



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - CEUB
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

LOYANE RICARDO CORNELIO
EMILLE KAROLINE MARQUES RIBEIRO

**ESTAMOS DESPERDIÇANDO UM CARÁCTER DE TAXONOMIA ÚTIL? O CASO DA
PIGMENTAÇÃO DO TÓRAX PARA IDENTIFICAR LUTZOMYIA LONGIPALPIS**

BRASÍLIA

2021



LOYANE RICARDO CORNELIO
EMILLE KAROLINE MARQUES RIBEIRO

**ESTAMOS DESPERDIÇANDO UM CARÁCTER DE TAXONOMIA ÚTIL? O CASO DA
PIGMENTAÇÃO DO TÓRAX PARA IDENTIFICAR LUTZOMYIA LONGIPALPIS**

Relatório final de pesquisa de Iniciação
Científica apresentado à Assessoria de Pós-
Graduação e Pesquisa.

Orientação: Dra. Rafaella Albuquerque e Silva

BRASÍLIA

2021

AGRADECIMENTOS

Nesta seção do artigo quero fazer um breve agradecimento às pessoas envolvidas na realização deste projeto e que foram imprescindíveis para alcançar os resultados.

Emille Karoline, colega de curso e de pesquisa, esteve disponível no desenvolvimento das análises laboratoriais da pesquisa.

A professora e orientadora Rafaella Alburquerque, que confiou às alunas a aplicação desse estudo tão importante para o campo de pesquisas científicas na área de saúde pública. Obrigada professora Rafaella por ter compartilhado conosco a sua experiência na área de epidemiologia, contribuindo assim com a agregação de conhecimento tanto profissional, quanto pessoal.

Aos especialistas em taxonomia da UFPR e aos pesquisadores e laboratórios estaduais de epidemiologia, pela disponibilidade e disposição em ajudar com a avaliação das amostras, cooperando assim com o alcance dos resultados.

As Secretarias de Saúde do Ceará, Mato Grosso do Sul e Rio Grande do Sul, e a Unidade de Controle de Zoonoses de Montes Claros, por disponibilizar as amostras.

E por fim, agradeço a equipe da assessoria de pesquisa do UniCEUB que esteve por trás apoiando os alunos no ramo de pesquisas científicas.

RESUMO

A identificação taxonômica de flebotomíneos é uma tarefa complexa e baseia-se principalmente em critérios morfológicos dos vetores da leishmaniose visceral, doença essa de importância tanto para a saúde pública humana quanto animal. Essa atividade é essencial para vigilância entomológica, a qual permitindo compreender a biologia e ecologia dos vetores, auxilia no seu controle e, conseqüentemente, na doença. A busca constante pela simplificação do processo de identificação dos flebotomíneos é desejável para tornar as atividades de vigilância mais ágeis e efetivas em relação às investigações voltadas para os flebotomíneos. O objetivo do presente estudo é descrever a potencial utilização do uso da coloração dos escleritos para a discriminação de *Lutzomyia longipalpis* de outras espécies, incluindo aquelas indistinguíveis. Durante os estudos realizados em laboratório foi constatada a presença de uma coloração escura na parte superior da segunda e terceira coxa nas fêmeas, especificamente no catepisterno e catepímero, além do anepímero e paratergito, todas estas estruturas localizadas no tórax de *Lutzomyia longipalpis*. A validação foi realizada em duas etapas, a primeira por um especialista e a segunda com profissionais pertencentes às equipes de entomologia dos estados. Inicialmente, foi utilizada uma amostra de 383 flebotomíneos - 195 fêmeas e 188 machos. Foram separados o tórax, a cabeça e o abdome, sendo estes dois últimos utilizados para a montagem. A análise das lâminas e tórax foi mascarada. A identificação da espécie foi realizada utilizando a chave de classificação de Galati et al. (2013). Dessas amostras, a pigmentação escura foi observada em 337 (98,5%) amostras de *Lutzomyia longipalpis*, na região do paratergito e anepímero, catepisterno e catepímero. A segunda parte da validação consistiu no envio de amostras, seguindo o mesmo padrão de elaboração descrito acima, para sete equipes de entomologia estaduais. Cada equipe recebeu em torno de 20 amostras de flebotomíneos (20 lâminas montadas e 20 eppendorfs com tórax). Cinco equipes retornaram com os resultados, e apontaram que 55,95% dos *Lu. longipalpis* enviados apresentavam as manchas de coloração escura no tórax, enquanto 53,5% dos exemplares de espécies crípticas (*Lu. gaminarai* e *Lu. cruzi*) não apresentaram as referidas manchas nos tórax. O resultado demonstra dificuldade e propõe que existe a necessidade de treinamento dos profissionais de entomologia dos estados para a identificação da coloração escura nos escleritos. Ademais, em áreas com espécies crípticas, o uso deste carácter não deve ser considerado, pois não é específico de *Lu. longipalpis*.

Palavras-chave: Flebotomíneo; Taxonomia; *Lutzomyia Longipalpis*; Vigilância entomológica.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	4
	2.1 Controle de flebotomíneos e vigilância entomológica.....	4
	2.2 Biologia e taxonomia de flebotomíneos.....	5
	2.3 Competência vetorial e identificação taxonômica.....	6
3	MÉTODO.....	9
	3.1 Local de estudo.....	9
	3.2 Amostras de flebotomíneos.....	9
	3.3 Preparação das amostras.....	9
	3.4 Avaliação das amostras.....	12
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	16
	REFERÊNCIAS.....	17

1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma enfermidade de grande importância nacional no quesito saúde pública. É uma antroponose, doença que acomete primeiramente os animais (domésticos e silvestres) e pode ser transmitida aos seres humanos. Nacionalmente pode ser conhecida popularmente por diferentes nomenclaturas como calazar, esplenomegalia tropical e febre dundun, dependendo da região no Brasil que se refere. Essa doença se encontra distribuída por todos os estados brasileiros, estando presente em 76 países, pode-se destacar países da América Latina como Argentina, Bolívia, Colômbia e entre outras (BRASIL, 2019).

A LV é uma doença de evolução crônica causada pelo protozoário da espécie *Leishmania infantum* e transmitida pela picada do vetor fêmea pertencente à ordem Diptera, família Psychodidae, divididas em dois gêneros, sendo eles *Phlebotomus* do velho mundo, e *Lutzomyia* do novo mundo utilizando a classificação de Young&Duncan (KILLICK-KENDRICK, 1999). Os vetores são denominados flebotomíneos, também podendo ser conhecidos pelos nomes de “mosquito palha”, “asa dura”, “tatuquiras”, “birigui” e “cangalhinha” (MONTEIRO, 2012).

O ciclo de transmissão dessa doença está relacionado com a flutuação das populações de vetores e reservatórios, ou seja, fatores como o desequilíbrio no meio, como as mudanças climáticas, ambientais e problemas socioeconômicos relacionados ao alto crescimento das cidades. Essas mudanças fazem com que estes vetores saiam do seu habitat natural e passem a se adaptar a um ambiente antropizado, e torna-se um problema em áreas urbanas. Além disso, a construção de moradias nas periferias das cidades com falta de saneamento básico, o acúmulo de lixo e a presença de animais domésticos acabam criando meios favoráveis para a sobrevivência e permanência dos vetores neste meio, consequentemente maiores chances da doença se instalar próximo a sociedade (OPS/OMS, 2006; SHAW 2007, CARDIM et al. 2013).

A Organização Mundial de Saúde - OMS considera a LV como uma doença negligenciada em todos os aspectos, pois além de ser causada por um agente infeccioso e por acometer principalmente as populações mais pobres, é uma enfermidade de difícil controle. Segundo o Ministério da Saúde, em 2019 foram confirmados 2.529 casos de LV no Brasil, com um registro de 207 óbitos no mesmo ano. A LV leva ao comprometimento sistêmico do

organismo e em casos que não são tratados levam ao óbito de até 90% dos acometidos. Apesar do histórico de ser uma doença grave, a LV tem tratamento. Para os casos humanos o tratamento é gratuito e disponível para a população pela rede de serviços do Sistema Único de Saúde (SUS). Já para os casos caninos o Ministério da Saúde indica a eutanásia de cães soropositivo como medida de controle devido ao fato comprovado de que os cães infectados são fonte de infecção para humanos, logo aumenta o risco de infecção humana (BELO et al, 2013).

A leishmaniose visceral humana (LVH) é uma doença de notificação compulsória e pode apresentar como sintomatologia febre prolongada, anemia, perda de peso, fraqueza e hepatoesplenomegalia, como sinais característicos da LV. Já nos cães a doença possui evolução lenta e com início insidioso, no qual as manifestações clínicas estão diretamente ligadas ao tipo de resposta imunológica do paciente. O animal infectado pode então ser assintomático, ou seja, com ausência de sinais clínicos de infecção, porém portador do protozoário, ou sintomáticos, podendo apresentar sinais clínicos como lesões cutâneas, alopecia, apatia, onicogribose (crescimento anormal das unhas), lesões na face, ao redor dos olhos, nariz e nas pontas das orelhas, emagrecimento, ceratoconjuntivite e esplenomegalia (BRASIL, 2006).

Há uma discussão sobre o possível tratamento de cães afetados pela LV com o uso de Miltefosina, porém estudos mostram que o uso dessa droga apresenta baixa eficiência. Os cães apresentam apenas a remissão temporária dos sinais clínicos sem a cura patológica, dessa forma os animais afetados continuam sendo fonte de transmissão e gerando risco à saúde dos humanos e de outros animais que convivem no mesmo ambiente. Não há comprovação científica de que o tratamento canino reduz os casos em humanos, por isso, essa hipótese não se configura como medida a ser adotada pelo órgão de saúde pública. Além disso, vale ressaltar que qualquer plano ou medida tomada referente à sanidade dos animais é de responsabilidade do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL,2019).

A atividade indispensável para o serviço de vigilância epidemiológica de uma doença de caráter vetorial como a leishmaniose visceral é a vigilância entomológica, que inclui a taxonomia dos flebotomíneos. Essa baseia-se na identificação de espécies de vetores envolvidos por meio de critérios morfológicos e morfométricos, permitindo assim, definir o perfil de transmissão da doença, identificar a distribuição de vetores em uma determinada

região, avaliar os riscos e com base nas informações encontradas implementar medidas de controle (GOMES,2002).

O vetor *Lutzomyia longipalpis* sensu lato (s.l.) (LUTZ & NEIVA 1912) é uma das principais espécies transmissoras de *Leishmania infantum*. Todavia, estudos apontam mais outras duas espécies indistinguíveis como *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1942) e *Migonemyia migonei* (França, 1920) como vetores secundários para a transmissão da LV. Dessa forma, esta pesquisa se trata de um estudo de fase II, no qual o objetivo é avaliar a presença da coloração enegrecida já observada em estudos anteriores, nas estruturas como catepisterno e catepímero, acima da segunda e terceira coxa do vetor fêmea de *Lu. longipalpis* e avaliar a possibilidade de validar essa característica para utilizar como uma nova metodologia de identificação, possibilitando mais rapidez no processo de triagem dos vetores transmissores da LV.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Controle de flebotomíneos e vigilância entomológica

Em relação às estratégias de prevenção e controle da LV, o programa adotado pelo órgão público preconiza atividades no âmbito de vigilância epidemiológica dos casos humanos e caninos, e vigilância entomológica dos vetores, com o objetivo de diminuir as taxas de letalidade e de morbidade por meio de diagnósticos e tratamentos oportunos dos casos humanos, assim como a aplicação de medidas que diminuam o risco de transmissão por meio de manejo de reservatórios e dos agentes transmissores. A investigação entomológica tem como principal função levantar caracteres quantitativos e qualitativos sobre os vetores transmissores da doença, ou seja, consiste na avaliação de suas características biológicas e ecológicas, e sua relação com os hospedeiros humanos, reservatórios animais e ambiente, os quais refletem diretamente na transmissão da doença. Uma das metodologias empregadas nessa atividade é a coleta de flebotomíneos, seja por coleta manual com tubo de sucção tipo Castro, com armadilhas luminosas (modelo CDC ou similar) ou com feromônios (BRASIL, 2006; GOMES, 2002).

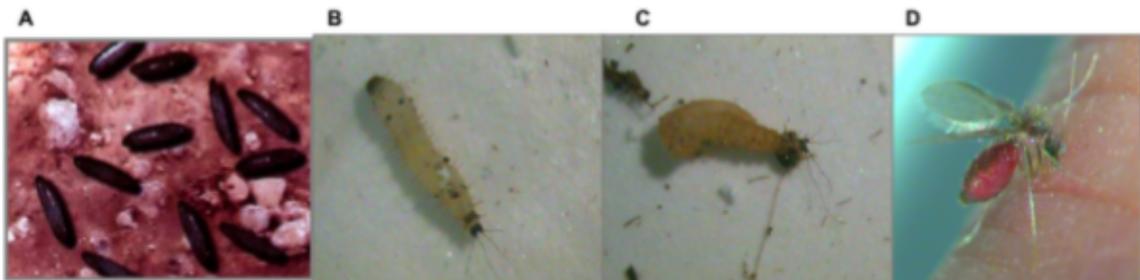
A vigilância entomológica consiste na observação contínua dos vetores, avalia as características biológicas e ecológicas das espécies de flebotomíneos, os seus níveis de interação com o hospedeiro humano, animal reservatório, e com o ambiente, além de analisar sua distribuição territorial. Com esses dados é possível determinar o risco de transmissão da doença em uma determinada localidade, assim como direcionar as atividades de controle químico vetorial (BRASIL, 2014; PIRAJÁ, G e LUCHEIS, S. 2014.). O uso de inseticidas é indicado em áreas com elevado número de casos como medida de barreira para evitar a expansão da doença e controlar os flebotomíneos. O Ministério da Saúde orienta medidas ambientais no combate aos vetores, como a limpeza periódica dos terrenos, do peridomicílio, evitar o acúmulo de material orgânico, como folhas, frutos e fezes de animais no quintal, o que favorece a reprodução dos flebotomíneos, realização do descarte correto do lixo orgânico, limpeza constante de abrigos dos animais domésticos e orientar a população sobre evitar a construção de estábulos, galinheiros e chiqueiros próximos as casa, em áreas endêmicas,

conscientizando-os como forma de educação em saúde (BRASIL, 2019 ; PIRAJÁ, G.V, LUCHEIS, S.B, 2014).

2.2 Biologia e taxonomia de flebotomíneos

Os flebotomíneos são insetos com tamanho de 0,3 a 0,4 cm, apresentam coloração que pode variar de castanho claro a negro, com escamas pelo corpo. Apresentam hábitos crepusculares ou noturnos e habitam locais frios e úmidos como buracos na parede, estábulos, rochas, vegetação densa, canis, tocas de roedores e outros mamíferos. As fêmeas são hematófagas, sendo necessária a ingestão de sangue para a produção de ovos (KILLICK-KENDRICK, 1999). Após a eclosão do ovo, esses insetos apresentam seis estágios (Figura 1), sendo quatro larvais, um estágio de pupa e um adulto. De acordo com a espécie e com as condições ambientais, o desenvolvimento desses insetos varia de 30 a 100 dias. Durante a fase larval, a alimentação ocorre por meio de matéria orgânica do solo, se desenvolvendo em ambientes com presença de substrato orgânico (MONTEIRO, 2012).

Figura 1: “Ciclo evolutivo de flebotomíneos.” A. Ovo; B. Larva; C. Pupa; D. Adulto.



Fonte: DILERMANDO, 2006.

As fases larvais se diferenciam em tamanho e número de cerdas caudais, apresenta formato pequeno, coloração branca e aparência vermiforme. Tendo o seu desenvolvimento concluído em torno de três semanas. A pupa é esbranquiçada ou amarelada, e à medida que a eclosão do adulto se aproxima a pupa se torna escurecida. Após 10 dias os adultos surgem, sendo possível observar os machos em maior quantidade. Isso ocorre devido a necessidade de atingir a maturidade sexual. As formas adultas têm como característica dípteros pequenos com aparente dimorfismo sexual. As fêmeas são mais robustas que os machos (BRAZIL & BRAZIL, 2003).

A primeira descrição dos flebotomíneos ocorreu na Itália em 1786 por Scopoli quando apresentou a espécie *Bibio papatasi* (PIRAJÁ, G.V, LUCHEIS, S.B, 2014). Nas Américas, os primeiros flebotomíneos foram registrados em 1907 por Coquillett, já no Brasil os primeiros identificados foram em 1912 por Lutz e Neiva. De acordo com Galati (2003), nas Américas há cerca de 460 espécies de flebotomíneos, sendo possível encontrá-las em todo território brasileiro. Segundo Young e Duncan (1994) baseado em seu ano de publicação, há 1004 espécies no mundo, enquanto no Brasil há 274 registrados, sendo 254 do gênero *Lutzomyia* e 20 do gênero *Brumptomyia*.

2.3 Competência vetorial e identificação taxonômica

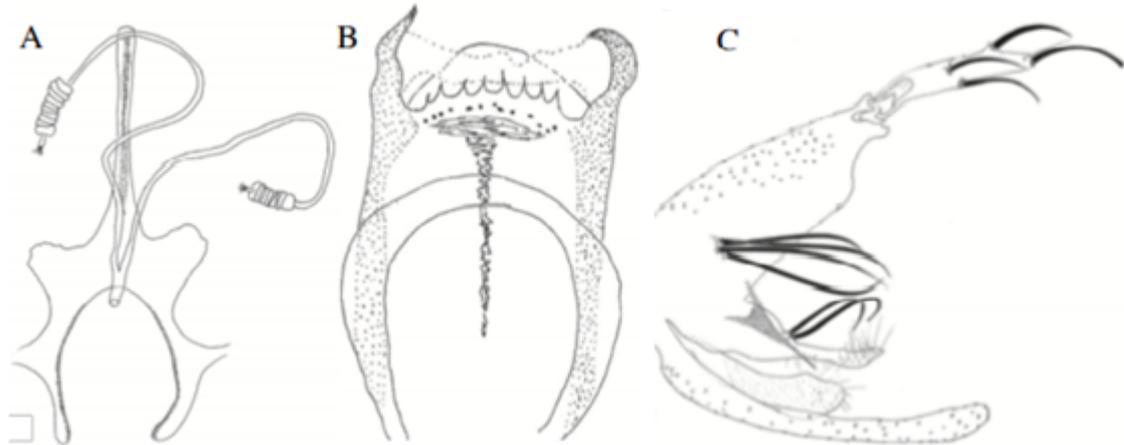
O que determina a competência vetorial de um flebotomíneo é a capacidade de sobrevivência do protozoário *Leishmania* spp durante a sua passagem dentro do trato digestivo do vetor, e posterior transmissão, Esse fator é determinante por motivos intrínsecos, como a resistência do parasito às enzimas do trato digestivo, sua capacidade de escapar da matriz que reveste o bolo alimentar, sua adesão ao epitélio do intestino durante a excreção, capacidade de completar o ciclo de vida dentro do flebotomíneo, desenvolvimento e diferenciação das formas infectantes, e por fim, a inoculação da forma infectante do protozoário no hospedeiro vertebrado durante o repasto sanguíneo (KILICK-KENDRICK, 1990). Tudo isso associado a distribuição e presença desses vetores em locais onde ocorre a transmissão da LV (PIMENTA et al, 1994).

A identificação taxonômica dos flebotomíneos é uma tarefa minuciosa e complexa, porém essencial dentro da atividade de vigilância entomológica. A taxonomia se resume na identificação das espécies a partir dos caracteres morfológicos e morfométricos dos vetores, permitindo assim definir as espécies que estão distribuídas em uma determinada área e assim definir ações de controle eficientes e direcionadas a população de flebotomíneos (SILVA, R.A, 2018). Estudos afirmam que a espécie *Lutzomyia longipalpis* é a principal responsável pela transmissão da *Leishmania infantum*, ou seja, a transmissora da LV (RANGEL & VILELA, 2008). Essa atividade se encontra centralizada nas coordenadorias regionais de saúde, sobrecarregando as equipes estaduais, já que os municípios se encontram escassos em infraestrutura e profissionais na área, dessa forma, é justificável a busca por características de fácil visualização e que possibilite distinguir a espécie *Lutzomyia longipalpis* das demais semelhantes do mesmo complexo, como *Lutzomyia cruzi* e *Lutzomyia gaminarai*, com caracteres que sejam mais específicas (GIORDANI et al., 2017).

Adler & Theodor (1926) foram os autores que introduziram os estudos das estruturas internas (cibário, faringe e espermatecas das fêmeas) do Phlebotominae. Theodor (1948) foi o primeiro autor a sugerir a separação de *Phlebotomus* em quatro gêneros. Young & Duncan (1994) apresentaram uma chave de identificação para *Lutzomyia*, e de acordo com a distribuição geográfica por estado. No ano seguinte, Galati publicou uma nova classificação baseada em análise filogenética, que foi republicada em 2003, no livro Flebotomíneos do Brasil.

A chave Young & Duncan (1994) é frequentemente usada nas rotinas laboratoriais de entomologia devido a presença de ilustrações das estruturas da maioria das espécies de flebotomíneos, o qual priorizam imagens dos seguimentos e seus tamanhos como antenas, morfologia dos ascóides, dos palpos, do lábio, extensão da sutura interocular, cibário das fêmeas, presença ou não de espinhos femorais e estruturas que compõe a genitália masculina e feminina, estruturas essas retratadas na figura 2. Entretanto, essa chave não é atualizada desde o seu ano de publicação, e vale considerar que nos últimos 24 anos foram registradas mais 63 espécies no país, incluindo novas espécies e aquelas identificadas erroneamente. Já a classificação por Galati (2003) é atualizada anualmente pelo laboratório de Entomologia em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, incluindo novas espécies ou novos registros no país (SILVA, R.A, 2018).

Figura 2. “Caracteres utilizados para identificação taxonômica. A: Genitália da fêmea de *Lu.*



Fonte: SHIMABUKURO et al. 2011.

A Chave proposta por Galati (2003), não apresenta desenho para todas as espécies de flebotomíneos, embora apresente desenhos das estruturas morfológicas padrões dos grupos, o que dificulta a identificação. Contudo, essa desvantagem pode ser compensada com o uso das pranchas existentes na chave dicotômica proposta por Young & Duncan (1994). Apesar disso, é recomendado aos profissionais e pesquisadores da Secretaria de Saúde dos Estados o uso de ambas as chaves de identificação taxonômicas de flebotomíneos na execução das atividades de vigilância entomológica, ou seja, tanto a proposta por Young & Duncan (1994), quanto a de Galati (2003) (BRASIL, 2015)

As características mais avaliadas na identificação de machos e fêmeas da espécie de *Lu. longipalpis* na rotina laboratorial é a presença de cerdas metepisternais, mesonoto e escutelo castanhos no tórax. As fêmeas possuem espermateca segmentada e cibário com três ou mais pares de dentes posteriores e os anteriores dispostos em uma fileira transversal. Já os machos possuem gonóstilos com espinho externo inferior em nível mais basal do que o interno e a presença de duas cerdas esclerotizadas e curvadas no parâmero (Young & Duncan, 1994; Shimabukuro et al., 2011).

3 MÉTODO

3.1 Local de estudo

O processamento das amostras foi realizado no laboratório da faculdade UniCEUB de Brasília-DF, localizado na Asa Norte, endereço: SEPN 707/907.

3.2 Amostras de flebotomíneos

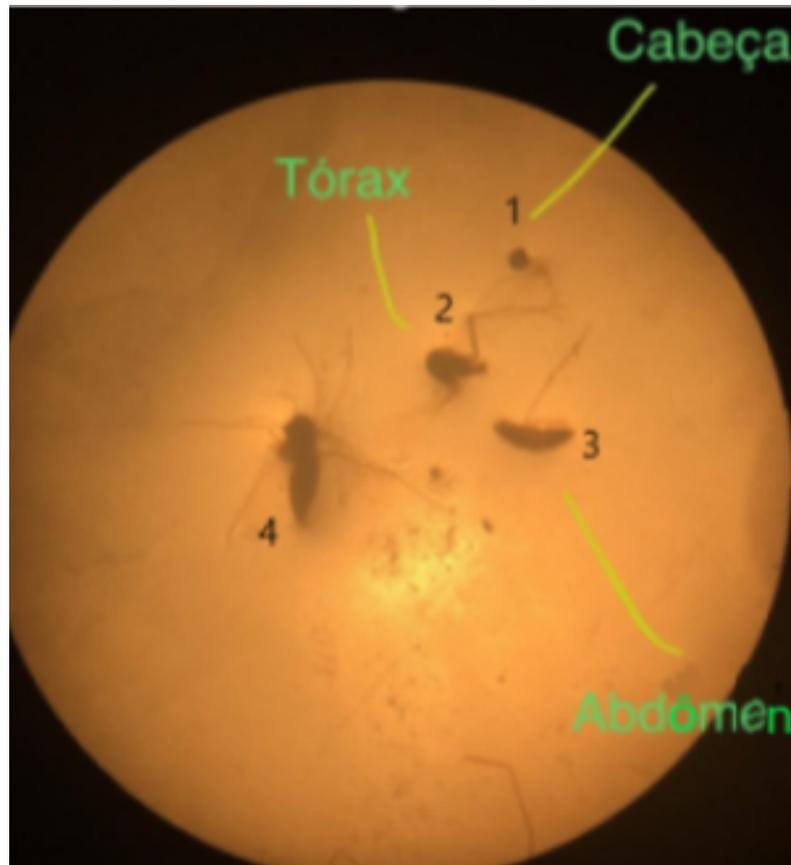
Foram disponibilizados os exemplares de *Lutzomyia longipalpis* pela Secretaria de Saúde do estado do Ceará, Unidade de Controle de Zoonoses de Montes Claros; exemplares de *Lu. cruzi* pela Secretaria Estadual do Mato Grosso do Sul e exemplares de *Lu. gaminarai* pela Secretaria de Saúde do Rio Grande do Sul.

Foram utilizadas para a validação 383 amostras de *Lutzomyia longipalpis*, sendo 195 fêmeas e 188 machos; 31 amostras de *Lu. cruzi* e 33 de *Lu. gaminarai*, sendo todas fêmeas.

3.3 Preparação das amostras

Cada amostra passou pelo processo de clarificação, diafanização e dissecação, ou seja, com o auxílio de um microscópio foram separados a cabeça, abdômen e tórax (Figura 3). A cabeça e a parte posterior do abdômen (genitália) foram montadas entre lâminas e lamínulas para posterior identificação.

Figura 3: Flebotomíneo inteiro e dissecado vistos por microscópio. 1. Cabeça; 2 Tórax; 3. Abdômen; 4. Flebotomíneo inteiro.



Fonte: RIBEIRO, 2019.

A montagem do material foi feita em duas etapas, a clarificação e diafanização das amostras, no qual consistiu na passagem sucessiva dos flebotomíneos pelos reagentes, seguindo como referência para atividades laboratoriais o protocolo padronizado pela Universidade de São Paulo (USP).

De acordo com o protocolo para o processo de clarificação, as amostras foram mantidas em hidróxido de potassa a 10%, overnight. Após 12hs, as amostras passaram por uma bateria de novos reagentes: primeiramente foram submersas em uma lavagem rápida com uso do ácido acético 10%, seguido de ácido acético a 100%; álcool 70%; álcool 80%; álcool 90%; e álcool 95%, passando 10 min em cada um destes reagentes. As frações do vetor (abdômen e cabeça) após a passagem pela bateria foram mantidas em eugenol para posterior montagem; já o tórax foi conservado em álcool isopropílico. As lâminas e tubos receberam

códigos como forma de identificação para mascarar a avaliação realizada. A figura 4 ilustra a mesa de montagem e processo de clarificação das amostras.

Figura 4: Mesa de montagem e processo de clarificação das amostras. Presença dos reagentes, lousa de 12 poços, pipetas, eppendorff e varetas.



Fonte: CORNELIO, 2019.

3.4 Avaliação das amostras

A avaliação foi realizada em duas etapas:

Primeira etapa: realizada com participação de especialista em taxonomia da Universidade Federal do Paraná (UFPR), que analisou as 383 amostras de *Lu. longipalpis*;

Segunda etapa: realizada por laboratoristas de cinco equipes de entomologia das Secretarias Estaduais de Saúde dos estados do Ceará, Bahia, Mato Grosso, Rio de Janeiro e Goiás, que analisaram um total de 155 amostras.

Na identificação oficial foi usada a chave de classificação de Galati et al. (2013) para classificar as espécies.

Foram calculados os valores de acurácia (sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo) do uso da pigmentação no catepisterno e catepímero para identificação rápida de *Lu. longipalpis*, e utilizou-se como padrão outro a identificação taxonômica tradicional, com uso de chaves de identificação.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como explicitado na metodologia, para a primeira etapa, realizada por especialista em taxonomia, utilizou-se 383 flebotomíneos, 187 encaminhados de Fortaleza (CE), e 196 de Montes Claros (MG). A amostra de Fortaleza era composta por 95 fêmeas e 92 machos, já a amostra de Montes Claros era composta por 100 fêmeas e 96 machos. 28 (7%) dos exemplares foram descartados, 15 de Fortaleza e 13 de Montes Claros, pois estavam em estado não apropriado de conservação, impossibilitando a identificação. Após a análise, 342 (96,3%) amostras foram identificadas como *Lutzomyia longipalpis*. Restaram 13 amostras de fêmeas identificadas posteriormente como *Evandromiya cortelezii* (Brèthes 1923) e *Evandromiya sallesi* (Galvão e Coutinho 1939), já que Galati (2003) aponta que não há como realizar a diferenciação morfológica dessas duas espécies, pois são indistinguíveis.

A identificação pelo especialista apontou que das 342 amostras viáveis para a identificação de *Lutzomyia longipalpis*, 337 (98,5%) possuíam a pigmentação castanha no contorno do catepisterno e catepímero, já 5 exemplares (1,5%) possuíam coloração pálida.

Entretanto, as amostras avaliadas pelas equipes estaduais apontaram para uma sensibilidade e especificidade relativamente baixa do carácter investigado para identificação rápida de *Lu. longipalpis*, principalmente em áreas com presença de espécies crípticas (*Lu. cruzi* e *Lu. gaminarai*). Quando avaliado pelos laboratoristas, 55,95% dos *Lu. longipalpis* apresentavam a pigmentação castanha no contorno das estruturas (catepisterno, catepímero, anepímero e paratergito) enquanto que os demais possuíam coloração pálida. Foi calculada a sensibilidade, especificidade e os valores preditivos positivos e negativos, que tiveram valores de 55,95%, 53,52%, 58,75% e 49,33% respectivamente (Figura 5).

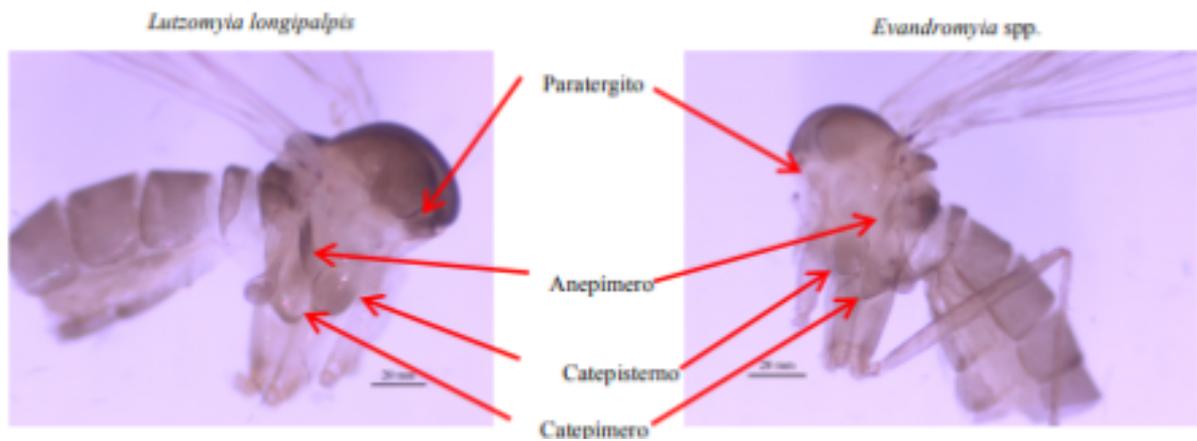
Figura 5. Tabela 2 x 2, comparando a presença das manchas (sim ou não) com a identificação taxonômica (é *Lu. longipalpis* ou não).

Manchas	Identificação taxonômica (<i>Lu. longipalpis</i>)		Total
	sim	não	
sim	47	33	80
não	37	38	75
total	84	71	155

Fonte: SILVA, Rafaella A (2021)

Além disso, essas constatações foram realizadas usando como referência Sábio et al. (2016) com base em Caillard et al. (1986) e Andersen (2010), onde foi definido que a pigmentação dos escleritos pode ser castanha (intensa), palha (baixa intensidade) ou ausente (pálido). Também foi observado que na região superior ao catepisterno há uma esclerotização de cor castanha, mais evidente em amostras de *Lutzomyia longipalpis* do que nos espécimes que pertencem ao complexo *cortelezzii* observada na cor palha de baixa intensidade. Tanto o paratergito quanto o mesonoto (de cor castanho) possuíam a mesma tonalidade nos exemplares de *Lutzomyia longipalpis*, já nos exemplares de *cortelezzii* a tonalidade era pálida, diferente do mesonoto (Figura 5).

Figura 5: “Diferença no padrão de coloração do tórax e *Lutzomyia longipalpis* e *Evandromyia cortelezii*/*Ev. sallesi*.”



Fonte: SILVA, Rafaella A (2018)

Anteriormente essa mancha já havia sido apontada pela pesquisadora Eunice Galati como uma possível diferença entre as espécies que poderia ser utilizada para diferenciação rápida, entretanto, ainda com necessidade de validação (comunicação pessoal com SILVA, 2018).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os flebotomíneos possuem a capacidade de transmissão de vários patógenos, como os arbovírus, protozoários e bactérias. A *Lutzomyia longipalpis* é a principal espécie transmissora da *Leishmania infantum*. O presente estudo reforça que a identificação rápida e/ou a determinação de métodos que permitem o controle mais rápido desses vetores transmissores das leishmanioses é extremamente relevante.

O uso da pigmentação no tórax de cor enegrecida, observada na região superior da segunda e terceira coxa, no catepisterno e catepimero, como método de avaliação e identificação taxonômica de *Lutzomyia longipalpis*, poderia ser útil mediante treinamento dos profissionais de entomologia dos serviços de saúde para a identificação deste caracter. Essa necessidade de treinamento é explicada pela identificação da presença deste caracter quando avaliado por especialista em taxonomia de flebotomíneos, entretanto, com baixa sensibilidade quando avaliado pelos profissionais de entomologia dos estados. Ademais, foi possível observar pelo estudo que a presença da coloração mais acastanhada no tórax não é específica de *Lu. longipalpis*, sendo presente também em espécies crípticas como *Lu. gaminarai* e *Lu. cruzi*. Neste sentido, a identificação rápida de *Lu. longipalpis* utilizando esta característica não poderia ser utilizada em áreas com presença das espécies crípticas.

Finalizamos ressaltando a necessidade de realização de pesquisas científicas voltadas para a taxonomia de flebotomíneos e facilitação da sua identificação pelos serviços de saúde, visto a relevância da vigilância entomológica para o controle das leishmanioses.

REFERÊNCIAS

ADLER, S.; THEODOR, O. **On the minutus Group of the Genus Phlebotomus in Palestine.** Bulletin of Entomological Research. 1926. 16(4), p.399-405. doi:10.1017/S000748530002873X

BELO, Vinícius S.; WERNECK, Guilherme L.; BARBOSA, David S.; SIMÕES, Taynãna C.; NASCIMENTO, Bruno W.L.; SILVA, Eduardo S. da; STRUCHINER, Claudio J. **Factors Associated with Visceral Leishmaniasis in the Americas: A Systematic Review and Meta-Analysis.** PLoS Negl. Trop. Dis. 2013; 7(4): e2182.

BRASIL. Advocacia-geral da união. Consultoria Jurídica/Ministério da Saúde. **Portaria GM/MS 1.426, 11 de julho de 2008.** Disponível em: <http://www.saude.gov.br/images/pdf/2014/julho/18/Parecer-da-Advocacia-Geral-da-UniAo.pdf>

BRASIL. **Casos confirmados de Leishmaniose Visceral, Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas.** 1990 a 2019. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2020/August/25/LV-Casos.pdf>

BRASIL. Ministério da Saúde. **Leishmaniose Visceral.** 16 de ago de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral.** Secretaria de Vigilância Epidemiológica 1ª ed. Brasília. Ministério da Saúde. 2006.

BRASIL. Nota Informativa: Informa sobre o tratamento de cães com leishmaniose visceral e sua implicação nas ações de vigilância e controle dessa doença em humanos. 2016.

BRASIL. Nota Técnica: **Inclusão de nova chave de identificação de flebotomíneos na rotina dos Laboratórios Estaduais de Entomologia.** 2015. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/maio/25/Nota-T--cnica---Inclus--o-da-chave-de-identifica----o-de-flebotom--neos.pdf>.

BRASIL. **Óbitos de Leishmaniose Visceral, Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas.** 2000 a 2019. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2020/August/25/LV---bitos.pdf>

BRAZIL PP & BRAZIL BG. **Biologia de flebotomíneos neotropicais**. In: Rangel, E. F., Lainson, R. (Eds.), *Flebotomíneos do Brasil*. Fiocruz, Rio de Janeiro 2003

CARDIM, Marisa F.M; RODAS, Lilian A.C; DIBO, Margareth. R.; GUIRADO, Marlucci M.; OLIVEIRA Agda M.; CHIARAVALLLOTI-NETO, F. **Introduction and expansion of human American visceral leishmaniasis in the state of Sao Paulo, Brazil, 1999-2011**. *Saúde Pública* 2013; 47. Nº 4. DOI:[10.1590/S0034-8910.2013047004454](https://doi.org/10.1590/S0034-8910.2013047004454).

DILERMANDO, José; GALATI, Eunice. A. B; Falcão, A. **Nyssomyia inter media (Lutz & Neiva) and Nyssomyia neivai (Pinto)**. *Rev. Bras. Entomol.* 2006; 50: 385–393.

GALATI, Eunice. A. B. **Classificação de Phlebotominae**. 2003. In RANGEL, Elizabeth F.; LAINSON, Ralph. *Flebotomíneos do Brasil*. Editores. Rio de Janeiro. Fiocruz. 2003. p.23-51.
GIORDANI, B.F.; ANDRADE; A.J.; GALATI, E.A.B.; GURGEL-GONÇALVES, R. **The role of wing geometric morphometrics in the identification of sandflies within the subgenus Lutzomyia**. *Medical and Veterinary Entomology*.31(4): 373-380. 2017.Doi: 10.1111/mve.12245.

GOMES, Almério D.C. **Vigilância Entomológica**. Iesus. São Paulo-SP. 2002; 11: 79–90.
Disponível em:
http://www.dpi.inpe.br/Miguel/Gerais/Izabel/AlmerioCastro_VigEntomologicaConceitos_IES_US_2002.pdf

KILLICK-KENDRICK, R. **Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review**. *Med. Vet. Entomol.* 1990; 4: 1–24.

KILLICK-KENDRICK, R.**The biology and control of Phlebotomine sand flies**. Inc *Clinics in Dermatology. Avenue of the Americas*, Elsevier Science. New York. 1999. vol 17(3). 279–289.

MARTINS, A.V.; WILLIAMS, P.; FALCÃO, A.L. **American sandflies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae)**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências. 1978. P.195

Ministério da Saúde, 2014. 120p.: il. Color – (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

MONTEIRO, Carolina C. **O papel da microbiota intestinal na competência vetorial do Lutzomyia longipalpis para a Leishmania (Leishmania) infantum chagasi e a transmissão do parasito ao vertebrado pela da picada**. Mestrado Ciência da saúde do Centro de Pesquisas René Rachou. Belo Horizonte. 2012.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. **Consulta de Expertos OPS/OMS sobre Leishmaniasis Visceral en las Américas**. Río de Janeiro. PANAFTOSA. 2006. 152p. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/images/pdf/2014/julho/18/Consulta-de-expertos-OPSOMS-sobre-leishmaniasis-visceral-em-las-Am--ricas.pdf>. Acesso: 13 abr 2020

PIMENTA, P.F.P.; SARAIVA, E.M.; ROWTON, E.; MODI, G.B.; GARAWAY, L.A.; BEVERLEY, S.M.; TURCO, S.; SACKS, D.L. **The vectorial competence of phlebotomine sand flies for different species of Leishmania is controlled by structural polymorphisms in the surface lipophosphoglycan**. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1994; 91: 9155-9159.

PIRAJÁ, Gabriela V.; LUCHEIS, Simone B. **A vigilância epidemiológica de flebotomíneos no planejamento de ações de controle nas leishmanioses**. Veterinária e Zootecnia. 2014 dez. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/140904/ISSN0102-5716-2014-21-04-503-515.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

RANGEL, Elizabeth F.; VILELA, Maurício L. **Lutzomyia longipalpis (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) e urbanização da leishmaniose visceral no Brasil**. Caderno de Saúde Pública 2008; 24. n.12. p. 2948–2952.

Sábio, P.B., A. J. Andrade, and E.A.B. Galati (2016). **Description of Psathyromyia (Psathyromyia) baratai sp. n. (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) from Cantareira State Park, São Paulo, Brazil**. J. Med. Entomol. 53: 83–90.

Salomón OD, Feliciangeli MD, Quintana MG, Afonso MMDS, Rangel EF. **Lutzomyia longipalpis urbanisation and control**. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2015; 110 (7): 831-846.

SHAW, Jeffery. **The leishmaniasis - Survival and expansion in a changing world**. A mini-review. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. 102.p: 541–546.2007.

Shimabukuro PHF, Tolezano JE, Galati EAB et al. **Chave de identificação ilustrada dos Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do estado de São Paulo, Brasil**. Pap. Avulsos Zool. 2011; 51: 399–441.

SILVA RA, Santos FKM, Sousa LC, Rangel EF, Bevilacqua CML. **Ecology of Lutzomyia longipalpis and Lutzomyia migonei in an endemic area for visceral leishmaniasis**. Rev Bras Parasitol Veterinária. 2014; 23 (3): 320- 327.

SILVA, Rafaella A. **Avaliação do comportamento de Lutzomyia longipalpis (Phlebotominae) em áreas de transmissão intensa submetidas à intervenção com coleiras impregnadas com**

deltametrina a 4% para controle de leishmaniose visceral. 2018. Doutorado em Medicina Tropical. Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília. 2018.

THEODOR, O. **Classification of the world species of the subfamily Phlebotominae (Diptera, Psychodidae).** Bull Entomol Res 1948; 39: 85-115.

YOUNG, D.G.; DUNCAN, M.A. **Guide to the identification and geographic distribution of Lutzomyia sand flies in Mexico, The West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae).** Memories of the American Entomologic Institute. 1994.Vol. 54.