

ANTROPIZAÇÃO X CIRCULAÇÃO ENZOÓTICA DE *LEISHMANIA* SPP. EM DUAS ÁREAS DE UMA CAPITAL BRASILEIRA PLANEJADA: PALMAS

Nathyla Morgana Cunha Sales¹, Alcinei de Souza Santos Junior², Tâmara Oliveira Machado³

¹Bolsista de Iniciação científica PIBIC – IFTO. e-mail: nathylaagro@gmail.com

²Bolsista de Iniciação científica ICJ – IFTO. e-mail: alcineisouza10@hotmail.com

³Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical– UNB e professora orientadora do PIBIC-IFTO e ICJ-IFTO. e-mail: machadoto@ifto.edu.br

Resumo: Este trabalho teve como principal objetivo investigar os efeitos da antropização na transmissão de *Leishmania* em Palmas, Tocantins, Brasil. Palmas é uma capital planejada e com alta cobertura vegetal. Os estudos foram realizados no ano de 2014 em Palmas e Taquaruçu. Para a captura dos flebotomíneos, foram sorteados dois transectos de referência e em cada transecto foram sorteados 20 sítios, sendo que próximo a eles foram escolhidas 10 casas. Após cada coleta, os insetos não ingurgitados foram retirados das armadilhas para a triagem e sexagem, para posteriormente serem preparados, montados e identificados. Os abdomens das fêmeas foram agrupados para extração de DNA e realização de PCR, sendo que a amostra considerada positiva foi posteriormente purificada e sequenciada. No período seco houve a presença de 36 espécies, das quais 29 ocorreram em Taquaruçu e 19 em Palmas. No período chuvoso estiveram presentes 26 espécies, das quais 19 ocorreram em Taquaruçu, 17 em Palmas. *Nyssomyia whitmani* pode estar se adaptando às mudanças ambientais provocadas por atividades humanas nas comunidades estudadas, assim como outras espécies de relevante sinantropia. A amostra de *N. whitmani* do Distrito de Taquaruçu, que se revelou positiva, tem 100% de identidade com uma sequência de *Crithidia fasciculata*. Deve se usar *primers* específicos para detecção de protozoários em flebotomíneos e cautela na interpretação das taxas de infecção natural desses. Há ainda a necessidade de que as comunidades rurais e urbanas participem ativamente das ações de prevenção e controle das leishmanioses.

Palavras-chave: antropização, *Leishmania*, leishmanioses, Palmas, Taquaruçu

1. INTRODUÇÃO

As leishmanioses são causadas por *Leishmania* spp. que são transmitidos através da picada dos diferentes flebotomíneos (BRASIL, 2010). Os dois quadros distintos: a leishmaniose tegumentar – LT e a leishmaniose visceral – LV (leishmaniose visceral), dependem da espécie envolvida. Segundo dados do SINAN coletados em 2014, Palmas apresentou uma prevalência de 652 casos de LV e 224 casos de LT, de 2001 a 2012, e assim é uma área de transmissão intensa.

Essa doença era restrita às áreas de floresta e zonas rurais, porém nos últimos anos têm avançado para as cidades, e isso é em função dos desmatamentos e da migração das famílias para os centros urbanos. Em Palmas, os fragmentos de floresta distribuídos pela cidade são provenientes da construção em áreas de mata, o que pode influenciar a adaptação de flebotomíneos nos centros urbanos segundo Gloria (2006).

É essencial se fazer a caracterização da dinâmica de transmissão das leishmanioses, e isto pode auxiliar na definição das estratégias de controle e prevenção de casos de leishmanioses no município.

Para tal, é necessário responder às seguintes perguntas: como as alterações antrópicas influenciam a transmissão de *Leishmania* spp. em Palmas? há maior infecção dos flebotomíneos em ambientes antropizados?

O seguinte trabalho teve como principal objetivo investigar os efeitos da antropização na transmissão de *Leishmania* em Palmas, Tocantins, Brasil.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram realizados no ano de 2014 e em duas áreas, Palmas e Taquaruçu.

Palmas e Taquaruçu, a 32 km de Palmas, possuem temperaturas mais altas nos meses de Setembro, outubro e novembro. Junho e julho têm temperaturas mais baixas. Janeiro, fevereiro e março possuem maior índice pluviométrico. Agosto, setembro e outubro são os meses mais secos. A vegetação predominante é o Cerrado em ambas as áreas. Porém, em Taquaruçu há inúmeros ribeirões, córregos, cerradão, veredas e matas de encosta ou galeria.

As coletas em Palmas (PB1 – PB20 e PA1 – PA 20) e Taquaruçu (TA1 – TA20 e TB1 – TB20) foram realizadas nas matas de galeria (preservadas e antropizadas, respectivamente) e nas unidades domiciliares (UD's ou casas), em dois períodos climáticos (julho e novembro). Em cada localidade foram escolhidos 20 sítios por transecto (dois), distanciados 50 metros entre si. Nas matas de galeria foram escolhidos 20 sítios e próximo a cada uma delas foram escolhidas 10 casas, sendo que em cada UD foi instalada duas armadilhas luminosas HP (uma no intradomicílio e outra no peridomicílio). As HP foram expostas por três dias consecutivos. Em cada mata de galeria foi feita uma coleta utilizando-se da armadilha de Shannon. Nos dois períodos climáticos foi monitorando a umidade e a temperatura da localidade.

Para a Identificação das espécies de flebotomíneos foi realizada a triagem e separados por sexo. Os machos e as fêmeas não ingurgitadas foram sacrificados em vapor de éter/clorofórmio e mantidos em tubos de ensaio com álcool a 70%. Os machos foram preparados, montados e identificados segundo a classificação de Galati (2003), sendo metade do trabalho realizado no laboratório de Biologia do IFTO-campus Palmas e a outra metade no laboratório de parasitologia da UNB, faculdade de Medicina.

As fêmeas foram dissecadas de acordo com o protocolo adotado pelo René Rachou (Fiocruz-MG) e identificadas, seguindo a mesma classificação. Seus abdomens foram agrupados para extração de DNA (com tissue & cells genomic) e realização de PCR com *primers* que amplificam a região conservada do gene *cacophony* para verificar a integridade do DNA e nested PCR com *primers* que amplificam a região SSU rDNA de tripanossomatídeos. Posteriormente, as amostras tidas como positivas foram purificadas e sequenciadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período seco houve a presença de 36 espécies, das quais 29 ocorreram em Taquaruçu e 19 em Palmas. 12 espécies ocorreram em ambas as áreas (*Brumptomyia* sp., *Bichromomyia flaviscutellata*, *Evandromyia. lenti*, *Ev. carmelinoi*, *Ev. walkeri*, *Ev. evandroi*, *Lutzomyia longipalpis*, *N. whitmani*, *Micropygomyia goiana*, *Psathyromyia hermanlenti*, *Ps. pradobarrientosi* e *Sciopemyia sordelli*). O número de espécies detectado nas casas de Taquaruçu (17) foi superior ao encontrado nas casas de Palmas (12). Já as matas de Taquaruçu apresentam maior número de espécies (25) que as matas de Palmas (15). Tal diversidade já era esperada, pois geralmente a riqueza de espécies tende a ser maior em ambientes rurais ou de mata (SARAIVA et al, 2010; VILELA et al, 2011; MACHADO et al, 2012).

No período seco e na área mais preservada dos fragmentos de mata ciliar de Palmas houve predomínio de *N. whitmani*, seguido de *Bi. flaviscutellata*. Já nos fragmentos de mata ciliar degradada de Palmas, nesse mesmo período, *Bi. flaviscutellata* foi a espécie mais abundante, seguida de *Ev. walkeri* (Figura 1).

Para esse mesmo período no fragmento de mata ciliar mais preservado de Taquaruçu, *N. whitmani* e *Bi. flaviscutellata* também foram as mais abundantes. Porém, no fragmento de mata ciliar degradado de Taquaruçu, nesse mesmo período, houve maior abundância de *N. whitmani*, seguido de *Ps. hermanlenti* (Figura 2).

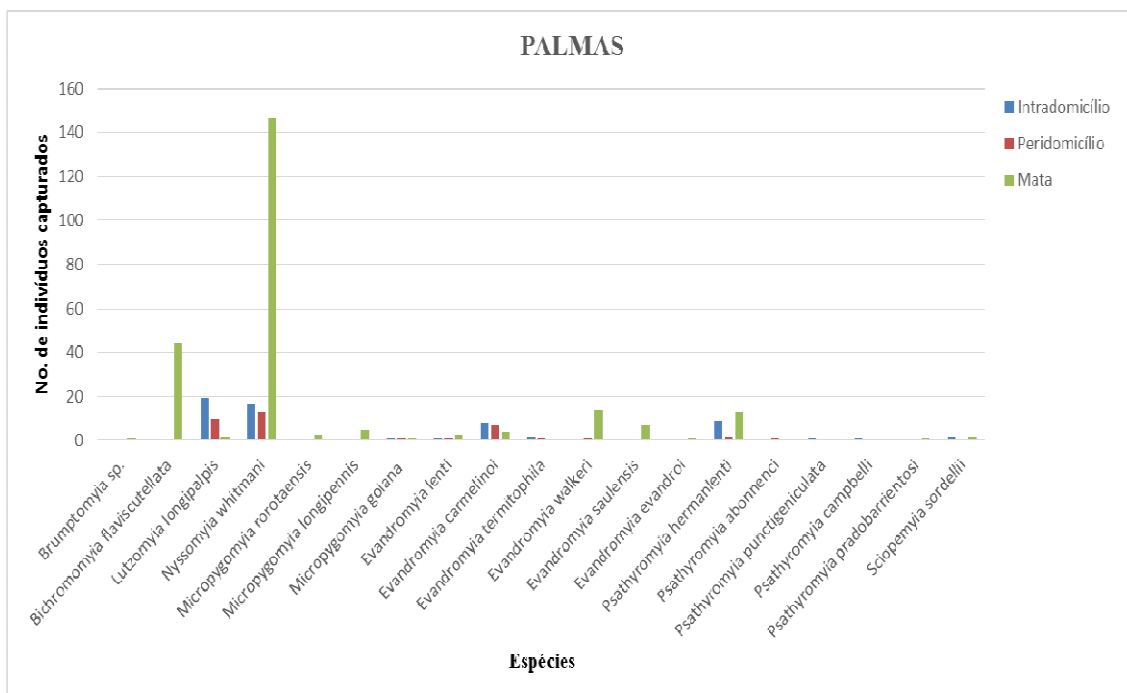


Figura 1 - espécies capturadas em Palmas – TO no período seco, em julho de 2014.

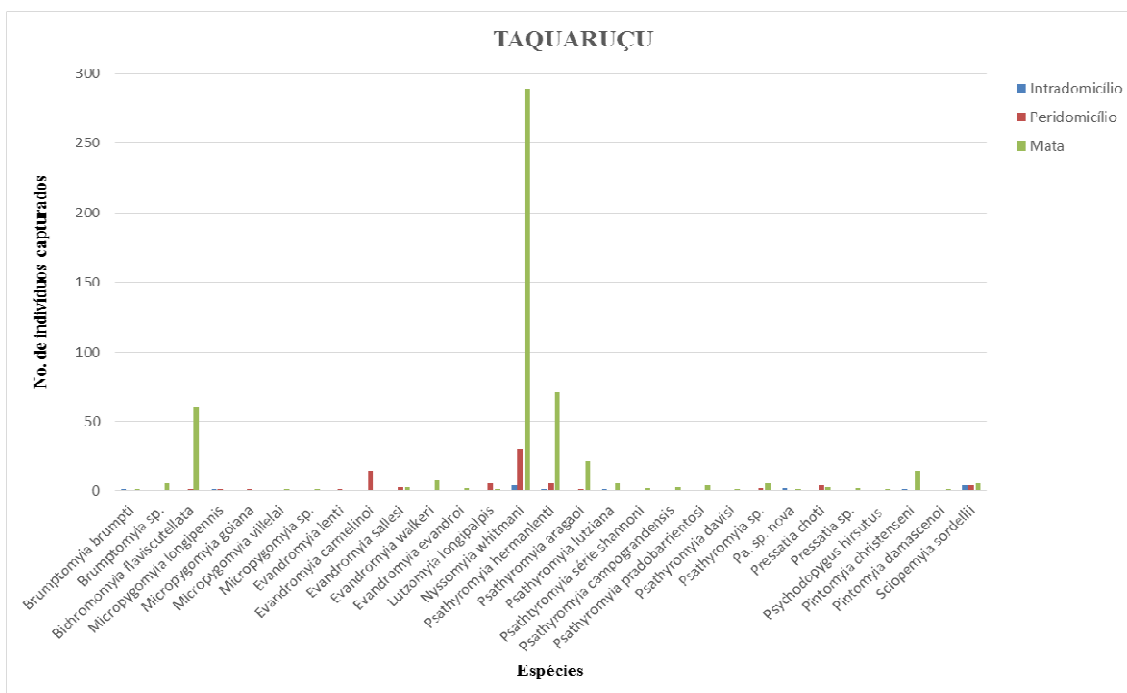


Figura 2 - espécies capturadas em Taquaruçu – TO no período seco, em julho de 2014.

No norte do país, *N. whitmani* sempre foi considerada como sendo uma espécie de hábito principalmente silvestre (RANGEL, COSTA & CARVALHO, 2014), sendo frequente em matas de galeria segundo Vexanat (1991). Porém, essa realidade parece que está mudando, e a mesma está em processo de adaptação a ambientes degradados e peridomiciliares. Já *Bi. flaviscutellata* é considerada, já há um tempo, como uma espécie que pode se adaptar ao desmatamento e tornar-se peridoméstico, apesar de preferir sangue de certos animais silvestres (RANGEL, COSTA & CARVALHO, 2014).

Ev. walkeri já foi encontrada infectada por *Leishmania (Viannia)* spp. (GUIMARÃES, 2011), e pode se adaptar a ambientes degradados como observado por Júnior (2014). Já *Ps. hermanlenti* ainda não foi encontrada infectada naturalmente (SANTOS et al, 2011), porém pode se adaptar a ambientes diversificados, como tem sido observado.

Nas casas de Palmas, no período da seca, houve maior ocorrência de *Lu. longipalpis* no intradomicílio, seguida por *N. whitmani* (Figura 1). Já nas casas de Taquaruçu, no mesmo período, predominou *N. whitmani* no peridomicílio, seguida por *Ev. Carmelinoi* (Figura 2).

Lu. longipalpis é uma espécie domiciliada e está presente também no intradomicílio, sempre próxima a uma fonte de alimento (SPADA, 2014) nos domicílios. Segundo Vilela et al (2011), *N. whitmani* também pode sobreviver no intradomicílio de áreas impactadas, o que favorece sua adaptação em ambientes antropizados, como observado por Andrade Filho et al (2001) no Tocantins: *N. whitmani* foi a espécie de maior abundância nesse ambiente.

Nos estudos de Rebêlo et al (2009), Carvalho et al (2010) e Machado et al (2012), foram observados também maior predominância de *N. whitmani* no peridomicílio, o que pode indicar a adaptação dessa espécie a esse ambiente. Andrade Filho et al (2001), também observou a presença de *Ev. carmelinoi*, entre as espécies mais abundantes, no peridomicílio de domicílios do Tocantins, o que pode indicar relevante sinantropia.

No período chuvoso estiveram presentes 26 espécies, das quais 19 ocorreram em Taquaruçu, 17 em Palmas. Mais de Dez espécies ocorreram em ambas as áreas (*Bi. flaviscutellata*, *Ev. carmelinoi*, *Ev. lenti*, *Ev. walkeri*, *Ev. termitophila*, *Lu. longipalpis*, *Mi. longipennis*, *Mi. rorotaensis*, *N. whitmani* e *Sc. sordellii*).

Com relação às matas, as de Taquaruçu apresentaram maior número de espécies (9) que as de Palmas (7). O número de espécies detectado nas casas de Taquaruçu (16) foi maior que o encontrado nas casas de Palmas (15). Como discutido anteriormente, tal diversidade era esperada.

No período chuvoso houve predomínio da espécie *Ev. walkeri* na mata mais preservada de Palmas, seguida de *Ev. carmelinoi*. Na área degradada de Palmas estavam presentes *Ev. walkeri*, seguida de *Mi. longipennis* também em reduzido número (Figura 3).

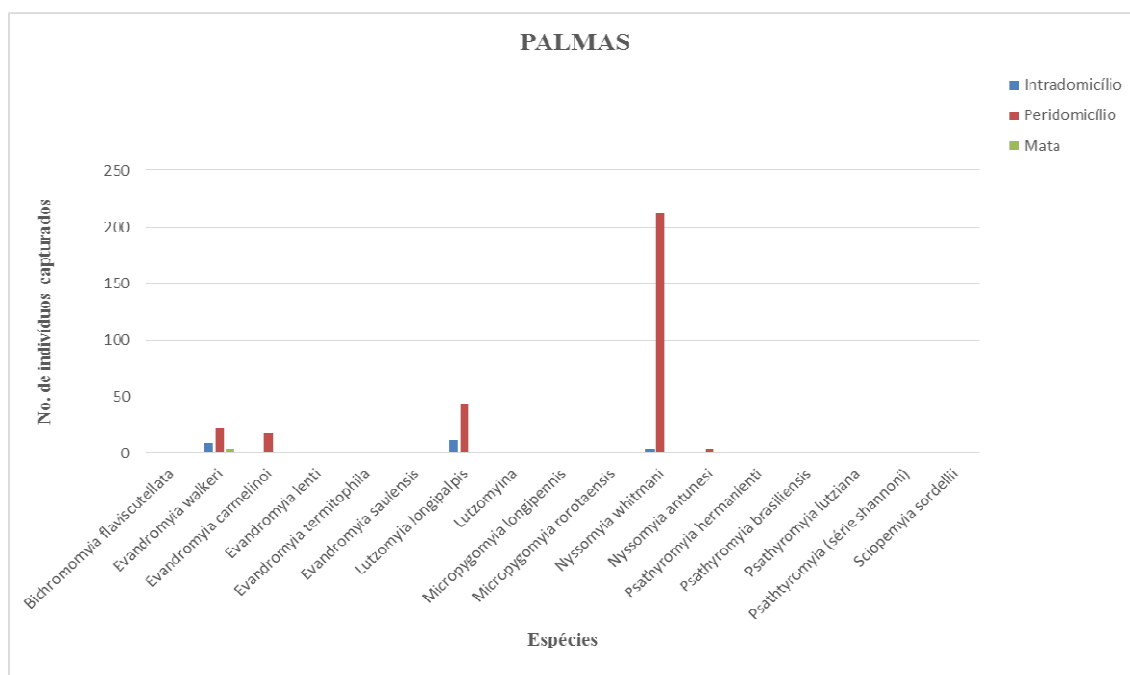


Figura 3 - espécies capturadas em Palmas – TO no período chuvoso, em novembro de 2014.

No período chuvoso e na mata mais preservada de Taquaruçu (Figura 4), houve maior abundância de *Psychodopygus davisi*, seguida de *Ev. carmelinoi*, em pequena quantidade. *Ps. campograndensis* foi a mais capturada na mata degradada durante o período chuvoso, também em número bem reduzido.

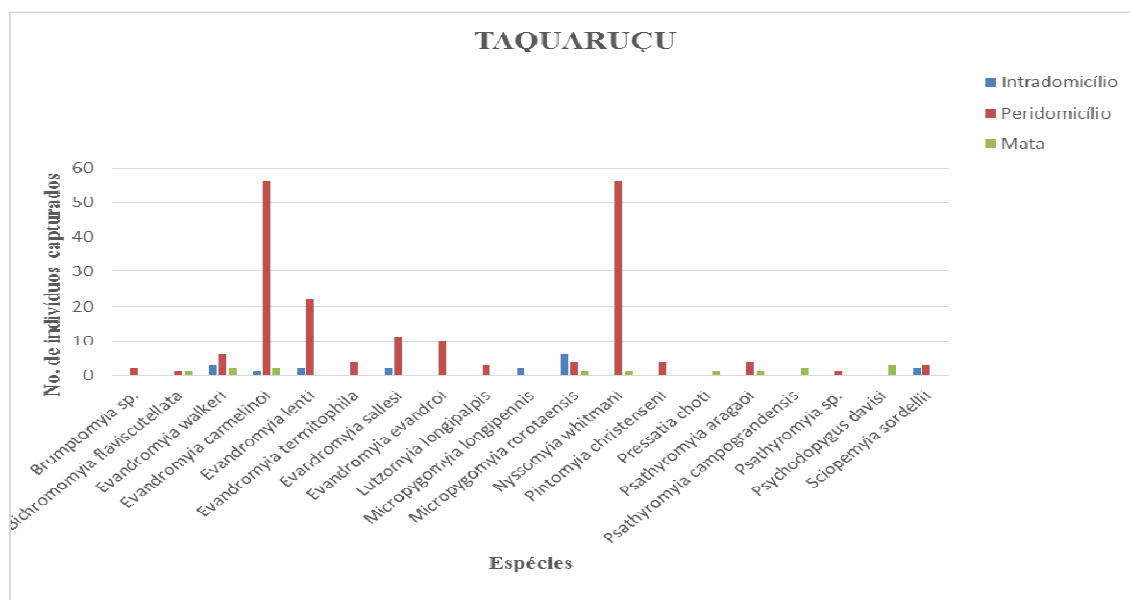


Figura 4 - espécies capturadas em Taquaruçu – TO no período chuvoso, em novembro de 2014.

A pequena quantidade de indivíduos capturados nessa época do ano, pode ser devido às chuvas do período que antecederam as coletas.

Se acredita que a espécie *Ev. walkeri* é mais zoofílica e até o momento não se encontrou infectada por flagelados (VÁSQUEZ-TRUJILLO et al., 2008), por isso pode ser encontrada mais facilmente em ambiente silvestre.

Mi. longipennis é mais comum na mata, como encontrada por Andrade Filho et al. (2001). Segundo Carvalho et al (2010) *Psy. davisi* é eclética, mas prefere os ambientes naturais, corroborando com os achados desse trabalho.

Ps. campograndensis apresenta associação com área de mata na região do Mato Grosso (OLIVEIRA et al, 2003), e pouco se sabe dela.

Nas casas de Palmas houve maior ocorrência de *N. whitmani* no peridomicílio, seguida de *Lu. longipalpis* (Figura 3). Já nas casas de Taquaruçu, predominaram *Ev. carmelinoi*, seguida de *N. whitmani*, sendo ambas no peridomicílio. Diferentemente de *Lu. longipalpis*, em Taquaruçu *N. whitmani* também foi encontrada no intradomicílio, mas em menor quantidade (Figura 4).

Rebêlo et al (2009), Carvalho et al (2010) e Machado et al (2012), também encontraram maior frequência de *N. whitmani* no peridomicílio. Vilela et al (2011) e Machado et al (2012) acreditam que *N. whitmani* tem a capacidade de se adaptar às mudanças ambientais provocadas por atividades humanas. Sua preferência por ambientes domésticos sugere uma adaptação aos abrigos de animais presentes nos locais de captura, condições do habitat e sua provável domiciliação.

Lu. longipalpis é uma espécie domiciliada e está presente também no peridomicílio, sempre próxima a uma fonte de alimento (SPADA, 2014) nos peridomicílios.

Andrade Filho et al. (2001), também observou a presença de *Ev. carmelinoi* (entre as espécies mais abundantes) no peridomicílio de domicílios do Tocantins. Isto pode indicar relevante sinantropia.

Foi extraído o DNA de 292 fêmeas de 30 pools diferentes, variando de 8 a 10 indivíduos em cada pool, referente às fêmeas da espécie *N. whitmani* (n=262), *Ps. hermalenti* (n=20) e *Bi.*

flaviscutellata (n=10). Todas as amostras amplificaram o fragmento correspondente ao gene *cacophany* usando a PCR SSU rDNA e só uma amostra de *Ny. whitmani* se revelou positivamente, sendo a mesma referente ao Distrito de Taquaruçu, resultando em uma taxa de infecção mínima de 0,39%. A análise da sequência obtida revelou 100% de identidade com uma sequência de *Crithidia fasciculata* disponível no GenBank.

Foi realizada também a caracterização ambiental de todas as UD's pesquisadas, porém esses dados ainda não foram analisados devidamente para que pudesse se discutir aqui sobre os resultados ecológicos e de biologia molecular que foram encontrados nesse trabalho e as características ambientais de cada UD investigada.

6. CONCLUSÕES

Provavelmente nos ambientes periurbanos e urbanos antropizados cada vez mais irão surgir mais adaptações de espécies silvestres vetoras de doenças como é o caso das transmissoras de leishmanioses.

É necessário o uso de *primers* específicos para detecção de protozoários em flebotomíneos e cautela na interpretação das taxas de infecção natural nos mesmos, particularmente para o principal vetor de Leishmaniose Cutânea no Brasil, *N. whitmani*.

REFERÊNCIAS

ANDRADE FILHO, J. D. et al. Phlebotomine Sand Flies in the state of Piauí, Brazil (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 8, p. 1085-1087, 2001.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE – **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília, Ministério da Saúde, 2010.

CARVALHO, M.S.L. et al. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em áreas de ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Distrito Federal, Brasil, 2006 a 2008. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 19, p. 227-237, 2010.

GALATI, E. A. B. Classificação de Phlebotominae. In Rangel & Lainson (eds), **Flebotomíneos do Brasil**, Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 23-51, 2003.

GLÓRIA, M. R. B. Leishmaniose visceral: situação epidemiológica e distribuição espacial, município de Palmas, Tocantins; Visceral Leishmaniose: epidemiological situation epidemiological and spatial distribution, town of Palms, Tocantins. 2006. **Tese** (Doutorado – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca).

GUIMARÃES, V. C. F. V. Avaliação da infecção natural de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) por *Leishmania* spp. no Município de São Vicente Férrer, Recife. Pernambuco. 2011. **Dissertação** (Mestrado – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães).

JÚNIOR, A. M. P. Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) e taxa de infecção natural por *Leishmania* Ross (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) em ambientes de várzea e de terra firme no município de Tefé, Amazonas, Brasil. Amazonas. 2014. **Dissertação** (Mestrado – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia).

MACHADO, T.O. et al. Species diversity of sandflies (Diptera: Psychodidae) during different seasons and in different environments in the district of Taquaruçu, state of Tocantins, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 7, p. 955-959, 2012.

OLIVEIRA, A.G. de et al. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) na zona urbana da cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, 1999-2000. **Caderno de Saúde Pública**, v. 19, n. 4, p. 933-944, 2003.

RANGEL, E.F. COSTA, S. M. da & CARVALHO, B.M. Environmental Changes and the Geographic Spreading of American Cutaneous Leishmaniasis in Brazil, Leishmaniasis, In: Claborn (Ed.), **Trends in Epidemiology, Diagnosis and Treatment**, 2014.

REBÊLO, J. M. M. et al. Distribuição de *Lutzomyia whitmani* em fitorregiões do estado do Maranhão, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, n. 6, p. 1070-4, 2009.

SANTOS, T. V. et al. Primeiro registro de *Lutzomyia termitophila* Martins, Falcão e Silva (1964) e *Lutzomyia hermanlenti* Martins, Silva e Falcão (1970) (Diptera: Psychodidae) no Estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 2, n. 4, p. 47-50, 2011.

SARAIVA, L. et al. The molecular detection of different *Leishmania* species within sand flies from a cutaneous and visceral leishmaniasis sympatric area in Southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, p. 1033-1039, 2010.

SPADA, J. C. P. Fatores de riscos associados à leishmaniose visceral canina na área de cinturão verde de Ilha Solteira, São Paulo. 2014. **Dissertação** (Mestrado – Faculdade de Engenharia –Unesp, Campus de Ilha Solteira).

VEXENAT, J.A. Temperatura, um fator determinante na atividade de *Lutzomyia whitmani* (Diptera, Psychodidae), Antunes e Coutinho (1939). 1991. **Dissertação** (Mestrado - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília).

VILELA M.L. et al. Phlebotomine Fauna (Diptera: Psychodidae) and putative vectors of leishmaniasis in impacted area by hydroelectric plant, state of Tocantins, Brazil. **PLoS ONE**, v. 6, n. 12, p. 1-7, 2011.

VILELA, M.L. et al. Phlebotomine Fauna (Diptera: Psychodidae) and Putative Vectors of Leishmaniasis in Impacted Area by Hydroelectric Plant, State of Tocantins, Brazil. **Plos One**, v. 108, n. 5, p. 578-585, 2013.

VÁSQUEZ-TRUJILLO, A. et al. *Lutzomyia antunesi*, Probable Vector de Leishmaniasis Cutánea en el Área Rural de Villavicencio. **Revista de salud pública**, v. 10, n. 4, p. 625-632, 2008.