dynamics of visceral leishmaniasis in resource limited settings. **Emerging Themes in Epidemiology**, v.14, n.10, p.01-14, 2017. <https://doi.org/10.1186/s12982-017-0065-3>

DIAS, E. S. *et al.* Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de um foco de leishmaniose tegumentar no Estado de Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 40, n. 1, p. 49-52, fev. 2007.

FERNANDÉZ M.S. *et al.* *Lutzomyia longipalpis* spatial distribution and association with environmental variables in an urban focus of visceral leishmaniasis, Misiones, Argentina. **Acta Tropica**, v.114, n. 28, p. 1-87, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.01.008>

FERNANDES, A.R.F. *et al.* Risk factors associated with seropositivity for *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* in dogs in the State of Paraíba, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.25, n1, p.90-98, 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612016010>

FERREIRA, T. S. *et al.* High molecular prevalence of *Leishmania* in phlebotomine sand flies fed on chicken blood in Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 259, p. 80-84. 2018.

FIGUEIREDO, A. B. F. *et al.* Uso e cobertura do solo e prevalência de leishmaniose visceral canina em Teresina, Piauí, Brasil: uma abordagem utilizando sensoriamento remoto orbital. **Cadernos de Saúde Pública**. v. 33, n. 10, p. e00093516. 2017

FRANCINO, O. *et al.* Advantages of real-time PCR assay for diagnosis and monitoring of canine leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 137, n.3-4, p. 214-221, 2006.

GALATI, E.A.B. 2003a. Morfologia e taxonomia: classificação de Phlebotominae. In: Rangel, E.F. & Lainson, R. (Orgs.). **Flebotomíneos do Brasil**. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro. p. 23-51.

GAMA, M.E.A. *et al.* Avaliação do nível de conhecimento que populações residentes em áreas endêmicas têm sobre leishmaniose visceral, Estado do Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.14, n.2, p.381-390, 1998.

GAO, C. *et al.* Survey of wild and domestic mammals for infection with *Leishmania infantum* following an outbreak of desert zoonotic visceral leishmaniasis in Jiashi, People's Republic of China. **PLoS ONE**, v.10. n,7, p.1-9, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132493>

GHATEE, M. A. *et al.* Geo-climatic factors in a newly emerging focus of zoonotic visceral leishmaniasis in rural areas of north-eastern Iran. **Transboundary And Emerging Diseases**, [S.L.], v. 67, n. 2, p. 914-923, dez. 2019. <http://dx.doi.org/10.1111/tbed.13416>

GÓMEZ-BRAVO, A. *et al.* Spatial population dynamics and temporal analysis of the distribution of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: psychodidae). **Parasites & Vectors**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 01-09, 25 jul. 2017. <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-017-2296-0>.

- GONTIJO, C.M.F; MELO, M.N. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.7, n.3, p.338-349, 2004.
- GUIMARÃES-SILVA, A.S. *et al.* Leishmania infection and blood food sources of phlebotomines in an area of Brazil endemic for visceral and tegumentary leishmaniasis. **PLoS ONE**, v.12, n.8, p.1-19, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179052>
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades e Estados. Disponível em <<https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/rn/mossoro.html>>. Acesso em 18 de setembro de 2019.
- LARA-SILVA F.O. *et al.* *Rattus norvegicus* (Rodentia: Muridae) Infected by *Leishmania (Leishmania) infantum* (syn. *Le. chagasi*) in Brazil. **BioMed Research International**. v.2014, p.01-07, 2014. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/592986>
- LI, Y; ZHENG, C. Associations between Meteorological Factors and Visceral Leishmaniasis Outbreaks in Jiashi County, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China, 2005–2015. **International Journal Of Environmental Research And Public Health**, [S.L.], v. 16, n. 10, p. 1775, 20 maio 2019. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph16101775>.
- LOPES, E.G.P. *et al.* Transmission of visceral leishmaniasis in dogs in a risk area of the metropolitan region of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 68, n. 6, p. 1403-1412. 2016.
- MARCONDES, M; ROSSI, C.N. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.50, n.5, p.341-352, 2013.
- MARTINS, C. P. *et al.* Monitoramento epidemiológico como instrumento de apoio à gestão de saúde: análise das notificações de leishmaniose visceral em sobral, ceará. **Revista de Administração em Saúde**, [S.L.], v. 18, n. 72, p. 01-06, 16 jul. 2018. <http://dx.doi.org/10.23973/ras.72.117>.
- MENEZES, J.A. *et al.* Fatores de risco peridomiciliares e conhecimento sobre leishmaniose visceral da população de Formiga, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.19, n.2, p.362-374, 2016. <http://doi.org/10.1590/1980-5497201600020013>
- 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**, v.39, n.4, p.337-340, 2006.
- 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**, v.41, n.4, p.365-368, 2008.
- MOHEBALI, M; MORADI-ASL, E; RASSI, Y. Geographic distribution and spatial analysis of *Leishmania infantum* infection in domestic and wild animal reservoir hosts of zoonotic visceral leishmaniasis in Iran: A systematic review. **Journal of Vector Borne Diseases**, v.1, n1, p.173-183, 2018.

- MONTEIRO, E. M. *et al.* Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.I.], v. 38, n. 2, p. 147-152, mar. 2005.
- MORENO, E.C. *et al.* Epidemiologia da leishmaniose visceral humana assintomática em área urbana, Sabaré, Minas Gerais, 1998-1999. **IESUS**, v.11, n1, p.37-39, 2002.
- MOTA T.F. *et al.* Natural infection by *Leishmania infantum* in the *Lutzomyia longipalpis* population of an endemic coastal area to visceral leishmaniasis in Brazil is not associated with bioclimatic factors. **Plos Neglected Tropical Diseases**. v.13, n. 8, p. 01-17.2019. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0007626>.
- NASCIMENTO, M.D.S.B. *et al.* Aspectos epidemiológicos determinantes na manutenção da leishmaniose visceral no estado do Maranhão – Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.29, n.3, p233-240, 1996.
- NASCIMENTO, M.D.S.B. *et al.* Prevalência de infecção por *Leishmania chagasi* utilizando os métodos de ELISA (rK39 e CRUDE) e intradermorreação de Montenegro em área endêmica do Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.21, n.6, p.1801-1807, 2005.
- OLIVEIRA, C. D. L.; MORAIS, M. H. F.; MACHADO-COELHO, G. L. L. Visceral leishmaniasis in large Brazilian cities: challenges for control. **Cadernos de Saúde Pública**. v. 24, n. 12, p. 2953-2958. 2008.
- OLIVEIRA, G. M. G. *et al.* Flebotomíneos (Diptera: psychodidae). **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, [S.L.], v. 1, n. 3, p. 83-94, set. 2010. <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-62232010000300012>.
- OLIVEIRA E.F. *et al.* Biotic factors and occurrence of *Lutzomyia longipalpis* in endemic área of visceral leishmaniasis, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 107, n. 3, p. 396-401, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762012000300015>.
- OLIVEIRA, A. M. *et al.* Dispersal of *Lutzomyia longipalpis* and expansion of canine and human visceral leishmaniasis in São Paulo State, Brazil. **Vetores de Parasita**, São Paulo, v. 11, n. 503, p. 233-242, set. 2018.
- PAHO (Organização Pan-Americana da Saúde). **Leishmanioses: Informe Epidemiológico nas Américas**. Washington, D.C.: OPAS; 2019
Disponível em: <http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/50505>.
- PAIXÃO-MARQUES, M.S *et al.* First isolation of *Leishmania infantum* by blood culture in bovines from endemic area for canine visceral leishmaniasis. **Parasitology**. v.146, n.7, p.01-03, 2019. <https://doi.org/10.1017/S0031182019000088>
- PINEDA, J.A. *et al.* Prevalence of and factors associated with visceral leishmaniasis in Human Immunodeficiency Virus Type 1 - Infected patients in southern Spain. **Journal of Clinical Microbiology**, v.36, n.9, p.2419-2422, 1998.

PINTO, L; VARGAS, E. “Leishmania” Reflexões sobre o manejo do mundo em contextos de risco sanitário. **Vivência Revista de Antropologia**. v. 1, n. 49, p. 121-134. 2017.

PONTE, C.B. *et al.* Risk factors for *Leishmania chagasi* infection in an endemic area in Raposa, State of Maranhão, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.44, n.6, p.717-721, 2011.

ROCHA, D. A. *et al.* Susceptibility of phlebotomine sandflies (Diptera: psychodidae) collected in the field, to alpha-cypermethrin in four municipalities endemic to leishmaniasis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, [S.L.], v. 62, p. 01-04, 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/s1678-9946202062038>.

RODRIGUES, A.C.M. *et al.* Epidemiologia da leishmaniose visceral no município de Fortaleza, Ceará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.37, n.10, p.1119-1124, 2017. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017001000013>

ROMERO, G. A. S. O controle de leishmaniose visceral no Brasil: transformar é preciso. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, n. 6, 2016.

ROSALES, J.C; YANG, H.M. Modelagem matemática do fator de risco da leishmaniose canina na leishmaniose humana em regiões oeste do estado de São Paulo, Brasil, e noroeste da Província de Salta, Argentina. **Boletim Epidemiológico Paulista**, p.01-06, 2006.

SALOMON, O.D. *et al.* *Lutzomyia longipalpis* urbanisation and control. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 7, p. 831-846, Nov. 2015. <https://doi.org/10.1590/0074-02760150207>.

SANTOS, H. D. *et al.* High frequency of visceral leishmaniasis in dogs under veterinary clinical care in an intense transmission area in the State of Tocantins, Brazil. **Ciência Rural**. v. 47, n. 3, p. 1-6. 2017. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20160260>

SCANDAR, S.A.S. *et al.* Ocorrência de leishmaniose visceral americana na região de São José do Rio Preto, Estado de São Paulo, Brasil. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v.8, n.88, p.13-22, 2011.

SILVA, A. M. *et al.* Diversidade, distribuição e abundância de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Paraná. **Revista Public Health – Neotropical entomology**, v.37, n.2, p.209-225, 2008.

SILVA, J. P. *et al.* Factors associated with *Leishmania chagasi* infection in domestic dogs from Teresina, State of Piauí, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 45, n. 4, p. 480-484. 2012.

SILVA, S. M. *et al.* Relação entre a força de preensão manual e capacidade funcional após Acidente Vascular Cerebral. **Revista Neurociencia**, São Paulo, v. 23, n. 1, p. 74-80, 2014.

SILVA, R. B. S. *et al.* Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina na zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 36, n. 7, p. 625-629. 2016.

SILVA, J. D. *et al.* Leishmaniose visceral em cães de assentamentos rurais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 37, n. 11, p. 1292-1298. 2017.

SILVINO, A. C. S. *et al.* Caracterização de flebotomíneos em bairros de Sobral, Ceará. **Revista da Biologia**, [S.L.], p. 12-17, fev. 2017.
<http://dx.doi.org/10.7594/revbio.17.02.04>

SOSA-ESTANI, S. *et al.* Leishmaniose cutânea no Norte da Argentina. Fatores de risco identificados num estudo caso-coorte em três municípios de Salta. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.34, n.6, p.511-517, 2001.

SOUZA, N.P. *et al.* Leishmania (Leishmania) infantum chagasi em canídeos silvestres mantidos em cativeiro, no Estado de Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.3, n.43, p.333-335, 2010.

TELES, A.P.S. *et al.* Fatores de risco associados à ocorrência da leishmaniose visceral na área urbana do município de Campo Grande/MS. **Hygea**, v.11, n.21, p.35-48, 2015.

TEODORO, U. *et al.* Frequência da fauna de flebotomíneos no domicílio e em abrigos de animais domésticos no peridomício, nos municípios de Cianorte e Doutor Camargo - estado do Paraná - Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 30, n. 2, p. 209-223, dez. 2001.

WHO - World Health Organization. **Controle das Leishmanioses**. Relatório de uma reunião do Comitê de Peritos sobre o Controle das leishmanioses, Genebra, 22-26 de março 2010.

ZUBEN, A. P. B.; DONALÍSIO, M. R. Dificuldades na execução das diretrizes do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral em grandes municípios brasileiros. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, p. 1-11, 2016.

APÊNDICES

APÊNDICE A

FATORES DE RISCO PARA LEISHMANIOSE VISCERAL CHECK-LIST

Característica/ fator	Não	Sim	Detalhar o que for observado
Classe econômica menos favorecida			<input type="checkbox"/> telhado de palha <input type="checkbox"/> parede sem reboco <input type="checkbox"/> outro material _____ <input type="checkbox"/> piso de terra <input type="checkbox"/> outro material _____ <input type="checkbox"/> Fonte de renda até 2 salários mínimos <input type="checkbox"/> sem renda
Falta de conhecimento da população sobre Leishmaniose visceral			<input type="checkbox"/> Transmissão <input type="checkbox"/> Tratamento <input type="checkbox"/> medidas de prevenção <input type="checkbox"/> nunca ouviu falar
Alguém da residência dorme ao ar livre			<input type="checkbox"/> no alpendre <input type="checkbox"/> relento
Presença de animais domésticos e silvestres			<input type="checkbox"/> cães <input type="checkbox"/> gatos <input type="checkbox"/> galinhas <input type="checkbox"/> outras aves _____ <input type="checkbox"/> Animais silvestres _____
Cão com acesso à rua livre			
Presença de bovinos			
Presença de roedores			
Sexo masculino			
Ocupação desordenada			
Ausência de mosquiteiro			
Área verde próximo a residência			
Acúmulo de matéria orgânica			<input type="checkbox"/> comida <input type="checkbox"/> fezes <input type="checkbox"/> Outros: _____
Presença de lixo			<input type="checkbox"/> sacos <input type="checkbox"/> latões <input type="checkbox"/> no chão Outro local: _____
Ausência de saneamento básico			<input type="checkbox"/> esgoto exposto ao ar livre

Coleta de lixo irregular			() 1x na semana () não existe () Outros: _____ -
Presença de rio, lago ou córrego próximo a residência			

Identificação do risco da residência:

APÊNDICE B

TERMO DE CONCENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Esclarecimentos

Este é um convite para você participar da pesquisa “Manejo ambiental para o controle vetorial da leishmaniose visceral em áreas endêmicas do município de Mossoró Rio Grande do Norte” que é coordenada pela Profa. Dra. Sthenia Santos Albano Amora e que segue as recomendações da resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares. Sua participação é voluntária, o que significa que você poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento, sem que isso lhe traga nenhum prejuízo ou penalidade. Essa pesquisa procura contribuir para a prevenção e controle do vetor da leishmaniose visceral do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. Caso decida aceitar o convite, você será submetido(a) ao(s) seguinte(s) procedimentos: será aplicado um checklist estruturado sobre fatores de risco e realizada uma visita dentro da residência, no quintal, bem como anexos à moradia. Os riscos envolvidos com sua participação são: medo, desconforto ou constrangimento, relacionados à aplicação do checklist, e visita observacional na residência, que serão minimizados mediante as seguintes providências: esclarecimento sobre a finalidade da pesquisa e necessidade de realização dos procedimentos propostos; garantia de privacidade no momento da aplicação do checklist e do sigilo de identidade pessoal e das informações obtidas. Você terá os seguintes benefícios ao participar da pesquisa: irá colaborar e adquirirá conhecimentos sobre a prevenção e o controle do vetor da Leishmaniose Visceral em Mossoró, Rio Grande do Norte. Todas as informações são sigilosas e seu nome não será identificado em nenhum momento. Os dados serão guardados em local seguro e a divulgação dos resultados será feita de forma a não identificar os voluntários. Se você tiver algum gasto que seja devido à sua participação na pesquisa, você será ressarcido, caso solicite. Em qualquer momento, se você sofrer algum dano comprovadamente decorrente desta pesquisa, você terá direito a indenização.

Você ficará com uma via desse Termo e toda dúvida que dúvida que você tiver a respeito desta pesquisa, poderá perguntar diretamente para a Profa. Dra. Sthenia Santos Albano Amora, no endereço abaixo citado. Dúvidas a respeito da ética dessa pesquisa poderão ser questionadas ao Comitê de Ética em Pesquisa da UERN no endereço abaixo ou pelo telefone: (84) 3315- 2180.

Consentimento Livre e Esclarecido,

Declaro que compreendi os objetivos desta pesquisa, como ela será realizada, os riscos e benefícios envolvidos e concordo em participar voluntariamente da pesquisa Manejo ambiental para o controle vetorial da leishmaniose visceral em áreas endêmicas do município de Mossoró Rio Grande do Norte.

Participante da pesquisa: _____

Pesquisador Responsável:

Endereço profissional: Av. Francisco Mota, 572, Bairro Costa e Silva,
sthenia@ufersa.edu.br, ramal: 1690.

Comitê de Ética e Pesquisa: Rua Miguel Antônio da Silva Neto, S/N, Aeroporto s/n –
Aeroporto, fone: (84) 3318-2596.

ANEXOS

ANEXO A
PROTOCOLO DE RECOMENDAÇÕES SOBRE O MANEJO AMBIENTAL

NOME DO RESPONSÁVEL:

NOME DE QUEM ATENDEU:

ENDEREÇO:

CÓDIGO MUNICÍPIO: _____ ÁREA: _____ SETOR: _____ QUADRA:

Na inspeção realizada em ____/____/____, foram constatadas as irregularidades a seguir, que deverão ser sanadas em _____ dias.

PROVIDÊNCIAS A SEREM ADOTADAS:

- () Varrer ou rastelar folhas e frutos, ensacar e colocar para coleta de lixo;
- () Recolher fezes de animais, ensacar e colocar para coleta de lixo;
- () Aparar grama, recolher, ensacar e colocar para coleta de lixo;
- () Retirar folhas de vasos de plantas, canteiros e jardins, ensacar e colocar para coleta de lixo;
- () Capinar quintal, recolher, ensacar e colocar para coleta de lixo;
- () Eliminar ou enterrar adubo orgânico armazenado ou em produção;
- () Eliminar a criação de porcos e cavalos em área urbana;
- () Melhorar as condições higiênicas /atualizar vacinação de cães e gatos;(posse responsável)
- () Restringir o número de galinhas, patos, coelhos e outros animais (área urbana);
- () Podar galhos de árvores.

Outras informações: