

INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE
Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal



Dissertação

**Levantamento entomológico de flebotomíneos (*Diptera: Psychodidae: Phlebotominae*) na
Cidade de Concórdia, Oeste de Santa Catarina, Brasil**

Tainá Luana Vieira Lopes Zuchi

Concórdia, 2022

Tainá Luana Vieira Lopes Zuchi

**Levantamento entomológico de flebotomíneos (*Diptera: Psychodidae: Phlebotominae*) na
Cidade de Concórdia, Oeste de Santa Catarina, Brasil**

Dissertação apresentada ao Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal do Instituto Federal Catarinense, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Produção e Sanidade Animal).

Orientador: Prof Dr Diogenes Dezen
Coorientador (es): Prof^a Dr^a Soraya Regina Sacco Surian e Prof^a Dr^a Joice Lara Maia Faria

Concórdia, 2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática do ICMC/USP, cedido ao IFC e
adaptado pela CTI - Araquari e pelas bibliotecas do Campus de Araquari e Concórdia.

Z941 Zuchi, Tainá Luana Vieira Lopes
Levantamento entomológico de flebotomíneos (Diptera:
Psychodidae: Phlebotominae) na Cidade de Concórdia,
Oeste de Santa Catarina, Brasil / Tainá Luana Vieira
Lopes Zuchi; orientador Prof Dr Diogenes Dezen;
coorientadora Prof^a Dr^a Soraya Regina Sacco
Surian; coorientadora Prof^a Dr^a Joice Lara Maia
Faria. -- Concórdia, 2022.
41 p.

Dissertação (mestrado) - Instituto Federal
Catarinense, campus Concórdia, Concórdia, 2022.

Inclui referências.

1. Leishmaniose. 2. Leishmania spp. 3. Vetor. 4.
Armadilhas CDC. 5. Região não endêmica. I. Dezen,
Diogenes, II. Surian, Soraya Regina Sacco. III.
Faria, Joice Lara Maia. IV. Instituto Federal
Catarinense. V. Título.

Tainá Luana Vieira Lopes Zuchi

**Levantamento entomológico de flebotomíneos (*Diptera: Psychodidae: Phlebotominae*) na
Cidade de Concórdia, Oeste de Santa Catarina, Brasil**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense.

Data da Defesa: 19/07/2022

Banca examinadora:

Prof. Dr. Diogenes Dezen (Orientador)

Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Instituição de vínculo: Instituto Federal Catarinense- *Campus* Concórdia

Prof^a. Dr^a. Teane Milagres Augusto Gomes

Doutora em Ciência Animal pela Universidade Federal de Minas Gerais

Instituição de vínculo: Instituto Federal Catarinense- *Campus* Concórdia

Prof. Dr. Mauro Maciel de Arruda

Doutor em Medicina Tropical pela Universidade de Brasília

Instituição de vínculo: Fundação Universitária Barriga Verde (UNIBAVE)



Emitido em 19/07/2022

DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS - CAMPUS ARAQUARI Nº 11/2022 - PGPSA/ARAQ (11.01.02.22)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 30/01/2023 13:56)

DIOGENES DEZEN

PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO

CPESIN/CON (11.01.04.14)

Matricula: ###560#6

(Assinado digitalmente em 27/01/2023 16:29)

IVAN BIANCHI

COORDENADOR DE CURSO - TITULAR

PGPSA/ARAQ (11.01.02.22)

Matricula: ###489#1

Visualize o documento original em <https://sig.ifc.edu.br/documentos/> informando seu número: **11**, ano: **2022**, tipo: **DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS - CAMPUS ARAQUARI**, data de emissão: **27/01/2023** e o código de verificação: **1f39be4a45**

Agradecimentos

À minha família, esposo Eder Marcos Raineri e amigos pelo incentivo e compreensão nos momentos de ausência.

Aos colegas de trabalho, em especial aos meus chefes Paula Perondi e Fábio Machado da Silva, pelo auxílio, compreensão e principalmente pelo incentivo, durante o mestrado e mesmo antes, durante graduação.

Ao meu orientador Prof Dr Diogenes Dezen e coorientadoras Prof^a Dr^a Soraya Regina Sacco Surian e Prof^a Dr^a Joice Lara Maia Faria por todo auxílio prestado e me acompanharem desde a graduação.

Ao Prof Dr Andrey de Andrade pelo auxílio na identificação taxonômica e ter sido solícito em prestar apoio em demais etapas do projeto, sendo via de contato com a Fio Cruz-Paraná.

Às seis famílias que prestaram apoio à execução do projeto durante um ano de coleta realizada.

À Fiocruz - Paraná por ter cedido materiais para realização do PCR.

À Diretoria de Vigilância Epidemiológica de Santa Catarina pelo empréstimo das armadilhas.

Aos estagiários do Laboratório de Microbiologia Veterinária, em especial à Kamilla Bleil do Carmo, Laura Dametto e Silvio Minarelli, assim como à Técnica Eliete Griebeler, pelo auxílio prestado.

Ao Prof Dr Mauro Maciel de Arruda por se dispor a palestrar em conjunto e pela disposição em compor a banca de avaliação.

À Prof^a Dr^a Teane Milagres Augusto Gomes pela disposição em compor a banca de avaliação.

“Aonde chegamos depende de quanto libertamos a arte de pensar”.
(Augusto Cury, 2003)

Resumo

ZUCHI, Tainá Luana Vieira Lopes. **Levantamento entomológico de flebotomíneos (*Diptera: Psychodidae: Phlebotominae*) na Cidade de Concórdia, Oeste de Santa Catarina, Brasil.** 2022. 41f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Concórdia, 2022

A leishmaniose visceral é uma das doenças mais negligenciadas no mundo. A região Sul do Brasil apesar de possuir o menor número das notificações, vem mostrando uma expansão da doença. Apesar disso, a fauna de flebotomíneos ainda é pouco conhecida. Tendo em vista a escassez de estudos de vetores na região oeste do estado de Santa Catarina, o presente estudo realizou o levantamento entomológico na cidade de Concórdia, assim como a pesquisa de *Leishmania* spp. nos flebotomíneos capturados. As coletas foram realizadas a partir de armadilhas luminosas do tipo CDC, instaladas no intra e peridomicílio, em seis pontos de captura, durante um ano. Os espécimes capturados passaram por identificação taxonômica e as fêmeas foram submetidas à detecção de *Leishmania* spp. por meio de PCR. Ainda, dados climáticos referente ao período de pesquisa foram correlacionados estatisticamente com a densidade de flebotomíneos, assim como a razão sexual no intra e peridomicílio. Foram coletados 38 flebotomíneos pertencentes a seis espécies e não houve amostra positiva para *Leishmania* spp. Os meses de maior captura foram outubro e janeiro, e a temperatura demonstrou correlação positiva moderada com a densidade de flebotomíneos. Não foram encontrados flebotomíneos positivos, contudo, a presença de espécies com capacidade vetorial representa risco de possível foco de leishmaniose, caso ocorra entrada de animais alóctones infectados no município.

Palavras-chave: leishmaniose; *Leishmania* spp.; vetor; armadilhas CDC; região não endêmica.

Abstract

ZUCHI, Tainá Luana Vieira Lopes. **Entomological survey of sand flies (*Diptera: Psychodidae: Phlebotominae*) in the city of Concórdia, western of Santa Catarina State, Brazil.** 2022. 41f. Dissertation (Master degree in Science) – Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Concórdia, 2022.

Visceral leishmaniasis is one of the most neglected diseases in the world. The southern region of Brazil, despite having the lowest number of notifications, has been showing an expansion of the disease. Despite this, the sandfly fauna is still poorly known. Considering the lack of studies on in the western region of the state of Santa Catarina, the present study carried out the entomological survey in the city of Concórdia, as well as the research of *Leishmania* spp. in captured sandflies. The collections were carried out using light traps of the CDC type, installed inside and outside the home, at six capture points, for one year. The captured specimens subjected to taxonomic identification and the females were tested for the presence of *Leishmania* spp. through PCR. Furthermore, climatic data referring to the research period were statistically correlated with the density of sandflies, as well as the intra and peridomicile sexual ratio. Thirty-eight sandflies belonging to six species were collected and there was no positive sample for *Leishmania* spp. The months of greatest capture were October and January, and the temperature showed a moderate positive correlation with the sand fly density. No positive sandflies were found, however, the presence of species with vectorial capacity represents a risk of a possible focus of leishmaniasis, in case of introduction of infected allochthonous animals in the area.

Keywords: leishmaniasis; *Leishmania* spp.; vector; CDC traps; non-endemic region.

Lista de Figuras

Figura 1	Mapa de localização do local de estudo.....	10
Figura 2	Mapa do município de Concórdia com os pontos de coleta.....	10
Figura 3	Armadilhas instaladas em área peridomiciliar (A) e intradomiciliar (B) localizada em Lajeado Quintino.....	11
Figura 4	Gráfico da sazonalidade de flebotomíneos de acordo com a temperatura média mensal.....	15
Figura 5	Gráfico da sazonalidade de flebotomíneos de acordo com a umidade média mensal.....	16
Figura 6	Gráfico da sazonalidade dos flebotomíneos de acordo com a precipitação total mensal.....	16
Figura 7	Flebotomíneos da espécie <i>M. migonei</i> (A), <i>Br. carvalhoi</i> (B), <i>P. serie lanei</i> (C), <i>Pi. fischeri</i> (D), <i>Brumptomyia sp.</i> (E) e <i>Pi. monticola</i> (F) capturadas durante o período de estudo no município de Concórdia, Santa Catarina. Aumento de 20x.....	17
Figura 8	Terminália do macho (A) e parte do tórax contendo a genitália da fêmea (B) de flebotomíneos da espécie <i>Br. Carvalhoi</i> capturada no município de Concórdia, Santa Catarina. Aumento de 100x.....	18

Lista de Tabelas

Tabela 1	Descrição dos bairros e suas características.....	9
Tabela 2	Espécie, sexo e localidade dos flebotomíneos capturados.....	14
Tabela 3	Dados meteorológicos de temperatura, umidade e precipitação durante o período do estudo.....	15

Lista de Abreviaturas e Siglas

CDC	<i>Center of Disease Control</i>
COVID	Coronavirus Disease
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
NaCl	Cloreto de Sódio
mM	Milimolar
M	Molar
mm	Milímetros
n	Número
pb	Pares de base
PCR	Reação de polimerase em cadeia
pH	Potencial Hidrogeniônico
RNA	Ácido ribonucleico
SDS	Dodecil Sulfato de Sódio
TE	Tampão Tris-cloridrato e EDTA
Tris-HCL	Tampão Tris-cloridrato
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1	CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE	1
2	OBJETIVOS.....	6
2.1	Geral.....	6
2.2	Específicos.....	6
3	LEVANTAMENTO ENTOMOLÓGICO DE FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE) NA CIDADE DE CONCÓRDIA, OESTE DE SANTA CATARINA, BRASIL	7
3.1	Introdução	8
3.2	Material e Métodos	9
3.3	Resultados.....	13
3.4	Discussão	18
3.5	Conclusão.....	21
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	22
5	REFERÊNCIAS.....	23

1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE

A leishmaniose é uma zoonose de importância em saúde pública que acomete humanos, animais domésticos e selvagens (Pereira Junior et al., 2020; Baneth & Gallego, 2012). A doença é causada por protozoários intracelulares obrigatórios membros do gênero *Leishmania* (Baneth & Gallego, 2012) e transmitida através de flebotomíneos infectados, dentre os quais a espécie *Lutzomyia longipalpis* é a principal encontrada no Brasil e Américas (Costa, 2005; OPAS, 2019).

A leishmaniose se mantém como uma das doenças mais negligenciadas no mundo e afeta principalmente os países em desenvolvimento (PAHO, 2017). Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS), surgem anualmente 50 a 90 mil novos casos de leishmaniose humana, com apenas 25 a 45% dos casos relatados à OMS. Em 2020, o Brasil esteve entre os 10 países com mais de 90% dos novos casos relatados e em 2020 o país representou mais de 97% dos casos nas Américas (WHO, 2022).

Por se tratar de uma doença negligenciada, ações são realizadas para fortalecer a vigilância e controle da doença. Nas Américas, O “Plano de Ação 2017-2022” possui ações focadas no diagnóstico precoce, tratamento, acompanhamento, prevenção e controle de casos em humanos, vetores e reservatórios (PAHO, 2017). Contudo, segundo o Informe epidemiológico das Américas de dezembro de 2021, a pandemia de COVID-19 afetou diretamente as ações desenvolvidas, principalmente no que diz respeito à busca ativa, detecção precoce e tratamento de casos. No ano de 2020, houve o menor número de casos de leishmaniose visceral durante o período de vigência do Plano, com uma redução de 25% de casos no Brasil, Colômbia e Venezuela. Porém, não se sabe se esta redução se deve à tendência cíclica da doença ou devido as consequências que a pandemia de COVID-19 trouxe às ações desenvolvidas (OPAS, 2021).

Quanto à dispersão da doença no Brasil, a leishmaniose é conhecida historicamente como uma doença endêmica rural, contudo o padrão de transmissão foi alterado, e expandiu-se por todo o país (Seva et al., 2017; Werneck, 2014). Até o ano de 1940, os casos de leishmaniose possuíam relação com condutas pessoais que propiciavam o contato com os reservatórios, como o desbravamento de florestas, derrubadas de matas para plantio e construções (Forattini, 1972). Posteriormente, os casos passaram a ocorrer em áreas rurais e urbanas no país (Ministério da Saúde, 2013). Até 1990, cerca de 90% dos casos se concentravam na região Nordeste, e mais tarde houve a expansão para as regiões Norte, Centro-oeste e Sudeste (Werneck, 2010; Leote et al., 2021) e Sul, a última com o menor número de casos notificados no país (Martins-Melo et al., 2014; Leote et al., 2021).

Apesar de possuir o menor número das notificações, a região Sul do Brasil, junto a Argentina, Paraguai e Uruguai vem mostrando uma expansão da doença (Catecati, 2018). Estas regiões eram consideradas indene até o ano de 2006, ano que ocorreram surtos em cães em Assunção no Paraguai e o primeiro caso autóctone em humano em Posadas na Argentina (Salomon et al., 2008; Acardi et al., 2010). Na região Sul do Brasil, o primeiro surto em cães ocorreu em 2008 em São Borja/RS, cidade fronteira com a Argentina (Deboni et al., 2011).

O estado de Santa Catarina era considerado indene para a doença até o ano de 2010, ano em que ocorreu os primeiros casos autóctones caninos em Florianópolis (Santa Catarina, 2020b; Figueiredo, 2012). Entre 2010 e 2020, foram registrados 1.042 casos a nível estadual, e destes, 697 casos autóctones no município de Florianópolis. Dentre os 1.042 animais, 89 possuíam local provável de infecção em outros estados e 20 não foram possíveis estabelecer por se tratar de animais errantes. Ainda, 38 municípios possuem casos importados da doença, dentre eles Concórdia, no Oeste Catarinense (Santa Catarina, 2020^a). Quanto a leishmaniose em humanos, os primeiros casos no Sul ocorreram em 2009 em São Borja/RS, 2016 em Foz do Iguaçu/PR e 2017

em Florianópolis/SC (Deboni et al., 2011; Pina-Trench et al., 2016; Santa Catarina, 2020b).

Após os primeiros casos relatados por Figueiredo et al. (2012) no município de Florianópolis, Steindel et al. (2013) relataram o primeiro surto na cidade, através de um levantamento soro-epidemiológico, no qual 1,37% dos animais estudados foram soropositivos. Após estas descrições, estudos foram conduzidos em outras regiões do estado. Dentre as descrições feitas na região Oeste, a primeira foi realizada por Maziero et al. (2014) que detectaram 19% de cães positivos através de PCR e testes sorológicos nas cidades de São Miguel do Oeste e Descanso. Posteriormente, Dallanora et al. (2016) identificaram 10,6% através de PCR no município de Herval d'Oeste; Zuchi et al. (2020) identificaram 13,91% através de teste sorológico no município de Concórdia e Pinto et al. (2022) identificaram 7,1% de cães positivos através de PCR nas cidades também em Herval d'Oeste além de Herval Velho. Nas cidades de Tubarão e Criciúma, Leote et al. (2021) detectaram 19% de cães positivos através de PCR.

A inserção da leishmaniose em Florianópolis possivelmente tenha ocorrido via introdução de casos provenientes de estados ou mesmo de países endêmicos, por conta de a cidade ser um dos principais destinos turísticos no Sul (Salomon et al., 2008). Já a região Oeste, se trata da maior produtora de suínos e aves do Brasil, principal região de transporte de grãos entre os estados do Rio Grande do Sul, Paraná e Mato Grosso e possui países vizinhos onde há a ocorrência da enfermidade, como Argentina e Paraguai. Assim, a ocorrência de leishmaniose na região pode ter sido propiciada por essas rotas comerciais e migração humana (Salomon et al., 2008), o que favorece a dispersão da doença devido ao transporte conjunto de cães, que por vezes estão infectados de forma assintomática (Catecati, 2018).

Uma das proteções que a região tinha para a propagação dos flebotomíneos era o inverno rigoroso, fator que se alterou nos últimos anos devido às alterações climáticas ocorridas (Mendonça, 2006), uma vez que fatores como a temperatura, umidade e precipitação são capazes de influenciar na sua densidade populacional

(Nascimento, 2013). Tais insetos são tipicamente de mata e devido a ação antrópica, como desmatamento, migração e urbanização, passaram a aproximar-se cada vez mais do peridomicílio (Souza et al., 2009; Rotureau, 2006), além de possuírem grande adaptabilidade à mudança de ambiente (Rangel e Vilela, 2008; Rangel e Lainson, 2009).

A expansão da leishmaniose no Sul do Brasil indica a adaptação do parasito e dos vetores às condições locais (Souza et al., 2009). Contudo, a fauna de flebotomíneo ainda é pouco conhecida na maior parte do estado (Ledo, 2021). Segundo o catalogo taxonômico brasileiro, 16 espécies de flebotomíneos têm ocorrência em Santa Catarina: *Brumptomyia brumpti*, *Brumptomyia nitzulescui*, *Brumptomyia troglodytes*, *Evandromyia edwardsi*, *Expapillata firmatoi*, *Martinsmyia oponente*, *Migonomyia migonei*, *Nyssomyia neivai*, *Pintomyia (Pifanomyia) monticola*, *Pintomyia fischeri*, *Pintomyia pessoai*, *Psathyromyia lanei*, *Psathyromyia pelli*, *Psychodopygus ayrozai*, *Psychodopygus geniculatus* e *Sciopemyia micros* (Shimabukuro et al., 2018). Dentre estes, os potenciais vetores envolvidos na manutenção da transmissão da leishmaniose visceral são a *Pintomyia fischeri*, *Migonemyia migonei* e *Nyssomyia neivai* (Santa Catarina, 2020b) e diferente do Paraná e Rio Grande do Sul, não foi encontrado o vetor clássico, *Lutzomyia longipalpis* (Dias et al., 2013). Ainda, na pesquisa entomológica realizada entre os anos de 2005 à 2015 por parte da Diretoria de Vigilância Epidemiológica (DIVE), foi identificada a espécie *Migonemyia migonei* em Concórdia e no levantamento de 2017 não foi identificada nenhuma espécie (DIVE, 2015, Santa Catarina, 2020b).

No estado, o vale do Itajaí, na região Leste, é a que possui maior ocorrência de flebotomíneos, seguida pela região Norte (Aquino, 2009). Marcondes et al. (2005) coletaram na cidade de Piçarras, leste do estado, três espécies de flebotomíneos (*Nyssomyia neivai*, *Pintomyia fischeri* e *Lutzomyia ayroza*); na região Norte, na cidade de Piçarras, a pesquisa realizada por Bittencourt (2008) identificou 3 espécies (*Ny. Neivai*, *M. migonei* e *Pi. Fischeri*); na região Sul, Variza et al. (2021) identificaram duas espécies (*Ny. Neivai* e *Pi. Fisheri*) nas cidades de Criciúma, Imaruí e Tubarão; também

na região Sul, na cidade de Blumenau, Grott et al. (2014) identificaram 8 espécies (*M. migonei*, *Pi. Fischeri*, *Evandromyia edwardsi*, *Lutzomyia sp.*, *Ny. Neivai*, *Psychodopygus ayrozai*, *Psathyromyia serie lanei*, *Psathyromyia pascalei* e *Psathyromyia shannoni*); no Oeste, Muller et al. (2014) identificaram duas espécies (*Ny. Neivai* e *Pintomyia pessoai*) na região da Hidrelétrica de Foz do Chapecó e mais tarde Orlandin et al. (2019) identificaram 10 espécies (*Brumptomyia cunhai*, *Brumptomyia guimaraesi*, *Brumptomyia mangabeirai*, *Brumptomyia nitzulescui*, *Brumptomyia sp.*, *E. edwardsi*, *Martinsmyia omponente*, *M. migonei*, *Ny. Neivai*, *Pintomyia Fischeri* e *Psathyromyia serie lanei*) ao longo do Rio do Peixe, nas cidades de Joaçaba, Herval d'Oeste, Lacerdópolis, Herval Velho e Ouro. Dentre esses estudos, os conduzidos por Bittencourt (2008) e Variza et al. (2021) realizaram testes moleculares para pesquisa de *Leishmania* spp., e apenas Bittencourt (2008) identificou de amostras positivas (9,8%).

Em vista da ocorrência dos casos em cães e humanos, há a necessidade de intensificar a vigilância epidemiológica em Santa Catarina (Santa Catarina, 2020b). O conhecimento da distribuição das espécies de flebotomíneos é fundamental para a vigilância epidemiológica, além de permitir a implantação de políticas públicas (Costa, 2011; Pirajá & Lucheis, 2014). Inclusive, esta medida faz parte das recomendações do Manual de Controle de Zoonoses, também em municípios silenciosos, ou seja, onde não há transmissão, assim como inquéritos sorológicos em cães, manejo ambiental e educação em saúde (Ministério da Saúde, 2016). Além do estudo das espécies, faz-se necessário a pesquisa por insetos infectados por *Leishmania* spp. nestes locais (Catecati, 2018), como demonstrado por Bittencourt (2008).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Realizar o levantamento entomológico de flebotomíneos na cidade de Concórdia, Santa Catarina.

2.2 Específicos

Investigar a infecção por *Leishmania* spp. em flebótomos;

Correlacionar temperatura, umidade e precipitação mensais com a densidade de flebótomos;

Verificar a densidade de flebótomos intradomiciliar e peridomiciliar;

Divulgar à comunidade local os resultados da pesquisa.

3 LEVANTAMENTO ENTOMOLÓGICO DE FLEBOTOMÍNEOS (*DIPTERA: PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE*) NA CIDADE DE CONCÓRDIA, OESTE DE SANTA CATARINA, BRASIL

Artigo a ser submetido no periódico científico Ciência Rural

(<https://www.scielo.br/j/cr/>).

Tainá Luana Vieira Lopes Zuchi^a, Soraya Regina Sacco Surian^a, Joice Lara Maia Faria^a,
Andrey José de Andrade^b, Diogenes Dezen^a

^a Instituto Federal Catarinense- *Campus* Concórdia

^b Universidade Federal do Paraná

3.1 Introdução

A leishmaniose é uma zoonose de importância em saúde pública e se mantém como uma das doenças mais negligenciadas no mundo, afetando principalmente os países em desenvolvimento (Costa, 2011; Baneth & Gallego, 2012; PAHO, 2017). A doença é causada por protozoários intracelulares obrigatórios, membros do gênero *Leishmania* (Baneth & Gallego, 2012), e transmitidos através de flebotômios infectados, dentre os quais a espécie *Lutzomyia longipalpis* é a principal encontrada no Brasil (Costa, 2005).

Apesar de possuir o menor número das notificações, a região Sul do Brasil, juntamente com Argentina, Paraguai e Uruguai vem mostrando uma expansão da doença (Catecati, 2018). Dentre os estados da região Sul, Santa Catarina era considerado indene para a doença até o ano de 2010, ano em que ocorreu os primeiros casos autóctones caninos em Florianópolis. Ainda, 38 municípios possuem casos importados da doença e Concórdia está entre eles (Figueiredo, 2012; Santa Catarina, 2020^a).

A fauna de flebotômios ainda é pouco conhecida no estado (Ledo, 2021), embora o conhecimento da distribuição das espécies de flebotômios ser fundamental para a vigilância epidemiológica e permitir a implantação de políticas públicas (Costa, 2011, Pirajá & Lucheis, 2014). O levantamento entomológico faz parte das recomendações do Manual de Controle de Zoonoses, também em municípios silenciosos, ou seja, onde não há transmissão, assim como inquéritos sorológicos em cães, manejo ambiental e educação em saúde (Ministério da Saúde, 2016). Além do estudo das espécies locais, faz-se necessário a pesquisa por insetos infectados por *Leishmania* spp. (Catecati, 2018).

Tendo em vista a escassez de estudos de vetores na região Oeste do estado e sua importância para o monitoramento epidemiológico das leishmanioses em áreas não endêmicas, o presente estudo realizou o levantamento entomológico na cidade de Concórdia, assim como a pesquisa de *Leishmania* spp. nos flebotômios capturados.

3.2 Material e Métodos

Área de estudo

O estudo foi conduzido na cidade de Concórdia, situada na região Oeste do estado de Santa Catarina, com área de 799,194 km², com população estimada em 75.683 habitantes e bioma de Mata Atlântica (IBGE, 2021). Sua posição é determinada pelas seguintes coordenadas geográficas: 27°14'3" de latitude e 52°1'43" de longitude oeste. Os bairros escolhidos para a pesquisa e suas características estão descritos na tabela um a seguir. A figura 1 representa o mapa de localização e a figura 2 o mapa de Concórdia com os pontos de coleta.

Tabela 1. Descrição das características dos bairros amostrados para o levantamento entomológico, situados no município de Concórdia, Santa Catarina.

Características observadas	Bairros					
	A	B	C	D	E	F
Proximidade de mata	■	■	■	■	■	■
Presença de animais domésticos	■	■	■	■	■	■
Presença de aves de produção		■		■		
Desmatamento recente	■					
Caso de leishmaniose em <i>Cavia porcellus</i>			■			
Próximo da área central	■		■		■	■
Distante da área central		■		■		

A: São Cristóvão, B: Santo Antônio, C: Petrópolis, D: Lajeado Quintino, E: Industriários, F: Guilherme Reich. O preenchimento da célula indica a presença da característica observada no bairro.

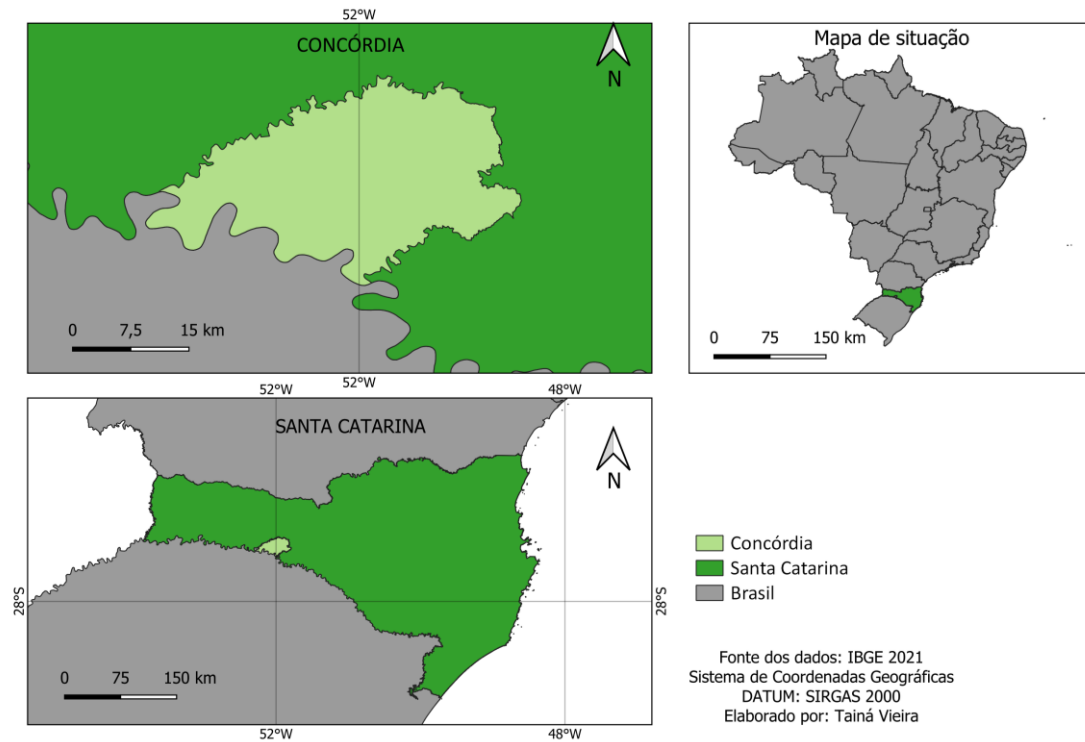


Figura 1. Mapa de localização do local de estudo.

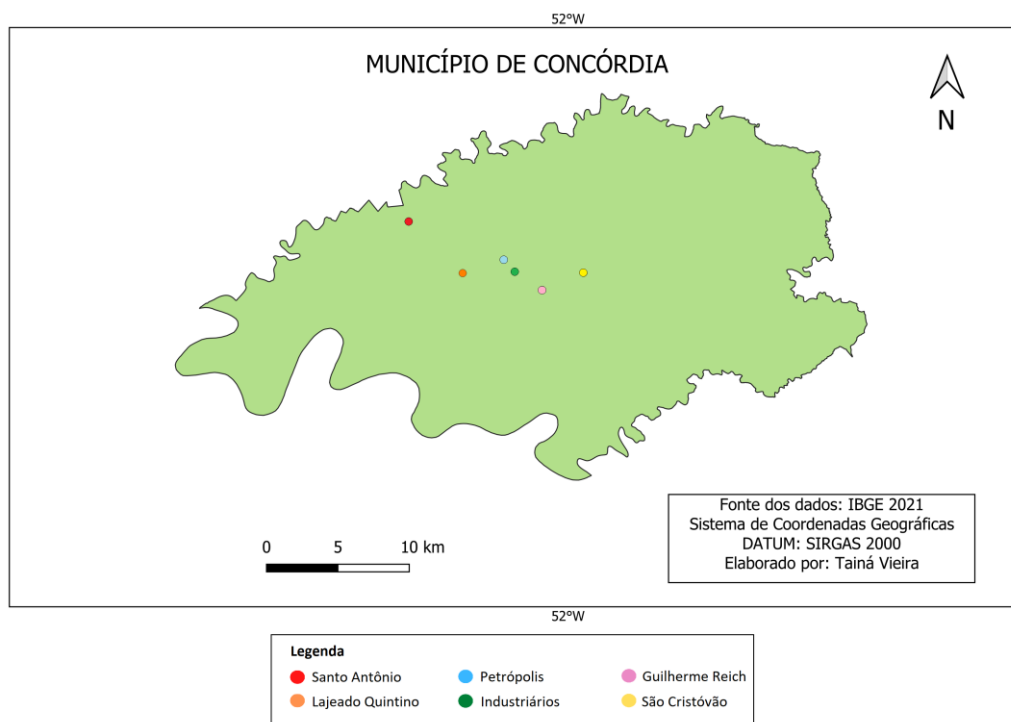


Figura 2. Mapa do município de Concórdia com os pontos de coleta.

Levantamento entomológico de flebotomíneos e identificação taxonômica

Foram utilizadas armadilhas de isca luminosa do tipo CDC (*Centers for Disease Control*), instaladas no intradomicílio e peridomicílio (figura 3) em seis áreas de pesquisa. As armadilhas foram obtidas através de empréstimo junto à Diretoria de Vigilância Epidemiológica de Santa Catarina (DIVE). Estas foram ligadas no início do pôr do sol, e permaneceram ligadas durante 12 horas em três noites de cada mês, durante o período de um ano (abril de 2021 a março de 2022). Os flebotomíneos capturados foram transferidos para microtubos e congelados à -20°C e posteriormente submetidos à identificação da espécie, seguindo a classificação adotada por Galati (2018). Para a identificação as amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Parasitologia Molecular da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Após a identificação, as fêmeas foram acondicionadas em microtubos contendo álcool 70% e mantidas novamente à -20°C até a realização do teste molecular.



Figura 3. Armadilhas instaladas em área peridomiciliar (A) e intradomiciliar (B) localizada em Lajeado Quintino.

Extração do DNA e PCR para detecção de *Leishmania* spp. dos flebotomíneos capturados

Após a identificação, as fêmeas foram submetidas à técnica de extração de DNA modificada de Michalsky et al. (2011). Para isso, os insetos foram macerados individualmente e adicionados 50 µL de tampão de lise (100mM Tris-HCL, 100mM NaCl, 25mM EDTA, 0,5% SDS, pH 8,0), 0,5 µL de proteinase K (20 mg/mL) e incubado à 37°C *overnight*. Posteriormente, foram adicionados 70 µL de água ultrapura e 120 µL de fenol saturado em tampão. Em seguida, realizou-se o tratamento com 120 µL de clorofórmio: isoamílico (24:1) e o DNA foi precipitado à -20°C *overnight*, adicionando-se 20 µL de acetato de sódio 3M (pH 5,2) e 200 µL de etanol absoluto gelado. O precipitado foi lavado com 100 µL de etanol 70% gelado, ressuspendido em 10 µL de TE e armazenado a -20°C. A concentração e o grau de pureza do DNA foram estimados por leitura em espectrofotômetro (Nano Drop).

Para o ensaio de PCR foram utilizados os primers LITSR 5'-CTGGATCATTTTCCGATG-3' e L5.8S 5'-TGATACCACTTATCGCACTT-3' obtidos junto à Fio Cruz- Paraná. Os primers amplificam o espaçador transcrito interno ribossômico 1 (ITS1) ITS1, região que ocorre entre os genes que codificam a subunidade pequena (18S) do RNA ribossômico e 5.8S rRNA de *Leishmania* spp. (El Tai et al. 2000), com produto de 300 – 350 pb. A amplificação do DNA foi realizada em um termociclador (BIO- RAD T100™ *Thermal Cycler*) utilizando o programa de amplificação conforme descrito por Schonian et al. (2003). Após a amplificação os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1%, corados com brometo de etídio e visualizados com auxílio de um transiluminador (Transiluminador UV LTB-Sti/ Fotodocumentador L-PIX Sti- Loccus).

Dados meteorológicos

Os dados de temperatura média, umidade média e precipitação total mensais foram obtidos junto à Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri) em seu banco de dados de variáveis ambientais.

Análise estatística

Para avaliar a razão sexual no intradomicílio e peridomicílio foi utilizado o teste Exato de Fisher. Para avaliar a correlação entre o número de flebotomíneos capturados com as precipitações mensais, temperaturas e umidades médias mensais foi utilizado o teste de correlação não paramétrica de Spearman. A distribuição mensal dos flebotomíneos foi testada para normalidade por meio do teste Shapiro-Wilk. Os testes foram realizados com nível de significância de 5% através do software estatístico Jamovi.

3.3 Resultados

Foram coletados 38 flebotomíneos durante todo o período amostral, demonstrados na tabela 2, conforme espécie, sexo e localização (intradomicilar e peridomiciliar). No teste Exato de Fisher a razão sexual no intradomicílio e peridomicílio não apresentou significância estatística (valor de $p = 0,729$).

Tabela 2. Espécie, sexo e localidade dos flebotomíneos capturados no município de Concórdia, Santa Catarina.

Espécie	Fêmeas	Machos	Intra*	Peri**	Total	
					n	%
<i>Migonomyia migonei</i>	14	11	7	18	25	65,79
<i>Brumptomyia carvalhoi</i>	2	3	1	4	5	13,15
<i>Psathyromyia serie lanei</i>	3	-	2	1	3	7,89
<i>Pintomyia fischeri</i>	-	2	-	2	2	5,26
<i>Brumptomyia sp.</i>	2	-	-	2	2	5,26
<i>Pintomyia monticola</i>	1	-	1	-	1	2,63
Total	n	22	16	11	27	38
	%	57,89%	42,11%	28,95%	71,05%	100%

*Intradomiciliar, ** Peridomiciliar

Quanto as estações do ano, a primavera representou 52,63% das capturas, seguida pelo verão (31,57%), outono (13,15%) e inverno (2,63%). Os meses em destaque foram outubro e janeiro, ambos com 23,68%. A tabela 3 apresenta os dados meteorológicos e as figuras 4, 5 e 6 representam os gráficos da sazonalidade dos flebotomíneos de acordo com a temperatura, umidade e precipitação.

Tabela 3. Dados meteorológicos de temperatura média, umidade média e precipitação total durante o período do estudo.

Mês/Ano	Temperatura (°C)	Umidade relativa (%)	Precipitação (mm)	Número de flebotomíneos
abr/21	19,34	71,35	2,20	1
mai/21	15,28	79,28	86,60	2
jun/21	13,46	87,35	170,40	0
jul/21	14,09	77,29	43,60	0
ago/21	19,28	68,03	37,40	0
set/21	19,33	78,05	152,60	5
out/21	19,12	78,27	253,40	9
nov/21	22,31	70,76	98,20	3
dez/21	23,90	63,69	51,00	4
jan/22	24,46	71,84	38,40	9
fev/22	24,38	67,77	61,80	3
mar/22	21,31	83,41	210,00	2

Fonte: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri).

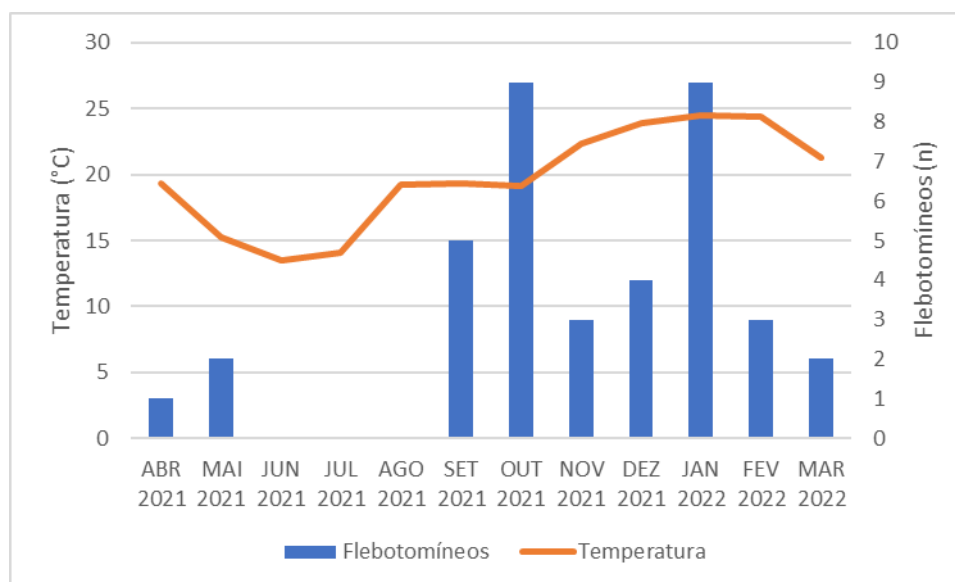


Figura 4. Gráfico da sazonalidade de flebotomíneos de acordo com a temperatura média mensal.

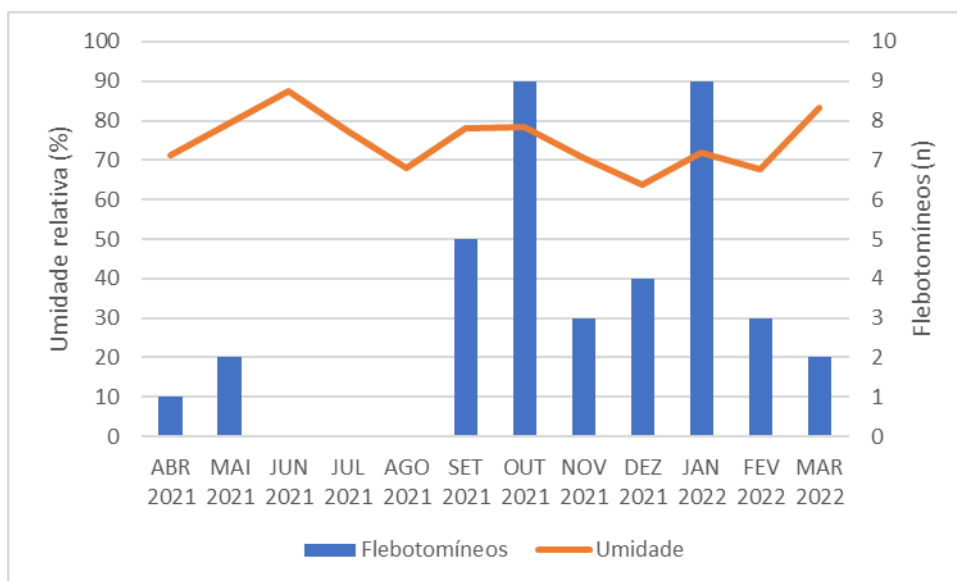


Figura 5. Gráfico da sazonalidade de flebotomíneos de acordo com a umidade média mensal.

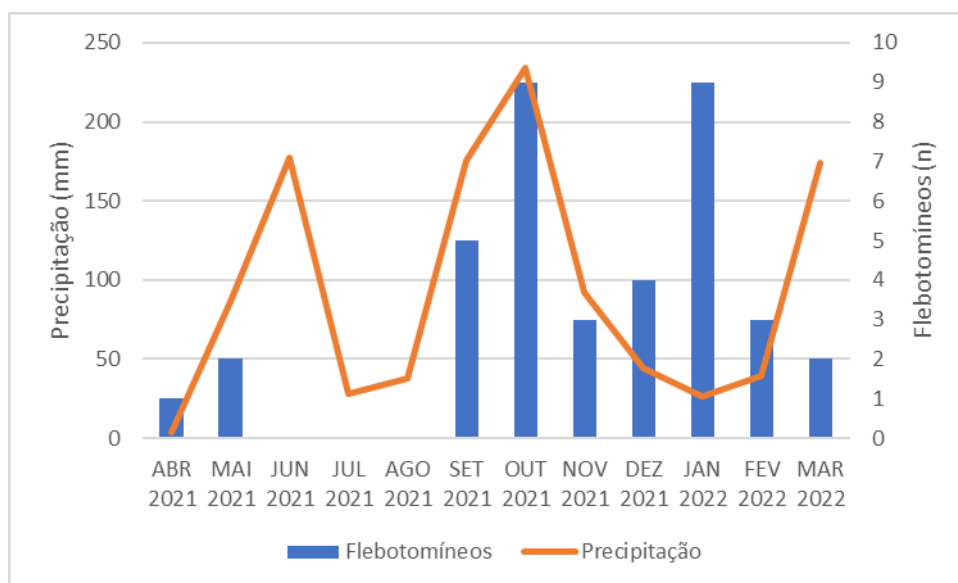


Figura 6. Gráfico da sazonalidade dos flebotomíneos de acordo com a precipitação total mensal.

No teste Shapiro-Wilk os flebotomíneos não apresentaram distribuição normal (valor de $p = 0,044$). O teste de correlação de Spearman revelou correlação positiva moderada entre a temperatura e o número de flebotomíneos (valor de $p = 0,049$ e

coeficiente de correlação = 0,577). A precipitação e umidade não apresentaram correlação significativa (valor de p 0,366 e 0,645, respectivamente).

Quanto aos bairros amostrados, quatro dos seis houve captura. O bairro Santo Antônio representou 15,8% das coletas, Petrópolis e Lajeado Quintino 26,3% e São Cristóvão 31,6%. A figura 7 representa as seis espécies de flebotomíneos capturadas.

Na leitura no espectrofotômetro verificou-se concentrações de DNA acima de 11,9 ng/ μ L e grau de pureza acima de 1,5. No PCR, todas as amostras foram negativas para a pesquisa de *Leishmania* spp.

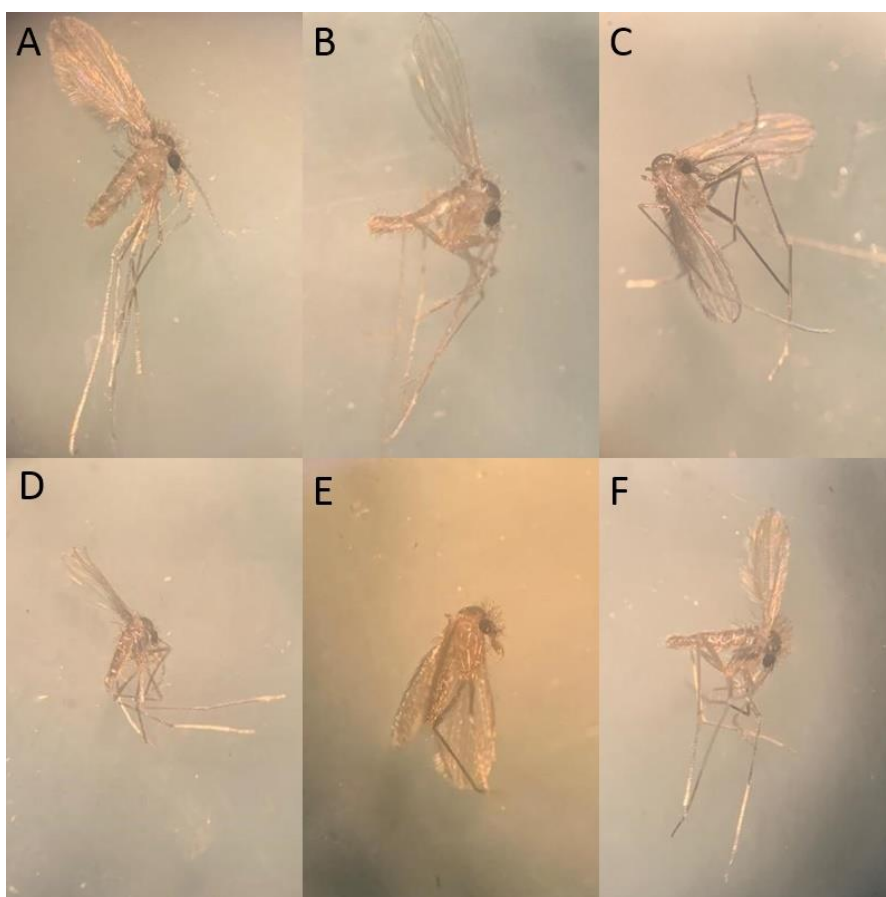


Figura 7. Flebotomíneos da espécie *M. migonei* (A), *Br. Carvalheiroi* (B), *P. serie lanei* (C), *Pi. Fischeri* (D), *Brumptomyia* sp. (E) e *Pi. Monticola* (F) capturadas durante o período de estudo no município de Concórdia, Santa Catarina. Aumento de 20x.

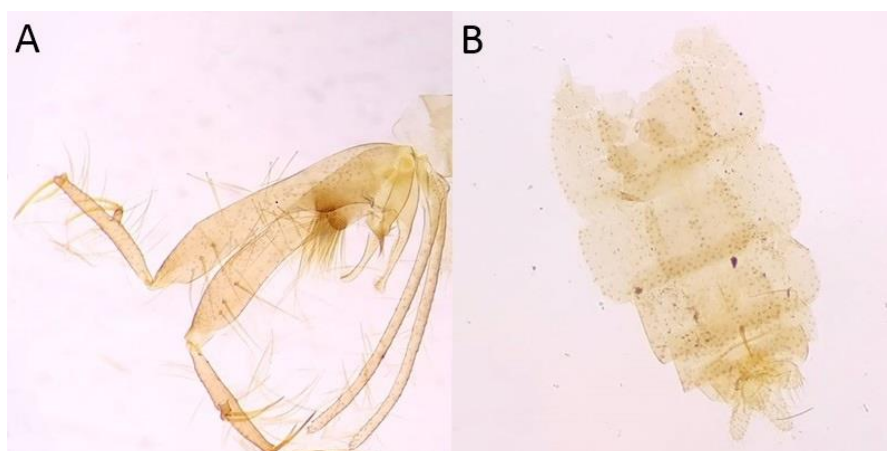


Figura 8. Terminália do macho (A) e parte do tórax contendo a genitália da fêmea (B) de flebotomíneos da espécie *Br. Carvalheiroi* capturada no município de Concórdia, Santa Catarina. Aumento de 100x.

3.4 Discussão

O presente levantamento traz a descrição da fauna de flebotomíneos na cidade de Concórdia, situada na região do Oeste catarinense. Esta região não possui caráter endêmico para leishmaniose, porém, há registros de casos importados da doença (Santa Catarina, 2020a). Apesar de se tratar de um município silencioso, o presente estudo revela a presença das espécies *M. migonei* e *Pi. Fischeri* que possuem capacidade vetorial (Galvis-Ovallos et al., 2017). Frente a isso, animais alóctones infectados que se instalem no município podem acarretar em um novo foco da doença. Para que isso não ocorra, é importante a manutenção da vigilância entomológica no município e informar aos profissionais e à comunidade a presença dos vetores. Uma medida cabível a ser realizada pelos médicos veterinários atuantes no município é orientar tutores provenientes de regiões endêmicas a respeito do uso de inseticidas tópicos com propriedade repelente em seus cães, a fim de evitar o repasto sanguíneo, além de solicitar testes de triagem nos animais.

No estado, DIVE realizou o levantamento entomológico em parte dos municípios entre os anos de 2005 a 2015 e no ano de 2017, concentrados principalmente na região oeste, litoral norte e vale do Itajaí. No primeiro levantamento

houve a captura da espécie *M. migonei* em Concórdia (DIVE/SC, 2015). Esta foi a espécie mais prevalente na presente pesquisa, correspondendo à 65,79% das coletas. As espécies *P. serie lanei*, *Pi. Fischeri*, *Br. Carvalheiroi*, *Brumptomyia sp.* e *Pi. Monticola* estão sendo relatadas pela primeira vez no município e a espécie *Br. Carvalheiroi* está sendo relatada pela primeira vez na região sul do país. A espécie *L. longipalpis*, vetor clássico na leishmaniose, não foi encontrado. Ainda não há relato da presença desta espécie no estado, apesar de sua ocorrência no Paraná, Rio Grande do Sul e Argentina (Souza et al., 2009, Santos et al., 2011; Salomón & Orellano, 2005). Contudo, devido tais fronteiras, existe o risco potencial desta espécie também se estabelecer no estado nos próximos anos.

A presença das espécies *M. migonei* e *Pi. Fischeri* no município pode ser considerado um fator de risco, uma vez que possuem capacidade vetorial (Galvis-Ovallos et al., 2017). Ambas as espécies possuem comportamento antropofílico (Rangel & Lainson, 2003), e são encontradas geralmente em abrigos de cães, matas residuais e paredes internas de domicílios (Aguiar & Medeiros, 2003). No presente levantamento todos os locais eram próximos de fragmentos de mata e apenas um não possuía animais domésticos, porém se tratava de um local com desmatamento recente devido ser um bairro em expansão na cidade, fato que também corrobora para a dispersão das espécies.

Um estudo realizado por Donalísio et al. (2017) detectaram infecção por *Leishmania* spp. através de testes moleculares na espécie *Pi. Monticola* e reforçaram a necessidade de estudos de sua capacidade vetorial, uma vez que a detecção de DNA não a comprova isoladamente. Já as espécies *P. serie lanei*, *Br. Carvalheiroi* e *Brumptomyia* spp. não são consideradas vetores (Porto Alegre, 2022). Contudo, tais capturas evidenciam a dispersão destes insetos no Sul e a importância do monitoramento entomológico na região.

A espécie *Br. Carvalheiroi* teve sua primeira descrição e ilustração feitas por Shimabukuro et al. (2007) no estado de São Paulo. Além de São Paulo, Minas Gerais

também possui registro da espécie (Shimabukuro et al., 2018). Apesar de o gênero *Brumptomyia* spp. possuir comportamento selvático (Ishimi, 2012), o presente estudo realizou a captura em peridomicílio, além de um registro em área intradomiciliar, o que sugere a adaptação da espécie ao ambiente doméstico.

Ao analisar a sazonalidade dos flebotomíneos de acordo com as variáveis climáticas, verificou-se maior abundância durante e após meses com maior precipitação, assim como nos meses em que houveram acréscimos nas temperaturas. As estações de maior captura foram a primavera e verão, com destaque aos meses de outubro e janeiro. O mês de outubro obteve a maior precipitação registrada no estudo, o que influencia no aumento da umidade proporcionando a eclosão das pupas (Almeida et al., 2010). No mês de janeiro foi registrada a maior média de temperatura, a qual regula os parâmetros biológicos dos flebotomíneos quanto ao metabolismo e a reprodução (Hartemink et al., 2011). Esta foi a única variável com correlação significativa com número de flebotomíneos (valor de $p = 0,049$). Ainda, perante tais resultados é passível criar futuras estratégias de medidas preventivas, devendo ser direcionadas a estes períodos.

A razão sexual no intradomicílio e peridomicílio não apresentou significância estatística. Porém, mesmo que em baixo número, foram encontradas fêmeas na área intradomiciliar, e são elas quem realizam o repasto sanguíneo (Fundação Oswaldo Cruz, 1997). As fêmeas pertenciam as espécies *Pi. Monticola*, *Br. Carvalheiroi*, *P. serie lanei* e *M. migonei*. Esta última possui capacidade vetorial para cães conforme trabalhos de Galvis-Ovallos et al. (2017), além de notável grau de antropofilia (Rangel e Lainson, 2003), demonstrando possível risco à ocorrência de repasto em humanos, caso ocorra um foco de transmissão na região.

A presente pesquisa não identificou flebotomíneos positivos para *Leishmania* spp., corroborando com a pesquisa de Orlandin et al. (2019). Este resultado provavelmente decorra do baixo número de espécimes capturados, além do fato de a região não ser endêmica para leishmaniose. Estudos realizados em outras regiões do

estado encontraram flebotomíneos positivos, como a pesquisa realizada por Bittencourt (2008) na cidade de Piçarras, no norte do estado, detectou na espécie *Ny. Neivai* e Catecati (2018), na cidade de Florianópolis, na região Leste, detectou nas espécies *Pi. Fischeri*, *M. migonei* e *Ny. Neivai*.

Nos últimos anos Concórdia está recebendo um número considerável de famílias provenientes de outras regiões do país para fins laborais, assim como o estabelecimento de empresas de médio e grande porte. Tais situações se traduzem em migração humana e rotas comerciais, fatores que podem propiciar a dispersão da leishmaniose (Salomon et al., 2008), devido ao transporte conjunto de cães que ocasionalmente estão infectados de forma assintomática (Catecati, 2018). Este cenário também influencia na aproximação dos vetores ao peridomicílio, uma vez que a expansão da cidade requer a ocupação de áreas próximas às matas ou mesmo a ocorrência de desmatamento, como o caso do bairro São Cristóvão, que fez parte desta pesquisa.

3.5 Conclusão

Dentre as seis espécies capturadas, duas possuem capacidade vetorial, indicando risco de possível foco de leishmaniose caso ocorra entrada de animais alóctones infectados no município. Embora não houveram flebotomíneos positivos para *Leishmania* spp., recomenda-se a adoção de medidas preventivas como a realização de testes de triagem e uso de inseticidas tópicos em animais provenientes de áreas endêmicas. Deve-se manter a vigilância entomológica com periodicidade, além de medidas educativas com a população. Frente à sazonalidade vetorial identificada no presente estudo, indica-se que tais medidas possam ser focadas em períodos de primavera e verão.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Duas espécies com capacidade vetorial foram capturadas no estudo e não foram identificados flebotomíneos positivos para *Leishmania* spp. Porém, na ocasião da presença de animais alóctones infectados no município, poderá ocorrer novo foco da doença. Assim, recomenda-se a adoção de medidas preventivas acerca da vigilância sanitária destes animais, como o uso de inseticidas tópicos e testes de triagem.

Sugere-se a manter a realização da vigilância entomológica com periodicidade por parte do órgão competente do estado, tanto em Concórdia, quanto nos demais municípios que possuem limites territoriais com áreas endêmicas e municípios onde foram registrados casos alóctones da doença.

Deve-se realizar medidas educativas com a população em geral e ações de formação continuada aos veterinários atuantes nos municípios.

A espécie *B. carvalhoi* está sendo relatada pela primeira vez na região Sul do Brasil. Apesar de possuir característica selvática, foi encontrada em área intra e peridomiciliar, o que demonstra a necessidade contínua de estudos quanto ao comportamento das espécies.

5 REFERÊNCIAS

ACARDI, S.A.; LIOTTA, D.J.; SANTINI, M.S.; ROMAGOSA, C.M.; SALOMÓN, O.D. Detection of *Leishmania infantum* in naturally infected *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) and *Canine familiaris* in Misiones, Argentina: the first report of a PCR-RFLP and sequencing-based confirmation assay. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 105, 796-799, 2010.

AGUIAR, G.M. & MEDEIROS, W. Distribuição Regional e Hábitats das Espécies de Flebotomíneos do Brasil. *In*: RANGEL, E.F. & LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz. P. 207-255, 2003.

ALMEIDA, P.S.; MINZAO, E.R.; MINZAO, L.D.; SILVA, S.R.; FERREIRA, A.D.; FACENDA, O.; ANDRADE FILHO, J.D. Aspectos ecológicos de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em área urbana do município de Ponta Porã, Estado de Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 43, 723-727, 2010.

AQUINO, Andrezza Carminatti. **Aspectos clínicos e epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana em Santa Catarina – Casuística do Hospital Nereu Ramos no período de abril de 2005 a janeiro de 2009**. 2009. 70f. Monografia (Graduação em Medicina) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

BANETH, G.; GALLEGU, L. Leishmaniasis. *In*: GREENE, C. E. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 4 Edition. St. Louis: Saunders Elsevier, p. 734 – 746, 2012.

BITTENCOURT, I.A. **Infecção natural por *Leishmania* sp. em flebotomíneos capturados no foco de transmissão de Leishmaniose Tegumentar Americana no município de Piçarras, litoral norte do Estado de Santa Catarina e identificação específica do parasito em amostras clínicas e em cepas isoladas de pacientes**. 2008. 62f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

CATECATI, T. Leishmaniose visceral em Florianópolis: Caracterização molecular das cepas de *Leishmania infantum* isoladas de casos locais e pesquisa vetorial. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Biociências) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.

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

COSTA, P.L. **Comportamento da fauna de flebotomíneos, com ênfase em *Lutzomyia infantum*, em área endêmica para leishmaniose visceral no município de Passira**,

agreste de Pernambuco. 2011. 92f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2011.

DALLANORA, F.J.; WAGNER, G.; KROTTH, A.; FRIZZO, C.; PINTO, A.O.; ORLANDIN, E. Diagnóstico molecular de Leishmaniose Visceral Canina (LVC) em cães participantes da Campanha de Castração em Herval d'Oeste (Santa Catarina, Brasil) no ano de 2015. *In*: IX Seminário Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão – SIEPE, 2016, Joaçaba. **Anais...** Joaçaba: 2016. P. 1.

DEBONI, S.D.; BARBOSA, M.; RAMOS, R.R. Leishmaniose Visceral no Rio Grande do Sul. **Boletim Epidemiológico**, 13, 1-8, 2011.

DIAS, E.S.; MICHALSKY, E.M.; NASCIMENTO, J.C.; FERREIRA, E.C.; LOPES, J.V.; FORTES-DIAS, C.L. Detection of *Leishmania infantum*, the etiological agente of visceral leishmaniasis, in *Lutzomyia neivai*, a putative vector of cutaneous leishmaniasis. **Journal of Vector Ecology**. 38, 193-196, 2013.

DIRETORIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DE SANTA CATARINA. Vigilância entomológica para flebotomíneos, 2015. Disponível em: <https://www.dive.sc.gov.br/index.php/leishmaniose-visceral-canina>. Acessado em: 18 abr. 2020.

DONALISIO, M.R.; PAIZ, L.M.; SILVA, V.G.; RICHINI-PEREIRA, V.B.; VON ZUBEN, A.P.B.; CASTAGNA, C.L.; MOTOIE, G.; HIRAMOTO, R.M.; TOLEZANO, J.E. Visceral leishmaniasis in na environmentally protected area in southeastern Brazil: Epidemiological and laboratory cross-sectional investigation of phlebotomine fauna, wild hosts and canine cases. **Plos Neglected Tropical Disease**. 11, 1-18, 2018.

EL TAI, N.O.; OSMAN, O.F.; EL FARI, M.; PRESBER, W.; SCHONIAN, G. Genetic heterogeneity of ribosomal internal transcribed spacer in clinical samples of *Leishmania cf. novani* spotted on filter paper as revealed by single-strand conformation polymorphisms and sequencing. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, 94, 575-579, 2000.

Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. **Banco de dados de variáveis ambientais de Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri, 20p, 2020.

FIGUEIREDO, F.B.; JUNIOR, F.E.F.L.; TOMIO, J.E.; INDÁ, F.M.C.; CORRÊA, G.L.B.; MADEIRA, M.F. Leishmaniose Visceral Canina: Dois casos autóctones no município de Florianópolis, estado de Santa Catarina. **Acta Scientiae Veterinariae**. 40, 1-4, 2012.

FORATTINI, O.P.; PATTOLI, D.G.B.; RABELLO, E.X.; FERREIRA, A. Infecção natural de flebotomíneos em foco enzoótico de leishmaniose tegumentar no estado de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**. 6, 431-433, 1972.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. As Leishmanioses. Disponível em <http://www.dbbm.fiocruz.br/tropical/leishman/leishext/html/morfologia.htm>. 1997. Acessado em 09 jun. 2022.

GALATI, E.A.B. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae): Classification, Morphology and Terminology of Adults and Identification Of American Taxa. *In*: RANGEL, E.; SHAW, J. (eds). **Brazilian Sand Flies**. Springer. P. 9-212, 2018.

GALVIS-OVALLOS, F.; SILVA, M.D.; BISPO, G.B.S.; OLIVEIRA, A.G.; NETO, J.R.G.; MALAFRONTA, R.S.; GALATI, E.A.B. Canine visceral leishmaniasis in the metropolitan área of São Paulo: *Pintomyia fischeri* as potential vector of *Leishmania infantum*. **Parasite**. 24, 1-10, 2017.

GROTT, S.C.; GREINERT-GOULART, J.A.; RODRIGUES, C.M.; STEINDEL, M.; SHAEFER, M.; MARCONDES, C.B. Epidemiology and distribution of phlebotomine sand flies (Diptera: Phlebotominae) in Blumenau, SC, Brazil, na área of transmission of American Cutaneous Leishmaniasis. **Revista de patologia tropical**. 43, 483-491, 2014.

HARTEMINK N.; VANWAMBEKE, S.O.; HEESTERBEEK, H.; ROGERS, D., MORLEY, D.; PESSON, B.; READY, P. Integrated mapping of establishment risk for emerging vector-borne infections: a case study of canine leishmaniasis in southwest France. **PloS One**. 6, 1-12, 2011.

IBGE. Concórdia. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sc/concordia/panorama>. Acessado em: 5 mai. 2021.

ISHIMI, C.M. **Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) em fragmentos de mata da área urbana de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil**. 2012. 70f. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2012.

LEDO, G. **Levantamento e distribuição da fauna de flebotomíneos, com uso de armadilha luminosa do tipo CDC, em áreas urbana e periurbana de Lages, Santa Catarina, Brasil**. 2022. 38f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2022.

LEOTE, D.S.; SILVA, D.B.; VARIZA, P.F.; OLIVEIRA, J.G.; LOPES, C.M.; SILVA, W.J.; MILAGRES, T.F.; ROSSETTI, M.L.; ROLIM, F.S.; SILVA, O.S.; FERNANDES, M.; PROPHIRO, J.S. The first case of canine visceral leishmaniasis in the Southern region of Santa Catarina, an emerging focus of visceral leishmaniasis in Brazil: regional report or reflection of the reality of a country? **Research, Society and Development**. 10, 1-10, 2021.

MARCONDES, C.B.; CONCEIÇÃO, M.B.E.; PORTES, M.G.; SIMÃO, B.P. Phlebotomine sandflies in a focus of dermal leishmaniasis in the eastern region of the Brazilian State of Santa Catarina: preliminar results (Diptera: Psychodidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 38, 353-355, 2005.

MARTINS-MELO, F.R.; LIMA, M.S.; RAMOS, Jr. A.N.; ALENCAR, C.H.; HEUKELBACH, J. Mortality and case fatality due to visceral leishmaniasis in Brazil: A nationwide analysis of epidemiology, trends and spatial patterns. **Plos One**. 9, 1-14, 2014.

MAZIERO, N.; THOMAZ-SOCCOL, V.; STEINDEL, M.; LINK, J.S.; ROSSINI, D.; ALBAN, S.M.; NASCIMENTO, A.J. Rural-urban focus of canine visceral leishmaniasis in the far western region of Santa Catarina State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 205, 92–95, 2014.

MENDONÇA, F. Aquecimento global e suas manifestações regionais e locais: alguns indicadores da região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Climatologia**. 2, 71-86, 2006.

MICHALSKY, E.M.; GUEDES, K.S.; SILVA, F.O.L.; FRANÇA-SILVA, J.C.; DIAS, C.L.F.; BARATA, R.A.; DIAS, E.S. Infecção natural de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Diptera: Psychodidae) por *Leishmania infantum chagasi* em flebotomíneos capturados no município de Janaúba, Estado de Minas Gerais, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 44, 58-62, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar americana, 2013. Disponível em: <http://vigilancia.saude.mg.gov.br/index.php/download/manual-de-vigilancia-da-leishmaniose-tegumentar/>. Acessado em: 29 jan. 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de vigilância, prevenção e controle de zoonose, 2016. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/publicacoes-svs/zoonose/manual-zoonoses-normas-2v-7julho16-site.pdf/view>. Acessado em: 29 jan. 2022.

MUELLER, G.A.; DALAVEQUIA, M.A.; WAGNER, G.; MARCONDES, C.B. Blood sucking Diptera (*Culicidae*, *Psychodidae*, *Simuliidae*) in forest fragmente under impact of dam in the borderland of Rio Grande do Sul and Santa Catarina states, Brazil. **Ciência Rural**. 44, 1194-1196, 2014.

NASCIMENTO, Bruno Warley Leandro. **Estudo de Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no município de Divinópolis, Minas Gerais, Brasil.** 2013. 105f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2013.

ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD (OPAS). Manual de procedimientos para vigilancia y control de las leishmaniasis en las Americas. Washington, D.C.: OPS; 2019. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/50524>

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Leishmanioses- informe epidemiológico das américas, 2021. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/55386>. Acesso em: 11 mar. 2022.

ORLANDIN, E.; D'AGOSTINI, F.M.; PITALUGA, A.N.; MARCONDES, C.B.; WAGNER, G. Notes on the Sand fly fauna (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in municipalities along the Peixe River, Midwest of Santa Catarina, Brazil. **Biota Amazônia.** 9, 67-69, 2019.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Plan of action to strengthen the surveillance and control of leishmaniasis in the Americas 2017-2022, 2017. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/34147>. Acessado em: 11 mar. 2022.

PEREIRA JUNIOR, A.M; RESADORE, F.; RODRIGUES, A.N.; FERREIRA, G.E.M.; JULIÃO, G.R.; MEDEIROS, J.F. New record of four sand fly species (Diptera, Psychodidae) in Rondônia State, Western Amazon, Brazil. **Brazilian Journal of Biology.** 80, 206-208, 2020.

PINA-TRENCH, F.J.; RITT, A.G.; GEWEHR, T.A.; LEANDRO, A.S.; CHIYO, L.; RITTGEWEHR, M.; RIPOLI, M.; BISETTO, A.; POZZOLO, E.M.; SOCCOL, V.T. First report of autochthonous visceral leishmaniosis in humans in Foz do Iguaçu, Paraná state, Southern Brazil. **Annals of Clinical Cytology and Pathology.** 2, 1041-1045, 2016.

PINTO, A.O.; CARVALHO, D.; FRIZZO, D.; LOPES, K.; TESSARI, G.B.; CATECATI, T.; DHOM-LEMONS, L.C.; PASQUALI, A.K.S.; QUARESMA, P.F.; STOCO, P.H.; GRISARD, E.C.; STEINDEL, M.; WAGNER, G. First case of canine visceral leishmaniasis in the midwestern of Santa Catarina State, Brasil. **Brazilian Journal of Biology.** 82, 1-6, 2022.

PIRAJÁ, G.V.; LUCHEIS, S.B. A vigilância epidemiológica de flebotomíneos no planejamento de ações de controle nas leishmanioses. **Veterinária e Zootecnia.** 21, 503-515, 2014.

PORTO ALEGRE. Leishmaniose Visceral em Porto Alegre: O cenário depois de cinco anos do primeiro caso humano confirmado, 2022. Disponível em: <https://prefeitura.poa.br/sms/noticias/informativo-da-vigilancia-em-saude-apresenta-panorama-da-leishmaniose-visceral-na>. Acessado em: 18 Mar. 2022.

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

RANGEL, E.F.; LAINSON, R. Ecologia das leishmanioses. In: RANGEL, E.F. & LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz. p. 291-311, 2003.

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

ROTUREAU, B. Ecology of the *Leishmania* species in the Guinan ecoregion complex. **American Journal Tropical Medicine Hygiene**. 74, 81-96, 2006.

SALOMON, O.D.; ORELLANO, P.W. *Lutzomyia longipalpis* in Clorinda, Formosa province, an area of potential visceral leishmaniasis transmission in Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 100, 475-476, 2005.

SALOMÓN, O.D.; SINAGRA, A.; NEVOT, M.C.; BARBERIAN, G.; PAULIN, P.; ESTEVEZ, J.O., RIARTE, A.; ESTEVEZ, J. First visceral leishmaniasis focus in Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 103, 109-111, 2008.

SANTA CATARINA. Leishmaniose Visceral Canina (LVC): informações para profissionais da saúde, 2020a. Disponível em: <https://www.dive.sc.gov.br/index.php/leishmaniose-visceral-canina>. Acesso em 23 Ago. 2020.

SANTA CATARINA. Guia de orientação para a vigilância da leishmaniose visceral canina (LVC), 2020b. Disponível em: <https://www.dive.sc.gov.br/index.php/leishmaniose-visceral-canina>. Acessado em: 13 mar. 2022.

SANTOS, E.; SILVA, F.D.; SOUZA, G.D. Vigilância entomológica. **Boletim Epidemiológico**. 13, 2011.

SEVA, A.; MAO, L.; GALVIS-OVALLOS, F.; LIMA, J.M.T.; VALLE, D. Risk analysis and prediction of visceral leishmaniasis dispersion in São Paulo State, Brazil. **Plos Neglect Tropical Disease**. 11, 1-17, 2017.

SHIMABUKURO, P.H.F.; ANDRADE, A.J.; GALATI, E.A.B.; CORDEIRO, D.P.; BRAVO, F. Psychodidae. Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil, 2018. PNUD. Disponível em: <http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/86260>. Acessado em 13 mar. 2022.

SHIMABUKURO, P.H.F.; MARASSÁ, A.M.; GALATI, E.A.B. *Brumptomyia carvalhoi* sp. nov. (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) from Atlantic forest domain, São Paulo State, Brazil. **Zootaxa**. 1637,47-54, 2007.

SCHONIAN, G.; NASEREDDIN, A.; DINSE, N.; SCHWEYNOCH, C.; SCHALLING, H.D.F.H.; PRESBER, W.; JAFFE, C.L. PCR diagnosis and characterization of *Leishmania* in local and imported clinical samples. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, 47, 349-358, 2003.

SOUZA, G.; SANTOS, E.; FILHO, J. D. A. The first report of the main vector of visceral leishmaniasis in America, *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 104, 1181-1182, 2009.

STEINDEL, M.; MENIN, A.; EVANGELISTA, T.; STOCO, P.H.; MARLOW, M.A.; FLEITH, R.C.; PILATI, C.; GRISARD, E.C. Outbreak of autochthonous canine visceral leishmaniasis in Santa Catarina, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 33, 490-496, 2013.

VARIZA, P.F.; PEREIRA, T.N.; OLIVEIRA, J.G.; FERNANDES, M.; AVELAR, D.M.; MILAGRES, T.F.; SILVA, W.J.; CARDOSO, D.T.; SILVA, O.S.; GONTIJO, C.M.F.; PROPHIRO, J.S. Notes on the sand fly fauna (Diptera: Psychodidae) in a region of Brazil. **Research, Society and Development**. 10, 1-11, 2021.

WERNECK, G.L. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Brasil. **Revista de Saúde Pública**. 26, 644-645, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Leishmaniasis, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em: 11 mar. 2022.

ZUCHI, T.L.V.L.Z.; CORASSA, L.; BONETTO, G.; LOPATINI, C.L.; SPRICIGO, J.B.; SURIAN, S.R.S.; DEZEN, D.; FARIA, J.L.M. Serological survey of *Ehrlichia canis*, *Babesia canis* and *Leishmania infantum* in a Brazilian canine population. **Journal Advanced Veterinary Research**. 10, 61-65, 2020.