**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOLÓGICO DE *Lutzomyia*
intermedia s.l. COMO VETOR DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR
AMERICANA NA ZONA RURAL DO MUNICÍPIO DE CONCHAL,
ESTADO DE SÃO PAULO**

Cláudio Casanova

Tese de Doutorado apresentada ao Departamento
de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública
da Universidade de São Paulo para obtenção do
Grau de Doutor.

Área de concentração: Epidemiologia

Orientador: Prof. Dr. Delsio Natal

São Paulo

2001

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, por processos fotocopiadores.

Assinatura:

Data:

41768/2002 doc

À minha querida mãe.

Ao meu querido pai (em memória).

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Delsio Natal pelo companheirismo e pela orientação.

Aos Profs. Flávio A.M. dos Santos e Ademir Petenati pela orientação na parte estatística.

Aos Profs. Eunice A. B. Galati e Angelo P. do Prado pelas sugestões dadas por ocasião do exame de qualificação.

À Roseli La Corte dos Santos pelas discussões e pela leitura do manuscrito.

Ao João Giudice pelo fornecimento dos mapas e dados meteorológicos.

À Companhia Energética de São Paulo e Companhia de Geração Elétrica Tietê pelo apoio logístico.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

À SUCEN pela oportunidade oferecida.

Ao amigo Antonio Ismael Paulino da Costa pelo incentivo e pelas discussões.

Ao Norberto (SUCEN- Presidente Prudente) pela ajuda na triagem do material e identificação dos flebotomíneos.

À estagiária Cláudia Renata Siqueira pela ajuda na montagem do banco de dados.

Aos colegas da SUCEN, Delvo Baitelo e Clemison N. Mattos pela ajuda na confecção e montagem das armadilhas no campo, e Wanda de Carvalho pelo auxílio e paciência na eterna arrumação do depósito de material de campo.

Aos colegas da SUCEN, Marcão, Jamil, Rosemir e Osmar pela ajuda nas coletas de campo.

Aos motoristas Milton e Roberto (CESP) e Barbosa (Geração Tietê) pela dedicação e garantia de chegada

Às colegas da biblioteca da FSP/USP pela atenção a este humilde usuário.

Aos colegas da SUCEN e da Pós-graduação pela amizade e companheirismo.

À Maricy pelo carinho, incentivo e apoio e pela compreensão e enorme paciência.

RESUMO

Casanova, C. **Avaliação do potencial biológico de *Lutzomyia intermedia* s.l. como vetor da leishmaniose tegumentar americana na zona rural do município de Conchal, Estado de São Paulo.** São Paulo, 2001. [Tese de Doutorado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

Objetivo. Avaliar o potencial de *Lutzomyia intermedia* s. l. atuar como vetor da leishmaniose tegumentar americana, por meio de estimativas de parâmetros ecológicos e de capacidade vetorial tais como, dispersão ambiental, sobrevivência, tamanho populacional absoluto, duração do ciclo gonotrófico e comportamento alimentar, de populações da zona rural do município de Conchal.

Material e Métodos. Os estudos foram realizados em área de mata ciliar residual do rio Mogi Guaçu. A distribuição mensal e sazonal de *L. intermedia* s.l. foi caracterizada por meio de coletas noturnas sistemáticas. As estimativas da sobrevivência diária, tamanho absoluto, duração do ciclo gonotrófico e dispersão foram realizadas com o uso da técnica de marcação-soltura-recaptura. A taxa de sobrevivência diária foi estimada pela regressão linear do número de indivíduos recapturados e os dias corridos de coleta. O tamanho absoluto da população foi calculado pelo Índice de Lincoln, ajustado para taxas baixas de recaptura e incorporando a taxa de sobrevivência diária na estimativa. O comportamento alimentar das fêmeas de *L. intermedia* s.l. foi identificado com o uso de armadilhas tipo

Disney, sem isca ou iscadas com cão, gambá e roedor, e pelo reconhecimento do sangue ingerido, com o uso da técnica de reação de precipitação.

Resultados. *L. intermedia s.l.* representou 99,4% dos flebotomíneos coletados e esteve presente em todos os meses e em todos os ambientes pesquisados. A média aritmética de dispersão foi de 53 m para os machos e de 55 m para as fêmeas, com cerca de 90% dos indivíduos, coletados a menos de 70m do ponto de soltura. O tempo mediano de duração do ciclo gonotrófico foi de 3 dias. *L. intermedia s.l.* apresentou um comportamento alimentar oportunista, tanto em relação às iscas animais oferecidas, como em relação às fontes de alimentação disponíveis. A taxa de sobrevivência diária foi de 67,5% e a população absoluta de fêmeas variou entre 2. 462 a 20. 637 indivíduos.

Conclusões. A predominância quase que absoluta de *L. intermedia s.l.* em todos os meses do ano e em todos ambientes pesquisados, incluindo o peridomiciliar, sugere que esta espécie atue como principal vetor da leishmaniose tegumentar na zona rural do município de Conchal. Embora, *L. intermedia s.l.* não atravesse grandes distâncias, a dispersão de fêmeas para o ambiente peridomiciliar, a partir da mata, indica que essa possa ser uma das possíveis vias de origem da infecção humana domiciliar. O comportamento alimentar oportunista, a alta frequência de alimentação e a alta abundância populacional alcançada em alguns meses conferem potencial biológico para *L. intermedia s.l.* atuar como vetor da leishmaniose tegumentar americana na região de estudo. No entanto, a baixa expectativa de vida, sugere que este potencial seja baixo.

Descritores: *Lutzomyia intermedia s.l.*, marcação-soltura-recaptura, dispersão, sobrevivência, leishmaniose tegumentar americana.

SUMMMARY

Casanova, C. **Evaluation of the biological potential of *Lutzomyia intermedia* s.l. as a vector of american cutaneous leishmaniasis in a rural zone of the Conchal municipality, State of São Paulo.** São Paulo, 2001 [PhD thesis – Faculty of Public Health, University of São Paulo].

Objectives. To evaluate the potential of *Lutzomyia intermedia* s.l. to act as a vector of american cutaneous leishmaniasis through estimations of ecological parameters and vectorial capacity such as environmental dispersal, survival, absolute size, duration of the gonotrophic cycle and feeding behaviour, in populations of the rural zone of the Conchal municipality.

Materials and methods. The study took place in a remnant of riparian forest adjacent to the Mogi Guaçu River. The monthly and seasonal distribution of *L. intermedia* s.l. was characterised by systematic nightly collections. Estimations of daily survival, absolute size and the duration of the gonotrophic and dispersal cycles were carried out using the mark-release-recapture technique. The rate of daily survival was estimated by linear regression of the number of individuals recaptured during consecutive days of collection. The absolute size of the population was calculated using the Index of Lincoln, adjusted for low rates of recapture, and incorporating the estimated daily rate of survival. The feeding behaviour of *L. intermedia* s.l. females was investigated using Disney traps baited

with dogs, opossums and rodents, and through the identification of ingested blood using the technique of precipitation reactions.

Results. *L. intermedia s.l.* represented 99.4% of the sand flies collected and was present in all the months and habitats studied. The arithmetic mean of dispersal was 53 m for the males and 55 m for the females, with approximately 90% of individuals recaptured less than 70 m from the point of release. The average duration of the gonotrophic cycle was 3 days. *L. intermedia s.l.* showed opportunistic feeding behaviour, both in relation to the animal baits and the sources of feeding. The rate of daily survival was 67.5% and the absolute population of females varied between 2,464 and 20,637.

Conclusions. The predominance of *L. intermedia s.l.* throughout the year and in all the habitats studied, including human settlements, suggests that it is a species that acts as the principal vector of cutaneous leishmaniasis in rural zones of the Conchal municipality. Although *L. intermedia* does not travel large distances, the dispersal of females from the forest to the peridomicile environment, indicates that this may be the origin of infections in human settlements. The opportunistic feeding behaviour, the high frequency of feeding and the high abundance of populations attained in some months, conveys the biological potential for *L. intermedia s.l.* to act as a vector of american cutaneous leishmaniasis in the study region. However, the low life expectation suggests that this potential is probably low.

Key words. *Lutzomyia intermedia s.l.*, mark-release-recapture, dispersal, survival, american cutaneous leishmaniasis.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. A leishmaniose tegumentar americana – LTA	1
1.2. Parâmetros ecológicos para a transmissão da LTA	5
2. OBJETIVOS	11
2.1. Objetivo Geral	11
2.2. Objetivos Específicos	11
3. MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1. Área de estudo	12
3.2. Período de estudo	15
3.3. Dados meteorológicos	15
3.4. Coletas de flebotomíneos adultos	15
3.5. Distribuição espacial e temporal	16
3.6. Dispersão e parâmetros populacionais	17
3.6.1. Técnica de marcação-soltura-recaptura	18
3.6.1.1. Avaliação do efeito do pó fluorescente na sobrevivência dos flebotomíneos	20
3.6.2. Estimativas de dispersão	21
3.6.3. Estimativas da sobrevivência diária	22
3.6.4. Estimativas do tamanho populacional, taxa de adição e taxa de perda	23
3.7. Ciclo gonotrófico	24
3.8. Comportamento Alimentar	25
3.8.1 Preferência Alimentar	25
3.8.2. Hábito Alimentar	26
4. RESULTADOS	29
4.1. Flebotomíneos da área de estudo	29

4.2. Distribuição mensal e espacial de <i>L. intermedia s.l.</i>	30
4.3. Dispersão ambiental e parâmetros populacionais	34
4.3.1. Teste laboratorial de sobrevivência	34
4.3.2. Sucesso de recaptura	36
4.3.3. Dispersão ambiental	37
4.3.4. Sobrevivência	42
4.3.5. Tamanho da população e taxas de adição, perda e mudança	48
4.3.6. Ciclo gonotrófico	51
4.4. Comportamento alimentar	52
4.4.1. Preferência alimentar	52
4.4.2. Hábito alimentar	55
5. DISCUSSÃO	57
6. CONCLUSÕES	71
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

1. INTRODUÇÃO

1.1. A leishmaniose tegumentar americana – LTA

As leishmanioses encontram-se entre as seis doenças infecto-parasitárias de maior importância mundial. Estima-se que cerca de 350 milhões de pessoas estariam expostas ao risco de aquisição de leishmaniose e que aproximadamente 12 milhões estariam infectadas (WHO 1990).

Dentre as leishmanioses que ocorrem no Brasil, a leishmaniose tegumentar americana – LTA está amplamente distribuída pelo território e apresenta uma notificação anual aproximada de 20.000 casos desde 1984 (KATZ 1997).

No Estado de São Paulo, no período de 1986 a 1995, aproximadamente 3.700 casos autóctones de LTA foram notificados (KATZ 1997). Até meados do século passado, a LTA apresentava-se no Planalto Paulista como uma verdadeira moléstia profissional, atingindo principalmente homens adultos que exerciam atividades relacionadas com as florestas (PESSÔA e MARTINS 1974). A partir da década de 70, a ocorrência de casos esporádicos, distribuídos por todas as faixas etárias e em ambos os sexos, caracterizam uma nova feição epidemiológica da doença no Estado (GOMES 1992; TOLEZANO 1994). A transmissão parece ocorrer principalmente no ambiente domiciliar, em áreas rurais com presença de matas residuais bastante alteradas (FORATTINI e col. 1976; TOLEZANO e col. 1980; GOMES e col. 1980; 1983; 1986; 1989).

Atualmente, no Estado de São Paulo, excluindo-se a floresta atlântica de encosta, que forma uma faixa quase contínua sobre a Serra do Mar, as áreas florestadas estão representadas por remanescentes de matas de planalto e ciliar. Estas

são comumente encontradas ao longo dos rios do interior, pertencentes às bacias hidrográficas dos rios Grande, Paraná e Paranapanema (GIBBS e LEITÃO FILHO 1978).

No período de 1986 a 1995, os municípios situados na região do Vale do rio Mogi Guaçu, pertencente ao sistema hidrográfico do rio Grande, notificaram cerca de 450 casos autóctones de LTA, acometendo principalmente pessoas que vivem próximas às matas ciliares deste rio e seus afluentes (MASCARINI e col. 1995). Esta região, quando comparada a outras do Estado, registrou no período de 1986 a 1992 o maior aumento do coeficiente de incidência da doença (TOLEZANO 1994). Mesmo assim, a região pode ser considerada como de baixa endemicidade, com ocorrência de casos esporádicos ou micro-surtos, distribuídos de forma não homogênea por todos seus municípios (MASCARINI e col. 1995, KATZ 1997).

A LTA é considerada essencialmente uma zoonose de ambiente florestal primitivo, que afeta animais silvestres, podendo o homem ser envolvido, secundariamente, como hospedeiro acidental. Na região neotropical, pelo menos 40 espécies de mamíferos silvestres, principalmente roedores, marsupiais e desdentados, já foram encontrados naturalmente infectados por *Leishmania*, mas poucas são reconhecidas como reservatórios primários (LAINSON e SHAW 1987; GRIMALDI e col. 1989). Na mesma região, os flebotomíneos são representados por cerca de 460 espécies, mas poucas foram encontradas naturalmente infectadas e, destas, só algumas são vetoras comprovadas (LAINSON e SHAW 1987; SHAW e LAINSON 1987; GRIMALDI e col. 1989; KILLICK-KENDRICK 1990).

Uma série de estudos realizados em regiões endêmicas do Brasil permitiu elucidar diversos ciclos de transmissão das leishmanioses tegumentares (SHAW e

LAINSON 1987), no entanto, ainda existem regiões onde o próprio homem infectado aparece como indicador da existência da zoonose e os vetores e reservatórios não são conhecidos. Este último quadro pode ser exemplificado pela *Leishmania (Viannia) braziliensis*, amplamente distribuída pelo Brasil, provavelmente representada por um complexo de espécies e sub-espécies não separadas pelos métodos usuais de identificação (LAINSON 1989; LAINSON e col. 1994). Em região de floresta primária do Pará, o vetor comprovado é *Lutzomyia wellcomei*, espécie altamente antropofílica e de hábito diurno e noturno, entretanto o reservatório silvestre, provavelmente um roedor, ainda não foi determinado (LAINSON 1989). Em certas regiões de Minas Gerais, Bahia, Pernambuco e Ceará, *Lutzomyia whitmani* parece estar adaptada ao ambiente modificado e é apontada como provável vetora de *Leishmania braziliensis* ao homem e animais domésticos (MAYRINK e col. 1979; VEXENAT e col. 1986; BRANDÃO-FILHO e col. 1994; PASSOS e col. 1993; QUEIROZ e col. 1994; AZEVEDO e col. 1996).

Na Região Sudeste do Brasil, particularmente, nos Estados de São Paulo e Rio de Janeiro, a intensa devastação das florestas tem confinado *Leishmania braziliensis* a refúgios enzoóticos representados por matas residuais e parece ser transmitida ao homem e animais domésticos por um número restrito de espécies de flebotomíneos, que demonstram graus variados de adaptação ao ambiente antrópico alterado e domiciliar (GOMES 1994; LAINSON e col. 1994). *Lutzomyia intermedia* espécie de reconhecido comportamento antropofílico e capacidade de adaptação ao ambiente domiciliar, apresenta-se predominante nesta região e, tem sido apontada como responsável pela transmissão da LTA ao homem (FORATTINI e col. 1976; ROCHA E SILVA e col. 1980; GOMES e col. 1983; 1986; 1989; GOMES e

GALATI 1987; GOMES 1992; LEOPOLDO E SILVA e col. 1984; RANGEL e col. 1984; 1986; 1990; TANIGUCHI e col. 1991; CASANOVA e col. 1995; SUCEN¹; CAMARGO-NEVES 1999). Recentemente, estudos morfométricos e genéticos revelaram que *Lutzomyia intermedia* no Brasil pode estar representada por um complexo de espécies constituído, até o momento, por duas espécies: *Lutzomyia intermedia* s.s. e *Lutzomyia neivai* (MARCONDES, 1996; 1997; MARCONDES e col. 1998). No presente estudo, o complexo não foi considerado e a denominação de taxon adotada foi *Lutzomyia intermedia* s.l..

Entretanto, considerando-se ainda, a Região SE do Brasil, a presença de outras espécies antropofílicas como *L. whitmani*, *Lutzomyia. pessoai*, *Lutzomyia. migonei* e *Lutzomyia fischeri* no interior das matas remanescentes e no ambiente domiciliar de localidades endêmicas (MAYRINK e col. 1979; RANGEL e col. 1986; GOMES e col. 1989; TANIGUCHI e col. 1991; TOLEZANO 1994; FALQUETO 1995; MAYO e col. 1998; SUCEN¹; CAMARGO-NEVES 1999) não permite descartar a possibilidade de participação das mesmas no ciclo de transmissão ao homem e, principalmente, na manutenção do ciclo enzoótico. Excetuando *L. fischeri*, todas as outras espécies referidas já foram encontradas naturalmente infectadas em áreas endêmicas do Estado de São Paulo.

Coletas realizadas na região do vale do rio Mogi Guaçu também evidenciaram a predominância de *L. intermedia* s.l., em áreas de vegetação degradada, e de *L. whitmani* e *L. pessoai*, em áreas de florestas menos impactadas (FORATTINI e col. 1976; GOMES e col. 1989; TEODORO e col. 1983; CASANOVA e col. 1995).

¹ Superintendência de Controle de Endemias-São Paulo: Relatório do Grupo de Trabalho de Revisão do Sistema de Vigilância da LTA no Estado de São Paulo, 1997.

Nessa mesma região, FORATTINI e col. (1972a; 1972b; 1973) isolaram de três espécies de roedores e de *L. intermedia s.l.* e *L. pessoai*, *Leishmania* (provavelmente *Leishmania braziliensis*) identificada somente por caracteres extrínsecos tais como, a característica de crescimento em meio de cultura e evolução da infecção em animais de laboratório. No entanto, o caráter único desses encontros só permite considerá-los como potenciais reservatórios ou vetores de *Leishmania*, respectivamente. CASANOVA e col. 1995, na mesma área do presente estudo, detectaram a presença de flagelados indistinguíveis de formas promastigotas de *Leishmania*, em quatro fêmeas de *L. intermedia s.l.*.

Pode-se considerar que, embora envolvendo várias espécies de *Leishmania*, mamíferos reservatórios e flebotomíneos vetores, as diferentes epidemiologias das leishmanioses tegumentares do Novo Mundo parecem seguir um padrão básico similar, onde a amplitude de ambientes ocupada pelo vetor e o seu hábito alimentar são considerados determinantes no elo de ligação entre o homem e o ciclo enzoótico (SHAW e LAINSON 1987). No Estado de São Paulo, a epidemiologia da LTA, mesmo que intensivamente investigada, ainda apresenta elos obscuros, como o desconhecimento do(s) reservatório(s) e a confirmação da(s) espécie(s) vetora(s), que dificultam o conhecimento do ciclo de transmissão da *Leishmania braziliensis*.

1.2. Parâmetros ecológicos para a transmissão da LTA

O critério essencial para determinação de um vetor de leishmaniose é o isolamento repetitivo de *Leishmania* sp., indistinguível daquela que provoca a infecção humana, em flebotomíneos antropofílicos, da mesma área de distribuição (KILLICK-KENDRICK e WARD 1981; YOUNG e LAWYER 1987; LAINSON e

SHAW 1987; KILLICK-KENDRICK 1990). Evidências complementares são dadas pela distribuição espacial coincidente com a distribuição de casos de leishmaniose e pela competência em manter todas as etapas do desenvolvimento parasitário e transmitir, experimentalmente, o parasita pela picada (KILLICK-KENDRICK e WARD 1981; KILLICK-KENDRICK 1990).

Poucos isolamentos de *Leishmania* em flebotomíneos têm sido alcançados na Região Sudeste do Brasil e os mesmos não foram caracterizados satisfatoriamente (FORATTINI e col. 1972b; RANGEL e col. 1984; CASANOVA e col. 1995). Ainda são necessárias pesquisas de isolamento e identificação das leishmanias que infectam o homem e flebotomíneos, para que seja definitivamente esclarecido o papel vetorial das diferentes espécies antropofílicas. Na ausência desta comprovação, praticamente apenas dois parâmetros ecológicos, a antropofilia e a abundância populacional, têm sido utilizados como evidências epidemiológicas para apontar uma espécie de flebotomíneo como vetor. No entanto, outros parâmetros biológicos e ecológicos dos vetores tais como: expectativa de vida; ciclo gonotrófico; comportamento alimentar; dispersão e criadouros naturais, deveriam ser melhores conhecidos, para se obter um entendimento mais completo sobre a circulação da *Leishmania* na natureza (KILLICK-KENDRICK 1991). Alguns destes parâmetros são utilizados na avaliação da capacidade vetorial de uma espécie.

Por definição, a capacidade vetorial é o número de novas infecções disseminadas por caso, por dia, por um vetor, e é estimada a partir dos parâmetros de abundância populacional, sobrevivência diária e padrão e taxa de alimentação sanguínea do vetor (GARRET-JONES 1964; REISEN 1989). O conhecimento de tais parâmetros permite avaliar a relação entre os diferentes fatores associados às

epidemiologias de transmissão. A sobrevivência determina a abundância populacional e a duração da vida infectiva e infectante do vetor; a duração do ciclo gonotrófico, definido pelo período de tempo entre um repasto sanguíneo e a oviposição, permite estimar a frequência com que ocorrem as alimentações sanguíneas realizadas por uma fêmea; o hábito alimentar indica o grau de antropofilia ou zoofilia do vetor.

Experimentos de marcação-soltura-recaptura são os mais freqüentemente utilizados para estimar os parâmetros de tamanho populacional, sobrevivência, duração do ciclo gonotrófico e taxas de imigração e emigração, todos considerados como componentes “chave” na determinação da capacidade vetorial (GARRET-JONES 1964; NELSON e col. 1978; MILBY e REISEN 1989; REISEN 1989, REISEN e col. 1981; 1991).

Mais comumente, as estimativas dos parâmetros da capacidade vetorial têm sido orientadas para culicídeos vetores da malária e de arboviroses (NELSON e col. 1978; REISEN e col 1979; 1981; 1991; REISEN e BOREHAM 1982; REISEN e LOTHROP 1995; JENSEN e WASHINO 1991; SANTOS 2001).

Para flebotomíneos, tem sido salientada a falta de conhecimentos sobre os parâmetros da capacidade vetorial (KILLICK-KENDRICK 1978; 1991; LISENKO e BELJAEV 1987). Estudos sobre sobrevivência diária, tamanho populacional absoluto e duração do ciclo gonotrófico na natureza, ainda não foram realizados para espécies deste grupo. Por outro lado, o comportamento alimentar das fêmeas de flebotomíneos tem sido melhor investigado.

O conhecimento do hábito alimentar dos flebotomíneos de uma área endêmica pode evidenciar, indiretamente, os prováveis hospedeiros reservatórios ou, ao contrário, quando este já é conhecido, levantar suspeitas sobre as espécies vetoras

(CHRISTENSEN e col. 1982; GUY e col. 1984; SHAW e LAINSON 1987; YOUNG e LAWYER 1987; GRIMALDI e col. 1989; LAINSON e col. 1994). Neste sentido, a identificação do sangue ingerido por fêmeas encontradas naturalmente ingurgitadas poderia refletir melhor o papel natural desses insetos e de seus hospedeiros como vetores e reservatórios, respectivamente, em diferentes ciclos de transmissão da leishmaniose tegumentar (TESH e col. 1971; CHRISTENSEN e VASQUEZ 1982; CHRISTENSEN e col. 1982; 1983; LEWIS e WARD 1987; YOUNG e LAWYER 1987; MORRISON e col. 1993).

Os trabalhos de revisão de TEMPELIS (1975) e WASHINO e TEMPELIS (1983) mostram as diversas técnicas sorológicas que vêm sendo utilizadas nos estudos sobre o reconhecimento do sangue ingerido por artrópodes. Entre essas, a técnica de reação de precipitação desenvolvida por WEITZ (1956, 1960), tem sido modificada e utilizada em estudos sobre o hábito alimentar de flebotomíneos (TESH e col. 1971; 1972; CHRISTENSEN e col. 1982; CHRISTENSEN e VASQUEZ 1982; GUY e col. 1984, MORRISON e col. 1993). No Brasil, excluindo-se o estudo de CHRISTENSEN e col. (1982) na Amazônia, não existem investigações sobre o hábito alimentar de flebotomíneos, pelo reconhecimento do sangue ingerido pelas fêmeas.

O conhecimento das preferências alimentares de flebotomíneos também pode ser alcançado, por coletas comparativas realizadas sobre diferentes iscas animais (DISNEY 1966; THATCHER e HERTIG 1966; THATCHER 1968; SHAW e LAINSON 1968; CHRISTENSEN e col. 1983; AGUIAR e col. 1986; 1987; FALQUETO e col. 1985; FALQUETTO 1995; RANGEL e col. 1990). Excluindo-se os estudos que visaram investigar a antropofilia (GOMES e col. 1983; GOMES e

GALATI 1989), praticamente, não existem investigações da atratividade de iscas animais sobre populações de flebotomíneos no Estado de São Paulo.

O padrão de dispersão ou, simplesmente, amplitude de vôo dos flebotomíneos em áreas endêmicas, pode contribuir para o entendimento da epidemiologia das leishmanioses (KILLICK-KENDRICK 1978; KILLICK-KENDRICK e col. 1984; LAINSON 1989). O comportamento de dispersão está relacionado com a determinação do grau de contato entre os vetores e os hospedeiros mamíferos e o seu conhecimento também tem sido considerado como pré-requisito no planejamento de medidas de controle em áreas endêmicas (KILLICK-KENDRICK e col. 1984; ALEXANDER e YOUNG 1992; MUTINGA e col. 1992). Experimentos de marcação-soltura-recaptura fornecem os melhores meios para estimar o padrão e amplitude de vôo. Os poucos estudos realizados com marcação-soltura-recaptura de flebotomíneos na região neotropical têm evidenciado amplitude de vôo dissimilar para diferentes espécies de flebotomíneos em diferentes tipos de ambientes (CHANLOTIS e col. 1974; ALEXANDER e YOUNG 1992; ALEXANDER 1987; MORRISON e col. 1993). Na região Amazônica foram obtidas informações sobre a amplitude de vôo de *Lutzomyia longipalpis* (DYE e col. (1991) no entanto, não existem dados de dispersão para outras espécies de flebotomíneos no Brasil.

No presente estudo, pretendeu-se identificar características ecológicas das populações de *L. intermedia* s.l., com ênfase na distribuição sazonal e espacial, dispersão, comportamento alimentar e estimativas de sobrevivência e densidade absoluta, que contribuam para o esclarecimento dos mecanismos de transmissão da leishmaniose tegumentar americana em área endêmica rural do Vale do Rio Mogi Guaçu. Estudos realizados na região demonstraram a presença predominante de *L.*

intermedia s.l. entre os potenciais vetores da LTA (GOMES e col. 1989; CASANOVA e col. 1995).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o potencial de *L. intermedia s. l.* atuar como vetor da leishmaniose tegumentar americana, por meio de estimativas de parâmetros da capacidade vetorial de populações da zona rural do município de Conchal.

2.2. Objetivos Específicos

Estudou-se a população de *Lutzomyia intermedia s.l.* da zona rural do município de Conchal com os seguintes objetivos:

- Caracterizar a distribuição mensal e espacial
- Determinar o padrão de dispersão
- Estimar parâmetros populacionais, tais como: sobrevivência diária, tamanho absoluto e taxas de adição e de perda
- Estimar a duração do ciclo gonotrófico
- Identificar o comportamento alimentar

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de estudo

O estudo foi realizado numa localidade da zona rural do município de Conchal (bairro Arurá), Estado de São Paulo. Conchal (22° 18' S e 47° 13' W) está situada na bacia do rio Mogi Guaçu onde a LTA é endêmica (figura 1). O rio Mogi Guaçu, nesta região, apresenta características de um curso d'água de planície, com curvas sinuosas e longas. A cobertura vegetal, representada pela floresta estacional semidecidual (Veloso e col. 1991), tem sofrido drástica redução, e atualmente se restringe a pequenos fragmentos de mata ciliar.

O clima da região é do tipo mesotérmico de inverno seco (CWA- classificação Climática de Koeppen) apresentando uma estação quente e úmida, entre outubro e março, e uma estação mais fria e seca entre abril e setembro. A precipitação pluviométrica média anual é de 1.381 mm e a temperatura média anual é de 21,6°C.

A área onde foi realizado o estudo é caracterizada por intensa atividade agrícola e pela presença de remanescentes florestais ao longo das margens do rio Mogi Guaçu, com dossel variando entre 15 e 20 m de altura. Inundações da mata ciliar pelas águas do rio ocorrem comumente na estação chuvosa. Diversas chácaras e ranchos de pescaria estão distribuídos pela área e, embora o plantio da laranja seja predominante, também são comuns pomares, hortaliças e a criação de aves e porcos.

Cinco chácaras, e o remanescente de mata ciliar contíguo a elas, foram utilizados para a realização dos experimentos em campo e coletas de flebotomíneos. As residências das chácaras estão localizadas próximas à mata ciliar, entre 50 e 70 metros de distância (figura 2).

Figura 1. Localização geográfica da área de estudo no município de Conchal, Estado de São Paulo, Brasil.

Figura 2. Representação esquemática da área de estudo localizada na margem esquerda do rio Mogi Guaçu, na área rural do município de Conchal, SP.

3.2. Período de estudo

Os estudos foram realizados no período de maio de 1999 a abril de 2000. Todavia, nas investigações referentes ao hábito alimentar foram incluídos os dados obtidos entre setembro de 1994 e agosto de 1995.

3.3. Dados meteorológicos

Os dados de precipitação pluviométrica (milímetros de chuva), temperatura do ar (°C) e direção do vento foram fornecidos pelo Posto Meteorológico da Estação Experimental de Mogi Guaçu – administrada pelo Instituto Florestal do Estado de São Paulo. O Posto Meteorológico está situado a aproximadamente 3 Km da área de estudo.

3.4. Coletas de flebotomíneos adultos

Uma série de atividades foi realizada em campo para: a) caracterizar a abundância das espécies de flebotomíneos presentes na área de estudo; b) caracterizar a variação sazonal e temporal, e o comportamento alimentar de *L. intermedia s.l.*; c) estimar a dispersão, a taxa de sobrevivência diária e o tamanho populacional de *L. intermedia s.l.*, bem como a duração do seu ciclo gonotrófico.

Os ambientes investigados, a periodicidade e as técnicas utilizadas para a coleta dos flebotomíneos no campo variaram de acordo com os objetivos dos estudos.

3.5 Distribuição espacial e temporal

Para caracterizar a composição de espécies de flebotomíneos e a distribuição espacial e temporal de *L. intermedia s.l.* presentes na área de estudo foram realizadas coletas mensais de adultos, em diversos ambientes e no período de maio de 1999 a abril de 2000, utilizando-se armadilhas tipo CDC (SERVICE 1993) e armadilhas de Shannon, modificadas pela retirada do compartimento central das mesmas (VEXANET e col. 1986), (quadro I).

Quadro I. Resumo das técnicas, horas de coleta e ambientes pesquisados para identificar a fauna de flebotomíneos e a distribuição espacial e temporal de *L. intermedia s.l.*, na zona rural de Conchal, no período de maio de 1999 a abril de 2000.

Técnica	Ambiente	Nº de coletas	Nº de armadilhas/coleta	Horas/coleta	Total de horas
Armadilha CDC	Mata copa	12	2	12	288
	Mata solo	12	2	12	288
	Margem mata	12	2	12	288
	Aberto	12	2	12	288
	Peridomicílio	12	2	12	288
	Varanda	12	2	12	288
Armadilha de Shannon	Mata solo	12	2	3	72
	Margem mata	12	2	3	72
	Peridomicílio	12	2	3	72

As armadilhas tipo CDC foram instaladas, entre as 18:00 e 6:00 horas, na varanda e peridomicílio (até 20m ao redor das residências) das residências de duas chácaras, previamente selecionadas, no aberto (entre o peridomicílio e a mata), na margem da mata e no interior da mata, tanto no nível do solo como na copa das árvores. Cada ambiente foi investigado com duas armadilhas, perfazendo um total de 12 armadilhas/noite.

As coletas com armadilhas de Shannon foram realizadas das 18:00 às 21:00 horas, no ambiente peridomiciliar das residências de duas chácaras, na margem da mata e no interior da mata. Cada ambiente foi investigado com duas armadilhas, perfazendo um total de 6 armadilhas/noite.

Para caracterizar a distribuição temporal utilizou-se o número total de indivíduos de *L. intermedia s.l.*, coletados nos 2 tipos de armadilhas, a cada mês. Para comparar a abundância dos indivíduos nos diferentes ambientes investigados aplicou-se um teste de qui-quadrado aos dados obtidos nas coletas com armadilhas tipo CDC.

3.6. Dispersão e parâmetros populacionais

Para estimar os parâmetros populacionais e a dispersão de *L. intermedia s.l.*, na área de estudo, diversos experimentos foram realizados em campo, utilizando-se a técnica de marcação-soltura-recaptura. Tentativas de coletas de flebotomíneos para fazer a marcação foram realizadas, em armadilhas de Shannon, no período de maio de 1999 a abril de 2000, todavia, apenas nos meses de agosto a novembro de 1999 e fevereiro e março de 2000, a população de flebotomíneos apresentou abundância suficiente (acima de 200 flebotomíneos coletados) para a realização dos experimentos.

3.6.1 Técnica de marcação-soltura-recaptura

Os flebotomíneos utilizados nos experimentos de marcação-soltura-recaptura foram coletados no período noturno, das 18:00 às 21:00 horas, com aparelho sugador manual (aspirador de Castro) em armadilhas de Shannon instaladas em diversos ambientes (peridomicílio, margem mata e interior da mata). Os indivíduos coletados eram contados e transferidos para caixas de isopor, forradas com gesso umedecido. Ao final da coleta, os indivíduos eram marcados borrifando-se pó fluorescente (Bioquip Products Inc.) para dentro da caixa. Foram utilizadas diferentes cores (vermelho, amarelo, azul e branco) para marcar os flebotomíneos de acordo com o local e a data de soltura ou, quando era o caso, para diferenciar as fêmeas grávidas. No momento da soltura, realizada imediatamente após a marcação, a tampa era retirada e a caixa agitada, mas nunca invertida, para induzir o vôo dos flebotomíneos para o ambiente. Dois pontos de soltura dos indivíduos marcados foram utilizados: margem da mata e peridomicílio. No entanto a soltura no peridomicílio ocorreu apenas no primeiro experimento do mês de agosto de 1999 e no experimento de abril de 2000.

Tentativas de recaptura dos flebotomíneos marcados (quadro 2) foram feitas com o uso de 6 armadilhas de Shannon, entre as 18:00 às 21:00 horas, durante 5 a 7 noites consecutivas, contadas a partir da noite seguinte à soltura dos flebotomíneos, à exceção do primeiro experimento do mês de agosto de 1999, quando as recapturas foram realizadas em apenas 2 noites. Duas armadilhas foram colocadas em cada ambiente (peridomiciliar, margem da mata e mata), à exceção do primeiro experimento do mês de agosto de 1999, onde foram utilizadas apenas 2 armadilhas no peridomicílio e 1 armadilha na margem da mata e mata. As armadilhas estavam entre

25 e 90 metros do ponto central de soltura, situado na margem da mata. Todas as coletas tiveram a participação de três pessoas como coletores.

Tentativas de recaptura também foram realizadas com o uso de 16 a 20 armadilhas tipo CDC, utilizadas por pelo menos 3 noites a partir da noite da soltura, entre as 18:00 e 6:00 horas (quadro 2). Estas armadilhas estiveram distribuídas entre 5 e 160 m do ponto de soltura situado na margem da mata, e amostraram o ambiente varanda, peridomiciliar, aberto, margem da mata e mata solo.

Quadro II. Resumo das técnicas, horas de coleta e ambientes pesquisados, nos experimentos de marcação-soltura-recaptura realizados para estimar parâmetros populacionais, a duração do ciclo gonotrófico e a dispersão de *L. intermedia s.l.*, na zona rural de Conchal, no período de maio de 1999 a abril de 2000.

Técnica	Ambiente	Nº de coletas	Nº de armadilhas/coleta	Horas/coleta	Total de horas
Armadilha CDC	Mata solo	21	4	12	1008
	Margem mata	21	4	12	1008
	Aberto	21	4	12	1008
	Peridomicílio	21	4	12	1008
	Varanda	21	4	12	1008
Armadilha de Shannon	Mata solo	40	2	3	240
	Margem mata	40	2	3	240
	Peridomicílio	42	2	3	252

Todos os flebotomíneos coletados foram levados ao laboratório e examinados em estereomicroscópio sob “black light blue”, para triagem dos exemplares marcados com pó fluorescente.

3.6.1.1. Avaliação do efeito do pó fluorescente na sobrevivência dos flebotomíneos

A avaliação do efeito do pó fluorescente sobre a sobrevivência dos flebotomíneos foi realizada, em condições de laboratório, pela comparação das taxas de sobrevivência diária entre grupos de flebotomíneos marcados e não marcados (controle) (REISEN e ASLAMKHAN 1979; PARDO e col. 1996).

Utilizando-se flebotomíneos coletados no campo, separou-se um grupo de 30 indivíduos machos e 40 fêmeas, em uma caixa de isopor forrada com gesso umedecido, para serem borrifados com pó fluorescente. Outro grupo de 30 flebotomíneos machos e 40 fêmeas foi colocado em outra caixa de isopor para servir de controle ao experimento. Após a marcação, os flebotomíneos de ambas as caixas foram transferidos para duas gaiolas e algodão embebido em solução açucarada foi oferecido como alimento. Após a transferência para as gaiolas, e por um período de 10 dias consecutivos, os flebotomíneos eram observados a cada 8 horas, para verificação e contagem do número de indivíduos mortos. Duas séries deste experimento foram realizadas: uma em abril e outra em maio de 1999.

Os coeficientes de regressão do número de sobreviventes diários foram testados para diferença significativa de zero por meio de análise de variância (ANOVA) e comparados com análise de covariância (ANCOVA).

3.6.2. Estimativas de dispersão

A média aritmética e a mediana da distância de dispersão foram estimadas levando-se em conta o número de indivíduos machos e de fêmeas de *L. intermedia s.l.* recapturados nas armadilhas CDC, dispostas entre 5 e 160 m de distância do ponto de soltura, abrangendo os diversos ambientes investigados (figura 1).

As recapturas nas armadilhas CDC do mês de novembro de 1999 foram utilizadas para medir a distância média de dispersão diária de *L. intermedia s.l.*. O número de machos e de fêmeas recapturados nas armadilhas, dispostas entre anéis concêntricos de 40 m, a partir do ponto central de soltura, foi agrupado e ajustado por um fator de correção que elimina a queda na densidade de armadilhas com o aumento da distância. Portanto, este fator permite estimar o número médio recapturado, por áreas iguais de amostragem (BRENNER e col. 1984; SERVICE 1993). O fator de correção (FC) utilizado foi:

$$FC = A_n \cdot N_a / A_t$$

Onde:

FC = fator de correção;

A_n = área de cada anel;

A_t = área total de amostragem;

N_a = número de armadilhas utilizadas durante a investigação.

A distância média de dispersão diária (DMD) foi, então, estimada pela equação: $DMD = \sum (\text{Número coletado corrigido} \times \text{Distância} / \text{Número total corrigido})$.

Para testar possíveis diferenças na direção de dispersão a partir do ponto de soltura central, situado na margem da mata, o número de machos e fêmeas recapturados, nas armadilhas de Shannon, situadas na mata solo, margem mata e peridomicílio, foi analisado por um teste de qui-quadrado.

3.6.3. Estimativas da sobrevivência diária

A sobrevivência foi considerada constante durante os períodos de recaptura e foi estimada pela regressão do número de exemplares de *L. intermedia s.l.* recapturados, transformados em $\ln(y + 1)$, em função dos dias corridos após a soltura (GILLIES 1961; NELSON e col. 1978; MILBY e REISEN 1989), isto é:

$$m_t = M_0 r s^t$$

onde:

m_t = número de indivíduos marcados recapturados em cada dia;

M_0 = número de indivíduos marcados e soltos;

r = taxa de amostragem;

s = taxa diária de sobrevivência;

t = tempo (dias)

ou, mais facilmente pela sua transformação logarítmica:

$$\ln m_t = \ln (M_0 r) + t \ln s$$

Assim, a sobrevivência (s) foi calculada pela expressão $s = e^b$, onde e = base do logaritmo natural e b = coeficiente de regressão (GILLES 1961; NELSON e col. 1978; REISEN e col. 1980; KRAMER e col. 1995; TAKKEN e col. 1998).

3.6.4. Estimativa do tamanho populacional, taxa de adição e taxa de perda

O tamanho absoluto da população foi calculado diariamente, usando a modificação do Índice de Lincoln (BAILEY 1952) ajustado para taxas de recaptura baixas e incluindo a sobrevivência na estimativa. A população mensal foi estimada pela média das estimativas diárias com a variância igual à média da variância das estimativas diárias:

$$N_t = (n_t + 1) M_t / (m_t + 1)$$

Com, $M_t = (M_0 - \sum m_t) s^t$

e, variância: $\text{Var } N_t = (M_t)^2 (n_t + 1) (n_t - m_t) / (m_t + 1)^2 (m_t + 2)$

onde: N_t = população absoluta estimada;

n_t = número de indivíduos coletados;

m_t = número de indivíduos marcados recapturados;

M_t = número de indivíduos marcados que permanecem na população.

M_0 = número de indivíduos marcados e soltos;

s = taxa diária de sobrevivência;

t = tempo (dias)

A adição diária da população foi obtida pela diferença entre as estimativas populacionais diárias, levando-se em conta a sobrevivência (MANLY e PARR 1968; REISEN e col. 1991;1992):

$$A_t = N_t - s N_{t-1}$$

onde:

A_t = adição diária;

N_t = população absoluta estimada;

s = taxa diária de sobrevivência;

t = tempo (dias)

com taxa de adição diária (T_a) igual a: $T_a = A_t / N_t$. A taxa de perda (T_p) foi calculada subtraindo a taxa de sobrevivência (s) de 1: $T_p = 1 - s$. Portanto, a taxa de mudança da população a cada dia pode ser estimada: $T_m = T_a - T_p$. Estimativas mensais destes parâmetros foram obtidos pelas médias das estimativas diárias dos mesmos.

3.7. Ciclo gonotrófico

A duração do ciclo gonotrófico foi estimada com a soltura de fêmeas ingurgitadas marcadas com pó fluorescente, nos meses de novembro de 1999 e fevereiro de 2000. As fêmeas utilizadas nos experimentos eram originárias do campo e foram alimentadas, no laboratório, em pintos, na noite anterior a marcação e soltura. A soltura das fêmeas, se deu na margem da mata, juntamente com a soltura dos indivíduos utilizados nos experimentos de estimativas da dispersão e dos parâmetros

populacionais. As recapturas foram realizadas com as mesmas armadilhas de Shannon e CDC e nos mesmos períodos e ambientes utilizadas naqueles experimentos.

3.8. Comportamento Alimentar

Dois parâmetros de comportamento alimentar das fêmeas de *L. intermedia s.l.* foram investigados: a preferência alimentar e o hábito alimentar.

3.8.1. Preferência Alimentar

Os experimentos sobre preferência alimentar foram realizados nos meses de agosto e novembro de 1999 e fevereiro e abril de 2000. Armadilhas tipo Disney (DISNEY 1966), modificadas e associadas com iscas de cão, gambá, roedor e controle (sem isca animal), foram instaladas, entre 18:00 e 6:00 horas, no peridomicílio e na mata da área de estudo (quadro III).

Quadro III. Resumo das horas de coleta e ambientes pesquisados, no experimento sobre preferência alimentar de *L. intermedia s.l.*, realizado na zona rural de Conchal, nos meses de agosto e novembro de 1999 e fevereiro e abril de 2000.

Técnica	Ambiente	Nº de coletas	Nº de armadilhas/coleta	Horas/coleta	Total de horas
Armadilha tipo Disney	Mata solo	16	4	12	768
	Peridomicílio	16	4	12	768

Cada gaiola contendo um animal, ou o controle, foram assentadas sobre tablados de madeira, com 1,20 m de lado, dispostos a 30 cm acima do solo e envoltos

por cercas quadradas de tela de arame, com 1,30 m de lado e 1,0 m de altura. Os tablados ficaram a 6 m de distância um do outro, formando um quadrado. Os flebotomíneos foram coletados em seis placas de poliestireno, com 50 cm por 30 cm, untadas com óleo de rícino. Quatro placas foram dispostas em plano horizontal, em volta de cada gaiola e, duas placas, em plano vertical, encostadas em cada gaiola.

Um experimento completo consistiu de coletas realizadas em períodos seguidos de quatro noites, com trocas de posições dos animais a cada noite, seguindo uma distribuição aleatória determinada por quadrados latinos. Foram realizadas quatro repetições em cada ambiente investigado.

Considerando que a distribuição da contagem de dados segue uma distribuição de Poisson, o número de fêmeas coletadas, em cada isca animal, foi transformado em raiz quadrada. Controlando os possíveis fatores de interferência (noite de coleta e posição da isca), a atração exercida pelas diferentes iscas animais (cão, gambá e roedor) e pelo controle (sem isca) foi analisada estatisticamente pelo REGW Multiple Range Test com 5% de nível de significância.

3.8.2. Hábito Alimentar

Para o estudo da determinação do hábito alimentar das fêmeas de *L. intermedia s.l.* foram utilizadas fêmeas ingurgitadas coletadas em dois períodos distintos: setembro de 1994 a agosto de 1995, e agosto a dezembro de 1999. As coletas foram realizadas com aparelho aspirador elétrico no intra e peridomicílio, na margem da mata e interior da mata, entre as 7:00 e 9:00 horas, nos prováveis abrigos naturais encontrados nesses ambientes, tais como paredes internas e externas das residências, galinheiros, troncos de árvores, serrapilheira (quadro IV). No período de

setembro de 1994 a agosto de 1995, as coletas foram realizadas quinzenalmente com o uso de um aparelho com 15 cm de diâmetro ligado a uma bateria de 12 V (FORATTINI e col. 1987). No período de agosto a dezembro de 1999, as coletas foram realizadas mensalmente com o uso de um aparelho menor, com 6 cm de diâmetro e ligado a uma bateria de 6 V (NATAL e MARUCCI 1984).

Quadro IV. Resumo das horas de coleta e ambientes pesquisados no estudo sobre hábito alimentar de *L. intermedia s.l.*, realizado na zona rural de Conchal, nos períodos de setembro de 1994 a agosto de 1995 e agosto a dezembro de 1999.

		Período: setembro/94- agosto/95				Período: agosto/99- dezembro/99			
Técnica	Ambiente	Nº de coletas	Nº de arma- dilhas/ coleta	Horas /coleta	Total de horas	Nº de coletas	Nº de arma- dilhas/ coleta	Horas /coleta	Total de horas
Aspirador manual	Mata solo	24	1	0,2	8,0	5	1	0,2	1,7
	Margem mata	24	1	0,2	8,0	5	1	0,2	1,7
	Perido- micílio	24	1	0,2	8,0	5	1	0,2	1,7
	Intra- domicílio	24	1	0,2	8,0	5	1	0,2	1,7

No laboratório, as fêmeas ingurgitadas foram acondicionadas em pequenos tubos de vidro e mantidas no “freezer” (temperatura de -20°). Individualmente, essas fêmeas foram imersas em água com detergente por cinco minutos e posteriormente foram lavadas por 3 vezes com solução fisiológica a 0,85%. Cada fêmea foi dissecada,

sob estereomicroscópio, em lâmina contendo uma gota de solução fisiológica. A cabeça e os últimos segmentos abdominais de cada fêmea foram separados para posterior identificação da espécie e o restante do inseto foi transferido para tubos de ensaios pequenos, onde foi macerado em 0,15 ml de solução fisiológica.

Após centrifugação, a identificação do sangue ingerido pelas fêmeas foi realizada pela técnica de reação de precipitação em tubo capilar, descrita por SIQUEIRA (1960). Cada amostra foi testada contra a seguinte bateria de anti-soros: humano, ave, gambá, roedor e cão. Os anti-soros foram produzidos em coelhos e os antígenos foram preparados com Alúmen de Potássio. Todos os anti-soros reagem para diluições do soro homólogo a pelo menos 1:10.000 e não reagem para diluições dos soros heterólogos a 1:10.

4. RESULTADOS

4.1. Flebotomíneos da área de estudo

Durante o período de estudo, maio de 1999 a abril de 2000, 26.817 flebotomíneos foram coletados em armadilhas de Shannon e CDC, sendo 9.280 machos e 17.567 fêmeas, distribuídos por 7 espécies, (tabela 1). Para a identificação das espécies foi seguida a nomenclatura proposta por Young e Duncan (1994).

Tabela 1. Número e porcentagem total de machos e fêmeas das espécies de flebotomíneos coletados em armadilhas de Shannon e CDC, na zona rural do município de Conchal, no período de maio de 1999 a abril de 2000.

Espécie	Shannon		CDC		% Total	
	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
<i>L. intermedia s.l.</i>	5.852	12.338	3.349	5.123	99,1	99,7
<i>L. pessoai</i>	33	15	12	6	0,5	0,1
<i>L. whitmani</i>	0	2	2	6	0,0	0,0
<i>L. aragaoi</i>	0	0	24	23	0,3	0,1
<i>L. cortelezzii</i>	0	1	0	6	0,0	0,0
<i>L. lenti</i>	0	0	0	1	0,0	0,0
<i>B. brumpti</i>	2	2	6	14	0,1	0,0
Total	5.887	12.358	3.393	5.179	100,0	100,0

A predominância de *L. intermedia s.l.* foi quase absoluta. Os machos desta espécie representaram 99,1% e, as fêmeas 99,7% dos exemplares coletados, de cada sexo. O número de fêmeas de *L. intermedia s.l.* coletado foi significativamente maior

que o de machos, tanto nas armadilhas de Shannon como nas armadilhas CDC ($X^2 = 2.312$ e 371 ; respectivamente, $p < 0,001$).

4.2. Distribuição mensal e espacial de *L. intermedia s.l.*

Os dados obtidos nas coletas com armadilhas de Shannon e CDC mostram que *L. intermedia s.l.* esteve presente na área de estudo em todos os meses pesquisados, maio de 1999 a abril de 2000 (tabela 2). No entanto, pode-se perceber que a abundância começa a aumentar no mês de agosto, último mês do período mais frio e seco do ano, e atinge um pico em novembro, mês que antecede o início da estação mais quente e úmida (figuras 3 e 4). Após uma queda durante o período mais chuvoso do ano, a abundância voltou a aumentar no final do mês de fevereiro, e em abril, quando as chuvas e as temperaturas apresentam-se mais amenas, comparativamente ao período anterior (figuras 3 e 4). Embora a área total da mata e parte do peridomicílio, tenham sido inundados por 7 dias no início de janeiro de 2000 e por 3 dias na segunda semana do mês de fevereiro, observou-se um aumento da abundância no final deste último mês.

Tabela 2. Distribuição mensal do número de machos e fêmeas de *L. intermedia* s.l. coletados em armadilhas de Shannon e CDC, na zona rural do município de Conchal, no período de maio de 1999 e abril de 2000.

Mês	Shannon		CDC		Total	
	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
Mai/99	30	52	15	19	45	70
Jun/99	4	19	0	0	4	19
Jul/99	18	33	15	24	33	57
Ago/99	203	317	78	117	281	434
Set/99	83	141	22	34	105	175
Out/99	9	50	72	117	81	167
Nov/99	541	1.926	103	393	644	2.289
Dez/99	21	43	5	17	26	60
Jan/00	12	36	2	12	14	48
Fev/00	138	209	6	17	144	236
Mar/00	28	78	5	12	33	90
Abr/00	139	132	55	36	194	168
Total	1.226	3.036	378	797	1.604	3.833

Figura 3. Distribuição mensal do número total de machos e fêmeas de *L. intermedia* s.l. coletados em armadilhas de Shannon e CDC, na zona rural do município de Conchal, no período de maio de 1999 a abril de 2000.

Figura 4. Distribuição mensal da chuva e das médias das temperaturas, no período de maio de 1999 e abril de 2000 (Fonte: Instituto Florestal – Estação Experimental de Mogi Guaçu-SP).

Pelas coletas realizadas com armadilhas CDC, pode-se observar que tanto os machos como as fêmeas de *L. intermedia s.l.* ocorreram em todos os ambientes pesquisados (tabela 3). No entanto, existe uma diferença significativa na distribuição dos flebotomíneos por estes ambientes ($X^2 = 297$ e 786 , para machos e fêmeas, respectivamente, $gl = 5$, $p < 0,001$). A maior abundância ocorreu no ambiente de mata ao nível do solo, com 580 ($49,4\%$) do total de indivíduos coletados. Considerando-se somente as fêmeas, as maiores abundâncias ocorreram na mata ao nível do solo ($51,1\%$), no peridomicílio ($17,7\%$) e na varanda dos domicílios ($15,4\%$) (tabela 3). A abundância dos machos entre os ambientes, acompanhou as mesmas tendências das fêmeas (tabela 3).

Tabela 3. Distribuição ambiental de machos e fêmeas de *L. intermedia s.l.* coletados em armadilhas CDC, na zona rural do município de Conchal, no período de maio de 1999 a abril de 2000.

Ambiente	Machos		Fêmeas		Total	
	N	%	N	%	N	%
Mata copa	3	0,8	3	0,4	6	0,5
Mata solo	173	45,8	407	51,1	580	49,4
Margem. Mata	38	10,0	94	11,8	132	11,2
Aberto	23	6,1	29	3,6	52	4,4
Peridomicílio	89	23,5	141	17,7	230	19,6
Peri - Varanda	52	13,8	123	15,4	175	14,9
Total	378	100	797	100	1.175	100,0

4.3. Dispersão ambiental e parâmetros populacionais

4.3.1. Teste laboratorial de sobrevivência

A mortalidade entre os grupos de flebotomíneos machos e fêmeas coletados no campo, marcados e não marcados (controle), não apresentou diferença significativa nos testes realizados em laboratório (figura 5).

Em abril e maio de 1999, quando foram realizados os testes de sobrevivência, a temperatura ambiente no laboratório variou de 17°C a 26°C. Os dados, não transformados, forneceram retas significativamente diferentes de zero (ANOVA, $p < 0,05$), e os coeficientes de regressão, com exceção do teste realizado com fêmeas em maio, não diferiram significativamente na análise de covariância ($p > 0,05$). Em maio, as fêmeas marcadas sobreviveram significativamente mais do que as não marcadas (ANCOVA $< F_{1,18} = 6,243$, $p = 0,021$) (figura 5). Estes resultados demonstram que a marcação feita com pó fluorescente indicou não interferir na sobrevivência dos flebotomíneos, o que pode ser extrapolado para as condições de campo.

Ao final do décimo dia, apesar de ainda existirem indivíduos vivos, deu-se por encerrado o experimento. Todos os machos e fêmeas marcados mantiveram a marca com o pó fluorescente até o encerramento do experimento.

A expectativa mediana de vida para os grupos marcados e não marcados foi de 9 e 8 dias, para machos, e 8 e 9 dias, para fêmeas, respectivamente, no teste realizado em abril. No teste realizado em maio, esses valores foram de 7 e 6 dias para os machos, e de 9 e 8 dias para fêmeas, marcados e não marcados, respectivamente.

Figura 5. Curvas de sobrevivência, de machos e fêmeas de *L. intermedia s.l.*, marcados e não marcados, obtidas em condição de laboratório nos meses de abril e maio de 1999.

4.3.2. Sucesso de recaptura

Durante os meses de agosto a novembro de 1999, e fevereiro e abril de 2000, foram marcados e soltos 2.014 machos e 4.488 fêmeas de flebotomíneos na área de estudo (tabela 4). O número de machos e fêmeas dos indivíduos marcados e soltos foi extrapolado da proporção sexual obtida em armadilha de Shannon, no 1º dia de coleta após a soltura. Somente no mês de Novembro de 1999 foi utilizada a proporção do 2º dia de coleta, devido ao baixo número coletado no primeiro dia.

Foram recapturados 188 machos e 305 fêmeas, correspondentes a taxas de recaptura de 9,3% e 6,8%, respectivamente (tabela 4). Todos os flebotomíneos eram pertencentes a *L. intermedia s.l.*. Este fato, somado à predominância quase que absoluta de *L. intermedia s.l.* nas coletas totais de flebotomíneos (tabela 1) permite assumir, com pequena margem de erro, que os flebotomíneos marcados e soltos pertenciam a *L. intermedia s.l.*. Um maior número de machos (159) e de fêmeas (248) de *L. intermedia* foi recapturado nas armadilhas de Shannon, representando um total de 84,6% e 80,6% do total de cada sexo recapturado, respectivamente. Nas armadilhas de Shannon, a taxa de recaptura de machos de *L. intermedia s.l.* (7,9%), foi significativamente maior ($X^2 = 11,9$; $gl = 1$; $p < 0,005$) do que a taxa de recaptura de fêmeas (5,5%). Nas armadilhas CDC, as taxas de recaptura de machos e fêmeas foram praticamente idênticas (tabela 4).

Tabela 4. Número de machos e fêmeas de *L. intermedia s.l.* soltos e recapturados em armadilhas de Shannon e CDC, na zona rural do município de Conchal, no período de agosto de 1999 a abril de 2000,

Mês	Nº soltos		Nº (%) recapturados Shannon		Nº (%) recapturados CDC		TOTAL	
	M	F	M	F	M	F	M	F
*Ago	141	533	21 (13,9)	25 (4,7)	7 (5,0)	4 (0,8)	28 (19,9)	29 (5,4)
Ago	463	723	55 (11,9)	83 (11,5)	0 (0,0)	2 (0,3)	55 (11,9)	85 (11,8)
Set	124	396	10 (8,1)	26 (6,6)	4 (3,2)	0 (0,0)	14 (11,3)	26 (6,6)
Out	369	750	12 (3,3)	28 (3,7)	3 (0,8)	3 (0,4)	15 (4,1)	31 (4,1)
Nov	354	1.131	32 (9,0)	66 (6,8)	14 (4,0)	45 (4,5)	46 (13,0)	111 (11,3)
Fev	325	295	18 (5,5)	11 (4,4)	0 (0,0)	1 (0,3)	18 (5,5)	14 (4,7)
Abr	238	262	11 (4,6)	9 (3,4)	1 (0,4)	2 (0,8)	12 (5,0)	11 (4,2)
Total	2.014	4.488	159 (7,9)	248 (5,5)	29 (1,4)	57 (1,3)	188 (9,3)	305 (6,8)

*No mês de agosto foram realizados 2 experimentos

4.3.3. Dispersão ambiental

A utilização de um maior número de armadilhas CDC, em relação ao de armadilhas de Shannon, permitiu a amostragem de um maior número de distâncias a partir do ponto de soltura. Assim, as análises referentes à amplitude máxima de

dispersão, média aritmética e mediana da distância de dispersão dos indivíduos machos e fêmeas de *L. intermedia s.l.* foram baseadas nas recapturas realizadas com armadilhas CDC (figura 1).

O número total de machos (29) e de fêmeas (57) recapturados em armadilhas CDC não decresce como uma função linear da distância das armadilhas a partir do ponto de soltura (para machos: $\ln(Y+1) = -0,001x + 1,122$; $p > 0,75$; $r^2 = 0,01$; para fêmeas: $\ln(Y+1) = -0,003x + 1,414$; $p > 0,55$; $r^2 = 0,160$) (figura 6).

Figura 6. Relação entre o número total de machos e fêmeas de *L. intermedia s.l.* recapturado e a distância das armadilhas CDC a partir do ponto de soltura, na zona rural do município de Conchal, no período de agosto de 1999 a abril de 2000.

A distribuição de frequência, apresentada na figura 6, permitiu estimar a média aritmética da distância de dispersão, que foi de 53 m para os machos e de 55 m para as fêmeas. A mediana de dispersão, por sua vez, foi de 56 m para os machos, sendo que 86% foram coletados até 68 m do ponto de soltura. Para as fêmeas, a mediana foi de 55 m e 89% delas foram coletadas até 70 m do ponto de soltura.

A amplitude máxima de dispersão para machos e fêmeas de *L. intermedia s.l.* foi de 99 e 128 m, respectivamente, relativos a um único exemplar para cada sexo. O macho foi coletado no ambiente de mata e a fêmea no peridomicílio, a 7 e 8 dias após a soltura, respectivamente, realizada na margem da mata.

O maior número de indivíduos recapturados nas armadilhas CDC no mês de novembro de 1999 possibilitou a estimativa da distância média de dispersão diária. Esta foi calculada pelo número de machos e fêmeas de *L. intermedia s.l.* recapturados em 16 armadilhas CDC, ajustado para o tamanho da área amostrada, segundo o método de BRENNER e col. (1984) (tabela 5).

Tabela 5. Distância média de dispersão diária e número total e corrigido de machos e fêmeas de *L. intermedia s.l.* recapturados em 4 dias de coleta em CDC, na zona rural do município de Conchal, no mês de novembro de 1999. (FC = Fator de Correção).

Raio do círculo (m)	F C	Número Recapturado								Número Corrigido							
		2º dia		3º dia		4º dia		7º dia		2º dia		3º dia		4º dia		7º dia	
		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
0-40	1,0	3	8	2	5	1	1	1	1	3	8	2	5	1	1	1	1
40-80	3,0	3	13	1	7	2	8	1	2	9	39	3	21	6	24	3	6
80-120	5,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
120-160	7,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total		6	21	3	12	3	9	2	3	12	47	5	26	7	25	4	7
Distância Média de Dispersão Diária										50	53	44	52	29	58	50	54

Pode-se observar que a distância média de dispersão, a partir do ponto central de soltura na margem da mata, manteve-se praticamente constante para as fêmeas entre o segundo e sétimo dia após a soltura, Para os machos, ocorreu uma ligeira

queda na distância média entre o segundo e quarto dia (figura 7). Esses dados mostram a baixa tendência de dispersão de *L. intermedia s.l.*.

Considerando todos os experimentos, o intervalo de tempo mais longo, a partir da noite de soltura, em que foram recapturados flebotomíneos, foi de 11 dias para 2 fêmeas e de 14 dias para 2 machos, coletados a menos de 80m do ponto de soltura.

Figura 7. Distância média de dispersão diária, a partir do ponto de soltura, para 4 dias de recaptura com armadilhas CDC, na zona rural do município de Conchal, no mês de novembro de 1999.

As recapturas mensais de exemplares de *L. intermedia s.l.* em armadilhas de Shannon foram utilizadas para verificar a direção da dispersão para os ambientes de mata, margem mata e peridomiciliar, a partir do ponto central de soltura situado na margem da mata (figura 8). Em maior número de ocasiões, 3 vezes para as fêmeas e 3 para os machos, ocorreu uma diferença significativa de dispersão em direção às armadilhas situadas no interior da mata.

Figura 8. Número de machos - fêmeas de *L. intermedia s.l.*, recapturados em armadilhas de Shannon situadas na mata, margem da mata e peridomicílio, na zona rural do município de Conchal, no período de agosto de 1999 a abril de 2000. O centro do círculo representa o ponto de soltura. A seta representa a direção predominante do vento durante os períodos de coleta. Letras diferentes mostram diferenças significativas intrasexo no teste de qui-quadrado ($p < 0,05$).

O ambiente de margem da mata foi o segundo em tendência de direção de dispersão dos flebotomíneos. Em somente uma ocasião, no mês de abril de 2000, as fêmeas de *L. intermedia s.l.* dispersaram em direção ao ambiente peridomiciliar. A direção predominante do vento entre os dias e horários de coleta não pareceu influenciar na direção de dispersão dos flebotomíneos (figura 8).

4.3.4. Sobrevivência

As coletas de machos e fêmeas de *L. intermedia s.l.*, em armadilhas de Shannon nos meses de agosto (2º experimento) a novembro de 1999 e fevereiro e abril de 2000 foram suficientes (tabelas 6 e 7) para permitir as estimativas de sobrevivência, tamanho da população e taxa de adição. Por outro lado, o baixo valor do número de indivíduos recapturados nas armadilhas CDC, com exceção de novembro de 1999 (tabela 4), não permitiram a utilização dos mesmos nas estimativas dos parâmetros populacionais. O grande número de exemplares marcados presentes nas coletas realizadas com armadilhas CDC, no mês de novembro de 1999 (tabela 4), foi incorporado ao número recapturado nas armadilhas de Shannon, para a estimativa da sobrevivência neste mês.

As chuvas impediram a realização de coletas no primeiro dia após a soltura, no mês de setembro, no quarto dia de outubro e no sexto dia de novembro. Foram excluídas das análises as coletas nas quais ocorreram quedas bruscas no número de exemplares coletados. As quedas no número de indivíduos estiveram associadas à ocorrência de ventos fortes durante as coletas.

Tabela 6. Número diário de machos e fêmeas de *L. intermedia s.l.* não marcados e recapturados, coletados em armadilha de Shannon, na zona rural do município de Conchal, nos meses de agosto a outubro de 1999.

Noite	Agosto				Setembro				Outubro			
	Não				Não				Não			
	marcado		Recapturado		marcado		Recapturado		marcado		Recapturado	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
1	203	317	27	39	-	-	-	-	164	333	8	17
2	162	618	9	16	140	224	6	16	52	81	2	6
3	378	453	4	7	71	154	2	4	*29	*38	0	0
4	284	602	6	7	89	146	1	3	-	-	-	-
5	237	439	5	7	*7	*31	0	0	71	133	2	4
6	214	392	2	3	83	141	1	3	*13	*12	0	0
7	203	924	2	4	81	46	0	0	9	50	0	1
8	-	-	-	-	-	-	-	-	*0	*3	0	0
Total	1.681	3.745	55	83	471	742	10	26	338	650	12	28

* excluídos da análise da curva de sobrevivência por apresentarem quedas bruscas na coleta de machos e de fêmeas e não apresentarem indivíduos marcados.

Tabela 7. Número diário de machos e fêmeas de *L. intermedia s.l.* não marcados e recapturados, coletados em armadilha de Shannon, na zona rural do município de Conchal, nos meses de novembro de 1999, fevereiro e abril de 2000.

Noite	Novembro				Fevereiro				Abril			
	Não				Não				Não			
	marcado		Recapturado		marcado		Recapturado		marcado		Recapturado	
	M	F	**M	**F	M	F	M	F	M	F	M	F
1	* 3	* 10	0	1	359	339	12	6	139	132	6	3
2	106	339	17	45	243	209	5	4	217	175	2	2
3	578	1.581	17	42	* 14	* 24	0	0	148	129	1	1
4	541	1.926	10	19	138	209	1	1	62	132	0	0
5	*11	*157	0	1	* 14	* 14	0	0	212	203	0	0
6	-	-	-	-	57	99	0	0	-	-	-	-
7	97	283	2	3	113	201	0	0	-	-	-	-
Total	1.336	4.296	46	111	938	1.095	18	11	778	771	9	6

* excluídos da análise da curva de sobrevivência por apresentarem quedas bruscas na coleta de machos e fêmeas.
** incluídos os indivíduos recapturados nas armadilhas CDC

A sobrevivência diária foi estimada pela regressão do número de indivíduos de *L. intermedia s.l.* recapturados (tabelas 6 e 7), transformados em $\ln (y + 1)$, em função dos dias após a soltura. As figuras 9a e 9b apresentam as curvas de sobrevivência obtidas com essas regressões, para os machos e as fêmeas de *L. intermedia s.l.*, nos meses de agosto a novembro de 1999 e fevereiro e abril de 2000.

Figura 9a. Regressão do número de indivíduos ($\ln(y+1)$) machos e fêmeas, de *L. intermedia s.l.*, recapturados em armadilhas de Shannon, e dos dias após a soltura, na zona rural do município de Conchal, nos meses de agosto a outubro de 1999. (R^2 = coeficiente de determinação).

Figura 9b. Regressão do número de indivíduos ($\ln(y + 1)$) machos e fêmeas, de *L. intermedia s.l.*, recapturados em armadilhas de Shannon, e dos dias após a soltura, na zona rural do município de Conchal, nos meses de novembro de 1999 e fevereiro e abril de 2000. (R^2 = coeficiente de determinação).

A tabela 8 apresenta os valores das equações de regressão, bem como os das taxas de sobrevivência (s) obtidas pelo antilogaritmo do coeficiente de regressão (b). Inicialmente a sobrevivência foi estimada para cada mês separadamente. Cada coeficiente de regressão foi testado pela análise de variância e então comparados pela análise de covariância.

Tabela 8. Resumo das estimativas mensais da sobrevivência de indivíduos machos e fêmeas de *L. intermedia* s.l.. b = coeficiente de regressão; R^2 = coeficiente de determinação; p = grau de significância da reta; s = sobrevivência.

Mês	Machos				Fêmeas			
	b	R^2	p	s	b	R^2	p	s
Ago/99	-0,319	0,792	0,007	0,727	-0,326	0,815	0,005	0,722
Set/99	-0,313	0,828	0,031	0,732	-0,430	0,784	0,045	0,651
Out/99	-0,290	0,791	0,110*	0,749	-0,312	0,894	0,054*	0,732
Nov/99	-0,384	0,961	0,019	0,681	-0,519	0,973	0,013	0,595
Fev/00	-0,508	0,977	0,011	0,602	-0,388	0,996	0,001	0,672
Abr/00	-0,624	0,984	0,008	0,536	-0,456	0,961	0,019	0,634

* Não significativo pela ANOVA ($p > 0,05$)

Todos os coeficientes de regressão foram significativamente diferentes de zero, com exceção daqueles obtidos para os machos e fêmeas no mês de outubro (tabela 8). Não houve diferença significativa entre os coeficientes de regressão (ANCOVA, $F_{9, 28} = 1,115$, $p = 0,358$), embora tenha sido observada diferença entre as médias ajustadas ($p < 0,05$). Diferenças nas médias ajustadas podem ser esperadas

uma vez que o número de indivíduos marcados e soltos e, posteriormente, recapturados variou entre os meses. Pode-se concluir que não houve diferença significativa entre as taxas de sobrevivência de machos e fêmeas em cada mês e nem entre os machos e entre as fêmeas nos diferentes meses de experimento. Portanto, optou-se por considerar o coeficiente de regressão comum a todas as regressões ($b = -0,3941$), como representativo de todas as curvas de sobrevivência e, conseqüentemente, uma mesma taxa de sobrevivência ($s = 0,6743$) foi considerada, para machos e fêmeas em todos os meses.

4.3.5. Tamanho da população e taxas de adição, perda e mudança

O tamanho médio da população de *L. intermedia* s.l. variou, para os machos, de 928 exemplares, no mês de setembro de 1999, a 4.491, em fevereiro de 2000, e para as fêmeas, de 2.462 exemplares, no mês de setembro de 1999, a 20.637, em novembro de 1999 (tabelas 9a e 9b). Somente no mês de agosto, para os machos, e no mês de fevereiro, para as fêmeas, as taxas de perda da população ($1 - \text{sobrevivência}$) excederam as taxas de adição (calculada pela média da taxa de adição diária pelo método de MANLY e PARR 1968). No entanto, tanto estes valores negativos como os valores positivos encontrados para as taxas de mudança, sempre se apresentaram baixos, indicando que a população manteve-se praticamente constante durante os períodos dos experimentos em cada mês (tabelas 9a e 9b).

Tabela 9a. Estimativas mensais do tamanho populacional (desvio padrão) e taxas de adição, perda e mudança de machos de *L. intermedia s.l.*, na zona rural do município de Conchal, em agosto, setembro e novembro de 1999, e fevereiro e abril de 2000.

Mês	Machos				
	TP	(SD)	Ta	Tp	Tm
Ago/99	3.739	(1.402)	0,232	0,3257	-0,093
Set/99	928	(488)	0,383	0,3257	0,057
Nov/99	3.023	(1.076)	0,364	0,3257	0,039
Fev/00	4.491	(1.869)	0,148	0,3257	0,178
Abr/00	2.146	(1.123)	0,373	0,3257	0,045

TP = tamanho populacional estimado Ta = taxa de adição (Manly & Parr, 1968), Tp = taxa de perda (1- s), Tm= taxa de mudança (Ta – Tp).

Tabela 9b. Estimativas mensais do tamanho populacional (desvios padrão) e taxas de adição, perda e mudança de fêmeas de *L. intermedia s.l.*, na zona rural do município de Conchal, em agosto, setembro e novembro de 1999, e fevereiro e abril de 2000.

Mês	Fêmeas				
	TP	(SD)	Ta	Tp	Tm
Ago/99	7.955	(2453)	0,390	0,3257	0,064
Set/99	2.462	(1055)	0,360	0,3257	0,034
Nov/99	20.637	(7283)	0,487	0,3257	0,161
Fev/00	6.010	(2761)	0,160	0,3257	-0,166
Abr/00	4.484	(2497)	0,497	0,3257	0,171

TP = tamanho populacional estimado, Ta = taxa de adição (Manly & Parr, 1968), Tp = taxa de perda (1- s), Tm= taxa de mudança (Ta – Tp).

A mudança sazonal no tamanho absoluto da população de fêmeas, estimado pelo método de Lincoln modificado (BAILEY 1952), esteve bem correlacionada com as mudanças sazonais relativas do número de fêmeas obtidas nas armadilhas de Shannon por mês de coleta ($r = 0,98$; $gl = 3$, $p < 0,005$) (figura 10). Os indivíduos machos não apresentaram a mesma correlação sazonal ($r = 0,22$, $gl = 3$, $p > 0,50$).

Figura 10. Relação entre a distribuição da população estimada pelo método modificado de BAILEY (1952) e a abundância relativa de fêmeas de *L. intermedia s.l.* coletadas em armadilhas de Shannon, na zona rural do município de Conchal, no período de maio de 1999 a abril de 2000.

A eficiência de amostragem das armadilhas de Shannon foi estimada dividindo-se o número médio de machos e fêmeas coletados por armadilha/noite, pela média absoluta do tamanho da população estimada por estas mesmas armadilhas. A porcentagem da população coletada por armadilha-noite variou, para machos, de

0,7% no mês de fevereiro de 2000 a 1,8% em novembro de 1999 e, para fêmeas, de 0,5% no mês de abril de 2000 a 1,0% em agosto e setembro de 1999, e portanto, não podem servir como preditores do tamanho da população.

4.3.6. Ciclo gonotrófico

Nos meses de novembro de 1999 e fevereiro de 2000 foram marcadas e soltas 388 e 65 fêmeas ingurgitadas, respectivamente. A taxa de recaptura em novembro foi de 4,4 % e em fevereiro de 3,1 %. Na tabela 10, está apresentada a noite de soltura e as noites de recaptura, levando-se em conta o estado nutricional e fisiológico das fêmeas. Pode-se notar que na segunda noite após a alimentação, as fêmeas coletadas no experimento de novembro apresentavam-se com uma pequena quantidade de sangue no intestino, enquanto que a única fêmea coletada no experimento do mês de fevereiro já possuía ovos. Na terceira noite após a alimentação, todas as fêmeas recapturadas, nos dois meses de experimento, apresentavam-se com ovos maduros. As 5 fêmeas coletadas na quarta noite após a alimentação, do experimento de novembro, encontravam-se sem ovos e sangue. A duração do ciclo gonotrófico foi assumida como sendo o tempo entre a realização de um repasto sanguíneo e a oviposição. Assim, considerando que existe concordância gonotrófica, para as fêmeas de *L. intermedia s.l.*, o seu ciclo se completou na terceira ou quarta noite após a alimentação.

Tabela 10. Distribuição do número de fêmeas de *L. intermedia s.l.* recapturadas em noites seguidas após alimentação e soltura, na zona rural do município de Conchal, nos meses de novembro de 1999 e fevereiro de 2000.

Noites após alimentação e soltura	Fêmeas recapturadas					
	Novembro de 1999			Fevereiro de 2000		
	Fêmeas com sangue	Fêmeas com ovos	Fêmeas vazias	Fêmeas com sangue	Fêmeas com ovos	Fêmeas vazias
2	6	0	0	0	1	0
3	0	6	0	0	1	0
4	0	0	5	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
Total	6	6	5	0	2	0

4.4 Comportamento alimentar

4.4.1. Preferência alimentar

De um total de 565 flebotomíneos capturados nas armadilhas iscadas e sem iscas, durante todos os experimentos, 99,8% eram *L. intermedia s.l.*. Um maior número de exemplares de *L. intermedia s.l.* foi coletado no ambiente de mata (76,3%), no entanto, a proporção de machos, em relação às fêmeas, foi significativamente maior nos dois ambientes investigados (Mata, $X^2=65,6$, $gl=1$, $p<0,001$; Peridomicílio, $X^2=5,84$; $gl=1$; $p<0,01$) (tabela 11). Somente 20 (6,7%) machos e 8 (6,1%) fêmeas foram capturados na armadilha sem iscas (controle) no

ambiente de mata. Nesta mesma armadilha, no ambiente peridomiciliar, números menores, 4 (5,0%) machos e 1 (1,9%) fêmea, foram coletados (tabela 11).

Tabela 11. Número total de machos e fêmeas de *Lutzomyia intermedia* coletadas em armadilhas tipo Disney, sem isca (controle) e com isca (cão, gambá, roedor), nos ambientes de mata e peridomiciliar, na zona rural do município de Conchal, no período de agosto/1999 a abril/2000.

Isca	Mata			Peridomicílio		
	Machos	Fêmeas	% Fêmeas	Machos	Fêmeas	% Fêmeas
Cão	119	66	35,7	43	33	43,4
Gambá	76	35	18,9	23	10	30,3
Roedor	84	22	20,8	11	9	45,0
Controle	20	8	28,6	4	1	20,0
Total	299	131	-	81	53	-
Média	-	-	26,0	-	-	29,7

A análise dos dados mês a mês (tabelas 12^a e 12b), controlando a noite de coleta e a posição das iscas, mostrou que na maioria das vezes as fêmeas de *L. intermedia s.l.* foram atraídas igualmente pelas diferentes iscas, nos dois ambientes investigados. Entretanto, quando ocorre diferença na atratividade, o cão é o mais selecionado. Somente no mês de agosto, quando ocorreu a maior abundância relativa do número de fêmeas coletadas, ocorreu uma diferença significativa de atratividade do cão em relação ao gambá e roedor no ambiente mata ($p < 0,05$, REGW Multiple Range Test) (tabelas 12a e 12b).

Tabela 12a. Raiz Quadrada do número de fêmeas (Desvio Padrão) de *Lutzomyia intermedia* coletadas em cada experimento na mata, em armadilhas tipo Disney, sem isca (controle) e com isca (cão, gambá, roedor) na área de Conchal, no período de agosto de 1999 a abril de 2000.

Mês	Mata				
	Total	Cão	Gambá	Roedor	Controle
Ago/99	46	2,6 ^a (0,9)	0,9 ^b (1,1)	0,8 ^b (1,1)	0,8 ^b (1,1)
Nov/99	34	1,2 ^a (1,6)	1,5 ^a (1,2)	1,2 ^a (0,9)	0,0 ^b (0,0)
Fev/00	23	1,6 ^a (0,3)	1,2 ^{ab} (0,2)	1,0 ^{ab} (0,7)	0,3 ^b (0,5)
Abr/00	26	1,8 ^a (0,5)	1,1 ^a (0,8)	0,6 ^a (0,7)	0,6 ^a (0,7)

Números na mesma linha com sobrescritos com diferentes letras são significativamente diferentes pelo REGW Multiple Range Test, com 5 % de significância.

Tabela 12b Raiz Quadrada do número de fêmeas (Desvio Padrão) de *Lutzomyia intermedia* coletadas em cada experimento no peridomicílio, em armadilhas tipo Disney, sem isca (controle) e com isca (cão, gambá, roedor) na área de Conchal, no período de agosto de 1999 a abril de 2000.

Mês	Peridomicílio				
	Total	Cão	Gambá	Roedor	Controle
Ago/99	08	0,7 ^a (0,8)	0,6 ^a (0,7)	0,3 ^a (0,5)	0,0 ^a (0,0)
Nov/99	12	1,2 ^a (1,1)	0,5 ^a (0,6)	0,3 ^a (0,5)	0,0 ^a (0,0)
Fev/00	08	0,8 ^a (0,9)	0,3 ^a (0,5)	0,4 ^a (0,7)	0,0 ^a (0,0)
Abr/00	25	1,8 ^a (0,8)	0,9 ^{ab} (0,6)	1,1 ^{ab} (0,2)	0,3 ^b (0,5)

Números na mesma linha com sobrescritos com diferentes letras são significativamente diferentes pelo REGW Multiple Range Test, com 5 % de significância.

4.4.2. Hábito alimentar

Nas coletas direcionadas para os prováveis abrigos naturais dos flebotomíneos, pode-se observar que ocorreu uma diferença significativa na distribuição de fêmeas ingurgitadas ($X^2=42,8$, $gl=3$, $p<0,001$), pelos diferentes ambientes pesquisados (tabela 13). O maior número foi coletado no intradomicílio (32), perfazendo um total de 54,2% das fêmeas. Do total de 59 fêmeas ingurgitadas, 52 reagiram positivamente para um dos antisoros testados na reação de precipitação (humano, ave, marsupial, roedor e canídeo) (tabela 13). Das fêmeas coletadas no intradomicílio com reação positiva, 21 (77,7%) alimentaram-se em humanos e 6 (22,2%) em cão. Tanto no peridomicílio como na margem da mata prevaleceu a alimentação das fêmeas de *L. intermedia* s.l. em aves, com 9 (50,0%) e 6 (100%), respectivamente. Ainda no ambiente peridomiciliar, 5 (27,7%) das fêmeas, com reação positiva, alimentaram-se em humanos, 3 (16,7%) em cães e 1 (5,5%) em roedor (tabela 13). Nenhuma alimentação múltipla, definida pela identificação de mais de uma fonte sanguínea tomada por uma fêmea, foi detectada. Muito provavelmente, os testes não reagentes foram devidos a pouca quantidade de sangue encontrado nas fêmeas testadas. No ambiente de mata apenas 2 fêmeas ingurgitadas foram coletadas e somente uma apresentou reação positiva, no caso, para humano.

Tabela 13. Identificação do sangue ingerido, em número e porcentagem, de fêmeas de *L. intermedia s.l.* coletadas em diferentes ambientes, na zona rural do município de Conchal, nos períodos de setembro de 1994 a agosto de 1995 e de agosto a dezembro de 1999.

Ambiente	Número de fêmeas ingurgitadas	Número de testes reagentes	Número (%) de reações positivas para diferentes anti-soros				
			H	A	M	R	C
Intradomicílio	32	27	21 (77,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	6 (22,5)
Peridomicílio	19	18	5 (27,7)	9 (50,0)	0 (0,0)	1 (5,5)	3 (16,7)
Margem mata	6	6	0 (0,0)	6 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Mata	2	1	1 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Total	59	52	27 (51,9)	15 (28,8)	0 (0,0)	1 (1,9)	9 (17,3)

(H = humano; A = ave; M = marsupial; R = roedor; C = canídeo)

5. DISCUSSÃO

Lutzomyia intermedia s.l. esteve representada por 99,4% do total de flebotomíneos coletados na zona rural do município de Conchal. A predominância de *L. intermedia* s.l. em ambientes alterados na Região Sudeste do Brasil tem sido bastante documentada (GOMES e col. 1983; 1986; 1989; GOMES e GALATI 1987; RANGEL e col. 1986; 1990; FALQUETO 1995). Pesquisas extensivas, realizadas na região do Vale do rio Mogi Guaçu, demonstraram que esta predominância apresentase de forma quase que absoluta, mostrando a adaptação dessa espécie nas localidades onde ocorrem pequenos remanescentes de matas ciliares (FORATTINI e col. 1976; GOMES e col. 1989). Também em coletas esporádicas realizadas pela SUCEN, objetivando confirmação de autoctonia dos casos de leishmaniose tegumentar ocorridos em inúmeras localidades desta região, *L. intermedia* s.l. sempre se apresentou como espécie predominante (SES- CVE 1995; SUCEN²). Na área onde foi realizado este estudo, o encontro de *L. intermedia* s.l. em proporções altas, em todos os meses do ano e com distribuição marcante nos ambientes de mata e domiciliar, já havia sido registrado anteriormente (CASANOVA e col. 1995). Desta forma, alguns pesquisadores sugeriram que *L. intermedia* s.l. desempenhe importante papel na transmissão domiciliar da leishmaniose tegumentar ao homem e na manutenção do ciclo enzoótico, na região Nordeste do Estado de São Paulo (FORATTINI e col. 1976; GOMES e col. 1989; CASANOVA e col. 1995). A predominância desta espécie por toda a região de planície do Vale do rio Mogi Guaçu, onde as inundações anuais das matas ciliares são freqüentes na estação

² Superintendência de Controle de Endemias-São Paulo: Boletim de Captura de Flebotomíneos.

chuvosa, sugere que os estágios imaturos de *L. intermedia* s.l. estejam melhores adaptados, do que os de outras espécies, a esses terrenos. A constatação do aumento da abundância populacional de *L. intermedia* s.l., em poucas semanas, após os episódios de inundação, parece indicar que as inundações fornecem condições ótimas para o seu desenvolvimento.

A presença de números inexpressivos de *L. whitmani* e *L. pessoai*, já havia sido assinalada na região do vale do rio Mogi Guaçu (FORATTINI e col. 1976 e col. 1976; GOMES e col. 1989; CASANOVA e co. 1995). Embora, *L. whitmani* não demonstre exercer importante papel na transmissão da leishmaniose tegumentar nesta região, seu alto grau de antropofilia e presença em altas densidades, inclusive no ambiente domiciliar, em outras áreas do Estado de São Paulo, não permite descartar sua participação na transmissão ao homem ou na manutenção do ciclo enzoótico da *L. braziliensis* em algumas localidades. *L. whitmani*, espécie amplamente distribuída pelo Brasil (YOUNG e DUNCAN 1994), é apontada como principal vetor de espécies de *Leishmania* (*Viannia*) em diferentes regiões (MAYRINK e col. 1979; VEXENAT e col. 1986; BRANDÃO-FILHHO e col. 1994; PASSOS e col. 1993; QUEIROZ e col. 1994; AZEVEDO e col. 1996, TEODORO 1995), apresentando diferenças quanto ao grau de adaptação ao ambiente modificado. Recentemente, tem sido observado que esta espécie apresenta também diferenças quanto ao grau de antropofilia (CAMPBELL-LENDRUM e col. 1999), endofilia (CAMPBELL-LENDRUM e col. 2000) e composição genética (RANGEL e col. 1996; ISHIKAWA e col. 1999). Essas variações comportamentais, genéticas e de participação na transmissão da leishmaniose tegumentar, ensejam a realização de estudos sobre parâmetros da capacidade vetorial das populações de *L. whitmani*.

Mesmo, considerando-se que *L. intermedia* s.s. e *L. neivai* constituam o complexo *L. intermedia* e, ainda, que nenhuma destas duas espécies preencham os requisitos para serem consideradas como vetoras comprovadas (KILLICK-KENDRICK 1990), ambas têm sido incriminadas como suspeitas na participação da transmissão da leishmaniose tegumentar americana, em suas respectivas áreas de distribuição (MARCONDES 1996; 1997; MARCONDES e col. 1998). No Brasil este complexo tem uma distribuição conhecida desde o estado do Piauí até o Rio Grande do Sul. Na região Sudeste *L. intermedia* s.s. foi encontrada nos Estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo, a leste de Minas Gerais e em São Paulo, a leste da Serra do Mar, sendo o litoral deste Estado seu limite extremo sul. *L. neivai* foi encontrada desde o oeste de Minas Gerais, extremo norte de sua distribuição, até o Rio Grande do Sul, sendo que em São Paulo ocorreu na Serra do mar e a oeste desta (MARCONDES 1997; MARCONDES e col. 1998). Portanto, muito provavelmente, os exemplares de *L. intermedia* coletados na zona rural do município de Conchal e em todo o Vale do rio Mogi Guaçu, pertenceriam a *L. neivai*. Como, já sugerido por MARCONDES ecol. (1998), essa possível divisão do complexo *L. intermedia*, torna clara a importância de realização de estudos que permitam determinar as localidades e regiões em que cada uma destas espécies ocorre e verificar possíveis diferenças nos parâmetros ecológicos de capacidade e competência vetorial das mesmas. Tais investigações poderão fornecer subsídios para o entendimento da distribuição de casos de leishmaniose tegumentar nas várias regiões do Estado de São Paulo.

Os dados de dispersão ambiental e dos parâmetros populacionais de *L. intermedia* s.l., componentes importantes para o entendimento do potencial desta espécie para atuar como vetora da leishmaniose tegumentar americana, só puderam

ser obtidos, em campo, pelo cumprimento dos pré-requisitos indispensáveis para uso da técnica de marcação-soltura-recaptura. A condição de que a marcação não afete a sobrevivência dos indivíduos, e que estes permaneçam marcados por toda vida, ou pelo menos, durante o período do experimento (SOUTHWOOD 1978; BEGON 1979) foi satisfeita. O teste realizado em laboratório, com exemplares machos e fêmeas de *L. intermedia s.l.*, mostrou que o pó fluorescente e a técnica empregada para a marcação dos flebotomíneos foi eficaz, pois não afetou a sobrevivência dos indivíduos marcados e todos permaneceram marcados até o final do experimento. Outros estudos realizados com flebotomíneos, embora empregando procedimentos diferentes para realizar a marcação, também demonstraram que o uso do pó fluorescente não afetava a sobrevivência dos indivíduos (CHANIOTIS e col. 1974; MORRISON e col. 1993; PARDO e col. 1996).

Outros requisitos que também devem ser considerados para verificar a adequação da técnica de marcação são: os indivíduos marcados devem se misturar à população e devem ser amostrados aleatoriamente, independentemente de estarem marcados; o período de amostragem deve ser curto e discreto e; as taxas de adição e de perda devem ser insignificantes ou estimadas (SOUTHWOOD 1978; BEGON 1979).

Com relação ao requisito de que os indivíduos marcados devam se misturar à população e ser amostrados aleatoriamente, verificou-se neste estudo, que os indivíduos marcados e não marcados foram coletados em praticamente todas as armadilhas, sempre com uma maior proporção de não marcados. Considerou-se portanto, que os indivíduos marcados se misturaram à população. Por outro lado, os indivíduos marcados com pó fluorescente não são distinguíveis a olho nu, e portanto

sua amostragem foi aleatória. As coletas dos flebotomíneos foram realizadas em períodos de 3 horas por noite, em 5 a 7 dias seguidos após a soltura, atendendo ao requisito de períodos de amostragem curtos e discretos. Finalmente, devido ao isolamento da área de estudo, a qual possui barreiras físicas bem nítidas, representadas pelo rio e pelas extensas áreas abertas, considerou-se insignificante a ocorrência de imigração e emigração de indivíduos durante o período de estudo. Desta forma, a técnica de marcação empregada foi considerada confiável e satisfatória para a realização de estudos em campo, visando obter dados sobre a dispersão ambiental e os parâmetros populacionais de *L. intermedia s.l.*.

Com relação à taxa de recaptura, verificou-se que a taxa total de 7,6%, obtida para *L. intermedia s.l.*, foi comparável àquelas obtidas em outros estudos realizados com diferentes espécies do Novo Mundo (CHANIOTIS e col. 1974; DYE e col. 1991; ALEXANDER e YOUNG 1992; MORRISON e col. 1993; PARDO e col. 1996). A maior taxa de recaptura de machos de *L. intermedia s.l.*, em relação às fêmeas, nas coletas com armadilhas de Shannon, pode estar relacionada com a tendência dos machos se deslocarem menos do que as fêmeas, conforme demonstrado pela média aritmética, amplitude máxima e média diária de dispersão

Os resultados dos experimentos de dispersão mostram que *L. intermedia s.l.* não se desloca a longas distâncias na área de estudo. A média aritmética de distância de dispersão foi igual a 53 m, sendo que aproximadamente 90% dos indivíduos, tanto machos como fêmeas, foram recapturados a menos de 70 m do ponto de soltura. Nas armadilhas CDC situadas entre 100 e 160 metros de distância do ponto de soltura, apenas dois exemplares foram recapturados. Nenhum exemplar foi recapturado nas armadilhas dispostas a 160 m do ponto de soltura. No entanto, é importante salientar

que uma fêmea, solta na margem da mata, atravessou 128 m para alcançar um dos peridomicílios da área. Uma vez que os flebotomíneos recapturados não foram soltos novamente, a chance de realizarem dispersão por distâncias maiores a partir do ponto da recaptura, não pode ser investigada. No entanto, também a estimativa de distância média de dispersão diária, mostrou que no período compreendido entre 2 a 7 dias após a soltura, os indivíduos mantiveram-se a distâncias inferiores a 60 m do ponto de soltura. Essas distâncias de dispersão de *L. intermedia s.l.* são semelhantes às aquelas observadas para outras espécies de flebotomíneos da região neotropical (CHANOTIS 1974; ALEXANDER 1987; ALEXANDER e YOUNG 1992), mas são inferiores às distâncias encontradas para os flebotomíneos de regiões áridas e semi-áridas do Velho Mundo, para os quais foram registradas dispersões acima de 1 km (KILLICK-KENDRICH e col. 1984; DOHA e col. 1991). Possivelmente, a tendência de dispersão baixa encontrada para *L. intermedia s.l.* esteja relacionada à alta disponibilidade de alimento e de abrigos naturais, cuja falta, serviriam de estímulo à dispersão. Assim, os flebotomíneos de áreas de mata estariam menos motivados a abandonar seu ambiente do que os flebotomíneos que habitam áreas com condições ambientais mais rigorosas, como aquelas das regiões áridas (CHANOTIS e col. 1974; ALEXANDER e YOUNG 1992). Em área de floresta úmida do Panamá, CHANOTIS e col. (1974), recapturaram cerca de 90% dos flebotomíneos a menos de 60 m dos pontos de soltura e somente 4 indivíduos a 200 m de distância. Na Colômbia, em área de plantação de café entremeada por árvores de grande porte, remanescentes de floresta original, aproximadamente 74% dos flebotomíneos, representados por várias espécies, foram recapturados a distâncias inferiores a 80 m. Posteriormente, nessa mesma área, ALEXANDER e YOUNG (1992), demonstraram

que a maioria dos flebotomíneos foi recapturada a até 200 m do ponto de soltura e, chamaram a atenção para o fato de que uma fêmea de *Lutzomyia gomezi*, 11 dias após a soltura, ter se dispersado por quase 1 km. Em outra área da Colômbia, em região endêmica de leishmaniose visceral, foi observado que do total de indivíduos de *L. longipalpis* recapturados, 49% foram coletados a distâncias menores do que 50 m, 48% entre 100 e 300 m e, apenas, 3% a distâncias maiores do que 500 m (MORRISON e col. 1993). No Estado do Pará, no Brasil, DYE e col. (1991), recapturaram a maioria dos exemplares de *L. longipalpis* a distâncias menores do que 100 m e um único exemplar macho a 700 m do ponto de soltura.

Pelas coletas realizadas com armadilhas de Shannon, também pode ser observado que em praticamente todos os meses, os indivíduos de *L. intermedia s.l.* soltos na margem da mata, apresentaram uma maior tendência a se dispersarem em direção ao interior da mata e, em menor grau, se deslocarem pela margem da mata. A tendência de dispersão para o ambiente peridomiciliar observada no mês de abril de 2000 e, em proporções relativas menores, nos outros meses de estudo, demonstrou que *L. intermedia s.l.* pode se deslocar da mata e alcançar o ambiente domiciliar, localizado na área de estudo a distâncias de até 70 m.

Levando-se em conta o padrão de dispersão de *L. intermedia s.l.* na área de estudo e assumindo que a transmissão ao homem na região ocorre, principalmente, no ambiente domiciliar (TOLEZANO 1994; MASCARINI e col. 1995), a origem da infecção neste ambiente pode ser pensada em termos de que a partir de um ciclo enzoótico na mata as fêmeas infectadas alcançariam os domicílios situados a menos de 130 m e, assim, transmitiriam a infecção ao homem e animais domésticos. Uma provável origem da infecção nos vetores adaptados ao ambiente domiciliar, a partir de

mamíferos silvestres que habitam as matas residuais, já foi sugerida por LAINSON (1989) e LAINSON e col. (1994).

Por outro lado, as evidências de existência de criadouros de *L. intermedia s.l.* no ambiente peridomiciliar, na região de estudo (CASANOVA 2000), deixam em aberto a possibilidade de ocorrência de ciclos extraflorestais com a participação de animais domésticos como reservatórios da *Leishmania braziliensis*, ou da entrada de animais silvestres infectados no ambiente peridomiciliar.

O conhecimento da dispersão de um vetor é útil na determinação da taxa potencial de disseminação de um patógeno. Assim, este estudo parece indicar que *L. intermedia s.l.*, apresentando baixas distâncias de dispersão, deve enquanto vetor, manter o patógeno circulando em áreas restritas, explicando a ocorrência de casos focais, como ocorre na região do Vale do rio Mogi Guaçu.

A criação de “zonas livres” de vegetação em torno dos domicílios, como alternativa ao controle químico, se colocada em prática em regiões onde *L. intermedia s.l.* é a espécie predominante, deveria levar em conta a amplitude máxima de vôo, de aproximadamente 130 m, demonstrada no presente estudo.

Embora definido de vários modos, o ciclo gonotrófico de uma espécie, tem sido considerado mais comumente como o intervalo de tempo entre um repasto sanguíneo e a oviposição (SERVICE 1993). Desta forma, o tempo de duração do ciclo gonotrófico de *L. intermedia s.l.* estimado, neste estudo, em condições naturais, foi, aproximadamente, de 3,5 dias. Provavelmente, algumas das fêmeas recapturadas, sem sangue ou ovos no abdômen, na quarta noite após a alimentação, estariam aptas a realizar um outro repasto sanguíneo. Para esta mesma espécie, GOMES e col. (1982), em ecótopo artificial, observaram que a duração do ciclo gonotrófico variou de 6 a 10

dias, e RANGEL e col. (1985), em condições de laboratório, encontraram o pico de desova no 5º dia após a alimentação sanguínea. Estes autores também constataram a ocorrência de concordância gonotrófica em *L. intermedia s.l.*. Em experimentos de marcação-soltura-recaptura na França, KILLICK-KENDRICK e GUY (1981) citado por KILLICK-KENDRICK (1991), observaram que a oviposição de *Phlebotomus ariasi* ocorria, normalmente, no 6º dia após a alimentação sanguínea e a procura por nova alimentação ocorria a partir do dia seguinte a oviposição.

O sucesso em adquirir uma refeição sanguínea e a duração do ciclo gonotrófico determinam a frequência de contato homem-vetor e, assim, a eficiência e a taxa de transmissão de um parasita. Caso, um novo repasto sanguíneo seja realizado no mesmo dia, ou no dia seguinte, após a oviposição, *L. intermedia s.l.* teria o potencial de se alimentar a cada 3, 4 ou 5 dias. Caso, as fêmeas de *L. intermedia s.l.* tornem-se infectantes com *Leishmania braziliensis* a partir do 3º dia após o repasto sanguíneo infectivo, quando já pode ser observado um aumento expressivo do número de formas promastigotas no intestino médio, ou a partir do 5º dia, quando uma infecção massiva de formas promastigotas já pode ser observada na válvula esofágica (RANGEL e col. 1992) então, na realização do segundo repasto sanguíneo, uma proporção das fêmeas já poderia transmitir o parasita.

A sobrevivência diária é reconhecida como o parâmetro que causa maior impacto sobre o potencial de transmissão de uma espécie vetora, uma vez que a expectativa de vida do vetor determina o seu tempo de vida infectante. A taxa de sobrevivência diária de aproximadamente 67,5% encontrada para *L. intermedia s.l.* na zona rural do município de Conchal, reflete uma expectativa de vida de 2,54 dias. Esta expectativa de vida, associada a uma duração média de 3,5 dias do ciclo

gonotrófico, indica que grande parte da população de fêmeas não sobreviveria após a primeira oviposição. Estes resultados sugerem que, provavelmente, não com taxas tão altas, a mortalidade de fêmeas durante a oviposição, freqüentemente observada em laboratório, também deve ocorrer na natureza.

Considerando-se que o ciclo de *Leishmania braziliensis* no vetor ocorra entre 3 e 5 dias (RANGEL e col. 1992), tem-se que a probabilidade média das fêmeas de *L. intermedia s.l.* sobreviverem o suficiente para transmitir o parasita (s^n) será de aproximadamente 22,3% (variando entre $0,6743^3 = 30,7\%$ e $0,6743^5 = 13,9\%$), onde s é a taxa de sobrevivência diária e n é a duração do ciclo do parasita no vetor. Essa baixa proporção de flebotomíneos que alcançam uma idade na qual podem se tornar infectantes permite supor que *L. intermedia s.l.* não tenha um potencial alto para realizar a transmissão. Esses valores podem explicar a baixa endemicidade da doença na região de estudo. Por outro lado, fica demonstrada a capacidade de *L. intermedia s.l.* realizar a transmissão da *Leishmania* pois, a sobrevivência de uma parte da população de fêmeas por mais de 10 dias e a possibilidade das mesmas realizarem uma refeição sanguínea, em média, a cada 4 dias, indica que estas fêmeas têm o potencial de realizar pelo menos 3 alimentações durante sua vida.

Neste sentido, pode-se inferir pelas observações acima, que altas densidades de fêmeas de *L. intermedia s.l.* poderiam compensar sua baixa taxa de sobrevivência e, assim, conferir um aumento no potencial de transmissão. No estudo ficou evidenciada uma grande diferença mensal na abundância absoluta da população de *L. intermedia*, a qual variou, para as fêmeas de 2.462 no mês de setembro de 1999 a 20.637 no mês de novembro de 1999. A aplicação de uma sobrevivência diária de 0,6743 a essa população resultaria, por exemplo, ao final de 3 a 5 dias (tempo

estimado do ciclo do parasita no vetor) em 755 ou 343 fêmeas para o mês de setembro de 1999, e 6.327 ou 2.877 fêmeas para o mês de novembro de 1999, com conseqüências epidemiológicas bastante distintas. Assim, considerando-se uma mesma taxa de sobrevivência diária para todos os meses do ano, pode-se supor que aqueles que apresentaram maiores densidades populacionais representariam maior risco para a ocorrência de transmissão da leishmaniose tegumentar. A inexistência de dados referentes à sobrevivência de flebotomíneos, em condições naturais, não permite que sejam feitas comparações com as estimativas e projeções obtidas neste estudo.

Quanto ao comportamento alimentar, as fêmeas de *L. intermedia* s.l. não demonstraram possuir uma nítida preferência por qualquer um dos animais oferecido como iscas (cão, gambá e roedor), em nenhum dos dois ambientes investigados (interior da mata e peridomiciliar), sugerindo um comportamento oportunista em relação à escolha de alimento. No entanto, na única ocasião em que ocorreu uma diferença significativa na atração de alguma das iscas, ela se deu a favor do cão oferecido no ambiente de mata. Não se pode descartar a possibilidade de que essa maior tendência observada de atração pelo cão, pode estar relacionada ao seu maior tamanho, quando comparado ao gambá e roedor. QUINELL e col. (1992), observaram na Ilha de Marajó, para *L. longipalpis*, que a atratividade pelos hospedeiros utilizados em seus experimentos tinha uma relação positiva com o maior tamanho e/ou número dos mesmos. Esta mesma relação com o tamanho do hospedeiro foi sugerida para *L. whitmani*, de diferentes regiões do Brasil (CAMPBELL-LENDRUM e col. 1999) e para *L. whitmani* e *L. intermedia*, em experimentos realizados em uma localidade do Estado do Paraná (PINTO e col. 2001). Diferentemente, outros estudos realizados com diferentes espécies de

flebotomíneos indicaram a ocorrência de preferência independentemente do tamanho dos hospedeiros oferecidos como iscas (SHAW e LAINSON 1968; CHRISTENSEN e HERRER 1980; AGUIAR e col. 1987; MONTOYA-LERMA e LANE 1996). Em duas áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar do Estado do Espírito Santo, FALQUETO (1995), encontrou diferença na atratividade do cão e de vários animais silvestres para diferentes espécies de flebotomíneos, sendo que *L. intermedia s.l.* apresentou alta atratividade pelo cão.

O fato de *L. intermedia s.l.* ter apresentado um comportamento oportunista em relação à escolha dos hospedeiros utilizados nos experimentos, e de serem estes representantes dos grupos de animais reconhecidos como possíveis reservatórios silvestres (gambá e roedor), ou domésticos (cão), apontam para a possibilidade de sua atuação na manutenção do ciclo enzoótico e/ou domiciliar da leishmaniose.

Embora, os machos de *L. intermedia s.l.* não se alimentem de sangue, eles parecem ser atraídos pelas iscas e podem, como observado em *L. longipalpis*, exercer importante papel na atratividade das fêmeas. QUINELL e DYE (1994) e KELLY e DYE (1997) notaram que os ferormônios liberados pelos machos de *L. longipalpis*, agregados em grande número sobre os hospedeiros ou nas proximidades destes, atuavam como atrativos sobre as fêmeas.

Segundo BRAY (1982), o animal reservatório ideal para as espécies de *Leishmania* deve, entre outras características, ser atrativo e servir como fonte principal de alimento para as fêmeas de flebotomíneos. Este dado é normalmente alcançado com a identificação sorológica do sangue ingerido pelos flebotomíneos. O presente estudo, apresenta a primeira tentativa de determinação do comportamento alimentar de *L. intermedia s.l.*, baseada na identificação do sangue ingerido na

natureza. Os resultados obtidos também mostraram o comportamento oportunista da espécie pois, nos diferentes ambientes investigados, a maior disponibilidade de um tipo de hospedeiro serviu como fonte de alimentação para uma maior proporção de fêmeas ingurgitadas. Como, a leishmaniose tegumentar é uma zoonose e o homem representa um hospedeiro acidental, torna-se evidente que a transmissão ao homem deve ser feita por vetores oportunistas, que incluam o homem e os animais reservatórios como fontes de alimentação.

Embora, ocorrendo em proporções muito diferentes, a participação do homem e do cão (no ambiente intradomiciliar), e do homem, do cão e do roedor (no ambiente peridomiciliar), como fontes de alimentação para *L. intermedia s.l.*, demonstra que esses ambientes seriam suscetíveis à introdução e circulação do parasita responsável pela leishmaniose na área de estudo. Assim, levando-se em conta apenas o comportamento alimentar, a taxa de transmissão do parasita poderia ser influenciada pela quantidade de fontes de infecção disponíveis na área. Alguns pesquisadores questionam o papel do cão como reservatório da *Leishmania*, mas, apontam para a importância dos mamíferos silvestres servirem como fonte de infecção para a população de flebotomíneos do ambiente peridomiciliar (GOMES e col. 1989; 1990; GOMES 1994) ou daqueles do ambiente próximo às matas (LAINSON 1989), os quais poderiam, posteriormente, transmitir o parasita ao homem no ambiente domiciliar.

Observações sobre distribuição mensal e sazonal, dispersão, duração do ciclo gonotrófico, sobrevivência e comportamento alimentar, permitiram avaliar o potencial biológico de *L. intermedia s.l.* como vetor da leishmaniose tegumentar na zona rural do município de Conchal. O estudo indicou um baixo potencial de transmissão, caso

fosse levado em conta apenas os resultados da taxa de sobrevivência diária. A expectativa de vida, resultante dessa taxa, demonstra que apenas uma pequena proporção da população de fêmeas atingiria idade na qual elas podem se tornar infectantes. No entanto, outros fatores que permitem estimar o potencial de transmissão, tais como: a curta duração do ciclo gonotrófico, que aumenta a frequência de picadas; o comportamento alimentar, que mostrou ser oportunista e com alta proporção de sangue humano no ambiente domiciliar; a dispersão ambiental, que indicou a possibilidade de uma parte da população alcançar o ambiente domiciliar e; finalmente, a alta densidade absoluta, alcançada em alguns meses do ano, podem compensar a baixa sobrevivência e a correspondente expectativa de vida estimada para a população de *L. intermedia s.l.* na área de estudo.

Esta avaliação do potencial de transmissão de *L. intermedia s.l.* tem correspondência com o padrão epidemiológico da leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo, particularmente na região de estudo, que se caracteriza por apresentar casos esporádicos ou microfocos, baixa incidência de casos e com transmissão ocorrendo, principalmente, no ambiente domiciliar.

6. CONCLUSÕES

Lutzomyia intermedia é a espécie predominante na zona rural do município de Conchal, está presente em todos os meses do ano e se distribui preferencialmente no interior de matas ciliares residuais e no peridomicílio de residências próximas a essas matas.

A dispersão ambiental de *L. intermedia s.l.* parece ser baixa. Os indivíduos se deslocaram por distâncias de até 120 m mas, a maioria das recapturas, ocorreram a distâncias menores do que 70 m. Foi observado que exemplares soltos na margem da mata alcançaram os domicílios.

A taxa de sobrevivência diária estimada para os indivíduos de *L. intermedia s.l.* foi de aproximadamente 67,5%, resultando numa expectativa de vida baixa, menor do que 3 dias, e indicando que uma baixa proporção de fêmeas alcançaria idades infectantes.

O ciclo gonotrófico, estimado em condições naturais, foi completado em 3 ou 4 dias, indicando que o contato homem-vetor pode ocorrer, em média, a cada 4 dias. Este tempo, associado à constatação de que pelo menos parte da população de fêmeas sobrevive por mais de 10 dias, demonstra a possibilidade destas fêmeas realizarem até 3 alimentações durante a vida.

O comportamento alimentar de *L. intermedia s.l.* é oportunista pois, ajusta seu padrão de alimentação à disponibilidade de hospedeiros. No ambiente domiciliar, a taxa de alimentação no homem foi prevalente.

Tendo em vista os diversos parâmetros ecológicos estimados, tais como, um comportamento alimentar oportunista, alta frequência de alimentação e alta

abundância da população em determinados meses do ano, pode-se concluir que *L. intermedia s.l.* tem potencial biológico para atuar como vetor da leishmaniose tegumentar. No entanto, a baixa taxa de sobrevivência diária estimada e a baixa expectativa de vida encontrada, sugere que este potencial seja baixo, o que está em concordância com a baixa incidência da endemia na região de estudo

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguiar GM, Vilela ML, Soucasaux T. Aspectos da ecologia dos flebótomos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, estado do Rio de Janeiro. V. Preferências Alimentares (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1986; 81(4):477-9.

Aguiar GM, Vilela, ML, Lima BR. Ecology of the sand flies of Itaguaí, an area of cutaneous leishmaniasis in state of Rio de Janeiro. Food preferences. (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1987; 82(4): 583-4.

Alexander JB. Dispersal of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a Colombia coffee plantation. **J Med Entomol** 1987; 24: 552-8.

Alexander JB, Young DG. Dispersal of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a Colombian focus of *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1992; 87: 397-403.

Azevedo ACR, Vilela ML, Souza NA Andrade Coelho CA, Barbosa AF, Firmo ALS, Rangel EF. The sandfly fauna (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of a focus of cutaneous leishmaniasis in Ilhéus, State of Bahia, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1996; 91 (1): 75-79.

Bailey NT. Improvements in the interpretation of recapture data. **J Anim Ecol** 1952; 21: 120-127.

Begon M. **Investigating animal abundance: capture-recapture for biologists**. London: Edward Arnold; 1979.

Brandão-Filho SP, Carvalho FG, Brito MEF, Almeida FA, Nascimento LA. American cutaneous leishmaniasis in Pernambuco, Brazil: eco-eidemiological aspects in Zona da Mata Region. 1994 **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1994; 89 (3): 445-449.

Bray RS. The zoonotic potencial of reservoirs of leishmaniasis in the old world. **Ecol Disease** 1982; 1(4): 257-67.

Brenner JR, Wargo MJ, Stains GS, Mulla MS. The Dispersal of *Culicoides mohave* (Diptera: Ceratopogonidae) in the desert of southern California. **Mosquito News** 1984; 44: 343-350.

Camargo-Neves VLF. **Características da transmissão da leishmaniose tegumentar americana no estado de São Paulo, Brasil**. São Paulo; 1999. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

Campbell-Lendrum DH, Brandão-Filho SP, Ready PD, Davies CR. Host and/or site loyalt of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) in Brazil. **Med Vet Entomol** 1999, 13: 209-211.

Campbell-Lendrum DH, Pinto MC, Brandão-Filho SP, Souza AA, Ready PD, Davies CR. Experimental comparison of anthropophily between geographical dispersed populations of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae). **Med Vet Entomol** 1999, 13: 299-309.

Campbell-Lendrum DH, Brandão-Filho SP, Pinto MC, Ready PD, Davies CR. Domesticity of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) populations: field experiments indicate behavioural differences. **Bull Entomol Res** 2000, 90: 41-48.

Casanova C, Mayo RC, Rangel O, Mascarini LM, Pignatti MG, Galati EAB, Gomes AC. Natural *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva) infection in the Valley of Mogi-Guaçu River, State of São Paulo, Brazil. **Bol Dir Malarial y San Amb** 1995; 35(Supl. 1): 77- 84.

Casanova C. A soil emergence trap for collections of phlebotomine sand flies. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 2000; 96(2): 273-275.

Chaniotis BN, Correa MA, Tesh RD, Johnson KM. Horizontal and vertical movements of phlebotomine sand flies in a Panamanian rain forest. **J Med Entomol** 1974; 11: 363-75.

Christensen HA, Herrer A. Panamanian *Lutzomia* (Diptera: Psychodidae)) host attraction profiles. **J Med Entomol** 1980; 17(6): 522-28.

Christensen HA, Vasquez AM. The tree-buttress biotope: a pathobiocenose of *Leishmania braziliensis*. **Am Soc Trop Med Hyg**. 1982; 31(2): 243-51.

Christensen HA, Arias JR, Vasquez AM, Freitas R. Hosts of sand fly vectors of *Leishmania braziliensis guyanensis* in the Central Amazon of Brazil. **Am J Trop Med Hyg**, 1982; 31: 239-242.

Christensen HA, Fairchild GB, Herrer A, Jonhson CM, Young DG, Vasquez AM. The ecology of cutaneous leishmaniasis in the Republic of Panama. **J Med Entomol** 1983; 20: 463-484.

Disney RHL. A trap for phlebotomine sand flies attracted to rats. **Bul Entomol Res** 1966; 56: 445-51.

Doha S, Shehata MG, El Said S, El Sawaf B. Dispersal of *Phlebotomus papatasi* (Scopoli) and *P. langeroni* Nitzulescu in El Hammam, Matrouh Governorate, Egypt. **Ann Parasitol Hum Comp** 1991; 66: 69-76.

Dye C, Davies CR, Lainson R. Communication among phlebotomine sandflies: a field study of domesticated *Lutzomia longipalpis* populations in Amazonian Brazil. **Anim Behav** 1991; 42: 183-192.

Falqueto A. **Especificidade alimentar de flebotomíneos em duas áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar no Estado do Espírito Santo.** Rio de Janeiro; 1995.

[Tese de Doutorado – Instituto Oswaldo Cruz -FIOCRUZ].

Falqueto A, Grimaldi Jr G, Sessa, PA, Varejão JBM, Deane LM. *Lutzomyia gasparviannai*, Martins, Godoy & Silva, 1962, probable vector of *Leishmania mexicana* ssp. in Viana municipality, Espirito Santo State, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1985; 80(4): 497.

Forattini OP, Pattoli DGB, Rabello EX, Ferreira OA. Infecções naturais de mamíferos silvestres em área endêmica de leishmaniose tegumentar do Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Saúde Pública** 1972a; 6: 255-61.

Forattini OP, Pattoli DBG, Rabello EX, Ferreira OA. Infecção natural de flebotomíneos em foco enzoótico de leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Saúde Pública** 1972b; 6: 431-33.

Forattini OP, Pattoli DGB, Rabello EX, Ferreira OA. Nota sobre infecção natural de *Oryzomys capito laticeps* em foco enzoótico de leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Saúde Pública** 1973; 7: 181-4.

Forattini OP, Rabello EX, Serra OP, Cotrim MD, Galati EAB, Barata JMS. Observações sobre a transmissão da Leishmaniose Tegumentar no Estado de São Paulo, Brazil. **Rev Saúde Pública** 1976; 10: 31-43.

Forattini OP, Gomes AC, Natal D, Kakitani I, Marucci D. Preferências alimentares de mosquitos Culicidae no Vale do Ribeira, São Paulo, Brazil. **Rev Saúde Pública** 1987; 21: 171-87.

Garret-Jones C. The human blood index of malaria vectors in relation to epidemiological assessment. **Bull Wld Hlth** 1964; 30: 241-261.

Gibbs PE, Leitão-Filho HF. Floristic composition of an area of gallery forest near Mogi Guaçu, state of São Paulo, SE Brazil. **Rev Bras Bot.** 1978; 1: 151-156.

Gilles MT. Studies on the dispersion and survival of *Anopheles gambiae* Giles in east Africa, by means of marking and release experiments. **Bull Entomol Res** 1961; 52: 99-127.

Gomes AC, Rabello EX, Santos JLF, Galati EAB. Aspectos Ecológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana. 1-Estudo Experimental da frequência de flebotomíneos a ecótopos artificiais com referência especial a *Psychodopygus intermedius*. **Rev Saúde Pública** 1980; 14: 540-56.

Gomes AC, Rabello EX, Santos JLF, Galati EAB. Aspectos Ecológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana. 2-Ecótopo artificial como abrigo de *Psychodopygus intermedius* e observações sobre alimentação e reprodução sob influência de fatores físicos naturais. **Rev Saúde Pública** 1982; 16: 149-59.

Gomes AC, Rabello EX, Santos JLF, Galati EAB. Aspectos Ecológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana. 3-Observações naturais sobre o ritmo diário da atividade de *Psychodopygus intermedius* em ambiente florestal e extraflorestal. **Rev Saúde Pública** 1983; 17: 23-30.

Gomes AC, Santos JLF, Galati EAB. Ecological aspects of American cutaneous leishmaniasis. 4-Observations on the endophilic behavior of the sand fly and the vectorial role of *Psychodopygus intermedius* in the Ribeira Valley region of the São Paulo State, Brasil. **Rev Saúde Pública** 1986; 20(4): 280-87.

Gomes AC, Galati EAB. Aspectos ecológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana. 5-Estratificação da atividade espacial e estacional de Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) em áreas de cultura agrícola da região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Saúde Pública** 1987; 23(2): 136-42.

Gomes AC, Barata JMS, Rocha e Silva EO, Galati EAB. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. 6-Fauna flebotomínea antropófila de matas residuais situadas na região centro-nordeste do Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Inst Med Trop** 1989; 31(1): 32- 39.

Gomes AC, Ottati SM, Shaw JJ, Lainson R, Yamamoto YI. Active transmission of *Leishmania braziliensis brasiliensis* in the Serra do Mar Forest, São Paulo, Brasil. **Trans R S Trop Med Hyg** 1989; 83: 193.

Gomes AC, Coutinho SG, Paim GV, Ottati SM, Galati EAB, Nunes MP, Capinzaiki AN, Yamamoto YI, Rotter P Avaliação da atividade enzoótica de *Leishmania (Viannia) braziliensis*, em ambiente florestal e peridomociliar, região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo. **Rev Inst Med Trop** 1989; 32(2): 105- 115.

Gomes AC. Perfil epidemiológico da leishmaniose tegumentar americana no Brasil. **An bras Dermatol** 1992; 67: 55-60.

Gomes AC. Sand fly vectorial ecology in the State of São Paulo. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1994; 89(3): 457-60.

Grimaldi GJr, Tresh RB, McMahon-Pratt D. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the New World. **Am J Trop Med Hyg** 1989; 41: 687-725.

Guy MW, Killick-Kendrick R, Gill GS, Rioux JA Bray RS. Determination of the hosts of *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921 in the Cévennes by bloodmeal analyses. **Ann Parasitol Hum Comp** 1984; (5): 449-458.

Ishikawa EAY, Ready PD, Souza AA, Day JC, Rangel EF, Davies CR, Shaw JJ. A mitochondrial DNA phylogeny indicates close realationships between populations of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae, Plebotominae) from the rain-forest Regions of Amazônia and Northeast Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1999; 94: 339-345.

Jensen T, Washino RK. An assessment of the biological capacity of a sacramento valley population of *Aedes melanimon* to vector arboviruses. **Am J Trop Med Hyg** 1991; 44(4): 355-363.

Katz G. **Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana no estado de São Paulo, período de 1986 a 1995**. São Paulo; 1997. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina da USP].

Kelly DW, Dye C. Pheromones, kairomones and the aggregation dynamics of the sandfly *Lutzomia longipalpis*. **Anim Behav** 1997; 53: 721-31.

Kramer VL, Carper ER, Beesley C, Reisen WK. Mark-release-recapture studies with *Aedes dorsalis* (Diptera: Culicidae) in coastal northern California. **J Med Entomol** 1995; 32: 375-380.

Killick-Kendrick R. Recent advances and outstanding problems in the biology of phlebotomine sand flies. **Acta Tropica** 1978; 35: 297-313.

Killick-Kendrick R, Ward RD. The ecology of Leishmania. Proc. 3rd Env.Multicoll. Parasitology. Cambridge. **Parasitology** 1981; 82: 143-152.

Killick-Kendrick R, Rioux JA, Bailly M, Guy MW, Wilkes TJ, Guy FM, Davidson I, Knechtli R, Ward RD, Guilvard E, Perieres J, Dubois H. Ecology of leishmaniasis in the South of France. 20-Dispersal of *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921 as a factor in the spread of the visceral leishmaniasis in the Cévennes. **Ann Parasitol Hum Comp** 1984; 59: 555-72.

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

Killick-Kendrick R Biology of phlebotomine sandflies: a key factor in the transmission of the leishmaniasis. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1991; 86: 19-20.

Lainson R, Shaw JJ. Evolution, classification and geographical distribution. In: Peters W and Killick-Kendrick R eds. **The Leishmaniasis: Biology and medicine, vol.1**. London: Academic Press; 1987. p. 1-120.

Lainson R. Demographic changes and their influence on the epidemiology of the American leishmaniasis. In: Service MW ed. **Demography and Vector-Borne Diseases**. Boca Raton, FL: CRC Press; 1989. p. 85-106.

Lainson R, Shaw JJ, Silveira FT, Souza AAA, Braga R, Ishikawa EAY. The dermal leishmaniasis of Brazil, with special reference to the Eco-epidemiology of the Disease in Amazonia. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1994; 89: 435-443.

Leopoldo e Silva R, Corrêa FMA, Gomes AC, Yoshida ELA. Investigação epidemiológica sobre a leishmania tegumentar no município de Conchas, Estado de S. Paulo, Brasil. **Rev Ciên Bioméd** 1984; 5: 49-55.

Lewis DJ, Ward RD. Transmission and Vectors. In: Peters W and Killick-Kendrick R eds. **The Leishmaniasis biology and medicine. vol.1.** London: Academic Press; 1987. p. 235-262.

Lysenko AJ, Beljaev AE. Quantitative approaches to epidemiology. In: Peters W and Killick-Kendrick R eds. **The Leishmaniasis biology and medicine. vol.1.** London: Academic Press; 1987. p. 263-290.

Manly BFJ, Parr MJ. A new method of estimating population size, survivorship, and birth rate from capture-recapture data. **Trans Soc British Entomol** 1968; 18: 81-89.

Marcondes CB. A redescription of *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *intermedia* (Lutz & Neiva, 1912), and resurrection of *L. neivai* (Pinto, 1926) (Diptera, Psychodidae, Plebotominae). **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1996, 91:457-462

Marcondes CB. **Morfometria e DNA mitocondrial de populações sul americanas de *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera, Psychodidae, Plebotominae).** Curitiba; 1997. (Tese de Doutorado – Universidade Federal do Paraná).

Marcondes CB, Lazovei AL, Vilela JH. Distribuição geográfica de flebotomíneos do complexo *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera, Psychodidae). **Rev Soc Bras Med Trop** 1998; 31(1): 51-58.

Mascarini LM, Casanova C, Cipolli EAR, Mayo RC. Caracterização do perfil epidemiológico da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) na Bacia do Rio Mogi-guaçu, Estado de São Paulo [resumo]. **Rev Patol Trop** 1995; 23 (2 Supl.): 336. [Apresentado no XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia].

Mayo RC, Casanova C, Mascarini LM, Pignatti MG, Rangel O, Galati EAB, Wanderley DMV, Corrêa FMA. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) de área de transmissão de leishmaniose tegumentar americana, no município de Itupeva, região sudeste do Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop** 1998; 31(4): 339-345.

Mayrink W, Williams P, Coelho MV, Dias M, Viana Martins A, Magalhães PA, Costa CA, Falcão AR, Mello MN, Falcão AL. Epidemiology of dermal leishmaniosis in the Rio Doce Valley, State of Minas Gerais, Brazil. **Ann Trop Med Parasit** 1979; 73: 123-37.

Milby MM, Reisen WK. Estimation of vectorial capacity: vector survivorship. **Bull Soc Vector Ecol** 1989; 14: 47-54.

Montoya-Lerma J, Lane RP. Factors affecting host preference of *Lutzomia evansi* (Diptera: Psychodidae), a vector of visceral leishmaniasis in Colombia. **Bull Entomol Research** 1996; 86: 43-50.

Morrison AC, Ferro C, Morales A, Tesh RB, Wilson ML. Dispersal of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. **J Med Entomol** 1993; 30: 427-35.

Mutinga MJ, Kamau CC, Basimike M, Mutero CM, Kyai FM. Studies on the epidemiology of leishmaniasis in Kenya: flight range of phlebotomine sandflies in Marigat, Baringo District. **East African Medical Journal** 1992; 69: 9-13.

Natal D, Marucci D. Aparelho de sucção tipo aspirador para captura de mosquitos. **Rev Saúde Pública** 1984; 18: 418-420.

Nelson RL, Milby MM, Reeves WC, Fine PEM. Estimates of survival, population size, and emergence of *Culex tarsalis* at an isolated site. **Ann Entomol Soc Amer** 1978; 71: 801-808.

Pardo RH, Torres M, Morrison AC, Ferro C. Effect of fluorescent powder on *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) and a simple device for marking sand flies. **J Am Mosq Control Assoc** 1996; 12(2): 235-42.

Passos VMA, Falcão AL, Marzochi MCA, Gontijo CMF, Dias EGO, Barbosa-Santos EGO, Guerra HL, Katz N. Epidemiological aspects of american cutaneous leishmaniasis in a periurban área of the metropolitan region of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. 1993 **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1993; 88: 103-110.

Pessôa SB, Martins AV. **Parasitologia Médica**. 9 edição Guanabara-Koogan S.A; 1974.

Pinto MC, Campbell-Lendrum DH, Lozovei AL, Teodoro U, Davies CR. Phlebotomine sandfly responses to carbon dioxide and human odour in the field. **Med Vet Entomol** 2001, 15: 132-139.

Queiroz RG, Vasconcelos IAB, Vasconcelos AW, Pessoa FAC, Sousa RN, David JR. Cutaneous leishmaniasis in Ceara State in Northeastern Brazil: incrimination of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) as a vector of *Leishmania braziliensis* in Baturite municipality. **Am J Trop Med Hyg** 1994; 50: 693-8.

Quinnell RJ, Dye C, Shaw JJ. Host preferences of the phlebotomine sandfly *Lutzomia longipalpis* in Amazonian Brazil. **Med Vet Entomol** 1992; 6: 195-200.

Quinnell RJ, Dye. Correlates of the peridomestic abundance of *Lutzomia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in Amazonian Brazil. **Med Vet Entomol** 1994; 8: 219-24.

Rangel EF, Souza NA, Wermelinger ED, Azevedo ACR, Barbosa AF. Infecção natural de *Lutzomyia intermedia* Lutz & Neiva, 1912, em área de leishmaniose tegumentar no Estado do Rio de Janeiro. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1984; 79: 395-396.

Rangel EF, Souza NA, Wermelinger ED, Barbosa AF. Estabelecimento de colônia, em laboratório, de *Lutzomyia intermedia* Lutz & Neiva, 1912 (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1985; 80(2): 219-26.

Rangel EF, Souza NA, Wermelinger ED, Azevedo ACR, Barbosa AF, Andrade CA. Flebótomos de Vargem Grande, foco de Leishmaniose Tegumentar no Estado do Rio de Janeiro. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1986; 81: 347-349.

Rangel EF, Souza NA, Wermelinger ED, Azevedo ACR, Barbosa AF, Andrade CA. Studies on sandfly fauna (Diptera: Psychodidae) in a loci of cutaneous Leishmanias in Mesquita, Rio de Janeiro State, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1990; 85(1): 39-45.

Rangel EF, Barbosa AF, Andrade CA, Souza NA, Wermelinger ED. Development of *Leishmania (Viannia) braziliensis vianna*, 1991 in *Lutzomia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) under experimental conditions. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1992; 87(2): 235-38.

Rangel EF, Lainson R, Souza AA, Ready PD, Azevedo CR. Variation between geographical populations of *Lutzomyia* (*Nyssomia*) *whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) *sensu lato* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1996; 91(1): 43-50.

Reisen WK. Estimation of vectorial capacity: introduction. **Bull Soc Vector Ecol** 1989; 14: 39-40.

Reisen WK, Aslamkhan M. A release-recapture experiment with the malaria vector, *Anopheles stephensi* Liston, with observations on dispersal, survivorship, population size, gonotrophic rhythm and mating behaviour. **Ann Trop Med Parasitol** 1979; 73(3): 251-268.

Reisen WK, Mahmood F, Parveen T. *Anopheles culicifacies* Giles: a release-recapture experiment with cohorts of known age with implications for malaria epidemiology and genetical control in Pakistan. **Trans R S Trop Med Hyg** 1980; 74: 307-317.

Reisen WK, Mahmood F, Azra K. *Anopheles culicifacies* Giles: adult ecological parameters measured in rural Punjab province, Pakistan using capture-mark-release-recapture and dissection methods, with comparative observations on *An. stephensi* Liston and *An. subpictus* Grassi. **Res Poul Ecol** 1981; 23: 39-60.

Reisen WK, Boreham PFL. Estimates of malaria vectorial capacity for *Anopheles culicifacies* and *Anopheles stephensi* in rural Punjab Province, Pakistan. **J Med Entomol** 1982; 19(1): 98-103.

Reisen WK, Milby MM, Meyer RP, Pfuntner AR, Spoehel J, Hazelrigg JE, Webb Jr JP. Mark-release-recapture studies with *Culex* mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Southern California. **J Med Entomol** 1991; 28: 357-371.

Reisen WK, Milby MM, Meyer RP. Population dynamics of adult *Culex* mosquitoes (Diptera: Culicidae) along the Kern river, Kern county, California, in 1990. **J Med Entomol** 1992; 29 (3): 531-543.

Reisen WK, Lothrop HD. Population ecology and dispersal of *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) in the Coachella Valley of California. **J Med Entomol** 1995; 32(4): 490-502.

Rocha e Silva EO, Capinzaiki NA, Kuratomi CA, Guedes AC. A Leishmaniose Tegumentar Americana no Litoral Sul do Estado de São Paulo. **Rev bras Malariol D Trop** 1980; 32: 9-25.

Santos RLC. Medida da capacidade vetorial de *Anopheles albiparvus* e de *Anopheles (Kerteszia)* da região sudeste do Brasil. São Paulo; 2001. [Tese de Doutorado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

Secretaria de Estado da Saúde-Centro de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância Epidemiológica – Leishmaniose Tegumentar Americana, Normas e Instruções.** São Paulo 1995

Service MW. **Mosquito Ecology. Field Sampling Methods.** 2ed. Chapman & Hall; 1993.

Shaw J.J, Lainson R. Leishmaniasis in Brazil: II. Observations on enzootic rodent leishmaniasis in the Lower Amazon Basin region - the feeding habits of the vector, *Lutzomyia flaviscutellata* in reference to man, rodents and other mammals. **Trans Roy Soc Trop Med Hyg** 1968; 62: 396-405.

Shaw JJ, Lainson R. Ecology and epidemiology: New World. In: Peters W, Killick-Kendrick R., eds. **The leishmaniasis: Biology and Medicine.** Vol. I. New York: Academic Press; 1987. p. 292-363.

Siqueira AF. Estudos sobre a reação de precipitina aplicada à identificação do sangue ingerido por triatomíneos. **Rev Inst Med Trop** 1960; 2: 41-53.

Southwood TRE. **Ecological methods with particular reference to the study of insect populations.** London: Chapman & Hall; 1978.

Takken W, Charlwood JD, Billingsley, PF, Gort G. Dispersal and survival of *Anopheles funestus* and *A. gambiae* s.l. (Diptera: Culicidae) during the rainy season in southeast Tanzania. **Bull Entomol Res** 1998; 88: 561-566.

Taniguchi HH, Tolezano JE, Corrêa FMA, Moraes RHP, Veiga RM, Marassa AM. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana no Estado de São Paulo, Brasil. I- Composição da fauna flebotomínica no município de São Roque, região de Sorocaba. **Rev Inst Adolfo Lutz** 1991; 51: 23-30.

Tempelis CH. Host-feeding patterns of mosquitoes with a review of advances in analysis of blood meals by serology. **J Med Ent** 1975; 11: 635-653.

Teodoro U, Rodrigues VLCC, Rocha e Silva EO. 1983. Casos de leishmaniose tegumentar americana observados na região administrativa de Campinas, ao lado do rio Mogi-Guaçu, Estado de São Paulo, Brasil. [apresentado no XIX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical].

Teodoro U. **Características ecológicas de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em habitats antrópicos, município de Jussara, Paraná, Brasil.** Curitiba; 1995. (Tese de Doutorado – Universidade Federal do Paraná).

Tesh RB, Chaniotis BN, Aronson M, Johnson KM. Natural host preferences of Panamanian phlebotomine sandflies as determined by precipitin test. **Am J Trop Med Hyg** 1971; 20: 150-156.

Tesh RB, Chaniotis BN, Carrera BR, Johnson KM. Further studies on the natural host preferences of Panamanian phlebotomine sandflies. **Am J Epidemiol** 1972; 95: 88-93.

Thatcher VE, Hertigi M. Field studies on the feeding habits and diurnal shelters of some *Phlebotomus* sandflies (Diptera: Psychodidae) in Panama. **Ann Ent Soc Amer** 1966; 59: 46-52.

Thatcher VE. Studies of phlebotomine sandflies using castor oil traps baited with Panamanian animals. **J Med Ent** 1968; 5: 293-297.

Tolezano JE, Marcoris SAG, Diniz JMP. Modificação na Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar no Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Inst Adolfo Lutz** 1980; 40: 49-54.

Tolezano JE. Ecoepidemiological aspects of american cutaneous leishmaniasis in the State of São Paulo, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1994; 89(3): 427-34.

Veloso HP; Rangel Filho ALR; Lima JCA. **Classificação da vegetação brasileira adaptada a um sistema universal**. Rio de Janeiro, IBGE, Departamento de Recursos naturais e Estudos Ambientais.

Vexenat JA, Barreto AC, Cuba CC, Marsden PD. Características epidemiológicas da leishmaniose tegumentar americana em uma região endêmica do Estado da Bahia. III - Fauna flebotomínica. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1986; 81: 293-301.

Washino RK, Tempelis CH. Mosquito host bloodmeal identification: Methodology and data analysis. **Ann Rev Entomol** 1983; 28: 179-201.

Weitz B. Identification of blood meals of bloodsucking arthropods. **Bull Wld Hlth Org** 1956; 15: 473-490.

Weitz B. Feeding habits of bloodsucking arthropods. **Exp Parasitol** 1960; 9: 63-82.

World Health Organization. Expert Committee on the control of the Leishmaniasis. **Report**. Geneva; 1990. (WHO – Technical Report Series, 793).

Young DG, Lawyer PG New World vectors of the leishmaniasis. **Current Topics in Vector Research** 1987; 4: 29-71.

Young DG, Duncan MA. Guide to identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). **Mem Amer Ent Inst** 1994; 54: 1-881.