

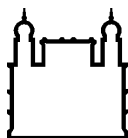
INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Mestrado em Biologia Parasitária

ESTUDOS SOBRE OS FLEBOTOMÍNEOS (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) E
OS POTENCIAIS VETORES DE *Leishmania* spp. NA PROVÍNCIA DE LA
CONVENCIÓN, CUSCO, PERU

CARMEN DIANA RADO COVARRUBIAS

Rio de Janeiro

2011



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Pós-Graduação em Biologia Parasitária

CARMEN DIANA RADO COVARRUBIAS

ESTUDOS SOBRE OS FLEBOTOMÍNEOS (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) E
OS POTENCIAIS VETORES DE *Leishmania* spp. NA PROVÍNCIA DE LA
CONVENCIÓN, CUSCO, PERU

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo
Cruz como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Ciências

Orientadores: Prof. Dra. Elizabeth Ferreira Rangel
Instituto Oswaldo Cruz/ Fiocruz

Prof. Dra. Rosa Luz Pacheco Venero
Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Peru

RIO DE JANEIRO
2011

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

C 873

Covarrubias, Carmen Diana Rado

Estudos sobre os Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) e potenciais vetores de *Leishmania* spp. na Província de La Convención, Cusco, Peru. / Carmen Diana Rado Covarrubias. – Rio de Janeiro, 2011.

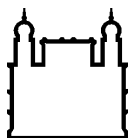
xvii, 101f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Biologia Parasitária, 2011.

Bibliografia: f. 70-83

1. Phlebotominae. 2. Leishmanioses. 3. Peru. I. Título.

CDD 616.9364098537



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Pós-Graduação em Biologia Parasitária

CARMEN DIANA RADO COVARRUBIAS

ESTUDOS SOBRE OS FLEBOTOMÍNEOS (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) E
OS POTENCIAIS VETORES DE *Leishmania* spp. NA PROVÍNCIA DE LA
CONVENCIÓN, CUSCO, PERU

Orientadores: Prof. Dra. Elizabeth Ferreira Rangel
Instituto Oswaldo Cruz/ Fiocruz

Prof. Dra. Rosa Luz Pacheco Venero
Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Peru

Aprovada em: 04/07/2011

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Reginaldo Peçanha Brazil - **Presidente**

Prof. Dr^a. Martha Cecília Suarez Mutis

Prof. Dr. Edelberto Santos-Dias

Rio de Janeiro, 04 de julho de 2011

Financiado por:
Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo, AECID.
POM do Instituto Oswaldo Cruz / FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil.
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil, CNPq.

Dedico, em gratidão

A minha Família

AGRADECIMENTOS

À Dra. Elizabeth Ferreira Rangel, do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses / Serviço de Referência em Vigilância Entomológica: Taxonomia e Ecologia de Vetores das Leishmanioses do Instituto Oswaldo Cruz / FIOCRUZ, pela confiança, ensinamentos e orientação no desenvolvimento desta dissertação e ao longo do mestrado;

À Dr^a Rosa Pacheco, do Laboratorio de Investigación de *Leishmania* da Facultad de Ciencias Biológicas da Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Peru; pela orientação, encorajamento e apoio recebidos desde a faculdade;

Ao Dr Enrique Perez Ramos, do Instituto de Enfermdades Tropicales Alexander von Humboldt da Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Peru; pelo incentivo, apoio, orientação e amizade;

Ao Dr. Pedro H. Cabello, do Laboratório de Genética Humana do Instituto Oswaldo Cruz / FIOCRUZ, pela confiança, acolhimento e apoio permanente ao longo de todo este tempo, além da cooperação nas análises estatísticas;

À Dr^a Daniela de Pitta Pereira do Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas Instituto Oswaldo Cruz / FIOCRUZ, pela colaboração e apoio nos estudos da pesquisa de infecção natural em flebotomíneos;

À Dr^a Eunice A. Bianchi Galati, do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo e a toda sua equipe, pela cooperação e apoio necessários na taxonomia dos flebotomíneos e toda a acolhida recebida durante minha estada em São Paulo;

Ao Prof. Maurício Luiz Vilela, do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses / Laboratório de Referência em Vigilância Entomológica: Taxonomia e Ecologia de Vetores das Leishmanioses do Instituto Oswaldo Cruz / FIOCRUZ, pelo incentivo, apoio e amizade a longo do Mestrado e no desenvolvimento desta dissertação;

Ao Prof. André de Figueiredo Barbosa do Laboratório de Transmissores de Hematozoários do Instituto Oswaldo Cruz / FIOCRUZ, pela amizade e incentivo recebidos, além da ajuda na revisão do português;

Ao Dr. Alfredo Carlos Rodrigues de Azevedo, do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses / Laboratório de Referência em Vigilância Entomológica: Taxonomia e Ecologia de Vetores das Leishmanioses do Instituto Oswaldo Cruz / FIOCRUZ, por suas sugestões na análise dos dados e suporte na identificação taxonômica dos flebotomíneos;

A toda equipe do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses / Laboratório de Referência em Vigilância Entomológica: Taxonomia e Ecologia de Vetores das Leishmanioses do Instituto Oswaldo Cruz / FIOCRUZ, em especial ao Técnico Antonio Santana e ao Mestrando Rodrigo Espínula Godoy, pelo suporte na montagem e identificação dos flebotomíneos. À Prof^a. Simone Miranda da Costa, à Prof^a. Lucia Regina N. Brahim Brahim, ao Mestrando Bruno Moreira de Carvalho, à Prof^a. Margarete Martins dos Santos Afonso, ao Biólogo Wagner Alexander da Costa, pela amizade, acolhimento e apoio dado em diferentes etapas da realização deste trabalho e ao longo do Mestrado;

A toda equipe do Laboratorio de Investigación da Facultad de Ciencias Biológicas da Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Peru, em especial ao Biólogo David Quispe Orozco, Biólogo Lugó Miranda Barriga, Bióloga Erika Perez Velez, Bióloga Elsa Aguilar Ancori, Bacherel Anita Quispe Llaza, Bacherel Mayday Soto Alvarez e aos estudantes de Biología, Miguel Salas Mendoza, Jhonatam Mendoza Villanueva, Carla Quispe Estrada, Ronal Luna Pantigozo, Edson Aragon Gutierrez, Walter Yupanqui Castillo, Luiggi Bahamonte Soto, Reymertth Peña Cayturo e Gladys Cajavilca, pela amizade e o apoio nas coletas dos flebotomíneos;

À Comunidade de Aguas Calientes, La Convención, Cusco, pelo acolhimento durante as viagens de coleta;

Ao Técnico Walker Huaman Guevara do Comitê de Defesa Civil do Distrito de Echarate, La Convención, Cusco; e ao Ing. Jhon Erick Molina Herrera pelo suporte e acompanhamento durante as viagens de coleta na área de estudo;

A meus pais Maria del Carmen Covarrubias e Carlos Rado, a meus irmãos Sergio y Carlos, a meus tios Beatriz e Humberto, pelo carinho e a força que sempre me deram.

A meus tios Enrique Covarrubias e Maria Elena Venero e a minha prima Daniela Covarrubias Venero, pelo carinho, acolhimento e todo o apoio que me deram sempre;

Ao Engenheiro Henry Silva Reime, amigo e namorado, pela paciência, confiança e apoio incondicional;

À Bióloga. Maritza Mercedes Quispe Flores e ao Biólogo Luis Enrique Ramirez Tapia, por sua amizade e apoio permanente no desenvolvimento da dissertação e ao longo do Mestrado;

A minhas amigas Mariana Carvalheiro e Beatriz Bezerra, pelo acolhimento, amizade e apoio durante toda minha estada no Rio de Janeiro;

Aos Professores da Pós-Graduação em Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRZ, que contribuíram muito para a minha formação;

Aos amigos e colegas da Pós-Graduação em Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ por todos os momentos compartilhados ao longo do Mestrado;

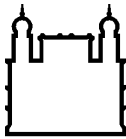
Ao Instituto Oswaldo Cruz / FIOCRUZ pelo suporte financeiro (POM) e infraestrutura para a realização deste estudo;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, pela bolsa de estudos.

À Agência Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo, AECID,
pelo suporte financeiro para a realização das viagens para coletas dos
flebotomíneos.

“O homem é do tamanho de seu sonho”

Fernando Pessoa



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

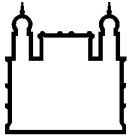
ESTUDOS SOBRE OS FLEBOTOMÍNEOS (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) E OS POTENCIAIS VETORES DE *Leishmania* spp. NA PROVÍNCIA DE LA CONVENCIÓN, CUSCO, PERU

RESUMO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Carmen Diana Rado Covarrubias

A província de La Convención, Perú, zona endêmica de leishmaniose tegumentar, apresenta a maior prevalência da doença no departamento de Cusco, no Peru. A comunidade de Aguas Calientes, do Centro de Saúde de Kepashiato, registra um número importante dos casos humanos. O presente estudo tem como objetivo ampliar os conhecimentos sobre a fauna flebotomínica do Peru com base nos estudos realizados nesta comunidade. As coletas de flebotomíneos foram realizadas mediante a utilização de armadilhas Shannon em ambientes extradomiciliares e armadilhas de luz tipo CDC em ambientes intra, peri e extradomiciliares, durante a estações seca e chuvosa de 2010-2011. Foram identificadas trinta e uma espécies de flebotomíneos dos gêneros *Lutzomyia* e *Brumptomyia* com um novo registro para o Peru: *Lutzomyia sericea*. As espécies que se apresentaram com maior frequência foram *L. yuilli yuilli* (47,25%) e *L. octavioi* (25,97%) com picos de atividade horária de 21:00-23:00h e 04:00-06:00h, respectivamente. Estas duas espécies foram encontradas em todos os sítios de coletas, com predominância de *L. yuilli yuilli* em ambientes extradomiciliares. *L. yuilli yuilli* e *L. octavioi* foram encontradas naturalmente infectadas por *Leishmania* spp., mediante la técnica de PCR-multiplex, com índices mínimos totais de infecção de 1,27% e 1,76%, respectivamente. Sugere-se a participação de *L. yuilli yuilli* na transmissão da Leishmaniose tegumentar na área de estudo.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

STUDY OF SANDFLIES (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) AND THE POTENTIAL VECTORS OF *Leishmania* spp. IN THE LA CONVENCIÓN, CUSCO, PERÚ

ABSTRACT

DISSERTATION

Carmen Diana Rado Covarrubias

The La Convención Province (Cusco, Perú) is an endemic area of Cutaneous Leishmaniasis, having the highest prevalence of the disease of Cusco Department. Aguas Calientes community, from Kepashiato Health Center, reports the high patient's frequency in this endemic area. The objective of this work is to extend knowledge the sand fly fauna of Peru based on the studies in this community. Sand flies were collected using two methods: Shannon traps in extra domiciliary environments and CDC light traps in intra, peri and extra domiciliary environments. The collections were done during dry and rainy seasons in 2010-2011. Thirty one species of *Lutzomyia* and *Brumptomyia* genus were identified with a one new record for Peru: *Lutzomyia sericea*. The most predominant species were *L. yuilli yuilli* (47,25%) and *L. octavioi* (25,97%) with activity peaks during 21:00-23:00h and 4:00-06:00, respectively. This species were found in all the site collections with a predominance of *L. yuilli yuilli* in extra domiciliary environments. *L. yuilli yuilli* and *L. octavioi* were found naturally infected with *Leishmania* spp., by PCR multiplex, with a infection rate of 1,27% and 1,76%, respectively. *L. yuilli yuilli* could be involved in Cutaneous Leishmaniasis epidemiology in the studied area.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	xv
LISTA DE FIGURAS	xvi
1. INTRODUÇÃO	01
1.1 Leishmanioses	01
1.1.1 Leishmanioses no mundo	01
1.1.2 Leishmaniose tegumentar no Peru	03
1.2 Flebotomíneos	11
1.2.1 Flebotomíneos no mundo	11
1.2.2 Flebotomíneos no Peru	13
1.2.3 Flebotomíneos como vetores de doenças no Peru	19
1.2.3.1 Vetores de Leishmaniose tegumentar no Peru	20
1.2.3.2 Vetores de Bartonelose no Peru	23
2. JUSTIFICATIVA	25
3. OBJETIVOS	26
4. METODOLOGIA	27
4.1 Área de Estudo	27
4.2 Estações de Monitoramento de Flebotomíneos	33
4.3 Coletas de Flebotomíneos	35
4.4 Identificação Taxônomica dos Flebotomíneos	37
4.5 Análise de dados	37
4.5.1 Índices de Abundância	37
4.5.2 Estudos de Frequência Horária	39
4.5.3 Frequência Horária de Flebotomíneos em Associação com dados de Temperatura e Umidade	39
4.6 Determinação de Infecção Natural em Flebotomíneos	39
4.6.1 Obtenção de lisado de Flebotomíneos	40
4.6.2 Extração de DNA	40
4.6.3 Reação em Cadeia da Polimerase – <i>Hot-start</i> PCR multiplex	41
4.6.4 Análise dos Produtos Amplificados	41
4.6.5 Determinação do Índice de Infecção Natural	42
4.7 Avaliação de fatores ambientais no peridomicílio	43

4.8 Verificação de ocorrência de variação na fauna flebotomínica a partir de 2005	43
5. RESULTADOS	44
5.1 Identificação da fauna flebotomínica e sua distribuição por sítios de coleta	44
5.2 Avaliação dos Índices de Abundância	46
5.3 Frequência horária das espécies de flebotomíneos e sua associação com a temperatura e umidade	53
5.4 Determinação da infecção natural por <i>Leishmania</i> spp. em fêmeas de flebotomíneos	56
5.5 Fatores ambientais associados à presença de flebotomíneos no peridomicílio	58
5.6 Variação ocorrida na fauna de flebotomíneos na estação de monitoramento EM4, a partir de 2005	60
6. DISCUSSÃO	63
7. CONCLUSÕES	68
REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXOS	84
Anexo 01: Fichas de Campo	84
Anexo 02: Soluções usadas para a diafanização e montagem provisória de flebotomíneos	86
Anexo 03: Fichas de descrição de estações de monitoramento	88
Anexo 04: Resumo apresentado no 7th International Symposium on Phlebotominae Sandflies	101

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1	Casos de Leishmaniose por Províncias, Cusco 2006-2011	31
Tabela 4.2	Estações de monitoramento (EM) de flebotomíneos. Aguas Calientes. La Convención. Cusco. Perú	33
Tabela 5.1	Flebotomíneos capturados por estação do ano, tipo de armadilha utilizada e sexo. Comunidade de Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. Junho, julho, setembro, novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011	45
Tabela 5.2	Flebotomíneos capturados por estação de monitoramento. Comunidade de Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. Junho, julho, setembro, novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011.	47
Tabela 5.3	Flebotomíneos capturados por ambiente de coleta. Comunidade de Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. Junho, julho, setembro, novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011.	48
Tabela 5.4	Classificação das espécies de flebotomíneos segundo o índice de abundância específico (ISA e SISA) nas estações de monitoramento. Comunidade de Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. Junho, julho, setembro, novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011.	51
Tabela 5.5	Classificação das espécies de flebotomíneos segundo o índice de abundância específico (ISA e SISA) nos ambientes de coleta. Comunidade de Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. Junho, julho, setembro, novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011.	52
Tabela 5.6	Análise de da frequência do número total de flebotomíneos coletados em relação a temperatura e a umidade relativa do ar com seus respectivos coeficientes de regressão.	55
Tabela 5.7	Análise de Variância da frequência de <i>L. (N.) yuilli yuilli</i> em relação a temperatura e a umidade relativa do ar com seus respectivos coeficientes de regressão.	55
Tabela 5.8	Análise de Variância da frequência horária de <i>L. (T.) octavioi</i> em relação a temperatura e a umidade relativa do ar com seus respectivos coeficientes de regressão	56
Tabela 5.9	<i>Pools</i> de fêmeas de <i>L.(N.) yuilli yuilli</i> positivos para infecção natural por <i>Leishmania (V.)</i> por estação de monitoramento e ambiente de coleta de procedência.	58
Tabela 5.10	<i>Pools</i> de fêmeas de <i>L.(T.) octavioi</i> positivos para infecção natural por <i>Leishmania (V.)</i> por estação de monitoramento e ambiente de coleta de procedência.	58
Tabela 5.11	Descrição do ambiente peridomiciliar das estações de monitoramento EM1, EM2 e EM3 e espécies de flebotomíneos presentes no local	60
Tabela 5.12	Flebotomíneos na estação de monitoramento 4 (EM4), por estação do ano. Aguas Calientes, La Convención. 2005/2010-2011	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1	Distribuição geográfica das espécies do gênero <i>Leishmania</i> no Peru	04
Figura 1.2	Distribuição da Leishmaniose tegumentar no Peru	05
Figura 1.3	Leishmaniose cutânea	06
Figura 1.4	Leishmaniose cutâneo-mucosa	07
Figura 1.5	Número de casos de Leishmaniose cutânea e cutâneo-mucosa no Peru e proporção cutânea/cutâneo-mucosa (1999-2008).	08
Figura 1.6	Evolução da taxa de incidência acumulada (TIA) de Leishmaniose cutânea, Peru (1994-2008)	09
Figura 1.7	Evolução da taxa de incidência acumulada (TIA) de Leishmaniose cutâneo-mucosa, Peru (1999-2008).	09
Figura 1.8	Número de casos e incidência acumulada (IA) de Leishmaniose cutânea, Cusco (2000-2010).	10
Figura 1.9	Número de casos e incidência acumulada (IA) de Leishmaniose cutâneo-mucosa, Cusco	10
Figura 1.10	<i>Lutzomyia peruensis</i>	11
Figura 1.11	Distribuição das espécies de flebotomíneos em Cusco, Peru	14
Figura 1.12	Distribuição dos principais vetores da Leishmaniose tegumentar no Peru	22
Figura 4.1	Mapa de Localização do departamento de Cusco e suas províncias	29
Figura 4.2	Mapa de Localização da província La Convención e seus distritos	29
Figura 4.3	Mapa de Localização da comunidade de Aguas Calientes	30
Figura 4.4	Número de casos de Leishmaniose cutânea na Microrede de Kiteni, Echarate, La Convención, Cusco, Peru.	32
Figura 4.5	Número de casos de Leishmaniose cutâneo-mucosa na Microrede de Kiteni, Echarate, La Convención, Cusco, Peru.	32
Figura 4.6	Mapa de distribuição das Estações de Monitoramento (EM) na Comunidade de Aguas Calientes	34
Figura 4.7	Instalação de armadilha CDC, em ambiente intradomiciliar.	35
Figura 4.8	Armadilha de Shannon em ambiente extradomiciliar	36
Figura 4.9	Coleta na armadilha Shannon com auxílio do capturador de castro	36
Figura 5.1	Espécies de flebotomíneos segundo o índice de abundância específico (SISA) na estação seca do ano. Comunidade de Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. Junho, julho, e setembro 2010.	49
Figura 5.2	Espécies de flebotomíneos segundo o índice de abundância específico (SISA) na estação chuvosa do ano. Comunidade de Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. Novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011	50

Figura 5.3	Freqüência horária dos flebotomíneos nas estações seca (junho, julho, setembro 2010) e chuvosa (novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011). Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru	53
Figura 5.4	Freqüência horária de <i>L. (N.) yuilli yuilli</i> nas estações seca (junho, julho, setembro 2010) e chuvosa (novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011). Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru.	54
Figura 5.5	Freqüência horária de <i>L. (T.) octavioi</i> nas estações seca (junho, julho, setembro 2010) e chuvosa (novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011). Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru	54
Figura 5.6	Gel demonstrativo de <i>pools</i> de fêmeas de <i>L. (N.) yuilli yuilli</i> positivos a infecção natural por <i>Leishmania</i> spp.	56
Figura 5.7	Gel demonstrativo de <i>pools</i> de fêmeas de <i>L. (T.) octavioi</i> positivos a infecção natural por <i>Leishmania</i> spp.	57
Figura 5.8	EM1/Peridomicilio. Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. A= B= Parede posterior da residência e cultura de café C=Chiqueiro	59
Figura 5.9	EM2/Peridomicilio. Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. A=Residência, B=Peridomicilio, C=Galhinas no peridomicilio.	59
Figura 5.10	EM3/Peridomicilio. Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. A=Residência, B=Parede posterior da residência, C=Galhinas no peridomicilio	60

1. INTRODUÇÃO

1.1 Leishmanioses

1.1.1 Leishmanioses no mundo

As Leishmanioses são um complexo de doenças que têm como agentes etiológicos os protozoários do gênero *Leishmania* Ross, 1903 (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) (Peters & Killick-Kendrick 1987), transmitidos entre vertebrados através da picada de insetos flebotomíneos (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) dos gêneros *Lutzomyia*, no Novo Mundo, e *Phlebotomus*, no Velho Mundo (Young & Duncan 1994).

As leishmanioses humanas compreendem um espectro de manifestações clínicas que variam desde uma forma benigna até a letalidade. A forma benigna, que produz lesões limitadas na pele, ulcerosas ou não, é chamada de leishmaniose cutânea; porém, quando ocorrem lesões que comprometem a mucosa naso-buco-faríngea é denominada de leishmaniose cutâneo-mucosa. Há, ainda, a leishmaniose tegumentar anérgica difusa, disseminada, em indivíduos com baixa resposta imune. A forma clínica que compromete o fígado, o baço, a medula óssea e os tecidos linfóides, é conhecida como leishmaniose visceral, podendo levar ao óbito se não tratada adequadamente (Brasil-SVS/MS 2006, 2007, WHO 2010).

As leishmânias são parasitos digenéticos e heteroxênicos que apresentam duas formas evolutivas distintas: (1) a promastigota, alongada, flagelada, móvel e extracelular que pode ser observada no trato digestivo do inseto vetor e (2) a amastigota, ovóide ou arredondada, sem flagelo livre, e encontrada nas células fagocítico-mononucleares do hospedeiro vertebrado (Walters et al. 1989, Grimaldi & Tesh 1993). Há cerca de 20 espécies de *Leishmania* descritas que infectam o homem, sendo 15 delas de ocorrência nas Américas (Grimaldi et al. 1991, Shaw 1994, Ashford 2000, Silveira et al. 2002), compreendidas em dois subgêneros, *Leishmania* e *Viannia*, cuja distinção se baseia em sua localização no trato digestivo do vetor (Lainson & Shaw 1987).

Os flebotomíneos representam um grupo de dípteros em torno de 900 espécies reconhecidas no mundo, das quais umas 500 foram descritas na América. Nos gêneros *Lutzomyia* França, 1924 e *Phlebotomus* Rondoni & Berté, 1840 são encontrados os transmissores das leishmanioses no Novo Mundo e Velho Mundo, respectivamente (Young & Duncan 1994).

Os reservatórios das leishmânias são mamíferos silvestres pertencentes a várias ordens (Carnivora, Rodentia, Marsupialia, Edentata, Primata e Artiodactyla), que participam do ciclo primário de transmissão servindo como fonte de infecção para flebotomíneos mantendo assim o ciclo silvestre (Lainson & Shaw 1998). Contudo, sugere-se que alguns animais domésticos (cães e equinos), em determinadas situações, sejam os responsáveis pela manutenção dos ciclos peridoméstico e urbano, onde as espécies de flebotomíneos vetores estariam adaptadas ao ambiente domiciliar e/ou peridomiciliar (Rangel et al. 1990, Rangel 1995, Reithinger & Davies 1999, Brasil-SVS/MS 2007).

As leishmanioses são endêmicas em 98 países, onde há mais de 350 milhões de indivíduos em risco de contrair a doença e uma incidência de cerca de 2 milhões de novos casos por ano (0,5 milhão de leishmaniose visceral e 1,5 milhão de leishmaniose tegumentar). Estão entre as doenças mais negligenciadas do mundo, afetando a população pobre, principalmente nos países em desenvolvimento (WHO 2010). Elas estão distribuídas em todos os continentes, porém os registros de casos humanos se concentram em alguns focos principais. Estima-se que mais de 90% dos casos de leishmaniose visceral ocorram em Bangladesh, Brasil, Etiópia, Índia, Nepal e Sudão e até 90% dos casos de leishmaniose tegumentar ocorrendo no Afeganistão, Argélia, Irã, Arábia Saudita, Síria, Bolívia, Brasil, Colômbia, Nicarágua e Peru. A distribuição das leishmanioses é dinâmica: Registros recentes de casos indicam um grande aumento na incidência de leishmaniose tegumentar na Colômbia, Nicarágua e Paquistão, enquanto que a Etiópia e o Sudão tiveram epidemias da forma visceral em áreas antes não afetadas. Muitas áreas endêmicas apresentam grandes flutuações na incidência ao longo do tempo, que às vezes são atribuídas a determinados eventos, como o deslocamento populacional ou fatores climáticos (WHO 2010).

No Continente Americano, as leishmanioses tegumentar e visceral estão amplamente distribuídas, com registros de casos humanos e/ou caninos desde o extremo sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina (Lainson & Shaw 1998).

1.1.2 Leishmaniose tegumentar no Peru

A Leishmaniose tegumentar no Peru é conhecida desde tempos muito antigos. Representações de lesões semelhantes às produzidas pela doença são observadas em cerâmicas antropomórficas das culturas pré-colombianas Mochica (330 a.C.- 500 d.C.) e Chimú (1000-1400 d.C.). Lesões líticas cranianas, compatíveis com as produzidas pela forma cutâneo-mucosa, foram descritas em populações do antigo Peru (séculos XV-XVI) e relatos de cronistas e exploradores, durante a época da conquista espanhola, descrevem lesões cutâneas e cutâneo-mucosas parecidas com as da leishmaniose em habitantes locais (Lumbreras & Guerra 1985, Altamirano 2000, Sanchez et al. 2004). Atualmente representa um problema importante de saúde pública em várias regiões do Peru, com altos índices de casos em 14 departamentos do país (91,6% dos casos reportados) (RENACE 2008). Segundo dados do Ministério de Saúde do Peru, esta doença é a segunda endemia de tipo tropical e a terceira causa de morbidade por doenças transmissíveis, estando atrás apenas da malária e da tuberculose (MINSa 2005).

Há registros de sete espécies do gênero *Leishmania* como agentes etiológicos da Leishmaniose tegumentar no Peru (Figura 1.1): *Leishmania (Viannia) peruviana*, *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *Leishmania (Viannia) guyanensis*, *Leishmania (Viannia) lainsoni*, *Leishmania (Viannia) panamensis* e o híbrido entre *L. (V.) braziliensis* e *L. (V.) peruviana* (Lucas et al. 1998, Llanos-Cuentas et al. 1999, Davies et al. 2000, Tsukayama et al. 2009).

Em áreas endêmicas, são registradas duas formas principais da doença: a forma cutânea ou andina e a forma cutâneo-mucosa ou silvática, determinadas principalmente por sua distribuição geográfica e suas características clínicas (Lumbreras & Guerra 1985) (Figura 1.2).

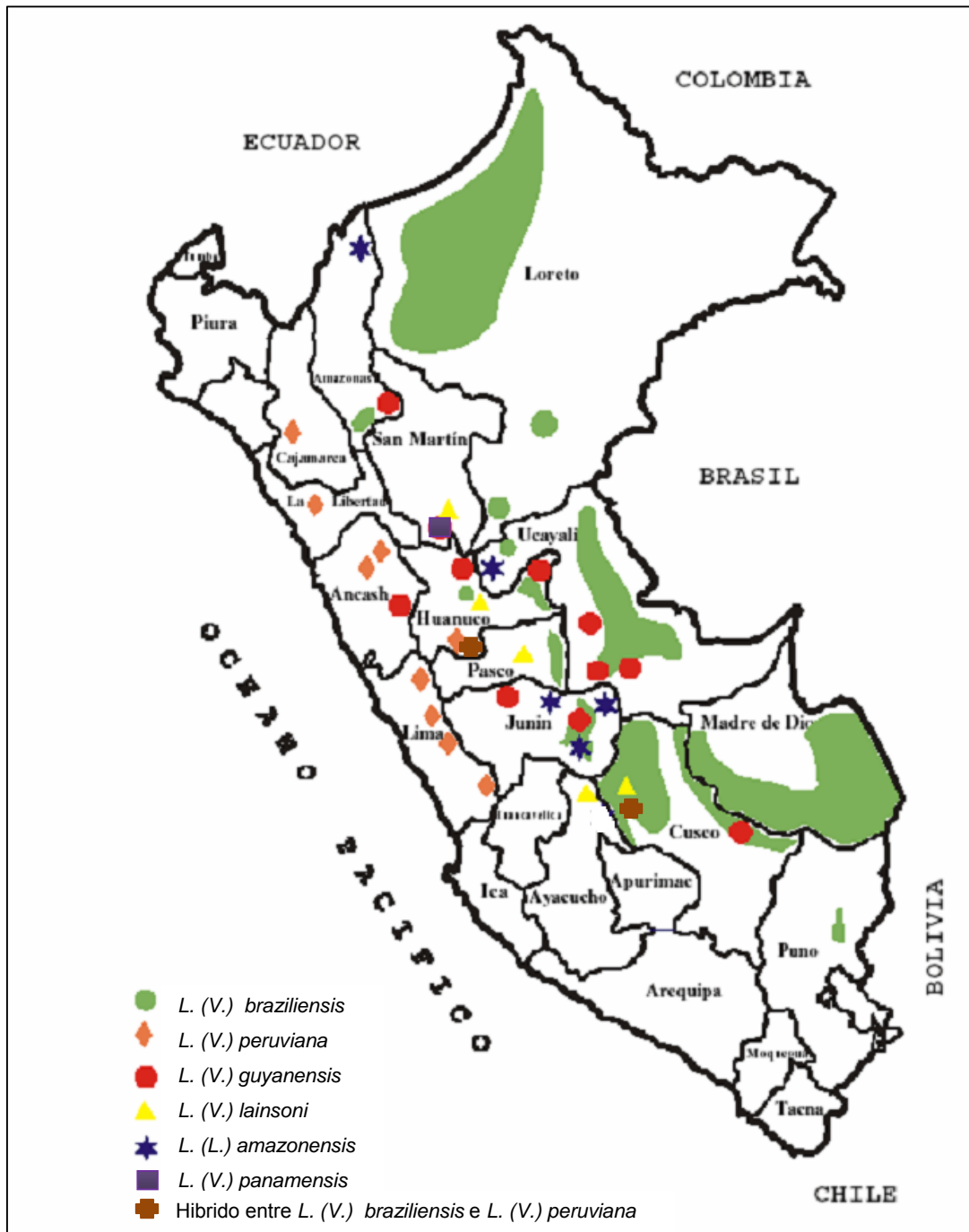


Figura 1.1: Distribuição geográfica das espécies do gênero *Leishmania* no Peru.
 Fonte: Adaptado de Lucas et al. 1998



Figura 1.2: Distribuição da Leishmaniose tegumentar no Peru. Fonte: MINSA, 2002

A forma cutânea ou andina da doença, também conhecida como “uta”, encontra-se distribuída através dos Andes e Vales interandinos entre os 600 e 3.000 metros de altitude, representando 75% dos casos reportados. *L. (V.) peruviana* foi identificada como o principal agente etiológico da doença (Arana et al. 1990). As manifestações clínicas e a severidade da infecção são variadas: as lesões podem se apresentar como pápulas, nódulos ou úlceras, geralmente pequenas, com bordas elevadas que se desenvolvem lentamente envolvendo o sistema linfático (Figura 1.3) (Ampuero 2000). Normalmente, nesta forma da doença, não se observa o comprometimento das mucosas, mas podem ocorrer em alguns casos, sendo a maioria deles extensões de úlceras cutâneas perto da mucosa nasal. A infecção por uta geralmente tem cura espontânea. Devido às crianças serem mais afetadas pela uta (Weiss 1943, Herrer 1962), acredita-se que a transmissão da doença seja principalmente intradomiciliar. Os vetores prováveis, que já foram encontrados infectados por *Leishmania*, são: *Lutzomyia ayacuchensis* (Dujardin et al. 1993, Cáceres et al. 2004), *Lutzomyia peruensis* e *Lutzomyia verrucarum* (Pérez et al. 1994, 2007). Estas espécies de flebotomíneos se caracterizam por serem endofílicas (Pérez et al. 1992, 1993, Villaseca et al. 1993) e altamente antropofílicas (Pérez et al. 1992, Ogusuku et al. 1993, 1994). O reservatório do parasito ainda não está bem definido, mas a infecção foi registrada em cães domésticos, *Canis familiaris* (Herrer 1951, Lainson & Shaw 1973, Reithinger & Davies 1999, Medina et al 2002, Reithinger et al. 2003, Sánchez et al. 2004, Vazquez 2006), em roedores, *Phyllotis andium* (Llanos- Cuentas et al. 1999), *Akodon mollis* (Arias et al. 1996) e *Rattus rattus* (Sánchez et al. 2004) e em gambá, *Didelphis albiventris* (Llanos & Davies 1992).



Figura 1.3: Leishmaniose cutânea.
Fonte: GIL-UNSAAC, 2010

A forma cutâneo-mucosa ou silvática da doença, chamada de "espundia", está geograficamente distribuída em áreas de selva baixa e alta, abaixo dos 2.000 metros de altitude, representando 25% dos casos reportados. Após uma úlcera inicial, surgem lesões metastáticas que comprometem a mucosa nasal e faríngea com destruição do septo nasal que podem se estender até à laringe na forma mais grave da doença (Figura 1.4). *L. (V.) braziliensis* é o agente etiológico responsável pela infecção (Arana et al 1990). No Peru, o vetor e o reservatório desta forma da doença não estão definidos e os estudos neste sentido são escassos. Duas espécies de flebotomíneos foram encontradas naturalmente infectadas com o parasito: *Lutzomyia yuilli yuilli*, naturalmente infectada por *L. (V.)* sp. na província de La Convención, no departamento de Cusco (Paucar 2001, Quispe & Rado 2008), e *Lutzomyia auraensis*, naturalmente infectada por *L. (V.) braziliensis* e *L. (V.) lainsoni* no departamento de Madre de Dios (Valdivia 2010). Existem registros de isolamentos de *Leishmania* spp. a partir de ratos silvestres: *Proechimys* sp. no departamento de Loreto (Braga 1987), *Oecomys concolor* na região oriental do país (Lainson & Shaw 1973) e *Hylaeamys* sp. na província de La Convención no departamento de Cusco (Quispe 2002, Soto 2010).



Figura 1.4: Leishmaniose cutâneo-mucosa
Fonte: GIL – UNSAAC, 2010

As formas cutânea e cutâneo-difusa também foram registradas em áreas de selva baixa e alta, sendo os agentes causadores a *L. (V.) guyanensis* (Braga 1987) e a *L. (V.) lainsoni* (Lucas et al 1994), para a primeira, e a *L. (L.) amazonensis* (Franke et al. 1990, Dujardin et al. 1995), para a segunda.

No Peru, observa-se um aumento dos casos da Leishmaniose tegumentar nos últimos anos (Figura 1.5). Em 1999, foram notificados 5.809 casos da doença nas duas formas clínicas; em 2002, foram reportados 7.032 casos; e, em 2007, foram reportados 10.561 casos, com uma taxa de incidência acumulada (TIA) de 19.3, 26.3 e 36.7 casos por cada 100.000 habitantes por ano, respectivamente (Figuras 1.6 e 1.7). Para o ano 2008, os departamentos em alto risco para a forma cutânea da doença (mais de 300 casos por cada 100.000 habitantes) foram Madre de Dios, San Martin e Cusco, e para a forma cutâneo-mucosa os departamentos de Cusco e Madre de Dios (RENACE 2008).

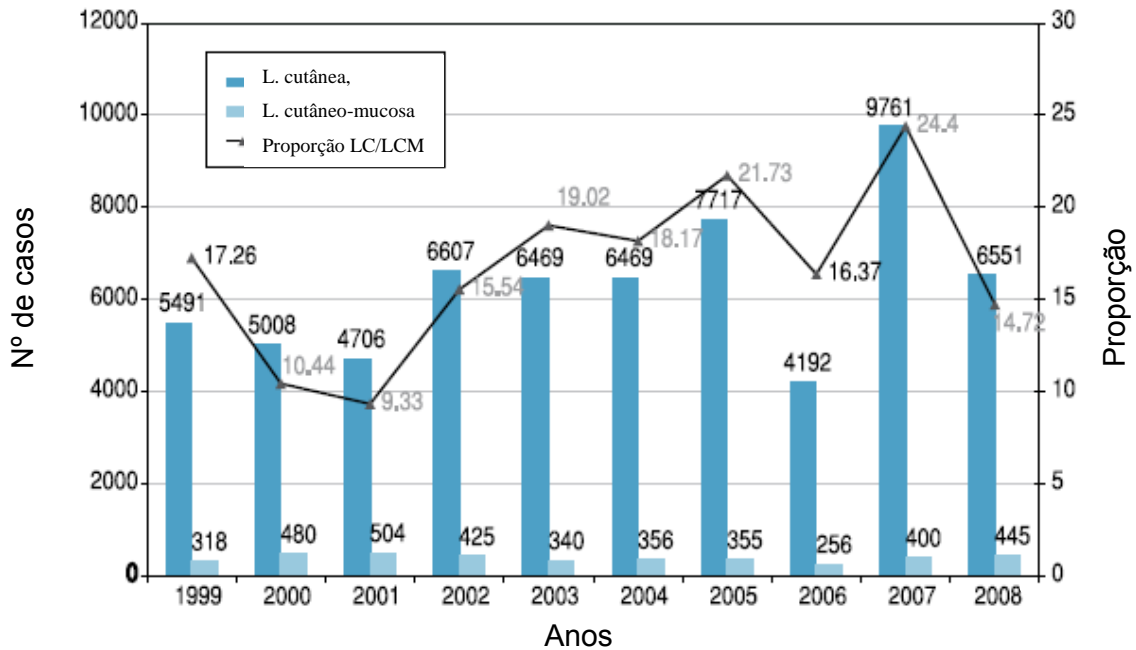


Figura 1.5: Número de casos de Leishmaniose cutânea e cutâneo-mucosa no Peru e proporção cutânea/cutâneo-mucosa (1999-2008). Fonte: RENACE 2008

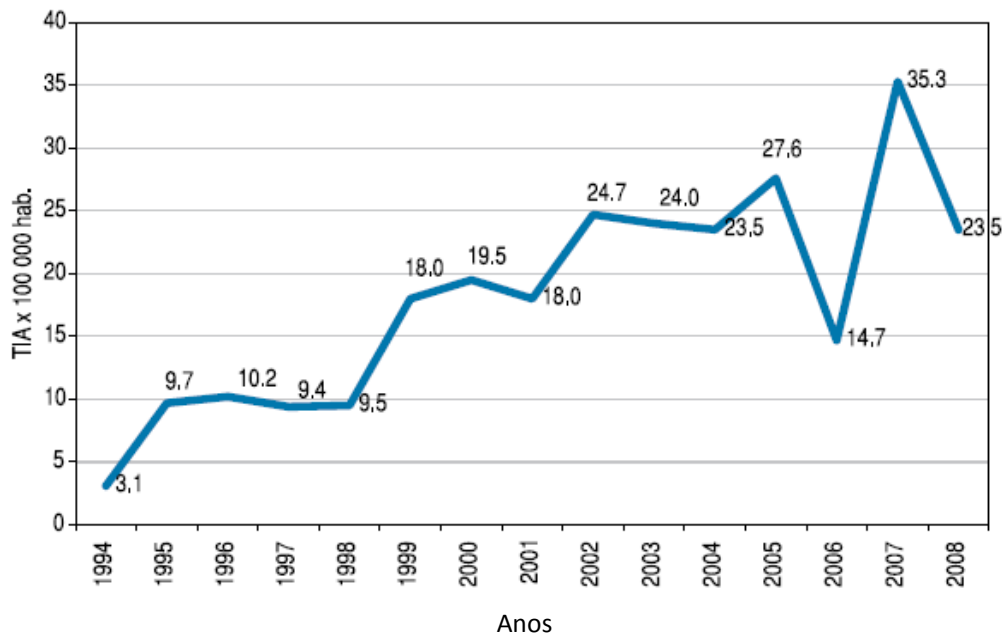


Figura 1.6: Evolução da taxa de incidência acumulada (TIA) de Leishmaniose cutânea, Peru (1994-2008). Fonte: RENACE 2008

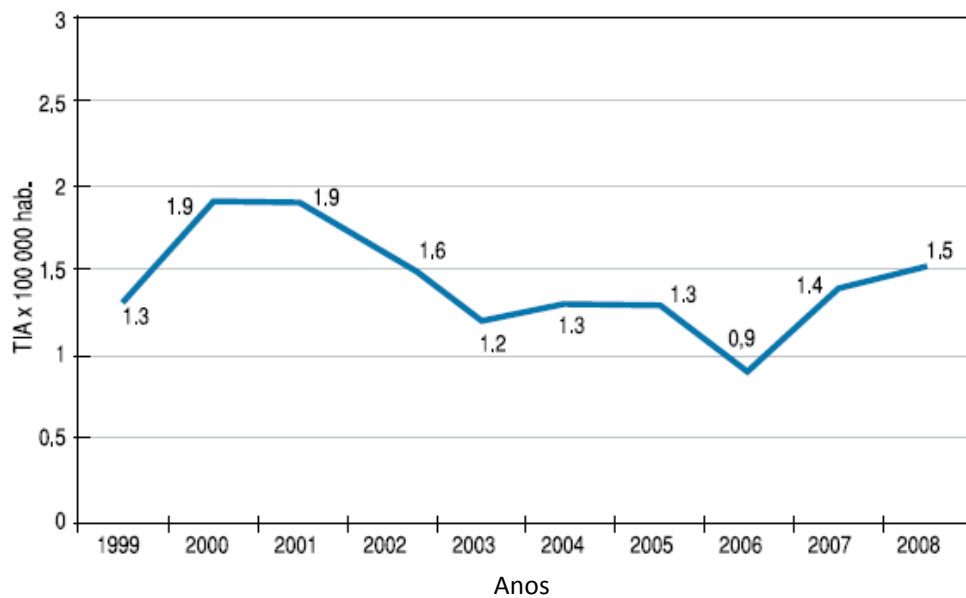


Figura 1.7: Evolução da taxa de incidência acumulada (TIA) de Leishmaniose cutâneo-mucosa, Peru (1999-2008). Fonte: RENACE 2008

O departamento de Cusco é considerado em alto risco para as duas formas da doença, ocupando o terceiro lugar de importância para a forma cutânea e o primeiro lugar para a forma cutâneo-mucosa (RENACE 2008). No ano 2010, foram registrados 959 casos de Leishmaniose tegumentar dos quais 88.5%(849 casos) corresponderam a lesões cutâneas e 11.5% (110 casos) a lesões cutâneo-mucosas com uma taxa de

incidência acumulada de 36.4 e 4.7, respectivamente (Figura 1.8 e 1.9) (DIRESA-Cusco 2010). A população mais afetada pela doença é a alto-andina que migra, procurando trabalho, às áreas de selva alta e de selva baixa para desempenhar atividades mineiras (extração de ouro) e agrícolas, o que os expõe diretamente ao flebotomíneo vetor (MINSA-OGE 2004).

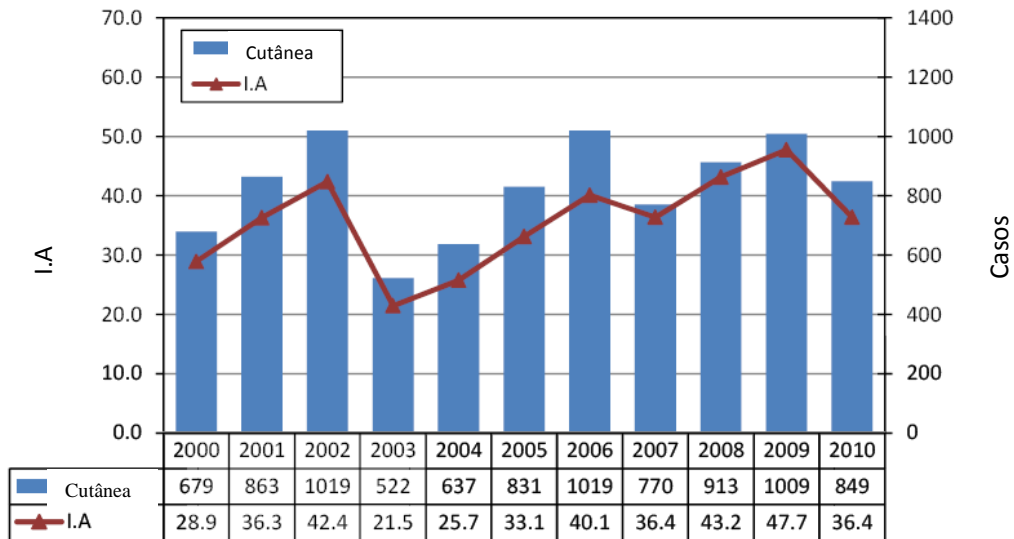


Figura 1.8: Número de casos e incidência acumulada (IA) de Leishmaniose cutânea, Cusco (2000-2010). Fonte: DIRESA-Cusco 2010

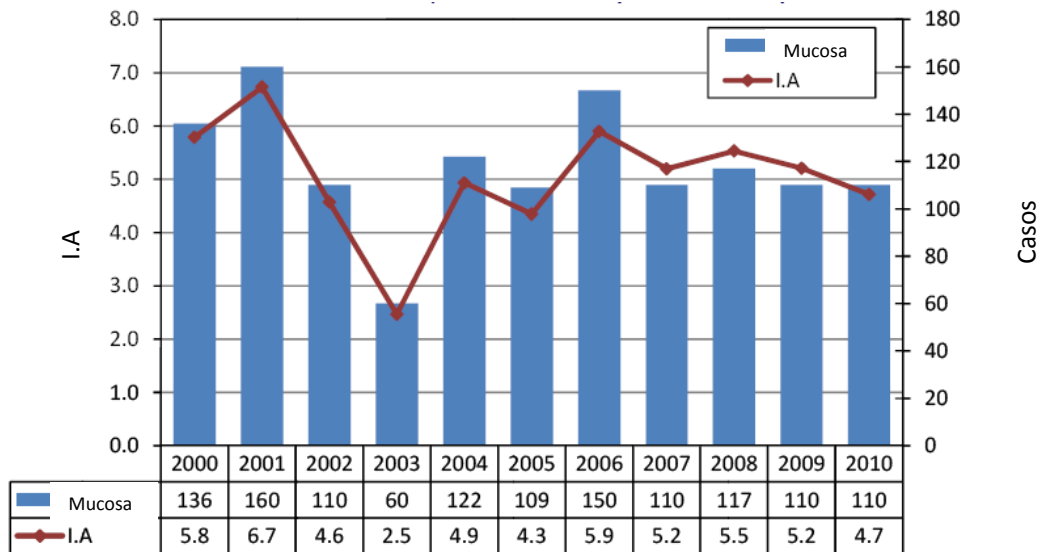


Figura 1.9: Número de casos e incidência acumulada (IA) de Leishmaniose cutâneo-mucosa, Cusco (2000-2010). Fonte: DIRESA-Cusco 2010

1.2 Flebotomíneos

1.2.1 Flebotomíneos no mundo

Os flebotomíneos são insetos de aspecto piloso e de pequeno porte que medem de 2 a 3 mm; apresentam corpo estreito, pernas longas e finas. Quando em repouso, mantêm suas asas eretas, divergentes e afastadas do corpo (Figura 1.10). As fêmeas se alimentam de sangue para a produção de ovos. Seus vôos são curtos e baixos, caracterizados por um aspecto saltitante com um raio de ação entre 200 e 500 metros (Cáceres 1996, Young & Duncan 1994, Brazil & Brazil 2003).



Figura 1.10: *Lutzomyia peruensis*
Autor: Perez

Os flebotomíneos pertencem à Ordem Diptera, Família Psychodidae, Subfamília Phlebotominae; esta última, segundo a classificação de Young & Duncan proposta em 1994, subdivide-se em seis gêneros: *Phlebotomus* (Rondani & Berté 1840), *Sergentomyia* (Franca & Parrot, 1920) e *Chinius* (Leng, 1987), com distribuição no Velho Mundo; *Lutzomyia* (Franca & Parrot, 1924) *Brumptomyia* (Franca & Parrot, 1921) e *Warileya* (Herting, 1940), distribuídos no Novo Mundo. Recentemente, foi descrito *Edentomyia* Galati, Andrade-Filho, Silva & Falcão, 2003, como um novo gênero para as Américas. A classificação utilizada no presente estudo foi a proposta por Young & Duncan (1994).

Segundo os registros fósseis em âmbar encontrados, os membros da subfamília *Phlebotominae* poderiam ter aparecido no final do Paleozóico ou no início do Mesozóico, há 250 milhões de anos aproximadamente. (Andrade Filho & Brazil 2003).

Os flebotomíneos encontram-se amplamente distribuídos e ocupam todas as zonas zoogeográficas conhecidas, alcançando latitudes até os 50° norte em França, Canadá e Libéria, e chegando, no sul, até Austrália, África do sul e Argentina. Representam um grupo com cerca de 900 espécies reconhecidas no mundo, das quais cerca de 500 foram descritas na América, sendo a região neotropical a de maior distribuição e diversidade (Killick-Kendrick 1990, Cáceres 1996)

O ciclo de vida dos flebotomíneos é holometábolo, apresentam em seu ciclo os estágios de ovo, larva (quatro estádios), pupa e adulto, o que compreende um período aproximado de 45 dias que pode variar dependendo da espécie considerada e das condições ambientais encontradas durante o desenvolvimento dos insetos (CIDEIM 1994, Brazil & Brazil 2003).

Os ovos são de forma elipsóide ou ovóide e apresentam coloração variada, tendendo a adquirir tonalidades escuras 24 horas após a expulsão do corpo do inseto. As posturas são efetuadas diretamente no solo, isoladamente ou em pequenos grupos de ovos, ficando aderidos ao substrato graças à substância produzida pelas glândulas acessórias da fêmea. As formas larvares são pequenas, brancas, de aspecto vermiforme e se alimentam de matéria orgânica em decomposição. Antes de se evoluírem para pupas, param de se alimentar e procuram locais menos úmidos, onde se fixam a um substrato. As pupas são esbranquiçadas ou amareladas, escurecendo progressivamente à medida que se aproxima a emergência do adulto, assumem posição ereta, sendo fixadas ao substrato pela extremidade posterior do corpo. Os adultos apresentam dimorfismo sexual expresso tanto na forma do corpo quanto no comportamento alimentar. Logo após emergirem da pupa, os adultos se mantêm pouco ativos, com os machos geralmente emergindo antes das fêmeas. (Barreto 1943, Brazil & Brazil 2003).

Os adultos, tanto machos quanto fêmeas, precisam de carboidratos como fonte de energia. Na natureza, as principais fontes de carboidratos são usualmente

provenientes de seiva vegetal e secreções açucaradas de afídeos ou outros homópteros. A hematofagia é característica exclusiva das fêmeas, e ocorre durante o seu período reprodutivo. A alimentação sanguínea é telmofágica, a fêmea suga o sangue de uma hemorragia produzida pela ação cortante de suas peças bucais na rede de capilares do hospedeiro. Elas podem usar como fonte de sangue todas as ordens de vertebrados, no entanto há espécies mais ecléticas do que outras, quanto às preferências alimentares (Barreto 1943, CIDEIM 1994, Falqueto 1995, Brazil & Brazil 2003).

Os flebotomíneos apresentam hábitos crepusculares e noturnos. Quando não estão em atividade, refugiam-se em locais escuros, úmidos e abrigados, como fendas de rochas, paredes ou troncos de árvores, pocilgas e galinheiros; onde podem proteger-se das mudanças bruscas de temperatura e umidade do ambiente. Os abrigos utilizados pelos flebotomíneos adultos variam de acordo com o microhabitat, a estação do ano, a umidade relativa do ar e a espécie. As formas imaturas se desenvolvem em locais úmidos, sombreados e ricos em matéria orgânica em decomposição; como as tocas de animais, restos de folhas caídas, raízes de árvores ou embaixo de pedras, nas fendas das rochas, currais e chiqueiros (Aguiar & Vilela 1987, Cáceres 1996, Brazil & Brazil 2003).

1.2.2 Flebotomíneos no Peru

No Peru, os flebotomíneos, estão distribuídos nos vales interandinos (chegando até os 3500 m de altitude) e em áreas de selva alta e baixa, onde se encontra uma grande diversidade de espécies. Sua densidade e sazonalidade estão fortemente influenciadas pelas estações seca e chuvosa (Ogusuku et al 2008).

São conhecidos popularmente com diferentes nomes regionais, sendo estes: “espundia”, “jején”, “mantablanca”, “mosca”, “plumilla”, “puma”, “rapacha”, “titi”, “titira”, “uta”, “uta venenosa”, “wanwa”, “angelillos”, “capa blanca”; “pumamanchachi”, “pumakanikum”, “chuspi”, “lalapo” e “quitis” (Perez 1995, Cáceres et al 2000).

Os estudos dos flebotomíneos se iniciaram com Townsend em 1912. Na atualidade já foram registradas 173 espécies: 6 espécies de *Brumptomyia*, 5 de *Warileya* e 162 de *Lutzomyia*.

No departamento de Cusco, os estudos entomológicos realizados por diferentes pesquisadores (Llanos 1973, 1975, Tejada 1973, Martins et al 1975, Pérez et al 1991, Young & Duncan 1994, Ogusuku et al. 1999, Paucar 2001, Quispe W & Rado 2008, Quispe 2009 e Quispe 2010) e os dados fornecidos pela Direção Regional de Saúde – Cusco, registram um total de 75 espécies de flebotomíneos, dos quais 50 estão presentes na Província de La Convención, área de estudo do presente trabalho (Figura 1.11).

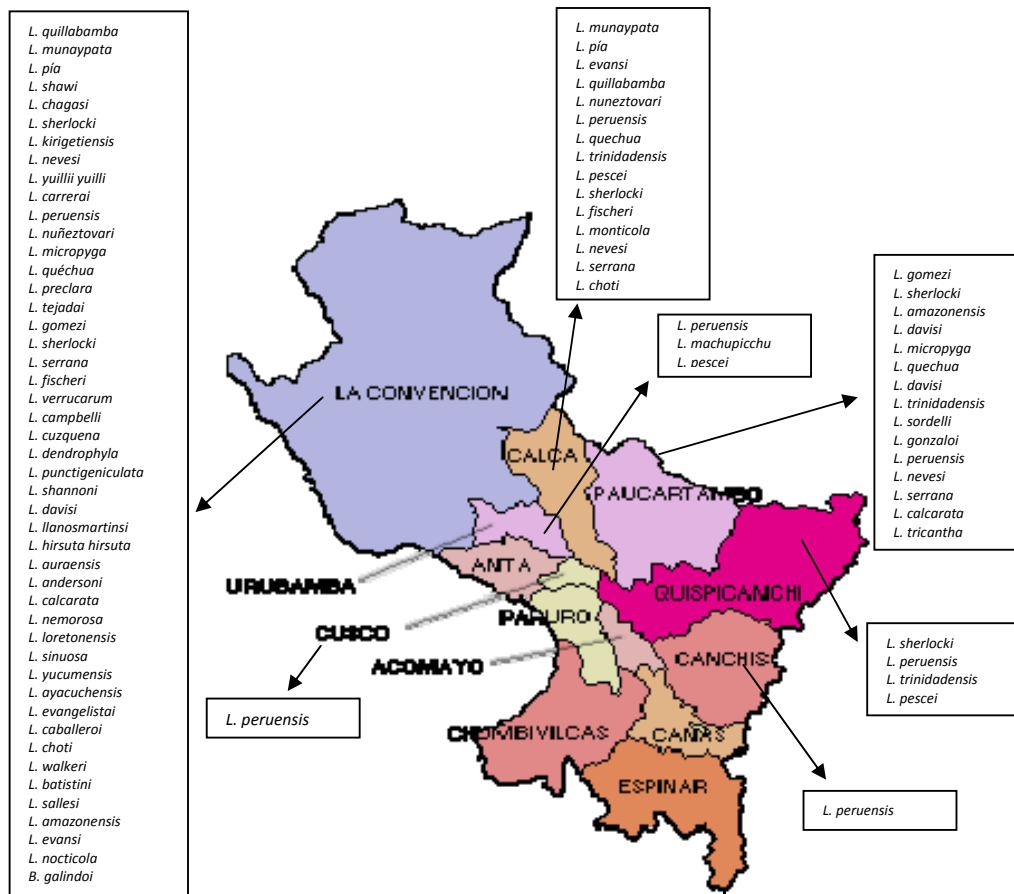


Figura 1.11: Distribuição das principais espécies de flebotomíneos em Cusco, Peru
 Fonte: Adaptado de Rede Entomológica – DIRESA - CUSCO, 2004.

A seguir, se apresenta uma lista das espécies de flebotomíneos registradas no Peru até 2011, elaborada com base em dados encontrados na literatura (Perez 1995, Cáceres 2002, Fernandez 2008, Galati 2010, Pérez 2011), tais espécies foram organizadas em gêneros e subgêneros, seguindo a classificação proposta por Young & Duncan (1994), com exceção daquelas que foram descritas segundo a classificação proposta por Galati (2003).

Gênero *WARILEYA* (Hertig, 1948)

W. euniceae Fernández, Carbajal, Astete & Wooster, 1998

W. lumbrerasi Ogasaku, Pérez, Davies & Villaseca, 1996

W. phlebotomanica Hertig, 1948

W. rotundipennis Fairchild & Hertig, 1951

Gênero *BRUMPTOMYIA* (França & Parrot, 1921)

B. avellari (Costa Lima, 1932)

B. galindoi (Fairchild & Hertig, 1947)

B. hamata (Fairchild & Hertig, 1947)

B. pentacantha (Barretto, 1947)

B. troglodytes (Lutz, 1922)

Gênero *LUTZOMYIA* (França, 1924).

Subgênero *LUTZOMYIA* França, 1924.

L. battistinii (Hertig, 1943).

L. bicornuta (Blancas & Herrer, 1960).

L. evangelistai Martins & Frahia, 1971.

L. gomezi (Nitzulescu, 1931).

L. lichyi (Floch & Abonnenc, 1950)

L. marinkellei Young, 1979

L. sherlocki Martins, Silva & Falcao, 1971.

Subgênero *SCIOPEMYIA* Barretto, 1962.

L. microps (Mangabeira, 1942)

L. nematoducta (Young & Arias, 1984)

L. preclara (Young & Arias, 1984)

L. servulolimai (Damasceno & Causey, 1945)

L. sordelli (Shannon & Del Ponte, 1927)

L. vattierae (Le Pont & Desjeux, 1992)

Grupo *MIGONEI* Theodor, 1965.

L. andersoni (Le Pont & Desjeux, 1988)

L. bacula (Martins, Falcão & Silva, 1965)

L. cortelezii (Bréthes, 1923)

L. migonei (França, 1920)

L. sallesi (Galvão & Coutinho, 1939)

L. termitophila (Martins, Falcão & Silva, 1964)

L. walkeri (Newstead, 1914)
L. williamsi (Damasceno, Causey & Arouck, 1945)

Grupo *VERRUCARUM* Theodor, 1965.
L. deorsa Pérez, Ogusuku & Young, 1991.
L. evansi (Nuñez-Tovar, 1924).
L. nevesi (Damasceno & Arouck, 1956).
L. nuneztovari (Ortiz, 1954).
L. serrana (Damasceno & Arouck, 1949).
L. suapiensis (Le Pont, Torrez-Espejo & Dujardin, 1997)
L. tihuiliensis (Le Pont, Torrez-Espejo & Dujardin, 1997)
L. tocaniensis (Le Pont, Torrez-Espejo & Dujardin, 1997)
Lutzomyia verrucarum (Townsend, 1913).

Grupo *SAULENSIS* Lewis, Young, Fairchild & Minter, 1977.
L. saulensis (Floch & Abonnenc, 1944)
L. wilsoni (Damasceno & Causey, 1945)

Subgénero *PINTOMYIA* Costa Lima, 1932.
L. fischeri (Pinto, 1926)

Subgénero *PRESSATIA* Mangabeira, 1942.
L. calcarata (Martins & Silva, 1964)
L. choti (Floch & Abonnenc, 1941)
L. triacantha (Mangabeira, 1942)
L. trispinosa (Mangabeira, 1942)

Grupo *BAITYI* Theodor, 1965.
L. gorbitzi Blancas, 1960.
L. moucheti Pajot & LePont, 1978.

Subgénero *EVANDROMYIA* Mangabeira, 1941.
L. infraspinosa (Mangabeira, 1941).
L. monstruosa Lewis et al. 1977
L. sipani Fernández, Cardenas, Alexander & Need, 1994.
L. cerqueirai (Causey & Damasceno, 1945)

Subgénero *VIANNAMYIA* Mangabeira, 1941.
L. caprina (Osorno, Morales & de Osorno, 1972)
L. furcata (Mangabeira, 1941).
L. tuberculata (Mangabeira, 1941)

Subgénero *PSATHYROMYIA* Barretto, 1962.
L. abbonenci (Floch & Chassignet, 1947)
L. campbelli (Damasceno, Causey & Arouck, 1945)
L. cuzquena (Martins, Llanos & Silva, 1975)
L. dendrophyla (Mangabeira, 1942)
L. lutziana (Costa Lima, 1932)
L. punctigeniculata (Floch & Abonnenc, 1944)
L. scaffii (Damasceno & Arouck, 1955)
L. shannoni (Dyar, 1929)

Grupo *ARAGAOI* Theodor, 1965.

- L. abunaensis* (Martins, Falçao & Silva, 1965)
- L. antezanai* (Le Pont, Dujardin, Mouchet & Desjeux, 1990)
- L. aragaoi* (Costa Lima, 1932).
- L. barrettoi barrettoi* (Mangabeira, 1942).
- L. brasiliensis* (Costa Lima, 1932).
- L. coutinhoi* (Mangabeira, 1942).
- L. runoides* (Fairchild & Hertig, 1953).

Grupo *DREISBACHI* Lewis, Young, Fairchild & Minter, 1977.

- L. dreisbachi* (Causey & Damasceno, 1945)
- L. rugarupa* (Martins, Llanos & Silva, 1976)

Subgênero *TRICHOPYGOMYIA* (Barreto, 1962)

- L. elegans* (Martins, Llanos & Silva, 1976)
- L. gantieri* (Le Pont & Desjeux, 1987)
- L. turelli* (Fernandez, Galati, Carbajal & Watts, 1998)
- L. witoto* (Young & Morales, 1987)

Subgênero *NYSSOMYIA* Barretto, 1962.

- L. anduzei* (Rozeboom, 1942).
- L. antunesi* (Coutinho, 1939).
- L. flaviscutellata* (Mangabeira, 1942).
- L. hernandezii* (Ortiz, 1965)
- L. richarwardi* (Ready & Frahia, 1981)
- L. shawi* (Frahia, Ward & Ready, 1981)
- L. olmeca bicolor* (Fairchild & Theodor, 1971).
- L. olmeca nociva* (Young & Arias, 1982).
- L. reducta* (Feliciangeli, Ramírez-Pérez & Ramírez, 1988)
- L. trapidoi* (Fairchild & Hertig, 1952)
- L. umbratilis* (Ward & Frahia, 1977)
- L. whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939)
- L. yuilli pajoti* (Abonnenc, Léger & Fauran, 1979)
- L. yuilli yuilli* (Young & Porter, 1972).
- L. intermedia* (Lutz & Neiva, 1912)

Subgênero *TRICHOPHOROMYIA* Barretto, 1962.

- L. acostai* (Llanos, 1966)
- L. arevaloi* Galati & Caceres, 1999
- L. auraensis* (Mangabeira, 1942)
- L. brachipyga* (Mangabeira, 1942)
- L. cellulana* (Young, 1979)
- L. clitella* (Young & Pérez, 1994)
- L. howardi* (Young, 1979)
- L. incasica* (Llanos, 1966)
- L. loretonensis* (Llanos, 1964)
- L. nemorosa* (Young & Pérez, 1994)
- L. octavioi* (Vargas, 1949)
- L. omagua* (Llanos & Silva, 1976)
- L. pastazaensis* Fernández, Carbajal, Alexander & Need, 1994.
- L. saltuosa* (Young, 1979)

- L. sinuosa* (Young & Duncan, 1994)
- L. ubiquitous* (Mangabeira, 1942).
- L. velascoi* (Le Pont & Desjeux, 1992)

Subgênero *PSYCHODOPYGUS* Mangabeira, 1941.

- L. amazonensis* (Root, 1934).
- L. ayrozai* (Barretto & Coutinho, 1940).
- L. carrerai carrerai* (Barretto, 1946).
- L. chagasi* (Costa Lima, 1941).
- L. claustris* (Abonnenc, Léger & Fauran, 1979)
- L. corossoniensis* (Le Pont & Pajot, 1978)
- L. davisii* (Root, 1934)
- L. geniculata* (Mangabeira, 1941)
- L. guyanensis* (Floch & Abonnenc, 1941)
- L. hirsuta hirsuta* (Mangabeira, 1942)
- L. lainsoni* (Fraiha & Ward, 1974)
- L. llanosmartinsi* Frahia & Ward, 1980
- L. nocticola* (Young, 1973)
- L. panamensis* (Shannon, 1926)
- L. paraensis* (Costa Lima, 1941)
- L. recurva* (Young, 1973)
- L. squamiventris squamiventris* (Lutz & Neiva, 1912)
- L. yucumensis* (Le Pont, Gaillard, Tibayrenc & Desjeux, 1986)

Subgênero *MICROPYGOMYIA* Barretto, 1962.

- L. cayennensis cayennensis* (Floch & Abonnenc, 1941).
- L. micropyga* (Mangabeira, 1942)
- L. absonodonta* (Feliciangeli, 1995)

Grupo *PILOSA* Theodor, 1965

- L. pilosa* (Damasceno & Causey, 1944)

Grupo *OSWALDOI* Theodor, 1965.

- L. longipennis* (Barreto, 1946)
- L. machupicchu* Martins, Llanos & Silva, 1975.
- L. quechua* Martins, Llanos & Silva, 1975.
- L. rorotaensis* (Floch & Abonnenc, 1944).
- L. trinidadensis* (Newstead, 1912).

Subgênero *HELCOCYRTOMYIA* Barretto, 1962.

- L. ayacuchensis* Cáceres & Galati, 1988.
- L. blancasi* Galati & Cáceres, 1989.
- L. caballeroi* Blancas, Cáceres & Galati, 1989.
- L. castanea* Galati & Cáceres, 1994.
- L. chavinensis* Perez & Ogusuku, 1999
- L. erwindonaldi* Ortiz, 1978
- L. gonzaloi* Ogusuku, Canales & Perez, 1997
- L. hartmanni* (Fairchild & Hertig, 1957)
- L. herreri* Galati & Cáceres, 2003
- L. guderiani* Torres-Espejo, Cáceres & Le Pont, 1995
- L. imperatrix* (Alexander, 1944).
- L. kirigetiensis* Galati & Cáceres, 1992.

L. monzonensis Oguzuku, Canales & Pérez, 1997
L. munaypata Ogusuku, Chevarría, Porras & Pérez, 1999
L. noguchii (Shannon, 1929)
L. osornoi (Ristorcelli & Van Ty, 1941)
L. pallidithorax Galati & Cáceres, 1994.
L. peruensis (Shannon, 1929)
L. pescei (Hertig, 1943)
L. quillabamba Ogusuku, Chevarría, Porras & Pérez, 1999
L. reclusa Fernández & Rogers, 1991.
L. rispaili Torres-Espejo, Cáceres & Le Pont, 1999
L. scorzai (Ortiz, 1965)
L. tejadai Galati & Cáceres, 1990
L. tortura Young & Rogers, 1984
L. wattsi Fernandez, Carbajal, Astete & Wooster, 1998

Especiés não agrupadas

L. monticola (Costa Lima, 1932)
L. oligodonta Young, Pérez & Romero, 1985
L. pia (Fairchild & Hertig, 1961)
L. pisuquia (Ogusuku, Guevara, Revilla, Inga & Perez, 2001)

Espécies descritas segundo a classificação de Galati (2003)

Warileya leponti Galati & Cáceres, 1999
Brumptomyia quimperi Galati & Cáceres, 1999
Pifanomyia cajamarcensis Galati, Cáceres & LePont, 1995.
Pifanomyia maranoensis Galati, Cáceres & LePont, 1995.
Pifanomyia robusta Galati, Cáceres & LePont, 1995
L (Helcocyrtomyia) adamsi Fernandez, Galati, Carbajal, Wooster & Watts, 1998
Lutzomyia chotensis Galati, Cáceres & Zorrilla, 2003
Micropygomyia ancashensis Galati & Cáceres, 2007

1.2.3 Flebotomíneos como vetores de doenças no Peru

A importância dos flebotomíneos deve-se, principalmente, ao papel que cumprem como vetores naturais de alguns agentes etiológicos de doenças humanas e animais, como protozoários do gênero *Leishmania* e outros tripanosomatídeos, bactérias do gênero *Bartonella* e numerosos arbovírus. No entanto, também são considerados importantes pelos efeitos que ocasionam diretamente nas pessoas, com suas picadas dolorosas e causadoras de reações alérgicas. Além do mais, na literatura tem sido relatados isolamentos de outros microorganismos em flebotomíneos neotropicais que começam a chamar a atenção dos pesquisadores sobre o seu papel na transmissão desses (Sherlock 2003, Shaw et al. 2003).

No Peru, os flebotomíneos são responsáveis pela transmissão de duas doenças que afetam o homem: a Leishmaniose tegumentar e a Bartonelose, produzidas por *Leishmania* spp. e *Bartonella bacilliformis*, respectivamente.

1.2.3.1 Vetores da Leishmaniose tegumentar no Peru

A transmissão da leishmaniose ao homem requer a coincidência em tempo e espaço de três componentes da cadeia epidemiológica da doença: o reservatório, o vetor e o homem (Perez 1995). Neste sentido, as características atribuídas aos vetores da Leishmaniose foram revisadas por Killick-Kendrick & Ward (1981), Lewis & Ward (1987), Young & Lawyer (1987) e Killick-Kendrick (1990). Estes pesquisadores sugeriram critérios a serem levados em conta para a incriminação de espécies de flebotomíneos como vetores da doença, sendo, entre eles, os geralmente aceitos: a antropofilia, a infecção natural do flebotomíneo com a mesma espécie de *Leishmania* que infecta o homem, a preferência alimentar pelos hospedeiros reservatórios, o desenvolvimento propício do parasito dentro do inseto vetor até ser transmitido a um hospedeiro vertebrado pela picada e a coincidência na distribuição do vetor, do parasito e da doença (Killick-Kendrick 1990, Perez 1995, WHO 2010).

A competência vetorial de uma espécie de flebotomíneo é determinada pela capacidade da *Leishmania* em sobreviver, se multiplicar e se diferenciar dentro do trato digestivo do vetor, de modo que seja finalmente transmitida aos hospedeiros vertebrados. Tal processo depende de fatores intrínsecos do flebotomíneo (fatores genéticos, enzimas digestivas e presença de sítios específicos de adesão no intestino para lipofosfoglicanos presentes na superfície do parasito) que determinarão sua capacidade de ser susceptível ou refratário ao desenvolvimento das diferentes espécies de *Leishmania*. Estes fatores e as evidências fósseis em âmbar que registram flebotomíneos neotropicais como vetores de tripanosomatídeos no período Terciário médio, sugerem a existência de um processo de coevolução entre as espécies de *Leishmania* e seus vetores (Wu & Tesh 1990, Pimenta et al. 2003, Poinar 2008 , WHO 2010).

Com os recentes avanços na tipificação bioquímica e molecular dos parasitos e na taxonomia dos flebotomíneos, o papel vetorial das diferentes espécies vem se

esclarecendo. Das aproximadamente 900 espécies de flebotomíneos, apenas 93 são vetores comprovados ou prováveis de *Leishmania*, porém, mais espécies vão se adicionando constantemente a esta lista, no entanto existem ainda várias áreas endêmicas da doença onde o vetor é desconhecido (WHO 2010).

O estudo dos vetores da Leishmaniose no Peru começou nos Andes. Herrero, em 1982, isolou *Leishmania* sp. a partir de *L. peruensis* no vale de Rimac, em Lima. Cruzado, em 1987, registra espécimes de *L. peruensis* infectados com *Leishmania* no departamento de La Libertad. Perez, em 1991, descreve dois isolamentos de *Leishmania*: o primeiro (cepa Lp52), por inoculação em hámsters de pools de homogeneizados de *L. peruensis* positivos (0.34%); o segundo, de um hámster sentinela no vale de Huayllacallan, em Ancash. A cepa Lp52 foi recentemente caracterizada pela técnica de PCR-RFLP como *L.(L.) guyanensis*. Davies et al.(1993), comprovaram a antropofilia de *L. peruensis* e *L. verrucarum*; encontraram indivíduos da primeira infectados com *L.(L.) peruviana* e atribuíram à segunda um papel potencial na transmissão da doença. Perez et al.(1994), mediante a utilização da técnica de PCR, encontraram positividade para *L. (V.)* sp. em espécimes de *L. peruensis* e *L. verrucarum*. Cáceres (2002), a partir de 1849 espécimes dissecados de *L. ayacuchensis*, obteve 5 (0,27%) positivos para *Leishmania* sp. por PCR, sendo 4 deles caracterizados como *L. peruviana* mediante técnicas bioquímicas e moleculares. Perez et al. (2007), isolaram *L. (V.) peruviana*, a partir de um espécime de *L. peruensis* de 75 indivíduos coletados em Chaute, Huarochiri, em Lima e Kato et al. (2008) identificaram *L. (V.) peruviana* em um de 462 espécimes de *L. peruensis* coletados no departamento de Ancash.

Nas áreas de selva alta e selva baixa, os estudos são escassos. Existem estudos preliminares realizados pelo grupo de pesquisa de Leishmaniosis da *Facultad de Ciencias Biológicas* da *Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco* e do *Centro de Investigación Médica de la Marina de los Estados Unidos*, no Peru, que descrevem a *L. yuilli yuilli* infectada naturalmente com *Leishmania (V.)* sp. (Paucar 2001, Quispe & Rado 2008) na província de La Convención, Cusco e *L. auraensis* infectada naturalmente com *L. (V.) braziliensis* e *L. (V.) lainsoni* (Valdivia 2010) no departamento de Madre de Dios, respectivamente.

Considerando que a maioria dos pesquisadores tem focado seus estudos nos vales ocidentais e em alguns vales interandinos, pouco se sabe em relação à participação das diferentes espécies de flebotomíneos na transmissão da Leishmaniose tegumentar em áreas de selva alta e selva baixa. Neste sentido as espécies: *L. ayacuchensis*, *L. peruensis*, *L. verrucarum*, *L. tejadai* e *L. pescei* são consideradas, pelo Instituto Nacional de Saúde, como espécies vetoradas da doença em sua forma cutânea ou andina (Figura 1.12) (INS 2002).

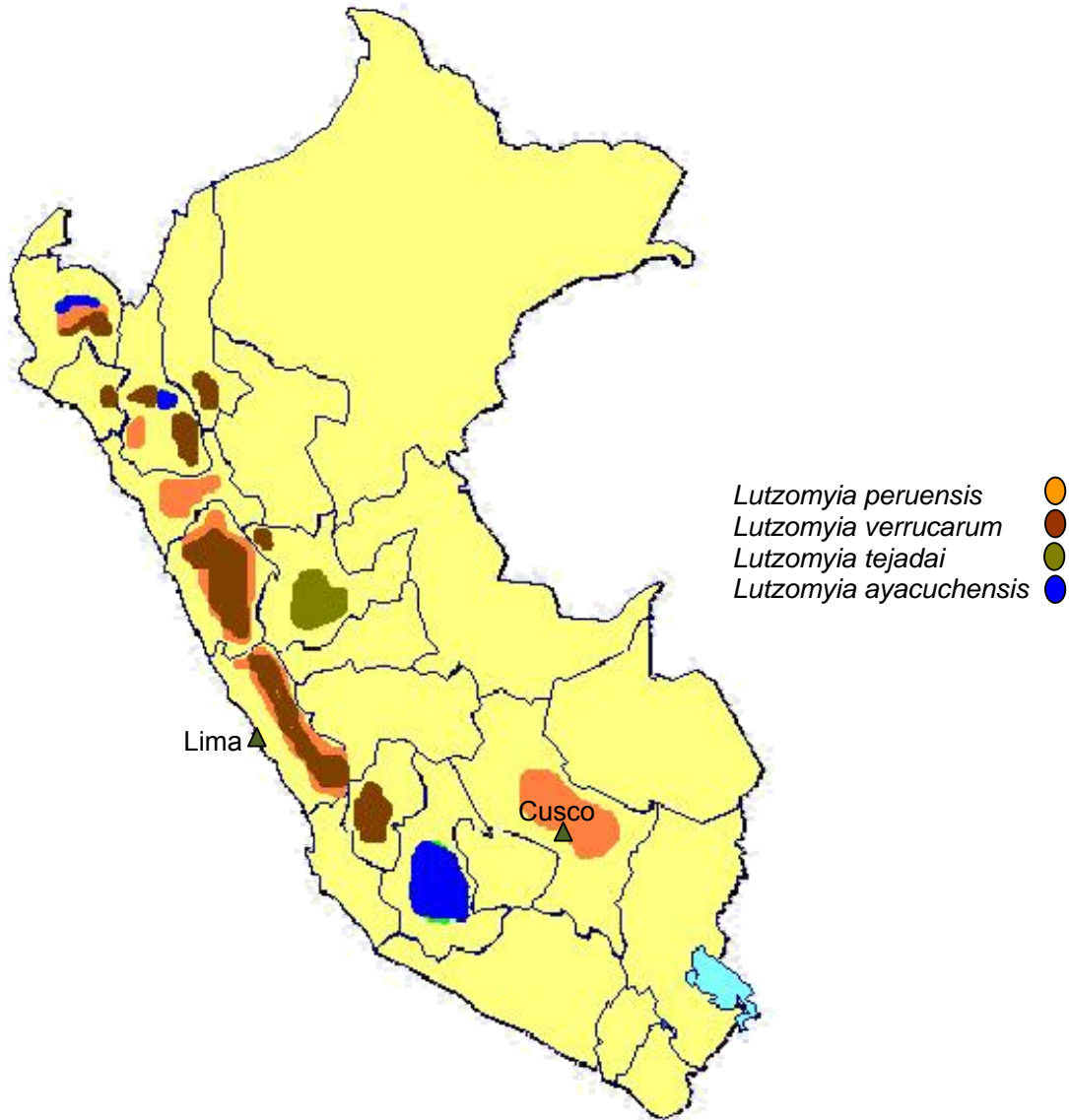


Figura 1.12: Distribuição dos principais vetores da Leishmaniose tegumentar no Peru
Fonte: Perez & Ogusuku 2002

1.2.3.2 Vetores da Bartonelose no Peru

A Bartonelose, também chamada de "verruga peruana", "fiebre de la Oroya" ou "enfermedad de Carrión", é uma doença endêmica de áreas andinas do Peru, Equador e Colômbia. No Peru, foi descrita desde a época pré-colombiana com registros de cerâmicas e esculturas de pedra que apresentavam lesões sugestivas de verrugas; assim mesmo, no império Inca, a morte de Huayna Capac foi atribuída a esta doença. Em 1870, após o início da construção da ferrovia entre Lima e La Oroya, ocorreu uma grande epidemia conhecida como "fiebre de la Oroya", responsável pela morte de 7.000 operários. Este fato motivou médicos e estudantes de medicina à pesquisa desta nova doença até que, em 1885, o estudante de medicina Daniel Alcides Carrión, após ter auto-inoculado uma amostra de um paciente afetado pela "verruga peruana", descreveu a história natural da doença, associando as duas fases da mesma (fase aguda ou febril e fase crônica ou eruptiva). Este ato custou a vida de Alcides Carrión que, posteriormente, recebeu o título de Pai da Medicina Peruana (Schultz 1968, Alexander 1995, Cueto 1996, INS 2001).

No Peru, a distribuição da Bartonelose estava restrita classicamente aos vales interandinos (800 – 3.000 m). No entanto, na última década, a expansão da doença para novas áreas de transmissão (áreas de selva alta) tornou-se evidente e o incremento no número de casos foi significativo. (INS 2002).

O agente etiológico da bartonelose é *Bartonella bacilliformis*, uma bactéria da Ordem Rickettsiales. A doença apresenta duas fases bem diferenciadas. A primeira fase ou fase aguda, de alta letalidade, se caracteriza pela presença de febres altas e consecutivas, com dor nas articulações dos braços e das pernas e anemia severa; nesta fase, a bactéria invade e destrói os glóbulos vermelhos. A segunda fase ou fase crônica e eruptiva, de baixa letalidade, apresenta erupções ou verrugas, as mesmas que, quando caem, desaparecem sem deixar cicatrizes. Estas verrugas são geradas pela proliferação de células produzida pela adesão da bactéria às células endoteliais (Perez 1995, Maguiña & Gotuzo 2000).

O único reservatório comprovado para a doença é o homem, mas não se descarta a possibilidade de outro reservatório animal (Maguiña & Gotuzo 2000, INS 2001).

Em áreas endêmicas do Peru, o principal vetor da Bartonelose é *L. verrucarum*. Esta espécie foi o primeiro flebotomíneo registrado e descrito no Peru por Townsend em 1913, que também associou esta espécie à transmissão da doença. *L. verrucarum* é antropofílico, com hábitos endofílicos e próprio de ambientes rurais e periurbanos. Recentemente foi encontrado no departamento de Ancash naturalmente infectado com *Bartonella bacilliformis*, mediante a utilização da técnica de PCR (Perez 1995, INS 2002).

Outras espécies de flebotomíneos que participam na transmissão da doença são: *L. peruensis*, presente nos vales ocidentais e interandinos, encontrada naturalmente infectada por *B. bacilliformis* na ocorrência de um surto da doença no departamento de Cusco (Villaseca et al. 1999); *Lutzomyia maranonensis* e *Lutzomyia robusta*, a primeira altamente antropofílica e zoofílica, e ambas distribuídas em áreas endêmicas onde o principal vetor da doença está ausente (Cáceres et al. 1997); *Lutzomyia gorbitzi*, adaptada a baixas altitudes (entre 800 a 2.200 m), presente em áreas endêmicas; *Lutzomyia serrana* e *Lutzomyia pescei*, espécies consideradas como potenciais vetores da Bartonelose por estarem associadas à ocorrência de surtos da doença (INS 2002).

2. JUSTIFICATIVA

A província de La Convención, no departamento de Cusco-Peru, é a zona endêmica de Leishmaniose tegumentar que apresenta a maior prevalência da doença no departamento, sendo o posto de saúde de Kepashiato, da Microrede de Kiteni, o que registra o maior número dos casos.

Contudo, muito pouco se sabe sobre a eco-epidemiologia da parasitose na área, e considerando os estudos preliminares que demonstraram a presença de alguns potenciais vetores e reservatórios de *Leishmania* spp., entende-se que pesquisas com foco nos estudos da vigilância entomológica permitirão direcionar as medidas preventivas e de controle do vetor. As investigações objeto deste estudo estão no âmbito do convênio Técnico - Científico entre a *Universidad de San Antonio Abad del Cusco* (Perú) e a Fundação Oswaldo Cruz (Brasil), representado pelo Laboratório de Transmissores de Leishmanioses-IOC, firmando a parceria entre os dois países a partir do intercâmbio e troca de experiências, tecnologia e formação de recursos humanos.

Cabe ressaltar o interesse da Direção de Saúde Ambiental de Cusco, órgão do Ministério de Saúde, nestes estudos que contribuirão com o aprimoramento do Programa de Prevenção e Controle da Leishmaniose tegumentar em Cusco, Peru.

3. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Ampliar os conhecimentos sobre a fauna flebotomínica do Peru, com base em estudos realizados na Província de La Convención, Cusco.

Objetivos Específicos

- Identificar a fauna flebotomínica, sugerindo os potenciais vetores;
- Avaliar a distribuição das espécies de flebotomíneos, por sítios de coletas;
- Avaliar os índices de abundância das espécies de flebotomíneos;
- Estudar a frequência horária das espécies de flebotomíneos em associação com dados climatológicos (temperatura e umidade relativa);
- Realizar pesquisa de infecção natural por *Leishmania* spp. nas fêmeas de flebotomíneos, com posterior caracterização do parasita.
- Avaliar fatores ambientais associados à presença do vetor no peri-domicílio;
- Verificar a variação ocorrida na fauna de flebotomíneos em área de lazer da comunidade, a partir de 2005.

4. METODOLOGIA

4.1 Área de Estudo

O Peru é o terceiro maior país da América do Sul, com uma área de 1.280.000 km² de superfície, 24 subdivisões políticas, nomeadas como departamentos, e 28.220.764 habitantes. Apresenta três regiões topográficas: uma estreita planície costeira (11% da superfície); uma cadeia de montanhas, a Cordilheira dos Andes (26% da superfície); e uma área de florestas tropicais (63% da superfície), além de 11 eco-regiões, 84 zonas de vida e 28 tipos de climas diferentes (Brack 1985, INEI 2007).

O departamento de Cusco está localizado na zona Sul-oriental do país com uma superfície de 71.986,5 km² e uma altitude média de 3.399 m. Politicamente, é dividido em 13 províncias e 108 distritos, e tem uma população de 1.171.403 habitantes. Ocupa as regiões de serra (Cordilheira oriental dos Andes) e selva.

A província de La Convención, com uma população aproximada de 166.833 habitantes, está situada na zona Norte-ocidental do departamento de Cusco e ocupa as regiões de selva alta e selva baixa (Figura 4.1). A área da sua superfície é de 30.061,82 Km², dos quais 29.9% pertencem à área rural e 70.1% à área urbana, segundo dados recolhidos no ano de 2006 pelo Instituto Nacional de Estadística e Investigación (INEI). O clima, embora diverso, é definido como tropical, semi-quente, com abundante precipitação e com duas estações: seca (abril-setembro) e chuvosa (outubro-março). A temperatura média anual da província é de 24,5°C. La Convención está dividida em nove distritos: Echarate, Quellouno, Occobamba, Huayopata, Maranura, Santa Ana, Santa Teresa, Vilcabamba e Quimbiri (Ministerio de Energía y Minas 2005).

A região de selva alta localiza-se entre os 3500 e 600 m de altitude, apresenta uma topografia bastante acidentada com a presença de áreas montanhosas, encostas e uma cobertura vegetal densa. A região de selva baixa ou planície amazônica, localizada entre os 400 e 80 m de altitude, se caracteriza por apresentar uma topografia pouco variada com grandes extensões de floresta com árvores de tamanho enorme e um sistema hidrográfico complexo (Brack 1985).

Echarate é o maior distrito de La Convención, com uma superfície de 19.135, 50 Km² e uma população de 42.885 habitantes. Está localizado na zona nordeste da província ocupando regiões de selva alta e “ceja de selva” ou “omagua” (Figura 4.2). Dentro deste distrito se encontra a Comunidade de Aguas Calientes, área de estudo da presente pesquisa.

A comunidade de Aguas Calientes, ou Sahuari em dialeto Matsiguenga, pertence ao Conselho Maior de Kiteni do distrito de Echarate (Figura 4.3). Está localizada entre 73°20'20.4" O e 12°41'23.2" S com 890 m de altitude. A população é de 220 habitantes aproximadamente, sendo o grupo etário predominante de 15 a 45 anos.

Segundo a classificação de zonas de vida de Holdrige, em termos gerais, a comunidade de Aguas Calientes é classificada como bosque muito úmido–Subtropical com uma média de precipitação total anual de 3.500 mm e uma temperatura média anual de 21 °C. O relevo desta zona de vida é composto por um conjunto de montanhas altas e baixas com solos pouco profundos. (Ministerio de Energía y Minas 2005)

A agricultura é a principal atividade econômica da comunidade, sendo os cultivos de café, cacau e urucum os mais importantes, além dos cultivos de aipim, arroz, milho e frutas; estes últimos destinados ao consumo da população.

Ocorre também a criação de animais domésticos como galinhas, patos, perus, porquinhos da índia, cães e gatos.

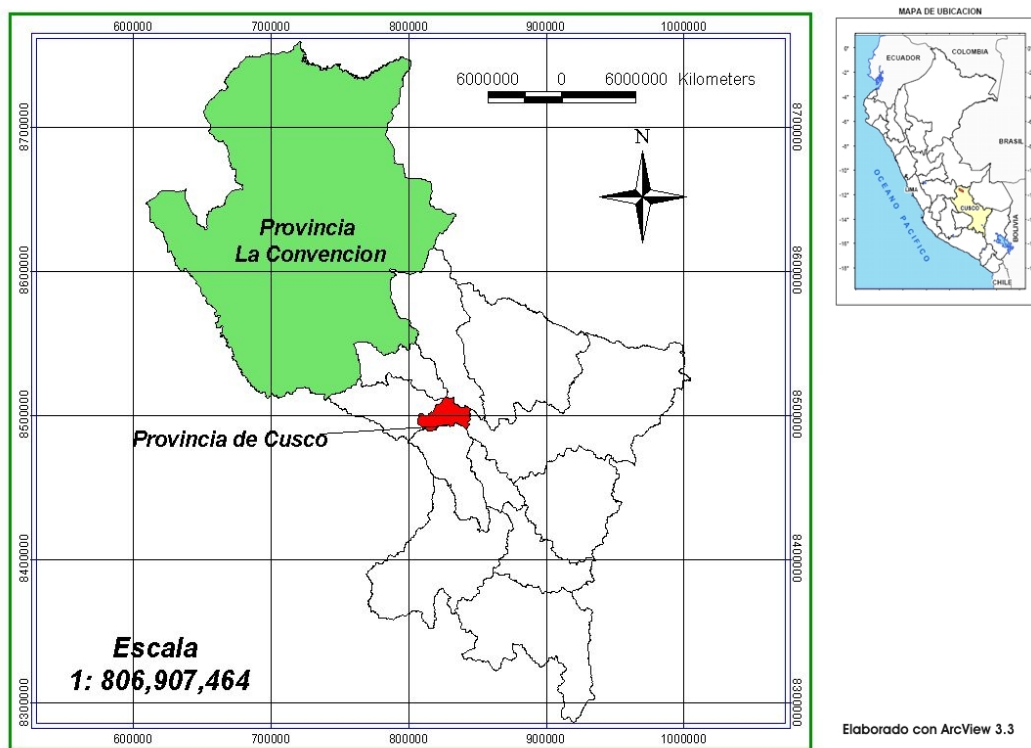


Figura 4.1: Mapa de Localização do departamento de Cusco e suas províncias.
 Fonte: Quispe W. & Rado 2008

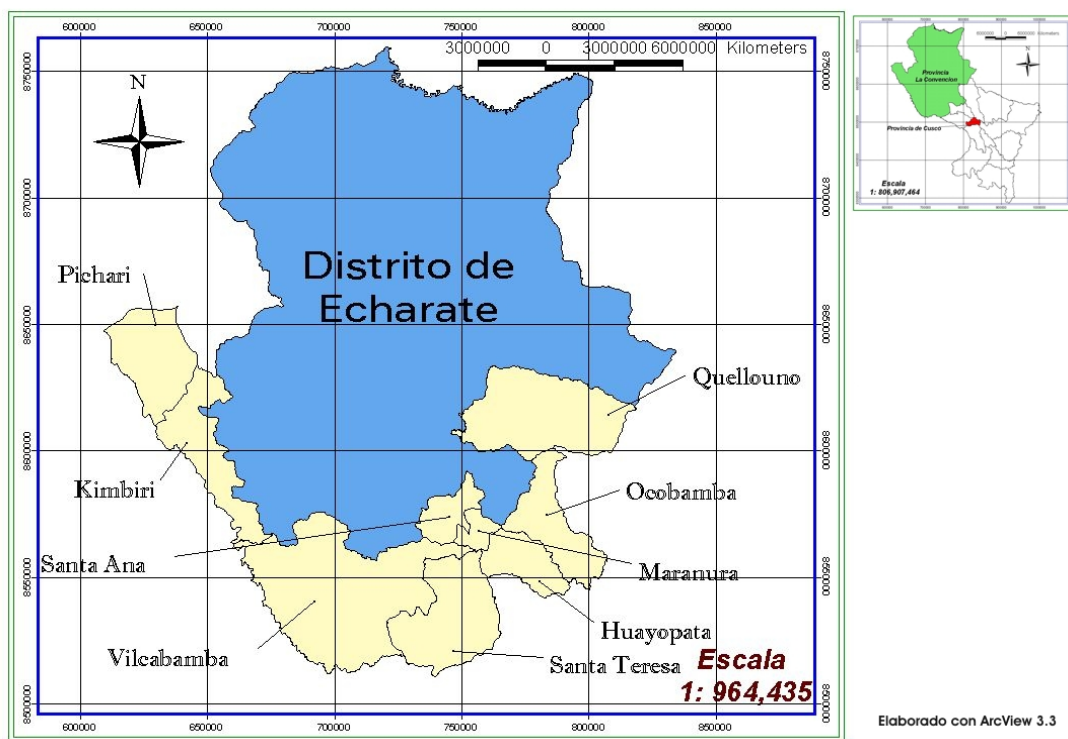


Figura 4.2: Mapa de Localização da província La Convención e seus distritos.
 Fonte: Quispe W. & Rado 2008

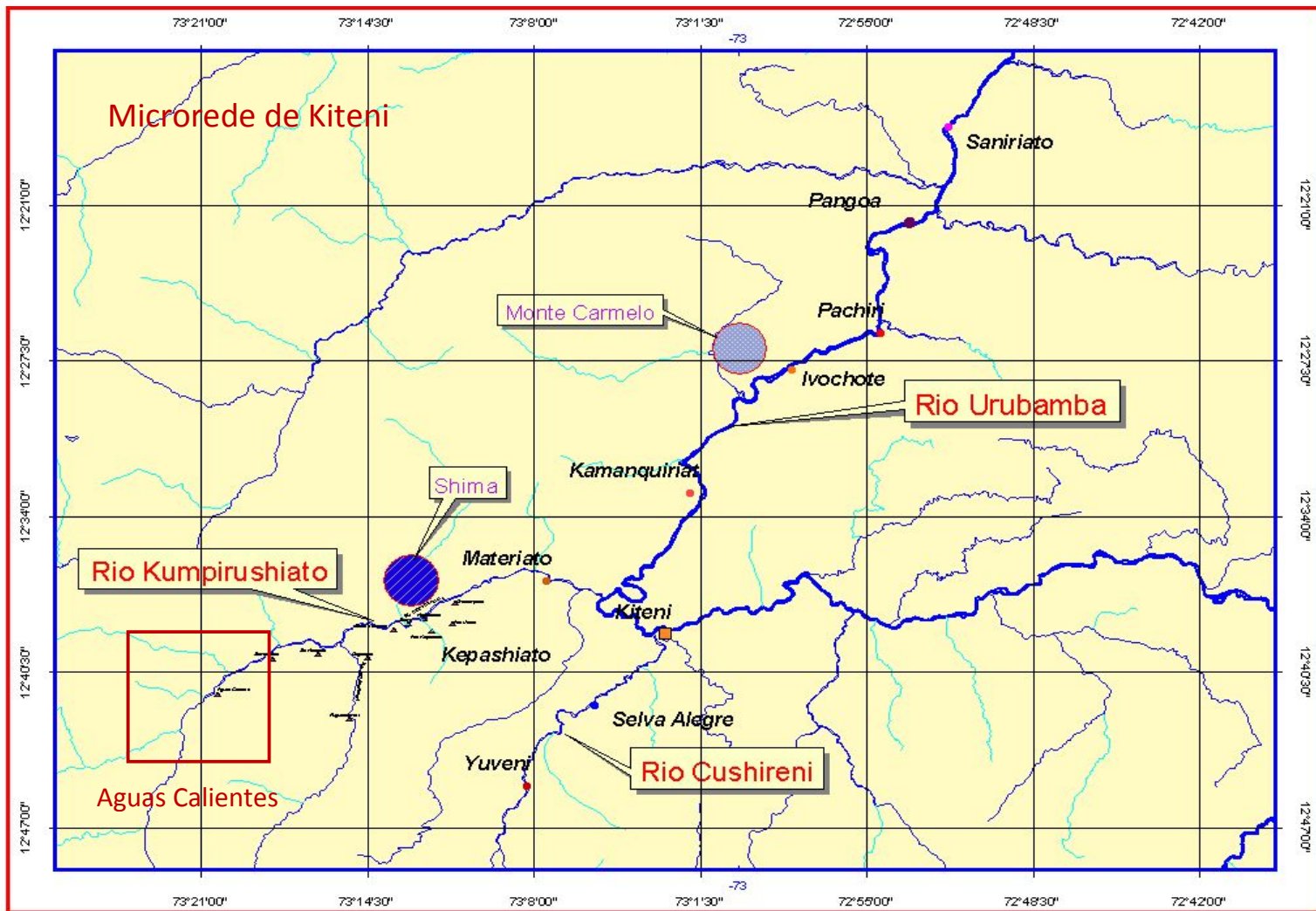


Figura 4.3: Mapa de Localização da comunidade de Aguas Calientes. Fonte: Quispe W. & Rado 2008

Na classificação da Direção Regional de Saúde de Cusco, do Ministério de Saúde do Peru, a comunidade de Aguas Calientes, considerada como zona endêmica de Leishmaniose tegumentar, pertence à jurisdição do Centro de Saúde de Kepashiato, Microrede de Kiteni, Rede La Convención (MINSA, 2004).

A Rede La Convención (constituída por oito microrredes) apresenta o maior número de casos de Leishmaniose tegumentar nas formas cutânea e cutâneo-mucosa, para o departamento de Cusco (Tabela 4.1). Dentro dela a Microrede de Kiteni, junto com o Centro de Saúde de Kepashiato, que se encontra no âmbito da sua jurisdição, registra um número importante de casos da doença (Figura 4.4 e 4.5).

A comunidade de Aguas Calientes, com uma prevalência de 8,6 por 1.000 casos de leishmaniose, constitui uma das três comunidades com a maior prevalência da doença na Microrede de Kiteni (Quispe, 2004).

Tabela 4.1 Casos de Leishmaniose por Províncias, Cusco 2006-2011*
(S.E.Nº16)

Província	Leishmaniose cutânea						Leishmaniose cutâneo-mucosa					
	2009		2010		2011		2009		2010		2011	
Anta	4	1,3%	4	1,1%	3	1,1%	0	0	0	0	0	0
Calca	36	10,9%	49	13,4%	34	12,3%	2	5,6%	6	13,4%	3	9,4%
La Convención	270	81,8%	298	81,2%	222	80,4%	28	77,7%	35	77,8%	26	81,2%
Paucartambo	18	5,4%	14	3,8%	11	3,9%	6	16,7%	2	4,4%	1	3,1%
Quispicanchis	2	0,6%	2	0,5%	6	2,1%	0	0	2	4,4%	2	6,3%
Total	330	100%	367	100%	276	100%	36	100%	45	100%	32	100%

Fonte: DIRESA- Cusco 2011

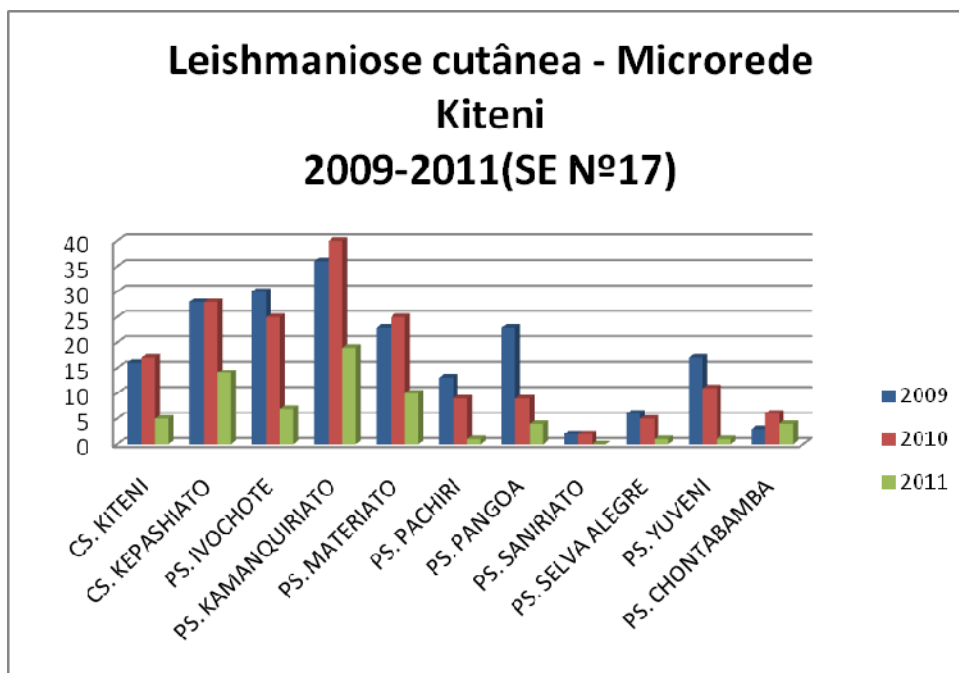


Figura 4.4: Número de casos de Leishmaniose cutânea na Microrede de Kiteni, Echarate, La Convención, Cusco, Peru.
Fonte: Departamento de Epidemiologia, Hospital Quillabamba 2011

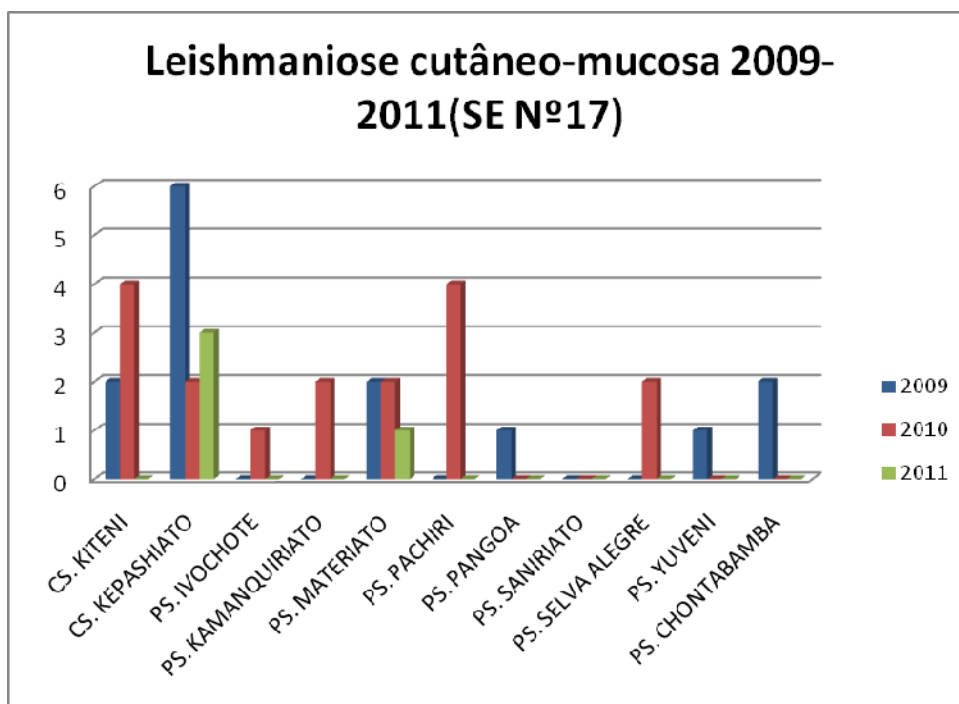


Figura 4.5: Número de casos de Leishmaniose cutâneo-mucosa na Microrede de Kiteni, Echarate, La Convención, Cusco, Peru.
Fonte: Departamento de Epidemiologia, Hospital Quillabamba 2011

4.2 Estações de Monitoramento de Flebotomíneos

Na área de estudo foram estabelecidas quatro estações de monitoramento (EMs): três em residências e uma em área de lazer (Figura 4.6). No momento da escolha foram registrados os dados de latitude, longitude e altitude (indicadores geográficos).

Os critérios considerados para a escolha destas estações foram os possíveis fatores ambientais que favorecem a manutenção do ciclo de vida dos flebotomíneos (proximidade da mata, presença de animais domésticos, abrigos sombreados e úmidos) e a presença de casos da doença (Tabela 4.2).

Tabela 4.2. Estações de monitoramento (EM) de flebotomíneos. Aguas Calientes/ La Convención/Cusco/Perú

EM	Localização	Coordenadas geográficas	Altitude	Descrição
EM 1	Casa	12°40'44''S 73°19'46''W	886 m	Chiqueiro e galinhas no peridomicílio Cultura de café no peridomicílio Maior impacto antrópico
EM 2	Casa	12°41'01''S 73°20'01''W	895 m	Casos de LT (1) Galinhas, cães e gatos no peridomicílio Plantações de frutas (laranja, manga, banana) cacau e café
EM 3	Casa	12°41'16''S 73°20'03''W	967 m	Patos, galinhas, cães no peridomicílio Plantações de frutas (laranja, lima, banana) e cacau Visitas esporádicas de animais silvestres Vegetação nativa mais preservada
EM 4	Área de lazer	12°41'26''S 73°20'30''W	859 m	Vegetação arbórea Presença de animais silvestres Abundante matéria orgânica em decomposição

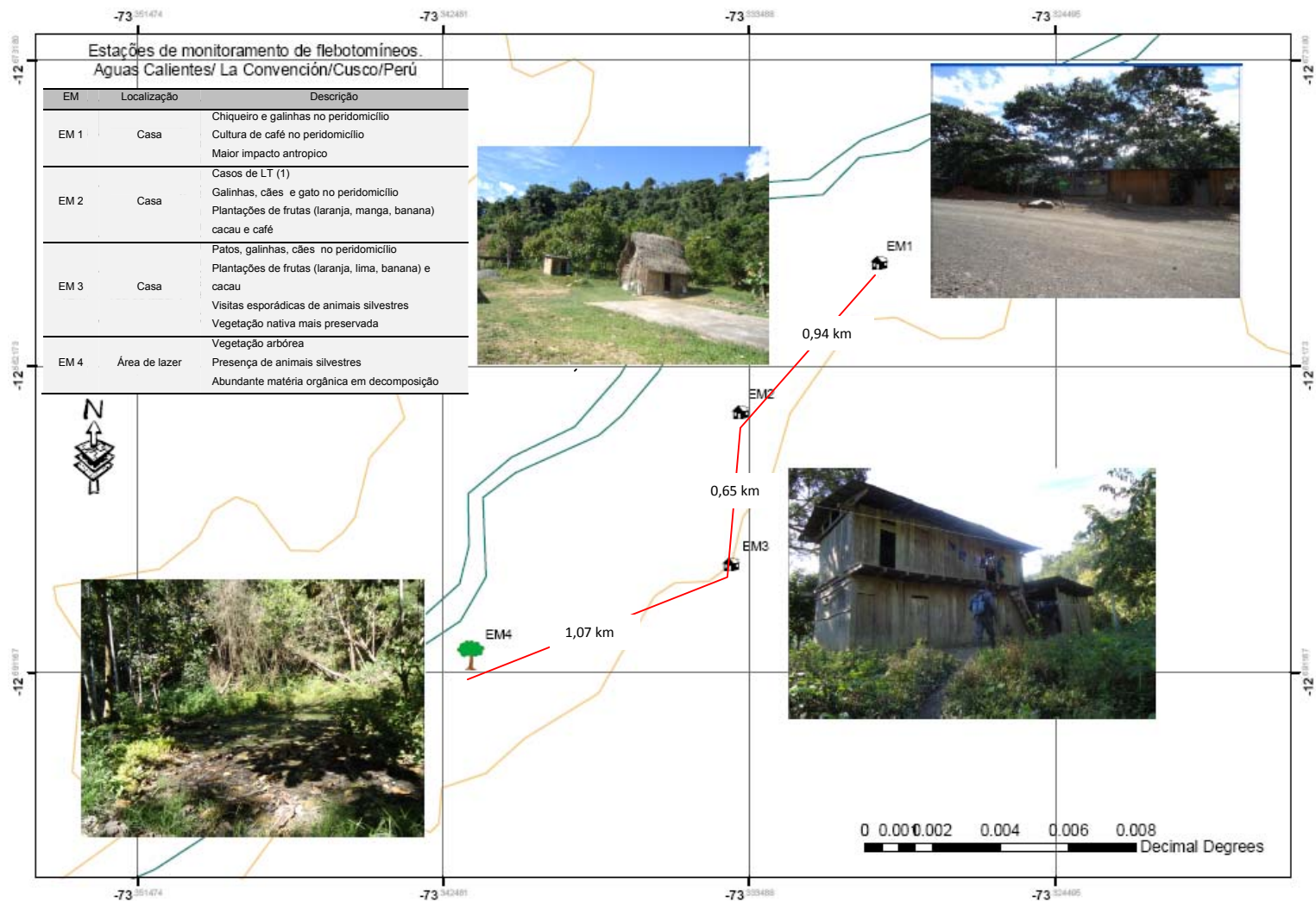


Figura 4.6 Mapa de distribuição das Estações de Monitoramento (EM) na Comunidade de Aguas Calientes

4.3 Coletas de Flebotomíneos

As coletas de flebotomíneos aconteceram durante os meses de junho, julho e setembro de 2010, correspondentes à estação seca, e nos meses de novembro, dezembro de 2010 e janeiro de 2011, correspondentes à estação chuvosa. Foram utilizadas armadilhas luminosas do tipo CDC (Sudia & Chamberlain 1962) e a armadilha de Shannon (Shannon 1926), com dois indivíduos capturando no interior por períodos de seis horas consecutivas.

As coletas foram realizadas com a autorização do Instituto Nacional de Recursos Naturais do Peru (INRENA), Resolução Diretorial N° 0448-2010-AG-DGFFS-DGEFFS, de acordo com as normas legais estabelecidas para as coletas de flora e/ou fauna silvestre, com fins de investigação científica, fora das áreas naturais protegidas (Diário Oficial El Peruano, 2007).

As coletas com armadilhas luminosas, colocadas a 1.8 m do chão, foram realizadas por quatro noites consecutivas nos ambientes intra, peri e extra-domiciliares das 18:00 às 6:00 h do dia seguinte (Figura 4.7). As coletas na armadilha de Shannon, auxiliadas com aspirador manual de Castro, foram feitas duas vezes por mês em ambientes extra-domiciliares por doze horas consecutivas, com exceção dos dias em que as condições climáticas não permitiram a coleta (Figura 4.8 e Figura 4.9). Durante as coletas foram registrados os dados de temperatura e de umidade relativa do ar (indicadores meteorológicos) (DIGESA, 2002).



Figura 4.7: Instalação de armadilha CDC, em ambiente intradomiciliar.



Figura 4.8 Armadilha de Shannon em ambiente extradomiciliar



Figura 4.9 Coleta na armadilha Shannon com auxílio do capturador de castro

Todas as informações relativas às coletas (local, sítio, data, coletor, dados metrológicos) foram registradas em fichas de campo (ver Anexo 1).

A triagem dos flebotomíneos coletados foi feita no campo, registrando seu número por hora de coleta e tipo de captura. Posteriormente, foram armazenados em pequenas caixas de papelão, para sua conservação a seco e identificados com uma etiqueta escrita a lápis e colocada no interior da caixa para finalmente serem transportados para a Facultad de Ciencias Biológicas da Universidad de San Antonio Abad del Cusco, Peru, e enviados para o Laboratório de Transmissores de Leishmanioses, do Instituto Oswaldo Cruz/ FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil para a sua identificação taxonômica.

As atividades de campo foram realizadas com o apoio da equipe do Laboratório de Pesquisa de Leishmanioses da Facultad de Ciencias Biológicas da Universidad de San Antonio Abad del Cusco.

4.4 Identificação Taxonômica dos Flebotomíneos

No Laboratório de Transmissores de Leishmanioses, IOC/ FIOCRUZ, os flebotomíneos foram submetidos a um processo de clarificação e diafanização. em Capela de Exaustão Química para contenção de vapores e gases.

O material foi acondicionado em placas de poliestireno de seis poços, devidamente codificadas, sendo submetido a passagens sucessivas por uma série de reagentes e soluções: duas horas em solução de hidróxido de potássio (KOH) a 10%, que promove um amolecimento da quitina; vinte minutos em ácido acético puro, que retira o excesso de hidróxido de potássio ; vinte minutos em água destilada para lavar o material e vinte quatro horas em solução de lactofenol (ver Anexo 2) para que ocorra a diafanização.

Após a clarificação e diafanização, os flebotomíneos foram montados entre lâmina e lamínula em líquido de Berlese (ver Anexo 2). Vale ressaltar que este é um procedimento para a montagem de lâminas temporárias, não se aplicando para montagens definitivas.

A análise das lâminas para identificação taxonômica dos espécimes coletados foi feita ao microscópio ótico, em aumentos de 100x e de 400x, seguindo a chave taxonômica proposta por Young & Duncan (1994). As espécies identificadas foram catalogadas em fichas de laboratório e os dados computados no programa Microsoft® Office Excel 2007 da empresa Microsoft Corporation.

4.5 Análise dos Dados

4.5.1. Índices de Abundância

Para o cálculo do índice de abundância foram estimados o Index of Species Abundance (ISA) e o Standardized Index of Species Abundance (SISA) (Roberts & Hsi 1979).

O ISA foi calculado a partir da organização dos dados em uma tabela, com um número N de linhas e K de colunas, no programa Microsoft® Office Excel 2007 da empresa Microsoft Corporation.

Cada coluna foi classificada separadamente, de acordo com o número de espécimes coletados de cada espécie. Os valores de cada coluna receberam uma classificação numérica ordinal iniciada com a espécie com maior número de espécimes.

Após o término da classificação, os índices foram calculados a partir da fórmula:

$$ISA = \frac{(a + R_j)}{K}$$

Sendo:

K: Número de colunas da tabela (número de EMs/ áreas de coleta).

a: Multiplicação do número de ausências da espécie em *K* por *c*.

c: Posição da espécie mais elevada na classificação mais um.

R_j: Somatório das classificações de cada espécie.

Os limites mínimos e máximos deste índice foram determinados de acordo com o maior valor classificatório da distribuição, portanto, varia em cada série de dados. Para evitar esta variação e padronizar o índice, este foi convertido para uma escala de valores entre 0 e 1 a partir do cálculo do SISA:

$$SISA = \frac{(c - ISA)}{(c - 1)}$$

Sendo:

c: Posição da espécie mais elevada na classificação mais um.

ISA: Índice de Abundância Específico

A partir do cálculo do SISA, as espécies foram consideradas mais abundantes quando seus valores ficaram mais próximos a um, sendo então classificadas do maior valor para o menor valor de SISA. O resultado obtido forneceu informações sobre a abundância relativa das espécies capturadas, levando em consideração a distribuição espacial dos indivíduos coletados.

4.5.2 Estudos de Frequência Horária

Para o estudo da frequência horária foram analisados os espécimes coletados na armadilha de Shannon, por períodos de 12 horas consecutivas utilizando a média geométrica ou média de Williams (Williams, 1937) a partir da fórmula:

$$\log(M + 1) = \frac{\sum \log(x + 1)}{n}$$

Sendo:

M: Média da captura

x: Número de indivíduos capturados

n: Número de observações

A média geométrica (M) foi obtida a partir do antilogaritmo do resultado menos um.

4.5.3 Frequência horária de Flebotomíneos em Associação com Dados de Temperatura e Umidade

Para determinar a associação da frequência horária de flebotomíneos com os dados de temperatura (T°) e umidade (H°) foi feita a análise de regressão linear dos dados registrados nas coletas com armadilha de Shannon (T° e H° por hora de coleta) com o número de espécimes coletados. Todas as inferências foram feitas ao nível de significância de 0,05.

Para a análise de regressão linear, foi utilizado o programa Predictive Analytics Software (PASW Statistic) versão 18.0.

4.6 Determinação de Infecção Natural em Flebotomíneos

Para a determinação de infecção natural em flebotomíneos foram selecionadas, pelas características externas, 30% das fêmeas das duas espécies mais abundantes da coleta: *L. (N.) yuilli yuilli* e *L. (T.) octavioi*.

As fêmeas foram dissecadas com o auxílio de agulhas, tiveram cortadas o penúltimo segmento abdominal, e deste conjunto foi examinada a genitália feminina, ou seja, as espermatecas e seus anexos, para identificação taxonômica no nível de espécie, de acordo com Young & Duncan (1994). Após a caracterização de espécie,

o restante do corpo do inseto foi introduzido em tubo eppendorf de 1,5 ml rotulado, para a constituição de grupos de 10 insetos fêmeas pertencentes à mesma espécie/localidade/estação de monitoramento/ambiente de coleta. Insetos machos também foram identificados quanto à espécie, com base nas suas características morfológicas. Grupos de 10 insetos machos da mesma espécie foram formados para serem usados nos experimentos de reconstituição, assim como controles negativo nos ensaios diagnósticos.

Os tubos contendo o *grupo* de flebótomos (macho e fêmea) foram mantidos à -20°C até serem usados para extração de DNA. Deve ser ressaltado que para cada inseto dissecado foram utilizadas duas agulhas descartáveis, evitando assim a contaminação do material a ser utilizado nas provas de PCR.

A determinação de infecção natural foi realizada em colaboração com o Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas do Instituto Oswaldo Cruz / FIOCRUZ.

4.6.1 Obtenção de Lisado de Flebótomíneos

Cada grupo de 10 flebótomos mantidos em 100 μL de tampão TE 1X (10 mM Tris-HCl pH 8.0; 10 mM de EDTA) foi incubado por 2 horas a 56°C com 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de proteinase K (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, USA), com agitações periódicas. Após centrifugação a 13.000 g por 15 min, a 4°C , o sobrenadante recuperado foi aquecido a 95°C por 15 min para inativação da proteinase K. Os volumes das preparações foram ajustados para 200 μL com TE 0,1X e as amostras correspondendo aos lisados de flebótomos foram estocadas a -20°C até o momento da extração do DNA total.

4.6.2 Extração de DNA

Extração com emprego de minicolunas contendo Sílica:

Um volume correspondente a 200 μL do lisado de 10 flebótomos foi submetido à extração de DNA utilizando o kit comercial *Wizard SV Genomic DNA Purification System* (PROMEGA, Madison, WI, EUA), segundo as especificações do fabricante. O DNA recuperado foi eluído em 50 μL TE 0,1X e estocado a -20°C até o momento de uso.

Para ambos os protocolos de extração foi feita a avaliação da concentração e pureza do DNA recuperado, através da estimativa de concentração por medida espectrofotométrica da densidade ótica (DO) a 260nm (A_{260}) e 280nm (A_{280}) em

espectrofotômetro GeneQuant. A pureza das amostras de DNA foi verificada pela relação A_{260}/A_{280} e A_{260}/A_{230} .

Todas as etapas que envolveram a extração de DNA dos flebótomos fêmeas foram monitoradas pela inclusão de amostras controles negativos, que correspondiam aos machos capturados no campo. As capelas para a extração de DNA, assim como todo o material utilizado nesta etapa foram devidamente descontaminados com a utilização de cloro e exposição a raios ultravioleta no equipamento UV Stratalinker 2400 (STRATAGENE, USA).

4.6.3 Reação em Cadeia da Polimerase – *Hot-start* PCR multiplex

Para os ensaios de PCR, foram utilizados dois pares de *primers* simultaneamente. O primeiro par amplifica a região constante no minicírculo do kDNA do gênero *Leishmania* *primer* A: 5' (G/C)(G/C)(C/G) CC(A/C) CTA T(A/T)T TAC ACC AAC CCC 3' e *primer* B: 5' GGG GTA GGG GCG TTC TGC GAA 3' (Passos et al., 1996); o segundo par amplifica um gene constitutivo específico de flebótomos do gênero *Lutzomyia (cacophany)*: 5Llcac 5'GTG GCC GAA CAT AAT GTT AG 3' e 3Llcac 5'CCA CGA ACA AGT TCA ACA TC 3' com (Lins et al., 2002). As reações ocorreram em um volume final de 100 μ L, consistindo de solução tampão da PCR 1X (100mM Tris-HCl pH 8,3, 500 mM de KCl - solução PCR 10X, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), 4,5 mM $MgCl_2$, 200 μ M de cada dNTP (Invitrogen), 0,2 μ M de cada *primer*, 1,25 U Taq Gold DNA polimerase (Applied Biosystems), 10 μ L de DNA e H_2O (ultra pura e estéril, grau Biologia Molecular) para completar o volume.

A mistura de reação foi incubada no termociclador GeneAmp PCR System 9600 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) a 94 °C por 12 min para ativação da enzima (*hot-start* PCR), seguida de 35 ciclos de amplificação, cada um consistindo de 30 seg a 94 °C, 30 seg a 55 °C e 30 seg a 72 °C. Após o último ciclo, a reação foi submetida a uma extensão final por 10 min a 72 °C.

4.6.4 Análise dos Produtos Amplificados

Para a detecção dos produtos amplificados (*amplicons*) foi usado o sistema de análise em fase sólida por migração eletroforética em gel de agarose, tendo como marcadores de peso molecular fragmentos de DNA com tamanhos conhecidos em pares de bases, dentro da faixa compatível de tamanho dos fragmentos de DNA amplificados, 120 pares de base para o primeiro *primer* e 220 pares de base para o

segundo.

Os ensaios de eletroforese foram realizados em cuba horizontal (12,5 x 20 cm) em géis de agarose a 2% (Seakem e NuSieve, FMC Bioproducts, Rockland, USA) preparados em TBE 1X (0,89 M Tris-HCl; 0,89 M Ácido Bórico; 0,024 M EDTA, pH 8,3 - TBE 10X). Alíquotas de 10 µL dos produtos da PCR foram misturadas com 1 µL do tampão de aplicação de amostras (30% de glicerol, 0,25% de azul de bromofenol e 0,25% de xileno cianol) e aplicadas no gel. A eletroforese foi conduzida por 2 horas a 70 V. O peso molecular dos *amplicons* foi determinado pela inclusão nos géis do marcador de peso molecular de 100 pb (DNA Ladder – Invitrogen Life Technologies). Após a eletroforese, o gel foi corado (15 minutos) em solução de brometo de etídio (0,5 µg/mL de brometo de etídio em TBE 1X) e descorado (15 minutos) em água destilada. Após esta etapa, os géis foram analisados e as imagens registradas através de um sistema fotográfico de documentação em gel – UVP *Bioimaging Systems* (Upland, CA, USA)

4.6.5 Determinação do Índice de Infecção Natural

Para o cálculo do índice de infecção natural foram analisados o número de *pools* positivos em relação ao o número total de *pools* avaliados a partir da fórmula:

$$\text{Índice Infecção Natural} = \frac{N^{\circ} \text{ pools positivos}}{N^{\circ} \text{ pools avaliados}} * 100$$

Considerando que pelo menos um dos flebotomíneos de cada *pool* positivo estava infectado foi calculado o índice mínimo de infecção a partir da fórmula:

$$\text{Índice Mínimo Infecção} = \frac{\text{Índice Infecção Natural}}{10}$$

4.7. Avaliação de fatores ambientais associados à presença dos flebotomíneos no peridomicílio.

Foram preenchidas fichas de campo (ver Anexo 3) com a descrição detalhada das características ambientais das estações de monitoramento e dos ambientes de coleta para serem comparadas com as espécies de flebotomíneos que se apresentaram com maior frequência no peridomicílio, determinado desta forma os possíveis fatores ambientais associados a estas espécies

4.8. Verificação de ocorrência de variação na fauna flebotomínica a partir de 2005 na estação de monitoramento EM4 (área de lazer)

Mediante a comparação das coletas realizadas na estação de monitoramento EM4 (área de lazer) durante as estações seca e chuvosa de 2005 com as coletas realizadas para o presente estudo, verificou-se a variação ocorrida na presença das espécies de flebotomíneos neste período de tempo.

5. RESULTADOS

5.1 Identificação da Fauna Flebotomínica e sua Distribuição por Sítios de Coleta

Em seis meses de coletas, foram realizadas 219 capturas com armadilhas CDC e 18 com armadilhas de Shannon, que equivaleram, respectivamente, a 2628 horas e 162 horas de trabalho.

Neste período, foram coletados 6495 flebotomíneos (2182 na estação seca e 4313 na estação chuvosa) e identificadas 31 espécies (23 ocorrendo na estação seca e 30 na estação chuvosa), pertencentes aos gêneros *Brumptomyia* (1) França & Parrot, 1921 e *Lutzomyia* (6494) França, 1924. Deste último, foram identificados espécimes representantes de oito subgêneros e três grupos (Tabela 5.1). Pela primeira vez, a espécie *L. sericea* (*Grupo Migonei*), foi registrada no Peru. As espécies *L. barrettoii barrettoii* (*Grupo Aragoi*), *L. (Nyssomyia) flaviscutellata* e *L. (Trichopygomyia) gantieri* foram novos registros para o departamento de Cusco e as espécies: *L. (Trichophoromyia) octavioi*, *L. migonei* (*Grupo Migonei*), *L. (Psychodopygus) ayrozai* *L. (Helcocyratomyia) guderiani* foram novos registros para a província de La Convención. Duas espécies ainda não foram identificadas: *L. (Psychodopygus) sp.* (afim de *L. (Psychodopygus) leonidasdeanei*) e *L. (Helcocyratomyia) sp.* (afim de *L. (Helcocyratomyia) kirigetiensis*).

As espécies que se apresentaram com maior frequência foram: *L. (Nyssomyia) yuilli yuilli* (47,25%) *L. (Trichophoromyia) octavioi* (25,97%), *L. (Psychodopygus) llanosmartinsi* (8,22%), *L. (Psychodopygus) hirsuta hirsuta* (5,36%) e *L. aragoi* (*Grupo Aragoi*) (2,65%).

Os espécimes que foram identificados até o nível de subgênero ou grupo estão relacionados como: *L. sp* (*Grupo Verrucarum*), *L. (Pressatia) sp.*, *L. (Nyssomyia)* e *L. (Psychodopygus) sp.* Aqueles que não foram identificados ao nível de espécie (indivíduos danificados) ficaram agrupados como *Lutzomyia spp.*

A espécie *L. barrettoii barrettoii* (*Grupo Aragoi*) ocorreu apenas na estação seca, enquanto que as espécies *L. sericea* (*Grupo Migonei*), *L. walkeri* (*Grupo Migonei*), *L. sp* (*Grupo Verrucarum*), *L. (Psathyromyia) sp.*, *L. (Nyssomyia) flaviscutellata*, *L. (Psychodopygus) amazonensis*, *L. (Helcocyratomyia) guderiani* e *Brumptomyia sp.* ocorreram somente na estação chuvosa.

Houve maior eficiência nas capturas com armadilhas de Shannon (4490 flebotomíneos) em comparação às realizadas com armadilhas CDC (2005 flebotomíneos). Nos dois tipos de armadilhas, ocorreu a predominância de fêmeas:

4014 fêmeas para 476 machos, em armadilhas Shannon, e 1227 fêmeas para 778 machos, em armadilhas CDC. As espécies: *L. sericea* (Grupo Migonei), *L. (Pressatia) calcarata*, *L. (Pressatia) choti*, *L. barrettoii barrettoii* (Grupo Aragaoi), *L. (Trichopygomyia) gantieri*, *L. (Trichopygomyia) sp.*, *L. (Nyssomyia) flaviscutellata* foram exclusivas para as armadilhas CDC, enquanto que *L. (Psychodopygus) amazonensis*, *L. (Helcocyrtomyia) guderiani* foram capturadas apenas em armadilhas Shannon.

Tabela 5.1 Flebotomíneos capturados por estação do ano, tipo de armadilha utilizada e sexo. Comunidade de Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. Junho, julho, setembro, novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011.

Espécies	Estação seca						Estação chuvosa						Subtotal		Total	%
	CDC		Shannon		ST	%	CDC		Shannon		ST	%	♀	♂		
	♀	♂	♀	♂			♀	♂	♀	♂						
<i>L. (Lutzomyia) sherlocki</i>	13	4	16	1	34	1,6	17		62	79	1,8	108	5	113	1,74	
<i>L. migonei</i> (Grupo Migonei)	1				1		2	1		3	0,1	3	1	4	0,06	
<i>L. sericea</i> (Grupo Migonei)							2	1		3	0,1	2	1	3	0,05	
<i>L. andersoni</i> (Grupo Migonei)	1			1	2	0,1	2		1	3	0,1	4	1	5	0,08	
<i>L. walkeri</i> (Grupo Migonei)							1		1	2		2		2	0,03	
<i>L. sp</i> (Grupo Verrucarum)							2		4	6	0,1	6		6	0,09	
<i>L. (Pressatia) calcarata</i>		8			8	0,4		19		19	0,4		27	27	0,42	
<i>L. (Pressatia) choti</i>		9			9	0,4		9		9	0,2		18	18	0,28	
<i>L. (Pressatia) sp.</i>	1				1		11		2	13	0,3	14		14	0,22	
<i>L. (Psathyromyia) dendrophylla</i>	3	1			4	0,2		1	5	1	0,2	8	3	11	0,17	
<i>L. (Psathyromyia) sp.</i>									2	2		2		2	0,03	
<i>L. barrettoii barrettoii</i> (Grupo Aragaoi)	1				1							1		1	0,02	
<i>L. aragaoi</i> (Grupo Aragaoi)	60	74	2	1	137	6,3	17	16	1	1	35	0,8	80	92	172	2,65
<i>L. (Trichopygomyia) gantieri</i>	3	8			11	0,5	5	4		9	0,2	8	12	20	0,31	
<i>L. (Trichopygomyia) sp.</i>	1				1		1			1		2		2	0,03	
<i>L. (Nyssomyia) flaviscutellata</i>							5			5	0,1	5		5	0,08	
<i>L. (Nyssomyia) hernandezi</i>	1		1		2	0,1			1	1		3		3	0,05	
<i>L. (Nyssomyia) yuilli yuilli</i>	67	1	1070	68	1206	55	122	5	1718	18	1863	43	2977	92	3069	47,25
<i>L. (Nyssomyia) shawi</i>	4		1		5	0,2	8		9	1	18	0,4	22	1	23	0,35
<i>L. (Trichophoromyia) octavioi</i>	195	175	48	90	508	23	425	394	151	209	1179	27	819	868	1687	25,97
<i>L. (Psychodopygus) davisii</i>	4		16	6	26	1,2	3	3	46	7	59	1,4	69	16	85	1,31
<i>L. (Psychodopygus) amazonensis</i>									1			1		1	0,02	
<i>L. (Psychodopygus) llanosmartinsi</i>	8	1	17		26	1,2	51	1	443	13	508	12	519	15	534	8,22
<i>L. (Psychodopygus) hirsuta hirsuta</i>	51	11	46	17	125	5,7	52	11	138	22	223	5,2	287	61	348	5,36
<i>L. (Psychodopygus) ayrozai</i>			1		1		3		5		8	0,2	9		9	0,14
<i>L. (Psychodopygus) carrerai carrerai</i>	7	4	9	2	22	1	13	7	37	8	65	1,5	66	21	87	1,34
<i>L. (Psychodopygus) sp.*</i>	5		6		11	0,5	13		80	1	94	2,2	104	1	105	1,62
<i>L. (Psychodopygus) sp.</i>			1		1		1		2		3	0,1	4		4	0,06
<i>L. (Helcocyrtomyia) guderiani</i>														1	1	0,02
<i>L. (Helcocyrtomyia) sp.+</i>	4		4		8	0,4	1		34		35	0,8	43		43	0,66
<i>Brumptomyia sp.</i>							1				1		1		1	0,02
<i>L. spp</i>	10	6	9	7	32	1,5	29	4	24	1	58	1,3	72	18	90	1,39
Total	440	302	1247	193	2182	100	787	476	2767	283	4313	100	5241	1254	6495	100

L. = *Lutzomyia*, ♂ = Machos, ♀ = Fêmeas, ST= Subtotal, %= Porcentagem

**L. (Psychodopygus) sp* (afim de *L. (Psychodopygus) leonidasdeanei*),

+*L. (Helcocyrtomyia) sp.* (afim de *Lutzomyia kirigetiensis*).

Com relação às estações de monitoramento, na EM4 foram coletados 2939 espécimes (45,3%), na EM3, 1714 espécimes (26,4%), na EM1, 1150 espécimes (17,7%) e na EM2, 692 espécimes (10,6%) (Tabela 5.2). Em relação aos ambientes extra, peri e intradomiciliar, foram capturados, respectivamente: 5559 (85,6%), 754 (11,6%) e 182 (2,8%) indivíduos (Tabela. 5.3).

No ambiente extradomiciliar, as espécies mais frequentes foram *L. (N.) yuilli yuilli* (55%) e *L. (T.) octavioi* (30%).

No peridomicílio, *L. (T.) octavioi* (68%), *L. aragaoi* (7,3%), *L. (Ps.) hirsuta hirsuta* (5%) e *L. (N.) yuilli yuilli* (3,4%) foram as espécies mais representativas.

No ambiente intradomiciliar, as espécies que mais ocorreram foram: *L. (T.) octavioi* (56%), *L. (N.) yuilli yuilli* (8,2%), *L. (L.) sherlocki* (6,5%) e *L. (Ps.) llanosmartinsi* (5,4%).

L. (T.) octavioi foi a espécie com maior frequência nos três ambientes de coleta, e *L. (N.) yuilli yuilli* predominou no ambiente extradomiciliar.

5.2 Avaliação dos Índices de Abundancia

Segundo o índice da abundância específico (SISA), as espécies: *L. (T.) octavioi* (SISA=0,974), *L. aragaoi* (SISA=0,722), *L. (Ps.) hirsuta hirsuta* (SISA=0,720), *L. (N.) yuilli yuilli* (SISA=0,661) e *L. (L.) sherlocki* (SISA=0,574) foram as mais abundantes para estação seca, ocupando os primeiros cinco lugares na classificação (Figura 5.1), enquanto que para a estação chuvosa, as espécies mais abundantes foram: *L. (T.) octavioi* (SISA=0,957), *L. (Ps.) hirsuta hirsuta* (SISA=0,838), *L. (N.) yuilli yuilli* (SISA=0,801) *L. (Ps.) llanosmartinsi* (SISA=0,703) e *L. (L.) sherlocki* (SISA=0,504) (Figura 5.2).

Considerando as estações de monitoramento, *L. (N.) yuilli yuilli* (SISA=0,979) e *L. (T.) octavioi* (SISA=0,979) ocuparam juntas o primeiro lugar na classificação da abundância (Tabela 5.4). Em relação ao ambiente de coleta, *L. (T.) octavioi* (SISA=0,987) foi classificada em primeiro lugar (Tabela 5.5).

Tabela 5.2 Flebotomíneos capturados por estação de monitoramento. Comunidade de Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. Junho, julho, setembro, novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011.

Espécie	EM 1			EM 2			EM 3			EM 4			Subtotal		Total
	♀	♂	%	♀	♂	%	♀	♂	%	♀	♂	%	♀	♂	
<i>L. (Lutzomyia) sherlocki</i>	34	2	3.1	30	2	4.6	29		1.7	15	1	0.5	108	5	113
<i>L. migonei (Grupo Migonei)</i>							3	1	0.2				3	1	4
<i>L. sericea (Grupo Migonei)</i>	1	1	0.2				1		0.1				2	1	3
<i>L. andersoni (Grupo Migonei)</i>	2	1	0.3	1		0.1	1		0.1				4	1	5
<i>L. walkeri (Grupo Migonei)</i>										2		0.1	2		2
<i>L. sp (Grupo Verrucarum)</i>	1		0.1	1		0.1	4		0.2				6		6
<i>L. (Pressatia) calcarata</i>		18	1.6		6	0.9		3	0.2					27	27
<i>L. (Pressatia) choti</i>		13	1.1		5	0.7								18	18
<i>L. (Pressatia) sp.</i>	10		0.9	1		0.1	1		0.1	2		0.1	14		14
<i>L. (Psathyromyia) dendrophyla</i>	3	1	0.3		1	0.1	4	1	0.3	1			8	3	11
<i>L. (Psathyromyia) sp.</i>							2		0.1				2		2
<i>L. barrettoii barrettoii (Grupo Aragoi)</i>							1		0.1				1		1
<i>L. aragoi (Grupo Aragoi)</i>	45	38	7.2	14	32	6.6	12	13	1.5	9	9	0.6	80	92	172
<i>L. (Trichopygomyia) gantieri</i>	6	8	1.2	2	4	0.9							8	12	20
<i>L. (Trichopygomyia) sp.</i>	1		0.1				1		0.1				2		2
<i>L. (Nyssomyia) flaviscutellata</i>	5		0.4										5		5
<i>L. (Nyssomyia) hernandezi</i>	1		0.1	1		0.1				1			3		3
<i>L. (Nyssomyia) yuilli yuilli</i>	160	8	15	111	1	16	796	12	47	1910	71	67	2977	92	3069
<i>L. (Nyssomyia) shawi</i>	5		0.4	3		0.4	11	1	0.7	3		0.1	22	1	23
<i>L. (Trichophoromyia) octavioi</i>	295	266	49	192	163	51	164	191	21	168	248	14	819	868	1687
<i>L. (Psychodopygus) davisii</i>	3	1	0.3	3		0.4	33	6	2.3	30	9	1.3	69	16	85
<i>L. (Psychodopygus) amazonensis</i>							1		0.1				1		1
<i>L. (Psychodopygus) llanosmartinsi</i>	38	1	3.4	51	0	7.4	159	3	9.5	271	11	9.6	519	15	534
<i>L. (Psychodopygus) hirsuta hirsuta</i>	69	17	7.5	28	3	4.5	112	17	7.5	78	24	3.5	287	61	348
<i>L. (Psychodopygus) ayrozai</i>	1		0.1	2		0.3	1		0.1	5		0.2	9		9
<i>L. (Psychodopygus) carrerai carrerai</i>	20	12	2.8	5	2	1	29	3	1.9	12	4	0.5	66	21	87
<i>L. (Psychodopygus) sp.*</i>	18		1.6	2		0.3	50		2.9	34	1	1.2	104	1	105
<i>L. (Psychodopygus) sp.</i>	3		0.3							1			4		4
<i>L. (Helcocyrtomyia) guderiani</i>	0	1	0.1				0							1	1
<i>L. (Helcocyrtomyia) sp.+</i>	11		1	3		0.4	27		1.6	2		0.1	43		43
<i>Brumptomyia sp.</i>	1		0.1										1		1
<i>L. spp</i>	24	5	2.5	19	4	3.3	20	1	1.2	9	8	0.6	72	18	90
Total	757	393	100	469	223	100	1462	252	100	2553	386	100	5241	1254	6495

L. = *Lutzomyia*, ♂ = Machos, ♀ = Fêmeas, EM = Estação de monitoramento

**L. (Psychodopygus) sp* (afim de *L. (Psychodopygus) leonidasdeanei*),

+*L. (Helcocyrtomyia) sp.* (afim de *Lutzomyia kirigetiensis*).

Tabela 5.3 Flebotomíneos capturados por ambiente de coleta. Comunidade de Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. Junho, julho, setembro, novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011.

Espécie	I		%	P		%	E		%	Subtotal		Total
	♀	♂		♀	♂		♀	♂		♀	♂	
<i>L. (Lutzomyia) sherlocki</i>	12		6,6	12	3	2,0	84	2	1,5	108	5	113
<i>L. migonei (Grupo Migonei)</i>	3	1	2,2							3	1	4
<i>L. sericea (Grupo Migonei)</i>		1	0,5	2		0,3				2	1	3
<i>L. andersoni (Grupo Migonei)</i>				2		0,3	2	1	0,1	4	1	5
<i>L. walkeri (Grupo Migonei)</i>							2			2		2
<i>L. sp (Grupo Verrucarum)</i>	2		1,1				4		0,1	6		6
<i>L. (Pressatia) calcarata</i>		1	0,5		17	2,3		9	0,2		27	27
<i>L. (Pressatia) choti</i>					3	0,4		15	0,3		18	18
<i>L. (Pressatia) sp.</i>	1		0,5	6		0,8	7		0,1	14		14
<i>L. (Psathyromyia) dendrophyla</i>	1		0,5				7	3	0,2	8	3	11
<i>L. (Psathyromyia) sp.</i>							2			2		2
<i>L. barrettoii barrettoii (Grupo Aragoi)</i>							1			1		1
<i>L. aragoi (Grupo Aragoi)</i>	7	4	6	23	32	7,3	50	56	1,9	80	92	172
<i>L. (Trichopygomyia) gantieri</i>				4	4	1,1	4	8	0,2	8	12	20
<i>L. (Trichopygomyia) sp.</i>				1		0,1	1			2		2
<i>L. (Nyssomyia) flaviscutellata</i>				4		0,5	1			5		5
<i>L. (Nyssomyia) hernandezi</i>				1		0,1	2			3		3
<i>L. (Nyssomyia) yuilli yuilli</i>	15		8,2	26		3,4	2936	92	54	2977	92	3069
<i>L. (Nyssomyia) shawi</i>	1		0,5	2		0,3	19	1	0,4	22	1	23
<i>L. (Trichophoromyia) octavioi</i>	49	53	56	281	236	68,6	489	579	19	819	868	1687
<i>L. (Psychodopygus) davisii</i>		2	1,1	1	1	0,3	68	13	1,5	69	16	85
<i>L. (Psychodopygus) amazonensis</i>							1			1		1
<i>L. (Psychodopygus) llanosmartinsi</i>	10		5,5	14		1,9	495	15	9,2	519	15	534
<i>L. (Psychodopygus) hirsuta hirsuta</i>	7	1	4,4	26	12	5,0	254	48	5,4	287	61	348
<i>L. (Psychodopygus) ayrozai</i>							9		0,2	9		9
<i>L. (Psychodopygus) carrerai carrerai</i>		1	0,5	3	3	0,8	63	17	1,4	66	21	87
<i>L. (Psychodopygus) sp.*</i>	1		0,5	7		0,9	96	1	1,7	104	1	105
<i>L. (Psychodopygus) sp.</i>				1		0,1	3		0,1	4		4
<i>L. (Helcocyrtomyia) guderiani</i>								1			1	1
<i>L. (Helcocyrtomyia) sp. +</i>	2		1,1	2		0,3	39		0,7	43		43
<i>Brumptomyia sp.</i>	1		0,5							1		1
<i>L. spp</i>	5	1	3,3	18	7	3,3	49	10	1,1	72	18	90
Total	117	65	100	436	318	100	4688	871	100	5241	1254	6495

L. = *Lutzomyia*, ♂ = Machos, ♀ = Fêmeas

I = Intradomicílio, P = Peridomicílio, E= Extradomicílio

**L. (Psychodopygus) sp* (afim de *L. (Psychodopygus) leonidasdeaneii*),

+*L. (Helcocyrtomyia) sp.* (afim de *Lutzomyia kirigetiensis*).

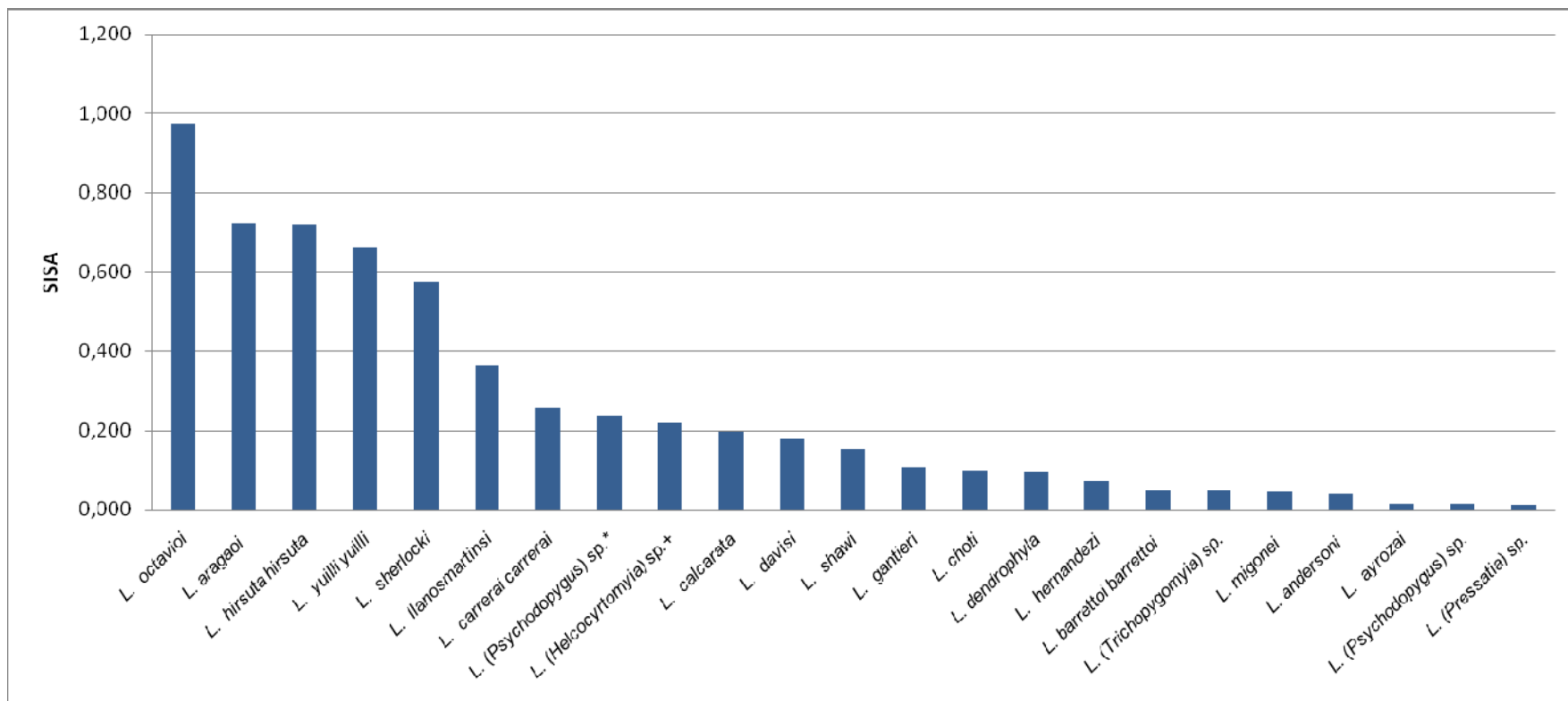


Figura 5.1 Espécies de flebotomíneos segundo o Índice de Abundância (SISA) na estação seca do ano. Comunidade de Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. Junho, julho, e setembro 2010.

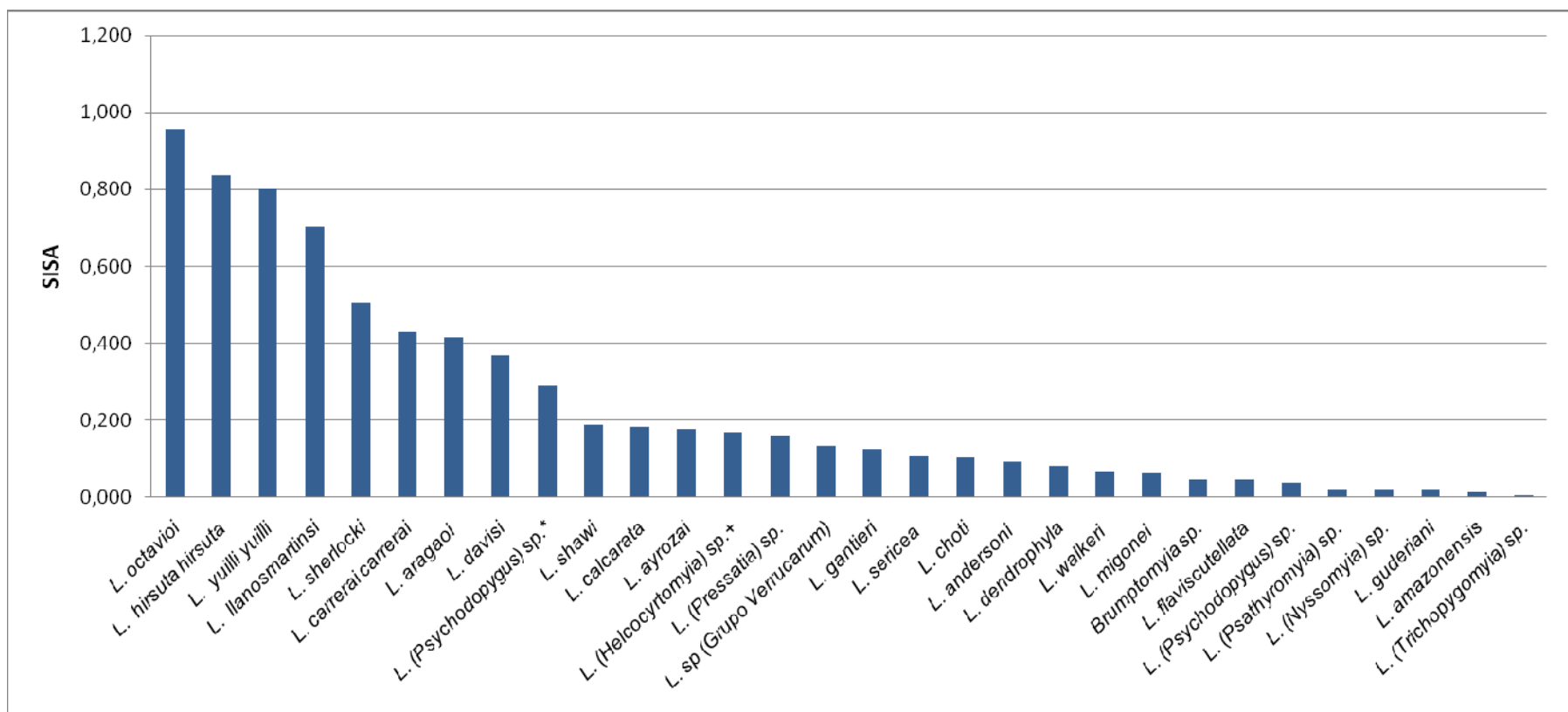


Figura 5.2 Espécies de flebotomíneos segundo o Índice de Abundância (SISA) na estação chuvosa do ano. Comunidade de Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. Novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011.

Tabela 5.4 Classificação das espécies de flebotomíneos segundo o Índice de Abundância Específico (ISA e SISA) nas estações de monitoramento (EM). Comunidade de Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. Junho, julho, setembro, novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011.

Espécie	EM 1	EM 2	EM 3	EM 4	ISA	SISA	C
<i>L. (Nyssomyia) yuilli yuilli</i>	168	112	808	1981	1,500	0,979	1º
<i>L. (Trichophoromyia) octavioi</i>	561	355	355	416	1,500	0,979	
<i>L. (Psychodopygus) llanosmartinsi</i>	39	51	162	282	3,500	0,894	2º
<i>L. (Psychodopygus) hirsuta hirsuta</i>	86	31	129	102	4,250	0,862	3º
<i>L. aragaoi (Grupo Aragaoi)</i>	83	46	25	18	6,250	0,777	4º
<i>L. (Lutzomyia) sherlocki</i>	36	32	29	16	6,875	0,750	5º
<i>L. (Psychodopygus) carrerai carrerai</i>	32	7	32	16	7,375	0,729	6º
<i>L. (Psychodopygus) sp.*</i>	18	2	50	35	8,500	0,681	7º
<i>L. (Psychodopygus) davisi</i>	4	3	39	39	9,875	0,622	8º
<i>L. (Nyssomyia) shawi</i>	5	3	12	3	12,125	0,527	9º
<i>L. (Pressatia) calcarata</i>	18	6	3		14,125	0,441	10º
<i>L. (Helcocyrtomyia) sp.+</i>	11	3	27	2	14,375	0,431	11º
<i>L. (Psathyromyia) dendrophyla</i>	4	1	5	1	15,375	0,388	12º
<i>L. (Pressatia) sp.</i>	10	1	1	2	15,875	0,367	13º
<i>L. (Trichopygomyia) gantieri</i>	14	6			16,875	0,324	14º
<i>L. (Psychodopygus) ayrozai</i>	1	2	1	5	17,000	0,319	15º
<i>L. (Pressatia) choti</i>	13	5			17,500	0,298	16º
<i>L. sp (Grupo Verrucarum)</i>	1	1	4		19,875	0,197	17º
<i>L. andersoni (Grupo Migonei)</i>	3	1	1		20,250	0,181	18º
<i>L. (Nyssomyia) sp.</i>	1	1		1	20,250	0,181	
<i>L. (Psychodopygus) sp.</i>	3			1	20,625	0,165	19º
<i>L. walkeri (Grupo Migonei)</i>				2	21,500	0,128	20º
<i>L. migonei (Grupo Migonei)</i>			4		21,750	0,117	21º
<i>L. (Nyssomyia) flaviscutellata</i>	5				22,000	0,106	22º
<i>L. sericea (Grupo Migonei)</i>	2		1		22,250	0,096	23º
<i>L. (Psathyromyia) sp.</i>			2		22,375	0,090	24º
<i>L. (Trichopygomyia) sp.</i>	1		1		23,125	0,059	25º
<i>L. barrettoi barrettoi (Grupo Aragaoi)</i>			1		23,375	0,048	26º
<i>L. (Psychodopygus) amazonensis</i>			1		23,375	0,048	
<i>L. (Helcocyrtomyia) guderiani</i>	1				24,250	0,011	27º
<i>Brumptomyia sp.</i>	1				24,250	0,011	

L. = *Lutzomyia*, C = Classificação final da espécie

**L. (Psychodopygus) sp* (afim de *L. (Psychodopygus) leonidasdeanei*),

+*L. (Helcocyrtomyia) sp.* (afim de *Lutzomyia kirigetiensis*).

Tabela 5.5 Classificação das espécies de flebotomíneos segundo o Índice de Abundância Específico (ISA e SISA) nos ambientes de coleta. Comunidade de Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. Junho, julho, setembro, novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011.

Espécie	I	P	E	ISA	SISA	C
<i>L. (Trichophoromyia) octavioi</i>	102	517	1068	1,333	0,987	1º
<i>L. (Nyssomyia) yuilli yuilli</i>	15	26	3028	2,333	0,948	2º
<i>L. aragai (Grupo Aragai)</i>	11	55	106	3,667	0,895	3º
<i>L. (Psychodopygus) hirsuta hirsuta</i>	8	38	302	4,333	0,869	4º
<i>L. (Psychodopygus) llanosmartinsi</i>	10	14	510	5,000	0,843	5º
<i>L. (Lutzomyia) sherlocki</i>	12	15	86	5,333	0,830	6º
<i>L. (Psychodopygus) sp.*</i>	1	7	97	9,833	0,654	7º
<i>L. (Psychodopygus) davisii</i>	2	2	81	11,000	0,608	8º
<i>L. (Psychodopygus) carrerai carrerai</i>	1	6	80	11,333	0,595	9º
<i>L. (Pressatia) calcarata</i>	1	17	9	11,667	0,582	10º
<i>L. (Helcocyrtomyia) sp.+</i>	2	2	39	11,667	0,582	10º
<i>L. (Nyssomyia) shawi</i>	1	2	20	13,833	0,497	11º
<i>L. (Pressatia) sp.</i>	1	6	7	14,000	0,490	12º
<i>L. barrettoii barrettoii (Grupo Aragai)</i>		1		15,667	0,425	13º
<i>L. (Trichopygomyia) gantieri</i>		8	12	15,833	0,418	14º
<i>L. (Pressatia) choti</i>		3	15	17,167	0,366	15º
<i>L. sp (Grupo Verrucarum)</i>	2		4	17,833	0,340	16º
<i>L. (Psathyromyia) dendrophyla</i>	1		10	18,333	0,320	17º
<i>L. sericea (Grupo Migonei)</i>	1	2		19,000	0,294	18º
<i>L. migonei (Grupo Migonei)</i>	4			20,000	0,255	19º
<i>L. andersoni (Grupo Migonei)</i>		2	3	20,667	0,229	20º
<i>L. (Nyssomyia) flaviscutellata</i>		4	1	21,333	0,203	21º
<i>L. (Psychodopygus) sp.</i>		1	3	22,167	0,170	22º
<i>Brumptomyia sp.</i>	1			22,500	0,157	23º
<i>L. (Psychodopygus) ayrozai</i>			9	22,833	0,144	24º
<i>L. (Nyssomyia) sp.</i>		1	2	23,000	0,137	25º
<i>L. (Trichopygomyia) sp.</i>		1	1	24,167	0,092	26º
<i>L. walkeri (Grupo Migonei)</i>			2	25,000	0,059	27º
<i>L. (Psathyromyia) sp.</i>			2	25,000	0,059	
<i>L. (Psychodopygus) amazonensis</i>			1	26,167	0,013	28º
<i>L. (Helcocyrtomyia) guderiani</i>			1	26,167	0,013	

L. = *Lutzomyia*, C = Classificação final da espécie

I = Intradomicílio, P = Peridomicílio, E= Extradomicílio

**L. (Psychodopygus) sp* (afim de *L. (Psychodopygus) leonidasdeanei*),

+*L. (Helcocyrtomyia) sp.* (afim de *Lutzomyia kirigetiensis*).

5.3 Frequência Horária das espécies de Flebotomíneos e sua Associação com a Temperatura e Umidade

De acordo com a análise da frequência horária, ocorreram cinco picos de atividade dos flebotomíneos, todos coincidentes nas duas estações com exceção do segundo pico que, na estação seca, foi evidenciado entre 22:00 h e 23:00 h, e na chuvosa entre 21:00 h e 22:00 h (Fig. 5.3).

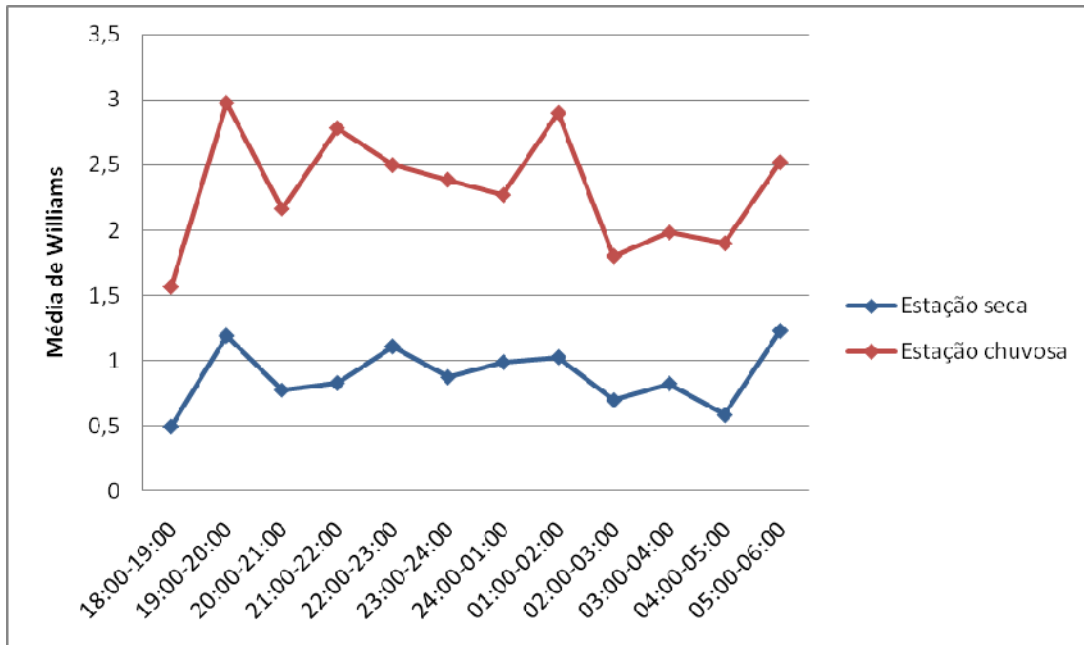


Figura 5.3 Frequência horária dos flebotomíneos nas estações seca (junho, julho, setembro 2010) e chuvosa (novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011). Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru.

Na análise da frequência horária de *L. (N.) yuilli yuilli* e *L. (T.) octavioi*, as duas espécies mais frequentes na coleta, se observa que o maior pico de atividade da primeira apresenta uma diferença de horário entre a estação seca e chuvosa de 21:00 e 22:00 para 22:00 e 23:00h, respectivamente; e o maior pico de atividade da segunda apresenta também uma diferença no horário entre as duas estações de 05:00 e 06:00h na estação seca para 04:00 e 05:00h na estação chuvosa. (Figura 5.4 e Figura 5.5).

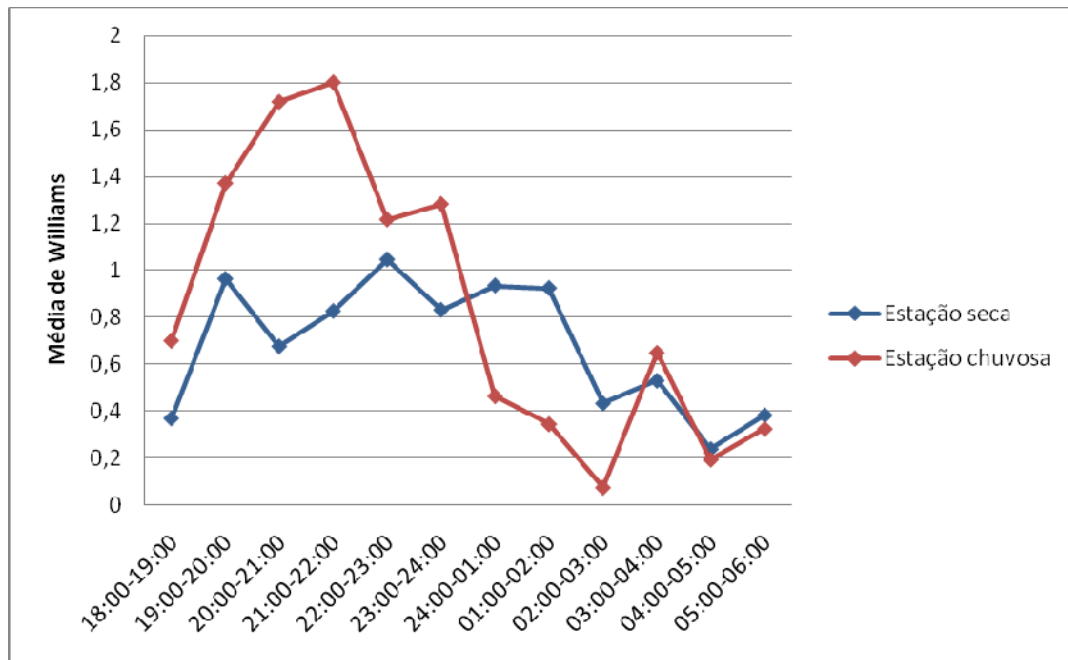


Figura 5.4 Frequência horária de *L. (N.) yuilli yuilli* nas estações seca (junho, julho, setembro 2010) e chuvosa (novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011). Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru.

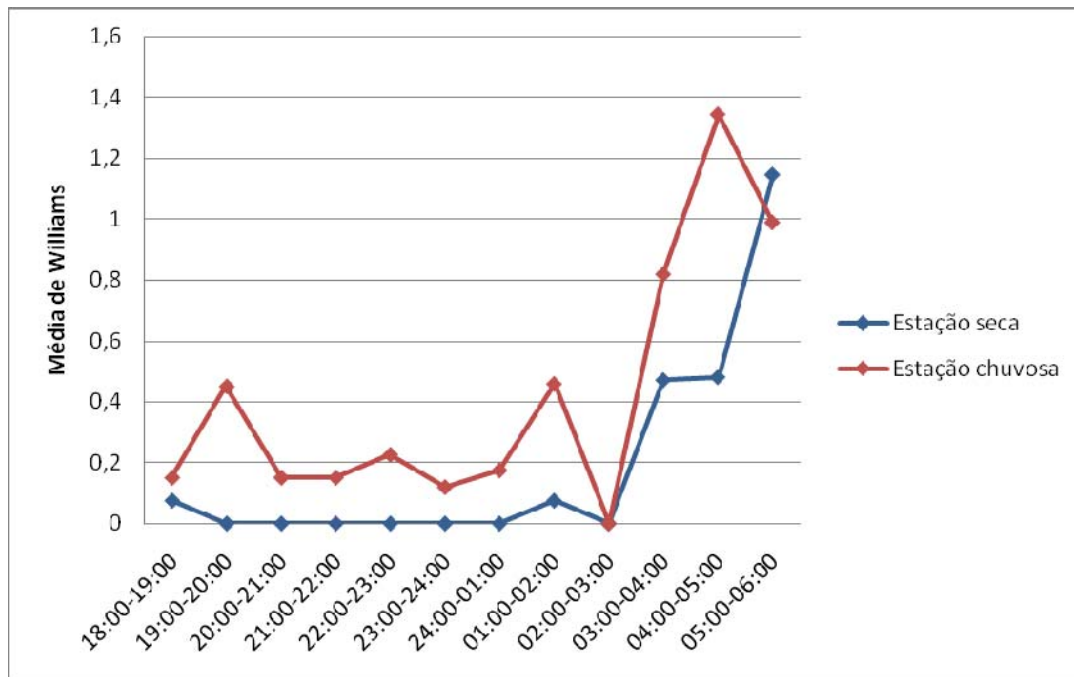


Figura 5.5 Frequência horária de *L. (T.) octavioi* nas estações seca (junho, julho, setembro 2010) e chuvosa (novembro, dezembro 2010 e janeiro 2011). Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru.

Em relação à associação da frequência horária dos flebotomíneos com a temperatura e a umidade relativa do ar a análise de regressão mostrou que não houve nenhum tipo de associação estatisticamente significativa entre as variáveis mencionadas ($p = 0,386$) (Tabela 5.6). Este resultado também foi observado na análise realizada com as espécies *L. (N.) yuilli yuilli* ($p= 0,588$) e *L. (T.) octavioi* ($p=0,654$) (Tabela 5.7 e Tabela 5.8).

Tabela 5.6 Análise de variância da frequência horária do número total de flebotomíneos coletados em relação à temperatura e à umidade relativa do ar com seus respectivos coeficientes de regressão.

Modelo	Soma de Quadrados	GL	Quadrado Médio	F	p
Regressão	5073,151	2	2536,575	,957	,386 ^a
Residual	397613,908	150	2650,759		
Total	402687,059	152			

Modelo	Coeficientes de regressão		Coeficientes padronizados		
	B	Erro padrão	Beta	T	p
(Constant)	-109,582	107,847		-1,016	,311
Temp	3,089	2,526	,101	1,223	,223
Umid	,862	,977	,073	,882	,379

Variável: Dependente: Número total de flebotomíneos capturados
 Variáveis independentes: umidade, temperatura

Tabela 5.7 Análise de variância da frequência horária de *L. (N.) yuilli yuilli* em relação à temperatura e à umidade relativa do ar com seus respectivos coeficientes de regressão

Modelo	Soma de Quadrados	GL	Quadrado Médio	F	p
Regressão	2086,954	2	1043,477	,533	,588 ^a
Residual	293857,516	150	1959,050		
Total	295944,471	152			

Modelo	Coeficientes de regressão		Coeficientes padronizados		
	B	Erro padrão	Beta	T	P
(Constant)	-72,436	92,714		-,781	,436
Temp	1,910	2,172	,073	,879	,381
Umid	,594	,840	,059	,708	,480

Variáveis independentes: umidade, temperatura
 Variável: Dependente: Espécimes capturados de *L. yuilli yuilli*

Tabela 5.8 Análise de variância da frequência horária de *L. (T.) octavioi* em relação à temperatura e à umidade relativa do ar com seus respectivos coeficientes de regressão

Modelo	Soma de				
	Quadrados	GL	Quadrado Médio	F	p
Regression	117,707	2	58,854	,425	,654
Residual	20763,875	150	138,426		
Total	20881,582	152			

Variáveis Independentes: Humid, Temp

Variável Dependente: L.T. octavioi

Model	Coeficientes				
	Coeficientes de Regressão		padronizados		
	B	Erro Padrão	Beta	t	P
(Constant)	-17,306	24,645		-,702	,484
Temp	,127	,577	,018	,219	,827
Humid	,206	,223	,077	,922	,358

5.4 Determinação da Infecção Natural por *Leishmania* spp. em Fêmeas de Flebotomíneos

Mediante a técnica de PCR-Multiplex foram analisadas 550 fêmeas de *L. (N.) yuilli yuilli* y 170 fêmeas de *L. (T.) octavioi* distribuídas em *pools* de 10 indivíduos. Sete *pools* pertencentes à primeira espécie e três *pools* pertencentes à segunda espécie foram positivos à infecção natural por *Leishmania* spp (Figura 5.6 e 5.7).

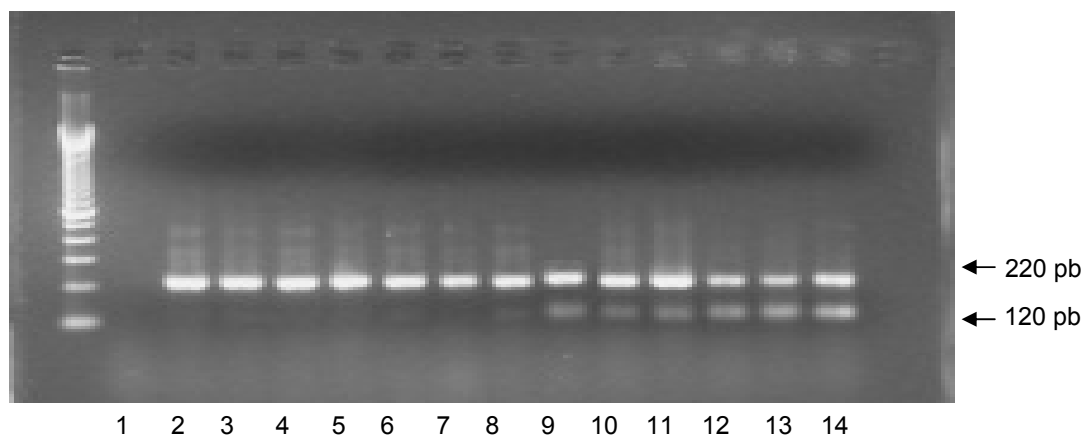


Figura 5.6. Gel demonstrativo de *pools* de fêmeas de *L. yuilli yuilli* positivos a infecção natural por *Leishmania* spp. Produto de amplificação de 220 pb representa o gene cacophony (gênero *Lutzomyia*), produto de amplificação de 120 pb corresponde à região conservada dos minicirculos do kinetoplasto de *Leishmania* spp. 1: controle negativo da reação, 2-3: controles negativos de extração (machos), 7 -13: *pools* positivos de *L. yuilli yuilli*, 14: controle positivo da reação

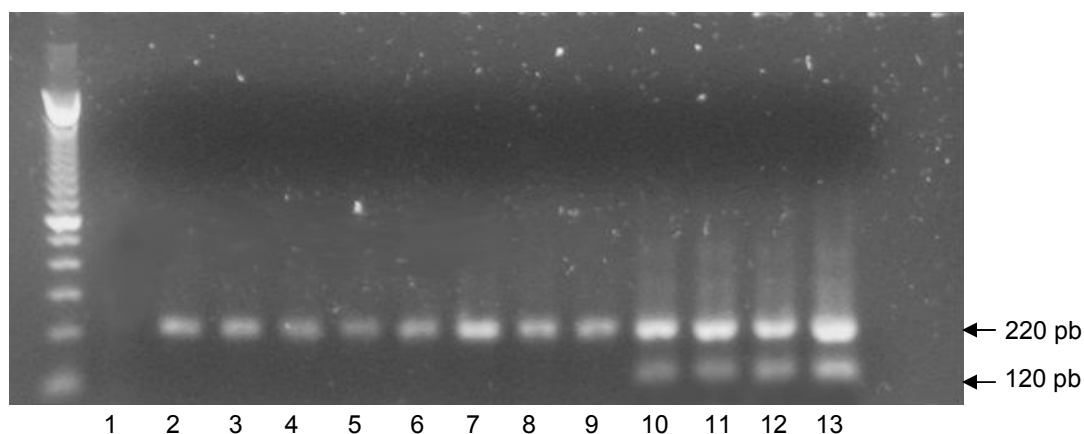


Figura 5.7. Gel demonstrativo de *pools* de fêmeas de *L. octavioi* positivos a infecção natural por *Leishmania* spp. Produto de amplificação de 220 pb representa o gene cacophony (gênero *Lutzomyia*), produto de amplificação de 120 pb corresponde à região conservada dos minicírculos do kinetoplasto de *Leishmania* spp. 1: control negativo da reação 2-3: controles negativo de extração (machos), 4-9: *pools* negativos, 10 - 12: *pools* positivos de *L. octavioi*, 13: controle positivo da reação

Os *pools* positivos de *L. (N.) yuilli yuilli* procederam de coletas realizadas em ambientes extradomiciliares e de três estações de monitoramento estudadas: EM1, EM3 e EM4 (Tabela 5.9). Em quanto que os *pools* positivos de *L. (T.) octavioi* procederam de coletas realizadas nos ambientes intra, peri e extradomiciliares e de duas estações de monitoramento: EM1 e EM2 (Tabela 5.10).

Nos grupos de fêmeas de *L. (N.) yuilli yuilli* coletados no mês de novembro obtivemos um índice de infecção natural de 8% (2/25). Em relação aos grupos coletados no mês de dezembro este índice foi de 21,4% (3/14). Os grupos de fêmeas coletadas no mês de janeiro apresentaram um índice de infecção natural de 12,5% (2/16).

Considerando que, pelo menos um dos insetos de cada pool positivo estava infectado, o índice mínimo de infecção calculado para os meses de novembro, dezembro de 2010 e janeiro de 2011 foi de 0,8%, 2,14% e 1,25%, respectivamente. O índice mínimo total de infecção natural para *L. (N.) yuilli yuilli* foi de 1,27%.

No caso *L. (T.) octavioi* a infecção natural por *Leishmania* spp. só foi observada nos grupos de fêmeas coletados no mês de janeiro, com um índice de infecção de 17,6% (3/17) e um índice mínimo de infecção natural de 1,76%.

Tabela 5.9 Pools de fêmeas de *L.(N.) yuilli yuilli* positivos à infecção natural por *Leishmania (V.)* por estação de monitoramento e ambiente de coleta de procedência.

Data de coleta	Nº de pools analisados	Nº de pools positivos	Índice de Infecção	Índice de Infecção mínimo	Estação de monitoramento	Ambiente de coleta
Novembro 2010	25	2	8%	0,8%	EM1, EM3	Extradomicílio
Dezembro 2010	14	3	21,4%	2,14%	EM3, EM4	Extradomicílio
Janeiro 2011	16	2	12,5%	1,25%	EM3, EM4	Extradomicílio

Tabela 5.10 Pools de fêmeas de *L.(T.) octavioi* positivos à infecção natural por *Leishmania (V.)* por estação de monitoramento e ambiente de coleta de procedência.

Data de coleta	Nº de pools analisados	Nº de pools positivos	Índice de Infecção	Índice de Infecção mínimo	Estação de monitoramento	Ambiente de coleta
Novembro 2010	11	0	-	-	-	
Dezembro 2010	01	0	-	-	-	
Janeiro 2011	05	03	17,6%	1,76%	EM1, EM2	I,P,E

I= Intradomicílio, P= Peridomicílio, E=Extradomicílio

5.5 Fatores ambientais associados à presença de flebotomíneos no peridomicílio

Foram comparadas as características ambientais encontradas no ambiente peridomiciliar das estações de monitoramento EM1, EM2 e EM3 em associação com a ocorrência das cinco espécies de flebotomíneos mais frequentes neste ambiente: *L.(T) octavioi* (68,57%), *L. aragaoi* (7,29%), *L.(Ps.) hirsuta hirsuta* (5,04%), *L.(N.) yuilli yuilli* (3,45%), *L. (Pr.) calcarata* (2,25%) e *L. (Ps.) llanosmartinsi* (1,86%).

Para a EM1 as espécies mais frequentes foram *L.(T) octavioi* (48,8%), *L.(N.) yuilli yuilli* (14,60%) e *L.(Ps.) hirsuta hirsuta* (7,48%) associadas ao ambiente onde se observa maior impacto antrópico, em comparação as outras duas EMs. Esta EM, além de estar situada na margem da estrada de acesso à comunidade, possui um chiqueiro localizado ao lado da residência e uma cultura de café junto a parede posterior desta. (Figura 5.8 e Tabela 5.11).



Figura 5.8 EM1/Peridomicilio. Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. A. Vista frontal da residência. B. Parede posterior da residência e cultura de café. C. Chiqueiro

Para a EM2, com presença de animais domésticos (galinhas, cães e gatos) e de plantações de frutas (laranja e banana), cacau e café, as espécies *L.(T) octavioi* (51%), *L.(N.) yuilli yuilli* (16%) foram também as mais frequentes, seguidas por *L. (Ps.) llanosmartinsi* (7,40%). (Figura 5.9 e Tabela 5.11)

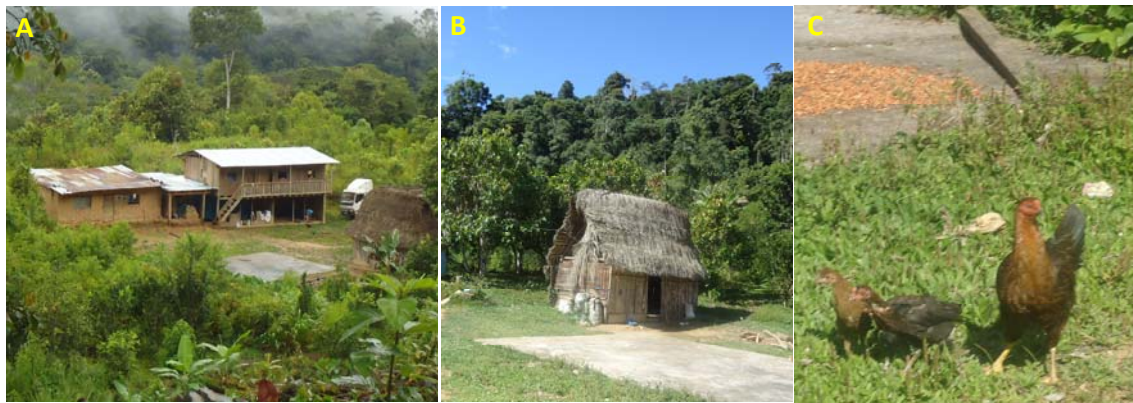


Figura 5.9 EM2/Peridomicilio. Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. A. Residência. B. Peridomicilio C. Galinhas no peridomicilio

Na EM3, com vegetação nativa mais preservada em relação às outras, *L.(N.) yuilli yuilli* (47,1%) foi a mais freqüente, seguida por *L.(T) octavioi* (20%) e *L. (Ps.) llanosmartinsi* (9,45%), onde se observam animais domésticos (patos, galinhas, cães) e plantações de frutas (laranja, banana e lima) e cacau. Esporadicamente a área é visitada por animais silvestres, dentre eles a capibara (Figura 5.10 e Tabela 5.11).



Figura 5.10 EM3/Peridomicilio. Aguas Calientes, La Convención, Cusco, Peru. A. Residência. B. Parede posterior da residência. C. Galinhas no peridomicilio

Tabela 5.11 Descrição do ambiente peridomiciliar das estações de monitoramento EM1, EM2 e EM3 e espécies de flebotomíneos presentes no local

EM	Descrição do peridomicílio	Espécie	%
EM 1	Chiqueiro e galinhas Cultura de café	<i>L.(T) octavioi</i>	48,8
		<i>L.(N.) yuilli yuilli</i>	14,60
		<i>L.(Ps.) hirsuta hirsuta</i>	7,48
		<i>L. aragaoi</i>	7,22
		<i>L. (Ps.) llanosmartinsi</i>	3,39
		<i>L. (Pr.) calcarata</i>	1,57
EM 2	Galinhas, cães e gatos Plantações de frutas (laranja, manga, banana) cacau e cafe	<i>L.(T) octavioi</i>	51,00
		<i>L.(N.) yuilli yuilli</i>	16,00
		<i>L. (Ps.) llanosmartinsi</i>	7,40
		<i>L. aragaoi</i>	6,60
		<i>L.(Ps.) hirsuta hirsuta</i>	4,50
		<i>L. (Pr.) calcarata</i>	0,90
EM 3	Patos, galinhas, cães Plantações de frutas (laranja, lima, banana) e cacau Visitas esporádicas de animais silvestres	<i>L.(N.) yuilli yuilli</i>	47,10
		<i>L.(T) octavioi</i>	20,00
		<i>L. (Ps.) llanosmartinsi</i>	9,45
		<i>L.(Ps.) hirsuta hirsuta</i>	7,53
		<i>L. aragaoi</i>	1,46
		<i>L. (Pr.) calcarata</i>	0,18

5.6 Variação ocorrida na fauna de flebotomíneos na estação de monitoramento EM4, a partir de 2005

Comparando-se a fauna flebotomínica dos dois períodos de estudos, 2005 e 2010-2011, observa-se que seis espécies: *L. andersoni* *L.(Ps) nocticola* *L. (Ps.) geniculata* *L.(Ps.) chagasi* *L. (T.) auraensis* e *Brumptomyia galindoi* registradas em 2005, estiveram ausentes nas coletas de 2010-2011. Por outro lado, sete espécies foram identificadas apenas nos estudos atuais *L. (Psa.) dendrophylla*, *L. aragaoi*, *L.*

(N.) shawi, *L. (T.) octavioi*, *L. (Ps.) ayrozai* e *L. (Ps.) sp* (afim de *L. (Ps.) leonidasdeanei*).

Houve também uma variação na frequência de três espécies, ao se comparar os dois períodos trabalhados. *L. (Ps.) llanosmartinisi* na estação seca, em 2005 representava 22,20% dos espécimes coletados enquanto que no período 2010-2011 esta frequência cai para 0,84%; na estação chuvosa, observa-se o inverso, onde em 2005 a frequência era de 2,79% , subindo para 17,9% em 2010-2011. *L. (Ps.) carrerai carrerai* tem a frequência reduzida de 13,60% para 0,77%, na estação seca, e de 11,17% para 0,33, na estação chuvosa, considerando os anos de 2005 e 2010-2011 respectivamente (Tabela 5.12).

Tabela 5.12 Flebotomíneos na estação de monitoramento 4 (EM4) por estação do ano. Aguas Calientes, La Convención. 2005, 2010-2011

Espécie	Estação seca								Estação chuvosa							
	2005				2010-2011				2005				2010-2011			
	♀	♂	♀♂	%	♀	♂	♀♂	%	♀	♂	♀♂	%	♀	♂	♀♂	%
<i>L. (Lutzomyia) sherlocki</i>	2		2	0.48	9	1	10	0,7	2	1	3	0.52	6		6	0,4
<i>L. andersoni</i> (Grupo Migonei)									2		2	0.35				
<i>L. walkeri</i> (Grupo Migonei)									1	2	3	0.52	2		2	0,13
<i>L. sp.</i> (Grupo Migonei)									2		2	0.35				
<i>L. (Pressatia) sp.</i>									1		1	0.17	2		2	0,13
<i>L. (Psathyromyia) dendrophyla</i>					1		1	0,07								
<i>L. aragaoi</i> (Grupo Aragaoi)					4	7	11	0,77					5	2	7	0,46
<i>L. (Nyssomyia) hernandezi</i>													1		1	0,07
<i>L. (Nyssomyia) yuilli yuilli</i>	173		173	41.29	1085	68	1153	80,7	303	2	305	53.23	825	3	828	54,8
<i>L. (Nyssomyia) shawi</i>					2		2	0,14					1		1	0,07
<i>L. (Trichophoromyia) octavioi</i>					45	87	132	9,24					123	161	284	18,8
<i>L. (Trichophoromyia) auraensis</i>									0	6	6	1.05				
<i>L. (Trichophoromyia) sp.</i>	5		5	1.19					12		12	2.09				
<i>L. (Psychodopygus) chagasi</i>	30		30	7.16					94	1	95	16.58				
<i>L. (Psychodopygus) davisi</i>	15	2	17	4.06	14	5	19	1,33	14	6	20	3.49	16	4	20	1,32
<i>L. (Psychodopygus) llanosmartinsi</i>	93		93	22.20	12		12	0,84	14	2	16	2.79	259	11	270	17,9
<i>L. (Psychodopygus) hirsuta hirsuta</i>	38	1	39	9.31	44	15	59	4,13	38	6	44	7.68	34	9	43	2,85
<i>L. (Psychodopygus) ayrozai</i>					1		1	0,07					4		4	0,26
<i>L. (Psychodopygus) carrerai carrerai</i>	50	7	57	13.60	8	3	11	0,77	59	5	64	11.17	4	1	5	0,33
<i>L. (Psychodopygus) sp.*</i>					4		4	0,28					30	1	31	2,05
<i>L. (Psychodopygus) geniculata</i>	1		1	0.24												
<i>L. (Psychodopygus) nocticola</i>	0	1	1	0.24												
<i>L. (Helcocyrtomyia) sp.+</i>					2		2	0,14								
<i>Brumptomyia galindoi</i>	1		1	0.24												
<i>L. spp</i>	0				4	7	11	0,77					5	1	6	0,4
Total	408	11	419	0	1235	193	1428	99,9	542	31	573	0	1317	193	1510	100

L. = *Lutzomyia*, ♂ = Machos, ♀ = Fêmeas, %= Porcentagem

**L. (Psychodopygus) sp* (afim de *L. (Psychodopygus) leonidasdeanei*), *L. (Helcocyrtomyia) sp.* (afim de *Lutzomyia kirigetiensis*).

6. Discussão

O levantamento da fauna flebotomínica realizado na Comunidade de Aguas Calientes, província de La Convención, departamento Cusco, com um total de 6495 espécimes coletados e 31 espécies identificadas, representa uma importante contribuição para o conhecimento sobre os flebotomíneos no Peru.

A espécie *L. sericea*, conhecida em países como a Guiana Francesa, Equador, Colômbia, Venezuela, Suriname e Brasil (Young & Duncan 1994, Galati 2010) foi registrada pela primeira vez no Peru neste estudo. Assim mesmo, as espécies: *L. barrettoii barrettoii*, *L. (N.) flaviscutellata* e *L. (Tr.) gantieri*, são novos registros para o departamento de Cusco. É importante observar que a espécie *L. (Tr.) gantieri* representa recente registro no Peru (Perez 2008).

Segundo a lista publicada por Cáceres (2000), os dados fornecidos pela Direção de Saúde Cusco e os estudos entomológicos realizados por Paucar (2001), Quispe & Rado (2008), Quispe (2009) e Quispe (2010), eram 50 as espécies de flebotomíneos presentes na província de La Convención e 24 as espécies presentes na comunidade de Aguas Calientes. Os atuais registros de *L. migonei*, *L. (T.) octavioi* e *L. (Ps.) ayrozai* para a província e de *L. (Pr.) calcarata*, *L. (Ps.) amazonensis* e *L. (Hel.) guderiani* para a comunidade que o presente estudo descreve, incrementaram o número de espécies.

Duas espécies: *L. (Ps.)* sp. (afim de *L. (Ps.) leonidasdeanei*) e *L. (Hel.)* sp. (afim de *L. (Hel.) kirigetiensis*), por apresentarem características morfológicas que as diferem daquelas que lhes são afins, sendo a estrutura do paramero do macho para a primeira e o tamanho do labro da fêmea para a segunda, podem ser consideradas espécies ainda não descritas. No entanto, novas coletas, com armadilhas luminosas tipo CDC e em refúgios diurnos, tornam-se necessárias à procura de espécimes machos, já que na coleta realizada predominaram as fêmeas destas espécies, contabilizando-se apenas um macho pertencente à *L. (Ps.)* sp. (afim de *L. (Ps.) leonidasdeanei*).

A identificação de 31 espécies na área de estudo corresponde à diversidade encontrada em outras áreas tropicais localizadas ao leste da Cordilheira dos Andes

no Peru como os relatos realizados nas localidades de Pillcopata, no departamento de Cusco, com 28 espécies registradas; e Tambopata e Los Amigos, no departamento de Madre de Dios, com 25 e 35 espécies registradas, respectivamente (Perez 1994, 2008).

L. (N.) yuilli yuilli (47,25%) e *L. (T.) octavioi* (25,97%) foram as espécies que apresentaram a maior frequência na comunidade de Aguas Calientes e os maiores índices de abundância registrados para as estações de monitoramento e os ambientes de coleta, com predominância da primeira no ambiente extradomiciliar.

L. (N.) yuilli yuilli já foi registrada, na área de estudo, em trabalhos anteriores realizados por Paucar em 2001, Quispe & Rado em 2008 e Quispe em 2009 que também reportaram a esta espécie como a mais frequente. Estes dados demonstram que *L. (N.) yuilli yuilli* foi capaz de se adaptar as diferentes condições ambientais e mudanças ocorridas nesta área mantendo sua alta frequência o longo dos últimos 10 anos.

Em relação às estações de monitoramento e os ambientes de coleta, na estação de monitoramento EM 4 (45,3%), e no ambiente extradomiciliar (85,6%), foram coletados o maior número de espécimes, este fato pode ser explicado por o menor impacto antrópico observado na EM4 em comparação com às outras estações de monitoramento, e porque são poucas as espécies que conseguem se adaptar nos ambientes peri e intradomiciliares.

De acordo com estudos realizados em relação à frequência horária dos flebotomíneos, o período de maior atividade se observa, principalmente, entre 18:00 e 22:00h, diminuindo progressivamente até o amanhecer. Este comportamento foi observado por Perez (1994), em Pillcopata, província de Paucartambo, Cusco, localizada a 800 m de altitude; onde o maior pico de atividade de *Lutzomyia* spp. foi entre 21:00 e 22:00 h diminuindo no amanhecer, até desaparecer. Um resultado similar foi observado nas coletas realizadas na comunidade de Aguas Calientes, em 2005, onde os picos de maior atividade ocorreram entre 18:00 e 19:00h, diminuindo progressivamente até as 22:00h (Quispe & Rado 2008). Este padrão também se apresentou na avaliação da frequência horária no atual estudo, onde o maior pico de atividade ocorreu entre 19:00 e 20:00h. Cabe observar, no entanto, que, além desse,

houve outros picos de atividade. Entre eles se destacaram aqueles que aconteceram entre 01:00 e 02:00 h e entre 05:00 e 06:00h, se observando um comportamento bimodal na frequência horária dos flebotomíneos, com dois picos de maior atividade, fato que não foi observado em estudos anteriores.

Segundo a análise feita com as espécies mais freqüentes, se deduz que *L. yuilli yuilli* seria a responsável pelo pico de atividade observado entre 19:00 e 20:00h e *L. octavioi*, responsável pelos picos observados entre 01:00 e 02:00 h e entre 05:00 e 06:00 h, o que pode significar que enquanto uma espécie se apresenta ativa nas primeiras horas da noite é substituída pela outra nas primeiras horas do dia. A atividade nas primeiras horas do dia também foi registrada para outras espécies do subgênero *Trichophoromyia*: *L. (Trichophoromyia) aurensis*, com picos de atividade entre 04:00 e 05:00h, em Tambopata, departamento de Madre de Dios (Herrer 1999) e *L. (Trichophoromyia) sp*, com picos de atividade entre 04:00 e 05:00h, na comunidade de Alto Ivochote, provincia de La Convención, departamento de Cusco (Quispe 2010).

Considerando que os horários de maior atividade dos flebotomíneos estão relacionados com o período de maior risco de transmissão de Leishmaniose, chama a atenção a coincidência destes horários com aqueles em que a população da área estudada, cuja principal atividade é a agricultura, inicia e termina suas atividades no campo, correndo maior risco de se expor à picada do inseto vetor.

Das 31 espécies identificadas no presente estudo, 08 foram associadas a transmissão das Leishmanioses humanas em outros países: *L. migonei*, associada a *L.(V.) braziliensis* na Argentina, Brasil e Paraguai; *L. carrerai carrerai*, *L. llanosmartinisi*, *L. shawi* e *L. ayrozai*, associadas também a *L.(V.) braziliensis* na Bolívia; *L. flaviscutellata* associada a *L. (L.) amazonensis* na Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador e Venezuela; *L. shawi* associada a *L. (V.) guyanensis* na Bolívia e *L. yuilli yuilli* associada a *L. (V.) panamensis* na Colômbia (WHO 2010).

Na selva peruana, pouco se sabe em relação à participação das diferentes espécies de flebotomíneos na transmissão da Leishmaniose tegumentar e são escassos os estudos dirigidos à pesquisa de infecção natural pelo parasito. Considerando que este é um fator importante na incriminação de uma espécie como

vetor, e que os departamentos de San Martin, Madre de Dios e Cusco, declarados em alto risco para ambas as formas da doença, ocupam áreas de selva alta e baixa torna-se importante a realização de maiores estudos neste sentido.

No presente estudo *L.(N.) yuilli yuilli* foi encontrada naturalmente infectada por *Leishmania* spp., fato que também foi observado por Paucar (2001) quem relatou a infecção natural desta mesma espécie de flebotomíneo por *Leishmania (V.)* sp., assim como sua preferência em picar o homem no decorrer das coletas realizadas na comunidade de Águas Calientes. O fato de que Caballero (2003) e Gutierrez & Pacheco (2008), isolaram *L.(V.) braziliensis* a partir de amostras de pacientes com Leishmaniose na área de estudo, poderia sugerir a associação de *L.(N.) yuilli yuilli* com esta espécie de *Leishmania*, porém, se torna necessária a caracterização do parasito isolado, no atual estudo, para determinar dita associação.

A infecção natural por *Leishmania* spp. encontrada em *L. octavioi* foi o primeiro registro para esta espécie. Considerando que *L. octavioi* é uma das espécies mais abundantes na área e que está presente em todas as EM avaliadas e em todos os ambientes de coleta estudados, maiores estudos em relação à sua preferência alimentar são necessários para determinar o papel que cumpre na transmissão da Leishmaniose tegumentar na área de estudo.

Os índices mínimos de infecção natural por *Leishmania* spp. calculados tanto para *L. yuilli yuilli* (1,20%) quanto para *L. octavioi* (1,76%) são altos em comparação a outros resultados obtidos em estudos realizados no Peru. Pérez (1991) registra um índice de infecção natural por parasitos do gênero *Leishmania* de 0.34% em *Lutzomyia peruensis* e Cáceres (2002) obteve um índice de infecção por *Leishmania peruviana* em *Lutzomyia ayacuchensis* de 0.49%. Contudo a comparação entre estes resultados se torna difícil, pois a metodologia utilizada para a determinação de infecção natural é padronizada por cada pesquisador não existindo um método padrão universal.

Na comunidade de Aguas Calientes, no decorrer dos últimos 10 anos, tem-se observado a expansão das áreas de cultura de café, cacau e urucum, pois a agricultura é a principal atividade da população. Estas áreas de cultivo freqüentemente representam um habitat adequado para espécies de flebotomíneos,

principalmente, quando a vegetação nativa tem sido amplamente substituída (Alexander 2002). Estas alterações na paisagem vêm gerando a adaptação de algumas espécies de flebotomíneos a ambientes peri e intradomiciliares. Nas estações de monitoramento localizadas em residências se observa que *L.(T) octavioi* e *L. (N.) yuilli yuilli* foram as espécies que ocorreram com maior frequência nas áreas de peridomicílio. *L.(T) octavioi* parece estar associada a ambientes com maior impacto antrópico e presença de plantações de frutas (laranja, banana e lima) e animais domésticos (porcos e galinhas), características que foram observadas nas EM1 e EM2 onde esta espécie ocorreu com maior frequência. Por outro lado *L. (N.) yuilli yuilli* parece estar associada a plantações de café e áreas com vegetação nativa mais preservada, características que foram observadas nas EM1 e EM3. O fato desta espécie estar associada às plantações de café explica sua adaptação às mudanças ocorridas, pelo impacto antrópico, na área de estudo, considerando que também esta associada a áreas de vegetação preservada.

A associação de *L. (N.) yuilli yuilli* com plantações de café também foi descrita na Colômbia por Alexander (2001) e, no Brasil, Pinto (2010) associa esta espécie com áreas pouco impactadas.

A EM4, localizada em área de lazer, se caracteriza por ser o ambiente menos impactado em comparação com as outras EMs, com presença de vegetação arbórea primária e secundária e animais silvestres. Entretanto vem apresentando mudanças na sua paisagem pela construção da estrada de acesso à comunidade e a extração de madeira, atividade que a população vem realizando os últimos cinco anos.

Possivelmente, os impactos ambientais decorrentes dos fatos descritos acima podem estar relacionados com a variação da fauna flebotomínica ocorrida entre as coletas feitas em 2005 e 2010-2011, onde se observa a ausência de seis espécies de flebotomíneos registrados em 2005, bem como o registro de sete novas espécies para o segundo período de coletas, 2010-2011.

Considerando os critérios essenciais estabelecidos para a incriminação de vetores de Leishmanioses, tais como a antropofilia, a infecção natural do flebotomíneo com a mesma espécie de *Leishmania* que infecta o homem e a distribuição espacial do flebotomíneo coincidente com a dos casos humanos, as

evidências apresentadas no presente estudo são consistentes para sugerir que *L. (N.) yuilli yuilli* cumpre um papel importante como possível vetor da Leishmaniose tegumentar na comunidade de Aguas Calientes.

7. Conclusões

- Foram identificadas trinta e uma espécies de flebotomíneos pertencentes aos gêneros *Brumptomyia* França & Parrot, 1921 e *Lutzomyia* França, 1924, sendo *L. sericea*, um novo registro para o Peru, *L. barretoii barretoii*, *L. gantieri* e *L. flaviscutellata*, novos registros para o departamento de Cusco e *L. migonei*, *L. octavioi*, *L. ayrozai* e *L. guderiani* novos registros para a província de La Convención.
- Considerando as estações de monitoramento e os ambientes de coleta *L. (N.) yuilli yuilli* (47,25%) *L. (T.) octavioi* (25,97%), foram as espécies mais abundantes,
- *L. (T.) octavioi* foi a espécie com maior frequência nos três ambientes de coleta, e *L. (N.) yuilli yuilli* predominou no ambiente extradomiciliar.
- Foram observados cinco picos de atividade na frequência horária dos flebotomíneos ocorrendo com destaque para aqueles entre 19:00 e 20:00h, 01:00 e 02:00 e 05:00 e 06:00,
- *L. (N.) yuilli yuilli* foi encontrada naturalmente infectada por *Leishmania* sp. com um índice de infecção total mínimo de 1,27%,
- *L. (T.) octavioi* foi encontrada naturalmente infectada por *Leishmania* sp. com um índice de infecção total mínimo de 1,76%,
- *L.(T) octavioi* foi associada a ambientes com maior impacto antrópico e presença de plantações de frutas e animais domésticos,
- *L. (N.) yuilli yuilli* foi associada a presença de café e áreas com vegetação nativa mais preservada,
- Houve variação na ocorrência e na frequência das espécies de flebotomíneos, nas coletas realizadas em 2005 e 2010-2011, onde se observa a ausência de seis espécies de flebotomíneos registrados em 2005, bem como o registro de sete novas espécies para o segundo período de coletas, 2010-2011.
- Sugere-se a participação de *L. (N.) yuilli yuilli*, no ciclo de transmissão da leishmaniose tegumentar na comunidade de Águas Calientes, por cumprir com os critérios essenciais para a incriminação de vetores de leishmaniose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguiar GM, Vilela ML. Aspectos da ecologia dos flebótomos do parque Nacional da Serra dos Orgaos, Rio de Janeiro. Mens. Inst Oswaldo Cruz. 1987; 81:477-479.

Alexander B 1995. A review of bartonellosis in Ecuador and Colombia. Am J Trop Med Hyg. 1995; 52:354-359.

Alexander B, Barbosa-Oliveira E, Haigh E, Leal-Alemida L. Transmission of *Leishmania* in coffee plantations of Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002; 97(5): 627-630.

Alexander B, Agudelo LA, Navarro F, Ruiz F, Molina J, Aguilera G et al. Phlebotomine sandflies and leishmaniasis risks in Colombian coffee plantations under two systems of cultivation. Med Vet Entomol. 2001;15(4):364-73.

Altamirano-Enciso AJ. Comprometiendo la estructura osteo-facial de las poblaciones humanas del antiguo Perú por la Leishmaniasis Tegumentaria de forma mucosa. Rio de Janeiro. Tese [Doutorado] – Fundação Oswaldo Cruz, ENSP; 2000.

Ampuero J. *Leishmaniasis*. Módulos Técnicos. Serie Documentos Monográficos N° 8. MINSA. Lima, Perú. 2000; 39-50.

Andrade Filho JD & Brazil RP 2003. Relationships of new world phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) based on fossil evidence. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2003; 98 (Suppl. I): 145-149.

Arana M, Evans D, Zolessi A, Llanos A & Arevalo J. Biochemical characterization of *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Viannia) peruviana* by isoenzymes. Trans Soc Trop Med and Hyg. 1990; 90:526-529.

Arias J, Beltrán F, Desjeux P & Walton B. Epidemiología y control de la leishmaniasis en las Américas. Cuaderno Técnico N° 44. OPS. Washington, USA. 1996.

Ashford RW. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *Int J of Parasitol.* 2000; 30: 1269-1281.

Barretto MP. Observações sobre a biologia em condições naturais dos flebótomos do estado de São Paulo (Diptera: Psychodidae). São Paulo. Tese [Livre-Docência] - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 1943.

Braga J. Caracterización de Leishmanias de Loreto por patrones isoenzimáticos. Lima. Dissertação [Mestrado] - Universidad Peruana Cayetano Heredia; 1987.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana* / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância de Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 1 ed. – Brasília: Editora Ministério da Saúde, p.120, 2006.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana* / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 2. ed. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde. 182 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos), 2007.

Brazil R. & Brazil B. Biología de Flebotomíneos tropicales, p. 257-274. In: *Flebotomíneos do Brasil*. Eds. Rangel & Lainson, Ed. FIOCRUZ, Rio de Janeiro. 2003.

Caballero M. Caracterización isoenzimática de cepas de *Leishmania* sp. aisladas a partir de pacientes y vectores provenientes del distrito de Echarati- provincia de La Convención - Cusco. Cusco. Monografía [Graduação] – Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias Biologicas; 2003.

Cáceres AG, Villaseca P, Dujardin JC, Banuls AL, Inga R, Lopez M et al. Epidemiology of Andean cutaneous Leishmaniasis: incrimination of *Lutzomyia ayacuchensis* (Diptera: psychodidae) as a vector of *Leishmania* in geographically isolated, upland valleys of Peru. *Am J Trop Med Hyg.* 2004;70(6):607-12.

Cáceres AG, Villaseca P, Dujardin JC, Banuls AL, Inga R, Lopez M et al. Epidemiology of Andean cutaneous Leishmaniasis: incrimination of *Lutzomyia ayacuchensis* (Diptera: psychodidae) as a vector of *Leishmania* in geographically isolated, upland valleys of Peru. Am J Trop Med Hyg. 2002;70(6):607-12.

Cáceres A, Galati E., Pinto J, Paredes R, Reátegui R, Pérez J, et al. Psychodidae (Diptera) del Perú I: Phlebotominae en Huanuco, Pasco y Cusco, su relación con la enfermedad de Carrion y la Leishmaniasis Tegumentaria. Rev. Peru. Biol. 2000;Vol. 7 • N° 1

Cáceres AG, Galati EAB, Le Pont F, Velásquez C. Possible rol of *Lutzomyia maranonensis* and *Lutzomyia robusta* (Diptera:Psychodidae) as vector of human bartonellosis in three provinces of region nor oriental del Marañón, Perú. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1997; 39:51-52.

Cáceres GA. Especies de *Lutzomyia* (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) vectores de la uta en el Perú. Rev Peru Entomol.1996; 38: 23–26.

CIDEIM. Centro Internacional de Entomología e Investigaciones Medicas. Manual de Entomología medica para investigadores de América Latina. p. 81, 1994.

Cruzado L. *Lutzomyia peruensis* vector de *Leishmania* sp. en Pagash, Otuzco, Perú. In: Resúmenes de Trabajos Científicos. 10º Congreso Latinoamericano de Microbiología; Trujillo 1987. p.187.

Cueto M. Tropical medicine an bacteriology in Boston and Peru: studies of Carrión Disease in the early twentieth century. Med Hist. 1996; 40:344-364

Davies CR, Reithinger R, Campbell-Lendrum D, Feliciangeli D, Borges R & Rodriguez N. The epidemiology and control of leishmaniasis in Andean countries. Cadernos de Saúde Pública. 2000; 16 (4): 925-950.

Davies CR, Fernandez M, Paz V, Roncal N & Llanos A. *Lutzomyia verrucarum* can transmit *Leishmania peruviana*, the aethiological agent of Andean cutaneous leishmaniasis. *Trans Soc Trop Med and Hyg.*1993; 87, 603-606.

Diário Oficial El Peruano. Normas Legales. Modificaciones al Texto Único de Procedimientos Administrativos del Instituto Nacional de Recursos Naturales – INRENA, Anexo – Resolución Ministerial N° 698-2007-AG, 2007.

DIGESA. Dirección General de Salud Ambiental. Manual de campo para la Vigilancia Entomológica, Lima-Perú, p.142, 2002.

DIRESA. Dirección Regional de Salud Cusco. Boletín Epidemiológico. Cusco-Perú, p. 66, 2010.

Dujardin JC, Dujardin JP, Tibayrenc M, Timperman G, De Doncker S, Jacquet J et al. Karyotype plasticity in Neotropical *Leishmania*: an index for measuring genomic distance among *L. (V.) peruviana* and *L. (V.) braziliensis* populations. *Parasitol.* 1995; 110: 21-30.

Dujardin JC, Llanos A, Cáceres A, Arana M, Dujardin JP, Gomez J et al.1993. Molecular karyotype variation in *Leishmania (Viannia) peruviana*: indication of geographical populations in Perú distributed along a north-south cline. *Anns Trop Med and Parasitol.* 1993; 87, 335-347.

Falqueto A. Especificidade alimentar de flebotomíneos em duas áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar no estado do Espírito Santo. Rio de Janeiro. Tese [PhD] – Fundação Oswaldo Cruz; 1995.

Fernández R, Solorzano N, Lopez E & Mundal Kirk. Updated *Lutzomyia* species in Peru (Diptera-Psychodidae). In: Livro de resumos. 6th International Symposium on Phlebotomine Sandflies, 2008 oct 27-31; Lima, Perú.

Franke ED, Lucas CM, Tovar AA, Kruger JH, Seminario MV & Wignall FS. Diffuse cutaneous leishmaniasis acquired in Perú. *Am J Trop Med & Hyg.* 1990; 43, 260-262.

Galati E.. Classificação de Phlebotominae, p. 23-52. In *Flebotomíneos do Brasil*. Eds. Rangel & Lainson, Ed. FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2003.

Galati E. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) Classificação, Morfologia, Terminologia e Identificação de Adultos. Apostila Disciplina HEP 5752 Bioecologia e Identificação de Phlebotominae. Vol I. p 126, 2010.

Grimaldi G Jr, Tesh RB. Leishmaniasis of the New World: current concepts and implications for future research. *Clin Microbiol Rev.* 1993; 6(3):230-50.

Grimaldi G Jr, Momen H, Naiff RD, McMahon-Pratt D, Barret TV. Characterization and classification of leishmanial parasites from human, wild mammals, and sand flies in the Amazon region of Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 1991; 44(6): 645-661.

Gutierrez D & Pacheco C. Caracterización isoenzimática de cepas de *Leishmania* sp aisladas a partir de pacientes de la Comunidad de Kepashiato, distrito de Echarati, provincia de la Convención- Cusco. Cusco. Monografía [Graduação] – Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias Biologicas; 2008.

Herrer A. *Lutzomyia peruensis* Shannon, 1929, posible vector natural de la uta (leishmaniasis tegumentaria). *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1982; 24: 168-172.

Herrer A. The incidence of uta (cutaneous leishmaniasis) among the child population of Peru. *Scientific Reports of the Istituto Superiore di Sanità.* 1962; 2: 131-137.

Herrer A. Estudios sobre Leishmaniasis Tegumentaria en el Perú. VI. Relación entre la Leishmaniasis Tegumentaria y *Phlebotomus*. *Rev Med Exp.* 1951; 8: 119-137.

INS. Instituto Nacional de Salud “Manual de Procedimientos de identificación de vectores de Leishmaniosis y Enfermedad de Carrión” Serie de Normas Técnicas N° 36 Lima-Perú. p. 35, 2002.

INS. Instituto Nacional de Salud. Enfermedad de Carrión (Bartonellosis) en el Perú. Oficina General de Epidemiología y el Instituto Nacional de Salud. Lima – Perú, 2001

Kato H, Cáceres A, Gomez EA, Mimori T, Uezato H, Marco JD, et al. Short Report: Molecular Mass Screening to Incriminate Sand Fly Vectors of Andean-type Cutaneous Leishmaniasis in Ecuador and Peru. *Am. J. Trop. Hyg.* 2008; 79(5):719-721

Killick-Kendrick, R. & Ward RD. Ecology of *Leishmania*, Workshop N° 11. *Parasitol.* 1981, 82:143-152.

Killick-Kendrick, R. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Med Vet Ent.* 1990; 4:1-24.

Lainson R, Shaw JJ. New World leishmaniasis. The neotropical *Leishmania* species. In: Topley & Wilson's microbiology & microbiol infection.s Eds. Feg Cox, JP Kreier, D Wakelin. 9th ed., vol. 5, *Parasitology*, Arnold, London, p. 242-266, 1998.

Lainson, R & J. Shaw J. Evolution, classification and geographical distribution. *In: The leishmaniasis in Biology and Medicine*, Academic Press. Eds. Peters W & Killick-Kendrick R. London, Vol. 1: 1-120, 1987.

Lainson R & Shaw J. *Leishmania* and leishmaniasis of the New World, with particular reference to Brazil. *PAHO Bulletin.* 7: 1-18, 1973.

Lewis DJ & Ward RD. Transmission and vectors. In: *The leishmaniasis in Biology and Medicine* Academic Press. Eds. Peters W & Killick-Kendrick R. London, Vol. 1: 235-262, 1987.

Lewis DJ, Young DG, Fairchild GB & Minter DM. Proposals for a stable classification of the phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). *Syst Entomol.* 1977; 2:319-332.

Llanos-Cuentas EA, Roncal N, Villaseca P, Paz L, Ogusuku E, Pérez JE. Natural infections of *Leishmania peruviana* in animals in the Peruvian Andes. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1999; 93: 15-20.

Llanos-Cuentas EA & Davies C. Epidemiological studies on Andean cutaneous leishmaniasis and their significance for designing a control strategy. In: Leishmaniasis control strategies. Eds. Wijeyaratne P, Goodman T & Espinal C. p. 286-303, 1992.

Llanos B. Estudios sobre os Phlebotomíneos do Peru, (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). Departamento de Cusco. Rev. Bras. Biol. 1975; 35:655-664.

Llanos B. 1973. Flebótomos de la Selva peruana (Diptera: Psychodidae). Rev Per Entomol. 1973; 16: 29-50.

Lucas CM, Franke ED, Cachay MI, Tejada A, Cruz ME, Kreutzer RD 1998. Geographic distribution and clinical description of leishmaniasis cases in Peru. Am J Trop Med Hyg. 1998; 59(2):312-7.

Lucas CM, Franke ED, Cachay MI, Tejada A, Carrizales D & Kreutzer R.D. 1994. *Leishmania (Viannia) lainsoni*: first isolation in Perú. Am J Trop Med Hyg. 1994; 51:533-537.

Lumbreras H & Guerra H. Leishmaniasis in Perú. In: Chang, K.P. & R.S. Bray (Eds) *Leishmaniasis*, Elsevier, Amsterdam, p. 297-311, 1985.

Martins, A.V., Williams P. & Falcao A.L. *American sandflies* (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). *Academia brasileira de Ciências*, Rio de Janeiro. p. 195, 1978.

Maguiña C & Gotuzzo E. Bartonellosis. New and old. Infect Dis Clin North Am. 2000; 14:1-22

Medina G, Chávez A, Minaya G, Barbosa E. & Espinoza G. Infección por *Leishmania* sp. en caninos del distrito de Pampas Grande, Ancash. Rev. Inv. Vet. Peru. 2002; 13: 44-50.

Martins AV, Llanos ZB, Da Silva JE. Estudos sobre os Flebotomíneos do Peru (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). I. Departamento de Cusco: Descrição de três espécies novas. Rev Bras Biol. 1975; 35: 645-54.

Ministerio de Energia y Minas - Concejo Provincial de La Convención. Aproximación a la Microzonificación Ecológica Económica provincia La Convencion, p. 8-69, 2005.

MINSA. Ministerio de Salud. Oficina General de Epidemiología (OGE). Boletín Epidemiológico Semanal N° 38, 2004.

Ogusuku E, Cruz C, Flores M, Fernandez M & Hernandez J. Entomological Surveillance and Vector Control in Peru. In: Livro de resumos. 6th International Symposium on Phlebotomine Sandflies, 2008 oct 27-31; Lima, Perú.

Ogusuku E, Chevarria L, Porras R, Perez JE. Descripción de *Lutzomyia munaypata* y *Lutzomyia quillabamba* (Diptera:Psychodidae) Departamento de Cusco Peru. Rev Per. Ent. 1999; 41:45-52

Ogusuku E., Perez JE, Paz L, Nieto E, Monge J & Guerra H. Identification of bloodmeal sources of *Lutzomyia* spp. in Perú. Ann Trop Med & Parasito. 1994; 88: 329-335.

Ogusuku E., Perez JE, Paz L, Nieto E, Monge X & Guerra H. El hombre como fuente de sangre para *Lutzomyia* spp. (Diptera: Psychodidae) andinos. Rev Per Entomol. 1993; 34:56.

Paucar R. Estudio de *Lutzomyia* como posible vector de Leishmaniosis en el Distrito de Echarati. Cusco. Monografía [Graduação] – Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias Biologicas; 2001

Perez JE, Rado D, Quispe W, Ogasaku E . *Lutzomyia* fauna (Diptera: Psychodidae) and new records for Peru in Los Amigos river (Madre de Dios, Peru). In: 7th International Symposium on Phlebotomine Sandflies; 2011 abr 25-30; Turkey. p. 79

Perez JE, Rado D, Quispe W, Ogasaku E. 2008. *Lutzomyia* fauna (Diptera: Psychodidae) and new records for Peru in Los Amigos river (Madre de Dios, Peru). In: Livro de resumos. 6th International Symposium on Phlebotomine Sandflies, 2008 oct 27-31; Lima, Perú.

Perez JE, Veland N, Espinosa D, Torres K, Ogasaku E, Llanos-Cuentas A et al. Isolation and molecular identification of *Leishmania (Viannia) peruviana* from naturally infected *Lutzomyia peruensis* (Diptera:Psychodidae) in the Peruvian Andes. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007; 102(6): 655-658.

Perez JE. Studies of *Lutzomyia* spp vector of Leishmaniasis in Perú. Tese [PhD] – The University of Liverpool; 1995.

Perez JE, Ogasaku E, Inga R, Lopez M, Monje J, Paz Let al. Natural *Leishmania* infection of *Lutzomyia* spp. in Peru. Trans Soc Trop Med & Hyg. 1994; 88:161-164.

Perez & Ogasaku. Estacionalidad de *Lutzomyia* sp. (Diptera: Psychodidae) en Coloradito (Pillcopata, Cusco). Rev. Per. Ent. 1994; 37:89-96

Perez JE., Monje J, Ogasaku E., Paz L. & Nieto E.. Vector blood meal sources and transmission studies on Andean Leishmaniasis. In: Leishmaniasis Control Strategies. Eds.Wijeyaratne PT Goodman & Espinal C. IDRC, Ottawa, p.249-260, 1992.

Perez JE, Ogasaku E, Monje J. & Young DG. Lista de especies de *Lutzomyia* spp. de Pilcopata (Cuzco), nuevos registros para el Perú y descripción de *Lutzomyia deorsa* n. sp. Rev. Per. Ent. 1991; 32:133-135.

Peters W, Killick-Kendrick R. The Leishmaniasis in Biology and Medicine, London, Academic Press, v.I, p. 941, 1987.

Pimenta P, Secundino N, Blanco E. Interação leishmania hospedeiro invertebrado, p. 275-289. In: Flebotomíneos do Brasil. Ed. Rangel & Lainson, Ed. FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2003.

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

Poinar G. *Lutzomyia adiketis* sp. n. (Diptera: Phlebotomidae), a vector of *Paleoleishmania neotropicum* sp. n. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in Dominican amber. Parasites & Vectors.2008; 1:22

Quispe A. Diversidad y comportamiento horario de flebotominos (Diptera: Psychodidae) en Alto Ivochote, La Convención. Cusco. Monografía [Graduação] – Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias Biologicas; 2010

.

Quispe D. Determinación de especies de *Lutzomyia sp.* en ambientes intra y peri domiciliarios en la Provincia de La Covención, Cusco. Cusco. Monografía [Graduação] – Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias Biologicas; 2009

Quispe M. Búsqueda de roedores posibles reservorios de *Leishmania* en el Distrito de Echarate, Provincia de La Convención Cusco. Cusco. Monografía [Graduação] – Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias Biologicas; 2002

Quispe W. Aplicación del SIG en epidemiología de Leishmaniasis. Cusco. Monografía [Graduação] – Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias Biologicas; 2004

Quispe W & Rado D. Incriminación de *Lutzomyia* como posible vector de *Leishmania* en la comunidad de Aguas Calientes distrito de Echarate, Cusco. Cusco. Monografía [Graduação] – Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias Biológicas; 2008

Rangel EF. Transmission of American Cutaneous Leishmaniasis in peridomestic foci in Rio de Janeiro State and other similar situations compared to the classical epidemiology in Amazon region. In: Relatórios de Conferências. Tropical Diseases, Society and the Environment. 1995. 2: 103-110.

Rangel EF, Azevedo ACR, Andrade CA, Souza NA, Wermwlinger ED. Studies on sandfly fauna (Diptera:Psychodidae) in focus of Cutaneous Leishmaniasis in Mesquita, Rio de Janeiro. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1990; 85: 39-45

Reithinger R, Canales E. J, Courtenay O & Davies C. Evaluation of PCR as a diagnostic massscreening tool to detect *Leishmania (Viannia)* spp. in domestic dogs (*Canis familiaris*). J. Clin. Microbiol. 2003; 41: 1486–1493.

Reithinger R & Davies D. Is the domestic dog (*Canis familiaris*) a reservoir host of American Cutaneous leishmaniasis? A critical review of the current evidence. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1999; 61: 530–541.

RENACE Red Nacional de Epidemiologia. Boletín Epidemiológico N°53. Ministerio de Salud, Lima, Perú, 2008.

Roberts DR & Hsi BP. An index of species abundance for use with mosquito surveillance data. Environ Entomol. 1979; 8:1007-13.

Sánchez L, Sáenz E, Pancorbo J, Zegarra R, Garcés N. & Regis A. Leishmaniasis: educación medica continua. Derm. Peruana. 2004; 14: 82-98.

Santamaría E, Ponce N, Zipa Y, Ferro C. Presence of infected vectors of *Leishmania (V.) panamensis* within dwellings in two endemic foci in the foothill of the middle Magdalena valley, western Boyacá, Colombia. Biomed. 2006; Suppl 1:82-94.

Schultz MG. A history of bartonellosis (Carrión's disease) Am J Trop Med Hyg, 1968;17:503-515.

Shannon. Methods for collecting and feeding mosquitoes in jungle yellow fever studies. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1926; 19: 131-148.

Shaw J, Travassos A, de Souza A, Cruz AC Os Flebotomíneos Brasileiros como Hospedeiros e Vetores de Determinadas Espécies. p:337-348. In Flebotomíneos do Brasil. Eds. Rangel & Lainson, Ed. FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2003.

Shaw JJ. Taxonomy of the genus *Leishmania*: present and future trends and their implications. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1994; 89: 471-478.

Sherlock I. A Importância dos Flebotomíneos. p:15-19. In *Flebotomíneos do Brasil*. Ed. Rangel & Lainson, Ed. FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2003.

Silveira FT, Ishikawa EAY, Souza AAA, Lainson R. Na outbreak of cutaneous leishmaniasis among soldiers in Belém, Pará State, Brazil, caused by *Leishmania (Viannia) lindenbergi*. sp. a new leishmanial parasite of man in the Amazon Region. Parasite. 2002; 9: 43-50.

Soto M. Determinación de la diversidad y abundancia relativa de roedores como posibles reservorios de Alto Ivochote, La Convención. Cusco. Monografía [Graduação] – Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias Biológicas; 2010

Tejada A. Leishmaniasis tegumentaria en el Perú. Observaciones entomológicas en Manú, Madre de Dios. Rev Per Epidemiol. 1993; 6, 40-42.

Tsukayama P, Lucas C, Bacon DJ. Typing of four genetic loci discriminates among closely related species of New World *Leishmania*. Int J Parasitol.2009;39(3):355-62.

Valdivia H. Identificación de *Leishmania* por PCR en tiempo real a partir de especies de *Lutzomyia* capturadas en la localidad de “Flor de Acre, distrito de Iberia, departamento de Madre de Dios. Madre de Dios. Monografía [Graduação] – Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias Biologicas; 2010.

Vásquez TA. Registro de leishmaniasis cutánea en caninos presentes en Zonas periurbanas de Villavicencio Meta y su importancia en la salud pública. Rev. Orinoquia. 2006;10: 79-86.

Villaseca P, Llanos-Cuentas A., Perez E & Davies CR. A comparative field study of the relative importance of *Lutzomyia peruensis* and *Lutzomyia verrucarum* as vectors of cutaneous leishmaniasis in the Peruvian Andes. Am J Trop Med and Hyg.1993; 49:260-269.

Villaseca P, Padilla C, Ventura G, Samalvides F, Yañez H, Chevarría L et al. Importancia de la *Lutzomyia peruensis* en la transmisión de la Enfermedad de Carrión en el Valle Sagrado de los Incas. Urubamba-Cusco, Perú. Rev Med Exp. 1999;15 (1-2) : 28-30

Walters LL, Modi GB, Chaplin GL & Tesh RB. Ultrastructural development of *Leishmania chagasi* in its vector *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). Am J Trop Med and Hyg.1989; 41, 295-317.

Weiss P. Epidemiología y clínica de las leishmaniasis tegumentarias en el Perú. Rev Med Exp. 1943; 2:209-248.

WHO. Control of the Leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March, 2010.

Williams CB. The use of logarithms in the interpretation of certain entomological problems. The Annals of applied Biology, 1937; 24:2.

Wu Whei-Kuo & Tesh RB. Genetic Factors Controlling Susceptibility to *Leishmania Major* Infection in the Sand Fly *Phlebotomus Papatasi* (Diptera: Psychodidae). Am J Trop Med Hyg. 1990; 42:329-334.

Young DC, Duncan NA. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in México, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Mem Ann Entomol Institut. 1994; 54: 1-881.

Young DGY & Lawyer PG . New World vectors of the Leishmaniases. In: Harris, K.F. (Ed.). Current topics in vector research. Springer-Verlag, New York, 4,29-71, 1987.

ANEXOS
ANEXO 01: FICHAS DE CAMPO
COLETA EM ARMADILHA SHANNON

Código																														
Data																														
Nome do coletor (es)																														
Responsável pela seleção																														
Ambiente de coleta	Extradomicilio: <input type="checkbox"/>							Peridomicilio: <input type="checkbox"/>																						
Hora de coleta	18:00		19:00		20:00		21:00		22:00		23:00		24:00		01:00		02:00		03:00		04:00		05:00		Subtotal		Total			
Nº de espécimes coletados	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂		
Temperatura																									Promedio					
Umidade relativa																									Promedio					
Vento																														
Precipitação																														
Fase lunar																														
Observações																														

COLETA EM ARMADILHA DE LUZ TIPO CDC

Código																		
Data																		
Nome do coletor(es)																		
Responsável pela seleção																		
Ambiente de coleta	Intradomicilio				Peridomicilio				Extradomicilio									
Hora de coleta	18:00 – 6:00 hrs				18:00 – 6:00 hrs				18:00 – 6:00 hrs									
# de colectados	♀		♂		Total		♀		♂		Total		♀		♂		Total	
# de dissecados																		
Temperatura	Inicial		Final		Inicial		Final		Inicial		Final							
	Max		Min			Max		Min			Max		Min					
Umidade	H _o :		H _{max} :		H _o :		H _{max} :		H _o :		H _{max} :		H _f :		H _{min} :			
Vento																		
Precipitação																		
Fase lunar																		
Observações																		

ANEXO 02

SOLUÇÕES USADAS PARA A DIAFANIZAÇÃO E MONTAGEM PROVISÓRIA DE FLEBOTOMÍNEOS:

Solução Lactofenol (*Modificado por Daniel Motta da Silva*):

Componentes:

Fenol: 100ml (16,6%)

Ácido Láctico: 100ml (16,6%)

Glicerina: 200ml (33,3%)

Água Tipo III: 200 ml (33,3%)

Preparo: Os reagentes são manipulados e as operações são desenvolvidas em Cabina de Segurança tipo Capela de Exaustão de Gases. Utiliza-se o equipamento tipo agitador magnético para misturar todos os componentes até que a solução fique homogênea. Iniciando-se pelo fenol, seguido pelo ácido láctico, glicerina e a água tipo III, todos os reagentes são vertidos em um Becker de 500ml, contendo o magneto. O tempo aproximado de preparo é de dez minutos.

Solução Berlese (*Modificado por Daniel Motta da Silva*):

Componentes:

Cloral Hidratado: 220g (74%)

Goma Arábica: 24g (8%)

Água Tipo III: 30ml (10%)

Xarope de Glicose: 15ml (5%)

Ácido Acético: 9ml (3%)

Preparo: Os reagentes são manipulados e as operações são desenvolvidas em Cabina de Segurança tipo Capela de Exaustão de Gases. Utiliza-se o equipamento tipo agitador magnético com aquecimento para misturar todos os componentes até que a solução fique homogênea. Iniciando-se pelo cloral hidratado, seguido pela água tipo III e a goma arábica, todos os reagentes são vertidos gradualmente no Becker de 500ml, contendo o magneto. Em seguida, adiciona-se o xarope de glicose e o ácido acético. Misturar e aquecer gradualmente sem permitir que a mistura ferva, fato este, que possibilita a dissolução da goma arábica. O tempo aproximado de preparo é uma hora e trinta minutos. Concluída esta etapa a recomendação é que se filtre toda a mistura em papel-filtro e deixe em repouso por vinte quatro horas para posterior utilização.

ANEXO 03

DESCRIÇÃO DAS ESTAÇÕES DE MONITORAMENTO - RESIDÊNCIAS

Data:

Código:

I. Aspectos gerais

1. Aspectos geográficos:

Provincia:.....Distrito:.....

Comunidade:..... Anexo/setor:.....

Coordenadas UTM: Sul..... Leste.....

Altitude:.....

2. Número de pessoas na residência:

Nº	Nome	Idade	Condição *	Tempo de permanência	Atividade principal*

*Condição: Migrante colono
Filho de colono nacido na área
Nativo

* Atividade principal: Agricultura
Extração de madeira
Comércio
Estudante
Outro

3. Material de construção da residência

Tipo de parede: Adobe Madeira Outro:.....

Tipo de teto: Zinco Palmeira Outro:.....

4. Presença de animais domésticos

Cão Porco Galhina Outro.....

Tipo de abrigo

Curral Ar livre Outro.....

II. Serviços Básicos

1. Abastecimento de água

a. Fonte

- Manancial
- Água superficial
- Poço Profundo
- Outro.....

b. Sistema de abastecimento

- Emtubado
- Sem tratamento
- Com tratamento
- Não disponível

c. Armazenamento da água

- Tachos PVC Cilindros metálicos
- Outros.....

2. Luz

a. Fonte de geração:

- Solar
- Hídrica
- Rede elétrica
- Não disponível
- Outro:

b. Horário de uso:.....

3. Disposição final de excretas

- Latrina de poço seco
- Latrina com arrastre hidráulico
- Desagüe com tratamento
- Desagüe sem tratamento
- Não disponível

4. Disposição final de Resíduos Sólidos:

- carral () rua () o campo livre () aterros sanitários ()
- Outros.....

III. Leishmanioses

1. Presença de casos

N°	Nome	Idade	Tipo de lesão	Área de lesão	Tempo da lesão

*Tipo de lesão: Cutânea
Cutâneo-mucosa

2. Diagnóstico e tratamento

N°	*Diagnóstico	*Tratamento	N° de doses

*Diagnostico: clínico
parasitológico

* Tratamento: Glucantime
Anfoterecina B

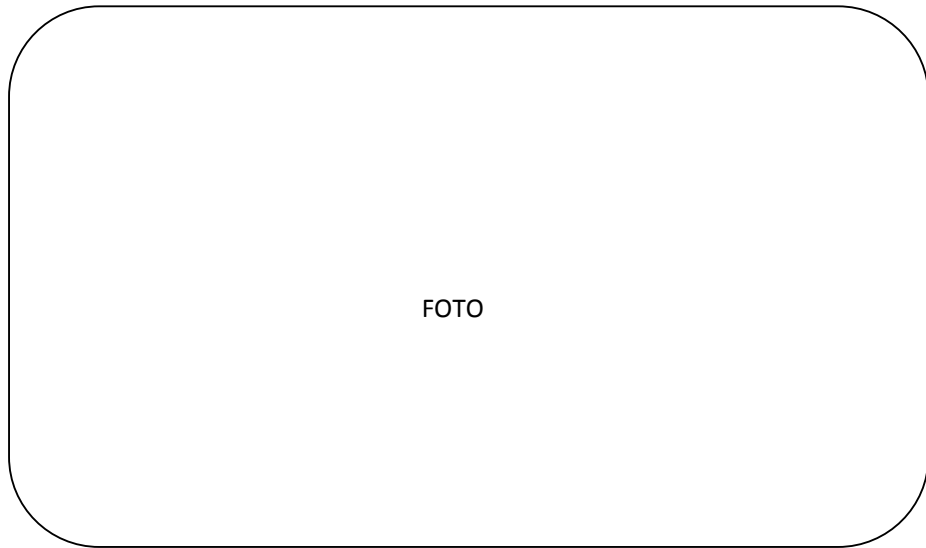
V. Distribuição de armadilhas

1. Tipo de armadilha: CDC

Localização	Intradomicilio
Código	
Descrição detalhada	



Localização	Peridomicílio
Código	
Metros de distância da residência	
Tipo de vegetação circundante	
Presença de animais	
Outras observações	



Localização	Extradomicilio
Código	
Metros de distância da residência	
Tipo de vegetação circundante	
Presença de animais	
Outras observações	

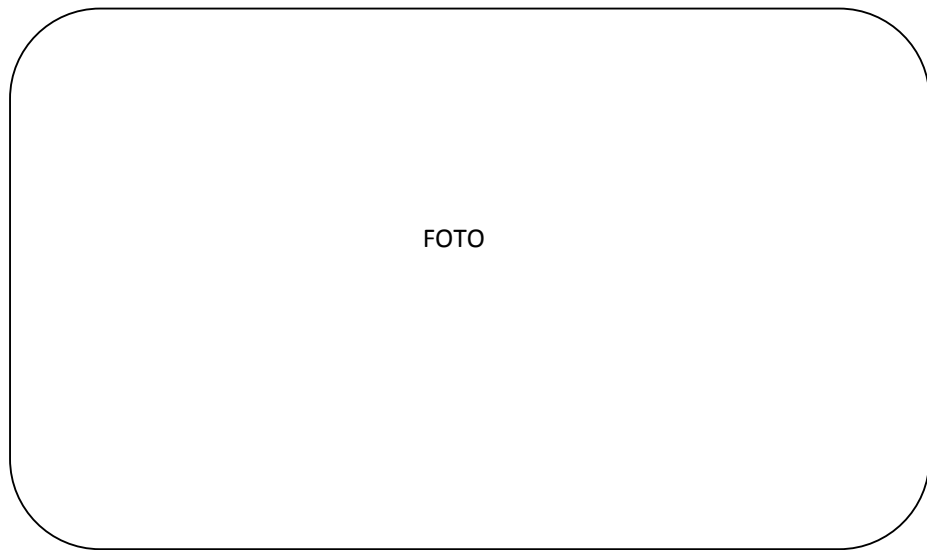


2. Tipo de armadilha: barraca de Shannon

Localização	Peridomicilio
Código	
Metros de distância da residência	
Tipo de vegetação circundante	
Presença de animais	
Outras observações	



Localização	Extradomicilio
Código	
Metros de distância da residência	
Tipo de vegetação circundante	
Presença de animais	
Outras observações	



VI. Mudanças ocorridas durante o período de coleta

Data:

Descrição detalhada:

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....



DESCRIÇÃO DE ESTOÇÕES DE MONITORAMENTO – AREA DE LAZER

Data:

Código:

I. Aspectos gerais

a. Aspectos geográficos

Provincia:.....Distrito:.....

Comunidade:.....Anexo/setor:.....

Coordenadas UTM: Sur..... Este.....

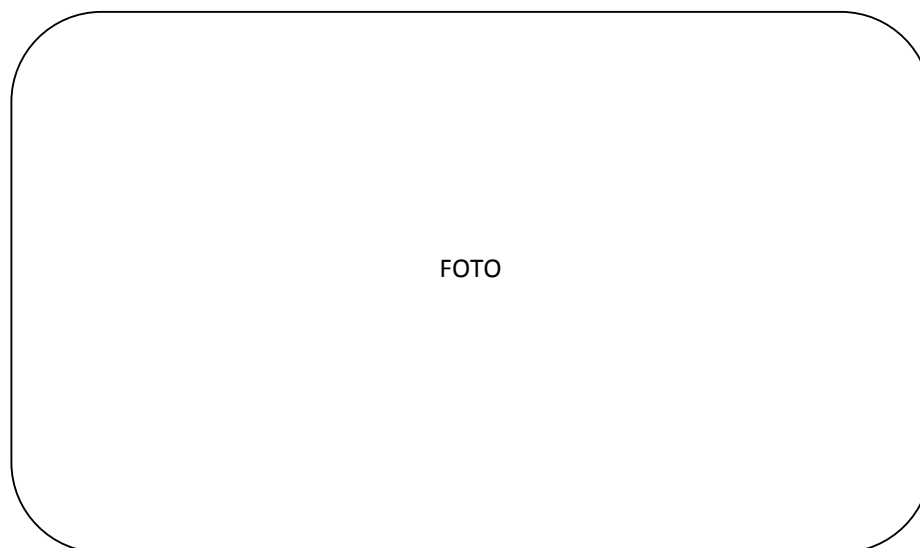
Altitud:.....

b. Tipo de Atividade na área

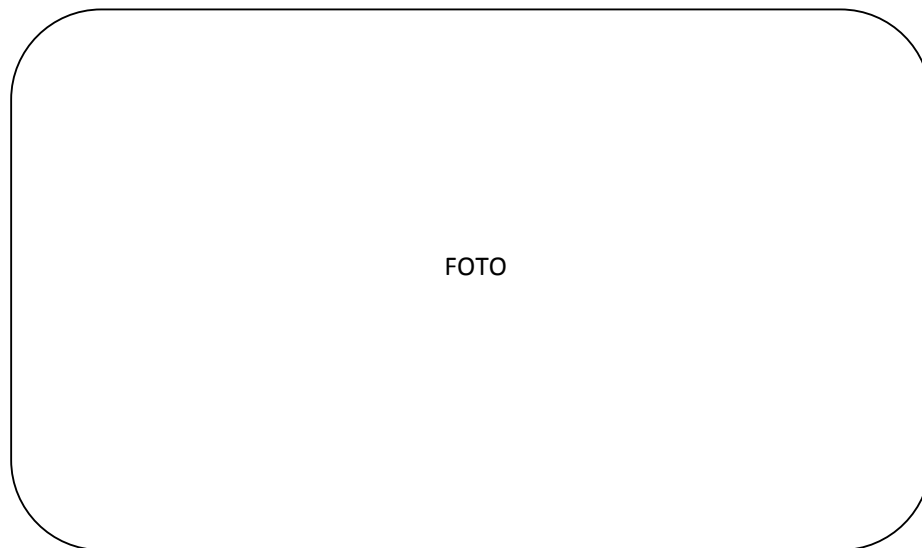
Extração de madeira Comércio Lazer Outro.....

II. Distribuição de armadilhas

Tipo de armadilha	CDC
Código	
Tipo de vegetação circundante	
Presença de animais	
Outras observações	



Tipo de armadilha	Shannon
Código	
Tipo de vegetação circundante	
Presença de animais	
Outras observações	



III. Mudanças ocorridas durante o período de coleta

Data:

Descrição detalhada:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....



P-068

Study of sand fly vectors (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) of *Leishmania* spp. in the La Convención, Cusco, Perú

D. Rado¹, D. Quispe², M. Quispe², A. Quispe², E. Perez³, R. A. F. Santana¹, M. Vilela¹, Pacheco², **E. Rangel¹**

¹Laboratório de Transmissores de Leishmanioses – Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, Brasil; ²Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Perú; ³Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, UPCH, Lima, Perú

E-mail: elizabethrangel@fiocruz.br

The Province of La Convención (Cusco, Perú) is an endemic area of cutaneous Leishmaniasis, having the highest prevalence of the disease of Cusco Department. Aguas Calientes community, from Kepashiato Health Center, re-

192

7th International Symposium on Phlebotomine Sand flies, 25-30 April 2011, Turkey

ports the high patient's frequency in this endemic area. The objective of this work is to study the sand fly vectors of *Leishmania* spp. in this community. Sand flies were collected using two methods: Shannon traps with protected human bait in peri and extra domiciliary environments and CDC light traps in intra, peri and extra domiciliary environments. The collections were done during June, July and August in 2010 (dry season). As the preliminary results, twenty one species of *Lutzomyia* genus were identified. The most predominant species were *L. yuilli yuilli* (54,3%) and *L. (Trichophoromyia) sp.* (16%); new reports for this area are *L. migonei*, *L. andersoni*, *L. auraensis*, *L. calcarata*, and *L. choti*. Ten species were collected inside houses, eleven in peridomiciles and nineteen in extradomiciliary environments. *L. (Trichophoromyia) sp.*, *L. auraensis*, *L. aragaoi*, *L. hirsuta hirsuta* and *L. yuilli yuilli* were found in all the site collections. *L. yuilli yuilli* was found previously infected with *Leishmania* (Viannia) sp. in Aguas Calientes by PCR and could be involved in Cutaneous Leishmaniasis epidemiology in the studied area.

Support by FIOCRUZ, Brazil and AECID, Spain