

**ASPECTOS ECOLÓGICOS DA FAUNA FLEBOTOMÍNEA (DIPTERA,  
PSYCHODIDAE) E SUAS IMPLICAÇÕES NA EPIDEMIOLOGIA DAS  
LEISHMANIOSES EM COTIA, ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL.**

**DELANO ANÍBAL DA SILVA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de “Mestre em Saúde Pública”.

Área de Concentração: Epidemiologia

Orientadora: Profa. Dra. Eunice Aparecida Bianchi Galati

**São Paulo  
2005**

**“Procura-se despertar o sentimento de soberania do homem mostrando seu nascimento divino: isto agora se tornou um caminho proibido; pois no seu limiar esta o macaco.”**

**Nietzsche**

## Dedicatória

À minha querida Mãe,

Isabel.

Pelo apoio nos momentos difíceis.

E à minha amada noiva,

Cláudia.

Pela paciência e apoio.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecimentos especiais ao Dr. Carlos Frederico Loiola pelo apoio e incentivo;

Ao Mauro Breviglieri Fonseca pela ajuda de grande valia na execução dos trabalhos das campanhas de campo;

Ao Valdeir Lima Berndt, funcionário da Prefeitura de Cotia, pelo interesse e empenho na execução das tarefas de campo;

À professora Dra. Eunice Aparecida Bianchi Galati pela orientação e pelo compromisso e engajamento junto à pesquisa;

À Prefeitura de Cotia e a seus funcionários, Páscoa Aparecida Bichiato e Adilson Alves de Lima pelo apoio para a execução das campanhas de campo;

À Edna Fátima Bueno e à Maria Dulce Bianchi Rosa pelo apoio nos laboratórios;

À Rosely Malafronte e à Byanca Paiva pela colaboração e orientação nos testes moleculares;

A todos os colegas da Faculdade de Saúde Pública, pelos agradáveis momentos de descontrações e pelo grande apoio.

## RESUMO

Silva DA. **ASPECTOS ECOLÓGICOS DA FAUNA FLEBOTOMÍNEA (DIPTERA, PSYCHODIDAE) E SUAS IMPLICAÇÕES NA EPIDEMIOLOGIA DAS LEISHMANIOSES EM COTIA, ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL.** São Paulo, 2005. [dissertação de mestrado – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo].

**INTRODUÇÃO.** As leishmanioses são antropozoonoses cujos agentes etiológicos são parasitos do gênero *Leishmania* e transmitidos aos vertebrados por flebotomíneos (Diptera, Psychodidae). No Estado de São Paulo (SP) a incidência das leishmanioses tegumentar (LT) e visceral (LV) vem aumentando. No município de Cotia, região da Grande São Paulo, casos humanos de LT têm sido notificados e, recentemente também, casos caninos de LV. O presente estudo teve como objetivo analisar a ocorrência da LT nos municípios que compõem a Dir V (Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Centro de Vigilância Epidemiológica), onde se insere Cotia e estudar a fauna flebotomínea em área de transmissão de ambas as parasitoses neste município, para identificação de seus vetores. **METODOLOGIA.** Estimou-se a incidência da LT na população humana através de dados obtidos no Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE/SP) e IBGE. Para o estudo dos insetos foram amostrados cinco pontos no município de Cotia, no período de junho de 2004 a agosto de 2005. Para a captura dos alados utilizou-se as técnicas de armadilha de Shannon, armadilhas automáticas luminosas tipo CDC e aspiração. Para as formas imaturas, armadilhas de Casanova e amostragem de solo. As capturas com armadilhas de Shannon modificadas, nas cores branca e preta, foram mensais, durante 13 horas, para determinação do ritmo horário noturno, e uma vez a cada estação do ano, por 25 horas. As armadilhas automáticas luminosas foram instaladas mensalmente das 18:00 às 6:00 horas, por três noites consecutivas em ambiente domiciliar, peridomiciliar e mata. Foi investigada a Infecção natural por flagelados por dissecação e por PCR das fêmeas. **RESULTADOS E DISCUSSÃO.** Os Coeficientes de Incidência Média Acumulada (CI) para os municípios da diretoria V - Osasco mostram-se variáveis, porém sempre abaixo de 10/100.000 hab. Cotia apresentou um CI = 2,39/100.000 hab. O total de flebotomíneos capturados durante o período de estudo foi de 2.690 espécimes pertencentes às seguintes espécies, listadas em ordem decrescente de frequência: *Pintomyia fischeri*, *Pintomyia*

*monticola*, *Migonemyia migonei*, *Psychodopygus lloydi*, *Psychodopygus ayrozai*, *Evandromyia cortelezii*, *Evandromyia lenti*, *Evandromyia edwardsi*, *Brumptomyia brumpti*, *Brumptomyia cardosoi*, *Brumptomyia nitzulescui*, *Psathyromyia pascalei*, *Psathyromyia lanei*, *Expapillata firmatoi* e *Micropygomyia ferreirana*. Segundo o Índice de Abundância de Espécies Padronizado (IAEP) as espécies que mais se destacaram foram *Pi. fischeri* (0,95), *Ps. lloydi* (0,85); *Mg. migonei* (0,69) e *Pi. monticola* (0,52). Segundo a Média de Williams/por captura, destacaram-se na mata, *P. fischeri* (1,05 insetos/por armadilha). *Mg. migonei* (0,36) e *Ps. lloydi* (0,31). No intradomicílio, *Mg. migonei* (0,48). Estes resultados confirmam a endofilia de *Mg. migonei*. O Índice de Similaridade para o ambiente de mata e peridomiciliar foi de 0,87. Indicando que espécies encontradas na mata também se adaptam bem ao peridomicílio. Na comparação entre mata e domicílio, o índice foi de 0,50, mostrando maior discrepância entre as faunas, com espécies diferentes prevalecendo nos diferentes ambientes. O índice entre peridomicílio e domicílio foi de 0,43, indicando também a presença de faunas distintas nestes dois ambientes. Observou-se pico na frequência dos flebotomíneos entre 20-21 horas e em períodos com alternância de estiagem e precipitação. De 37 fêmeas de flebotomíneos dissecadas, em nenhuma se observou infecção natural por flagelados. Pela técnica PCR detectou-se uma taxa mínima de infecção natural por tripanossomatídeos de 1,15% entre as fêmeas de *Pi. fischeri*, 4,41% de *Mg. migonei* e 6,7% de *Ps. lloydi*. Na busca por criadouros não foram encontrados flebotomíneos. **CONCLUSÕES.** Cotia apresenta incidência moderada de casos de leishmaniose em relação aos demais municípios do Estado de São Paulo. As espécies de flebotomíneos capturadas em maior abundância são tipicamente silvestres. As faunas de flebotomíneos capturadas nos ecótopos de mata e peridomicílio foram similares, porém diferentes daquela encontrada no intradomicílio, onde predominou *Mg. migonei*; Os flebotomíneos foram capturados predominantemente à noite, com pico entre 20:00 e 21:00 horas. O mês de maior rendimento foi março, período coincidente com médias de temperatura mais altas e períodos cíclicos de precipitação e estiagem. A população do município de Cotia cujas casas estão situadas junto as matas está sob risco de adquirir leishmaniose, principalmente devido ao tipo de ocupação do solo, pois apresenta residências em contato direto com matas. Pelos resultados obtidos, o papel vetorial pode estar sendo desempenhado por três das espécies da fauna flebotomínea local, *Pi. fischeri*, *Mg. migonei* e *Ps. lloydi*.

## **ABSTRACT**

Silva DA. **ECOLOGICAL ASPECTS OF THE PHLEBOTOMINE FAUNA (DIPTERA, PSYCHODIDAE) AND THEIR IMPLICATIONS FOR THE EPIDEMIOLOGY OF LEISHMANIASES IN COTIA COUNTY, SÃO PAULO STATE, BRAZIL.** São Paulo, 2005. [Máster's dissertation – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo].

**INTRODUCTION.** The leishmaniasis are anthroponoses caused by parasites of the *Leishmania* genus and transmitted by sand flies. In the State of São Paulo the incidence of cutaneous leishmaniasis (CL) and visceral leishmaniasis (VL) has increased over recent decades. In Cotia county human cases of CL and recent canine cases of VL have been reported. The aim of the present study is to analyze the occurrence of CL in the area of Regional Directory V (Osasco – Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Centro de Vigilância Epidemiológica – SESSP/CVE) and also to assess the sand fly fauna in an area of transmission of leishmaniasis to identify their vectors in this county, Greater São Paulo, SP, Brazil. **METHODS.** The incidence of CL in the human population during the period 1995-2004 was established on the basis of the CVE-SP and the IBGE. The insect population was sampled at five sites in Cotia between June/2004 and August/2005. Shannon traps, CDC traps and aspiration were used and Casanova traps and soil sampling were used to sample the immature forms. The captures with modified Shannon traps (white and black) were undertaken monthly for 13 hours for the assessment of nocturnal rhythm and once per season for 25 hours. The CDC traps were installed monthly from 18:00 to 6:00 hours, on three consecutive nights. The traps were placed in domiciliary, peridomiciliary and forested environments. Analyses of natural infection by flagellates was undertaken by dissection and PCR test. **RESULTS AND DISCUSSION.** The accumulated mean incidence coefficient (IC) for the counties covered by the Regional Directory V was variable, though below of 10/100,000 inhab. Cotia presented an IC = 2.39/100000 inhab. The number of sand fly specimens captured during the study period was 2,690 specimens, representing the following species in decreasing order: *Pintomyia fischeri*, *Pintomyia monticola*, *Migonemyia migonei*, *Psychodopygus lloydi*, *Psychodopygus ayrozai*, *Evandromyia cortelezzi*, *Evandromyia lenti*, *Evandromyia*

*edwardsi*, *Brumptomyia brumpti*, *Brumptomyia cardosoi*, *Brumptomyia nitzulescui*, *Psathyromyia pascalei*, *Psathyromyia lanei*, *Expapillata firmatoi* and *Micropygomyia ferreirana*. The most abundant species according to the Standardized Index Species Abundance (SISA) is: *Pi. fischeri* (0.95) followed by *Ps. lloydi* (0.85); *Mg. migonei*, (0.69) and *Pi. monticola* (0.52). According to Williams' Mean the most numerous species per trap in the forest were: *Pi. fischeri* (1.05 insects), *Mg. migonei* (0.36) and *Ps. lloydi* (0.31); in the domicile, *Mg. migonei* (0.48) These results confirm the high endophily of *Mg. migonei*. The Similarity Index for the forests and peridomicile was 0.87, showing that the species found in the forests are also present in the peridomicile. These two sites are very close to each other. In the comparison between the forests and the domicile the index was of 0.50, showing a discrepancy between the faunas with different species occurring in different areas. Similarly the Index between peridomicile and domicile was 0.43, also indicating different fauna in the two areas. The nocturnal rhythm showed a peak in sand fly frequency between 20:00 and 21:00 hours. The frequencies were highest in periods of alternate rainy and dry spells. Although, 37 phlebotomine females were dissected none presented natural infection by flagellates; by the PCR technique a minimum rate of natural infection by trypanosomatids of 1.15% was detected among the females of *Pi. fischeri*, 4.41% among those of *Mg. migonei* and 6.7% among those of *Ps. lloydi*. No breeding places were found. **CONCLUSION.** Cotia presents moderate mean incidence of CL as also do the other counties of São Paulo State. The most abundant species of phlebotomine captured are typically of forested environment. The faunas of forests and peridomicile were similar; however, they differ from those found in the domicile, where *Mg. migonei* predominated. The sand flies were captured mainly at night presenting a peak between 20.00 and 21.00 hours and during the months having the highest average temperature with alternate rainy and dry spells. March was the month that yielded the greatest number of phlebotomines; That part of the human population of Cotia county which lives near forested land is thus at risk of contracting leishmaniasis. Three species of the local sand fly fauna, *Pi. fischeri*, *Mg. migonei* and *Ps. lloydi* may be implicated in the transmission of the leishmaniasis.



## ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. As leishmanioses	13
1.2. A Leishmaniose Tegumentar	14
1.3. A Leishmaniose Visceral	18
1.4. Os flebotomíneos	20
2. JUSTIFICATIVA	24
3. OBJETIVOS	27
3.1. OBJETIVO GERAL	27
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4. MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1. Tipo de estudo	28
4.2. Região de estudo	28
4.3. Pontos amostrados	29
4.4. Levantamento de dados	34
4.4.1. Dados climáticos	34
4.4.2. População humana	34
4.4.3. População de insetos	35
4.5. Tratamento estatístico	40
4.5.1. Cálculo da diversidade de espécies	40
4.5.2. Cálculo do índice de abundância de espécies	40
4.5.3. Cálculo do Índice de Similaridade	42
4.5.4. Cálculo da Média de Williams	42

4.5.5. Teste de Hipótese	43
4.5.6. Avaliação do período de atividade noturna	43
4.5.7. Tendência sazonal	43
4.6. Financiamento	44
5. RESULTADOS	45
5.1. Casos humanos	45
5.2. Composição das espécies capturadas nas localidades pesquisadas	46
5.3. Índice de Diversidade das Espécies Capturadas	48
5.4. Índice de Abundância de Espécies	48
5.5. Composição das espécies capturadas, por armadilhas e sexo	48
5.6. Produtividade por armadilha	49
5.7. Composição das espécies capturadas com armadilhas automáticas luminosas, tipo CDC por ecótopos e sexo	50
5.8. Índice de Similaridade entre os ecótopos das localidades pesquisadas	51
5.9. Comparação das capturas de Shannon branca e preta	52
5.10. Freqüência horária noturna por espécies	53
5.11. Ritmo nictemeral nas estações por espécies	54
5.12. Distribuição sazonal de flebotomíneos capturados e os dados climáticos	54
5.13. Capturas mensais segundo armadilhas tipo CDC	57
5.14. Aspiraões	57
5.15. Criadouros	57

5.16. Infecção natural	58
6. DISCUSSÃO	59
7. CONCLUSÕES	68
8. REFERÊNCIAS	69

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 As Leishmanioses

As leishmanioses constituem doenças infecto-parasitárias que possuem como agente etiológico os protozoários da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, gênero *Leishmania*, subgêneros *Viannia* e *Leishmania*, que acometem o homem, animais silvestres e domésticos das regiões quentes do Velho e Novo Mundo (MARZOCHI 1992). A maioria das leishmanioses é considerada uma zoonose, isto é, infecção com parasitos que são normalmente enzoóticos em diferentes animais silvestres, sendo acidentalmente transmitidos ao homem (GOMES 1992).

São retículoendotelioses cuja importância epidemiológica está alicerçada na extensiva distribuição geográfica, nas incidências e nos quadros clínicos graves conhecidos, com evolução que pode determinar mutilações severas ou permanentes, repercutindo na saúde da população de muitas áreas tropicais.

Ocorrem em 88 países, com cerca de 350 milhões de pessoas vivendo em áreas de risco de transmissão, com uma prevalência de 12 milhões de casos, incidência anual de 1-1,5 milhão de casos para as formas tegumentares e de 500 mil novos casos para a leishmaniose visceral (WHO 2004). Entre os sete países do mundo que respondem por 90% dos casos da leishmaniose tegumentar encontram-se o Peru e o Brasil e entre os cinco países que respondem por 90% da leishmaniose visceral, apenas o Brasil representa o Continente Americano.

Apresentam características clínicas e epidemiológicas diferenciadas segundo as regiões geográficas, podendo ser reunidas em quatro tipos principais:

a) Leishmaniose cutânea, que produz exclusivamente lesões na derme, ulceradas ou não ulceradas;

b) Leishmaniose cutâneomucosa, que apresenta freqüentemente lesões destrutivas nas mucosas do nariz, boca e faringe;

c) Leishmaniose cutânea difusa, com formas cutâneas disseminadas, predominando nódulos não ulcerados, estando presentes em indivíduos anérgicos ou, mais tardiamente, em pacientes já tratados da forma visceral, e

d) Leishmaniose visceral, cujos parasitos apresentam acentuado tropismo pelo sistema monocítico fagocitário (SMF) do baço, fígado, medula óssea e tecidos linfóides (NEVES 2003).

Como agente etiológico da forma visceral, na América, tem-se a *Leishmania (Leishmania) chagasi* Cunha & Chagas, 1937 e das formas dermatotrópicas humanas, pelo menos, onze espécies. No Brasil, estas compreendem sete: *Leishmania (L.) amazonensis* Lainson & Shaw, 1972, *Leishmania (V.) braziliensis* Vianna, 1911, ambas com ampla distribuição no Brasil, *L. (V.) guyanensis* Floch, 1954; *L. (V.) lainsoni* Silveira, Shaw, Braga & Ishikawa, 1987; *L. (V.) naiffi* Lainson & Shaw, 1989 e *L.(V.) shawi* Lainson, Braga, Souza, Povia & Ishikawa, 1989, *L. (V.) lindenbergi* Silveira, Ishikawa, Souza & Lainson, 2002, descritas apenas para a região amazônica (DEDET 1993, SILVEIRA et. al 2002).

## 1.2 As Leishmanioses Tegumentares

As leishmanioses tegumentares são consideradas autóctones no Continente Americano, podendo ser encontradas desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina, geralmente em áreas florestais recentes ou antigas. No Brasil, a drástica redução da vegetação natural em diversas regiões, associadas ao desenvolvimento econômico e social e à intensificação do processo de urbanização, tem alterado o perfil epidemiológico dessa parasitose. Assim, a infecção humana passou a predominar em áreas desmatadas e de colonização antiga, cuja endemicidade configura-se em micro-surtos que se caracterizam como de ocorrência cíclica ou em casos esporádicos, sem uma compreensão causal definida (GOMES 1992). Entretanto, o tipo clássico de transmissão humana, que se caracteriza pela transmissão em ambiente silvestre, predomina ainda em áreas de ocupação da Amazônia.

Com cerca de 32.000 casos notificados anualmente, de 1993 a 2002 (CVE 2004), a LTA ocorre praticamente em todos os Estados, constatando-se maior prevalência nas Regiões Norte e Nordeste e em alguns Estados das Regiões Centro-Oeste e Sudeste, decrescendo nos Estados da Região Sul. A real prevalência de suas diferentes formas clínicas, entretanto, é difícil de ser estabelecida, em decorrência de fatores como: sub notificações, diagnóstico incorreto, infecções inaparentes, variações

de resposta imunológica do hospedeiro e multiplicidade de agentes etiológicos envolvidos (DEDET 1993, MARZOCHI e MARZOCHI 1997, CIMERMAN e CIMERMAN 1999).

A Leishmaniose Tegumentar Americana representa importante problema de Saúde Pública, em vista de sua ampla distribuição, prevalência e gravidade dos casos, decorrente da destruição ou mutilação de mucosas ou lesões cutâneas deformantes, que acarretam fenômenos psicossociais e estigmatizantes aos pacientes (BARRAL et al 1991; COSTA et al 1987). Acrescem-se as dificuldades no diagnóstico, tratamento e controle, dada a complexidade de seus quadros epidemiológicos.

As espécies de parasitas mais freqüentemente envolvidas são *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis* e *L. (L.) amazonensis*, com as seguintes características clínica-epidemiológicas gerais (FNS 1994, LAINSON 1997, NEVES 2003):

#### *Leishmania (V.) braziliensis*

A *Leishmania braziliensis* "sensu lato" apresenta vasta distribuição geográfica, sendo relatada nos Estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rondônia, sul do Pará, Amazonas, Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná (CVE 2004). Entretanto, sua exata distribuição permanece ainda obscura, devido possivelmente, a sua particular biologia que dificulta seu isolamento primário, cultivo e posterior identificação taxonômica.

A doença humana provocada por essa espécie é caracterizada por úlcera cutânea, única ou múltipla, cujo principal fator de agravamento do quadro clínico é representado pelas metástases, por via hematogênica, para as mucosas da nasofaringe, com destruição desses tecidos. A freqüência desses agravamentos, entretanto, vem sendo reduzida cada vez mais, não excedendo a 2% dos casos nas áreas endêmicas conhecidas. Provavelmente esta redução relaciona-se com o diagnóstico e tratamento precoces (CVE 2004).

Dentre as espécies de *Leishmania* que atuam na etiologia da leishmaniose tegumentar que ocorrem no Brasil, a *L. (V.) braziliensis* é a que apresenta maior complexidade em sua epidemiologia. São várias as espécies vetoras, envolvidas e

reservatórios silvestres e entre os animais domésticos, a infecção tem sido detectada em cães e eqüídeos (AGUILAR et al 1986, FALQUETO et al 1986, MARZOCHI 1992, PIRMEZ et al 1988, YOSHIDA et al 1990).

#### *Leishmania (V.) guyanensis*

A *Leishmania guyanensis* aparentemente está limitada ao norte da Bacia Amazônica (Amapá, Roraima, Amazonas e Pará) estendendo-se também pelas Guianas (MARZOCHI 1992), Colômbia, Equador, Venezuela (DAVIES et al. 2000) e Peru (LUCAS et al. 1998; DAVIES et al. 2000). É encontrada principalmente em florestas de terra firme - áreas que não se alagam no período de chuvas (CVE 2004).

A doença humana é conhecida pelo nome de "Pian-bois", sendo caracterizada pela presença de lesões únicas ou múltiplas. Estas lesões múltiplas, podendo chegar a 20 ou mais, talvez sejam decorrentes de picadas simultâneas de vários flebótomos infectados ou secundárias à metástases linfáticas. A maioria dessas lesões cura-se espontaneamente, sendo raro o comprometimento mucoso causado por essa espécie de leishmânia. Indivíduos do sexo masculino, jovens e adultos, em fase produtiva são os mais atingidos pela doença, que é caracterizada como de ocorrência ocupacional, visto que se apresenta com maior freqüência, em indivíduos exercendo atividades profissionais em florestas (CVE 2004).

#### *Leishmania (L.) amazonensis*

A *Leishmania amazonensis* encontra-se distribuída principalmente pelas florestas primárias e secundárias da Amazônia (AM, PA, RO, sudoeste do Maranhão e, seguramente, pelos países vizinhos), particularmente em áreas de igapó e de florestas tipo "várzea". Sua presença também foi assinalada nas Regiões Nordeste (BA), Sudeste (MG, SP) e Centro Oeste (GO, MS) e SUL (PR), (TOLEZANO et al. 1999; DORVAL et al. 2002; CVE 2004).

A doença humana é relativamente escassa, podendo ocorrer lesões ulcerosas únicas ou múltiplas, mas geralmente, em pequeno número. Em ambos os tipos, porém, são ricas em parasitos. Seu diagnóstico e tratamento são feitos de maneira análoga ao recomendado para as outras leishmanioses cutâneas (CVE 2004).

Alguns indivíduos parasitados por essa espécie de leishmânia podem desenvolver um quadro diferenciado de leishmaniose, a denominada "leishmaniose cutânea difusa", caracterizada pela presença de infiltrações, pápulas e tubérculos, envolvendo extensas áreas cutâneas. Quando submetidas a exame direto ou a histopatologia pode ser verificado grande quantidade de parasitos nas lesões. Esta particular diferenciação clínica, além de ser mutilante, normalmente não responde aos tratamentos convencionais disponíveis até o momento (REY 2000).

A modalidade clássica da transmissão das *Leishmanias* que provocam a Leishmaniose Tegumentar é a silvestre, na qual o homem adquire a infecção ao adentrar seu foco natural, onde interagem seus reservatórios naturais e vetores (PESSÔA & BARRETTO 1948; LAINSON e SHAW 1987). Nesta circunstância, a doença atinge predominantemente o sexo masculino e em faixa etária produtiva. Manifesta-se na forma endêmica em quase todos os Estados brasileiros. Ocasionalmente, na forma de surtos (JONES et al 1987; GOMES 1992). No entanto, em regiões do país com maior influência antrópica, sobretudo no Sudeste e no Nordeste, a leishmânia encontra-se adaptada a ecossistemas alterados e a sua transmissão vem ocorrendo em áreas há muito colonizadas (GOMES 1992; MARZOCHI 1992).

No Brasil, segundo os dados da Fundação Nacional da Saúde (FUNASA 2004), o coeficiente médio de detecção de casos autóctones de LTA/100.000 hab. apresenta-se mais elevado na Região Norte (82,81), seguindo-se o da Centro-Oeste (42,25), Nordeste (23,46), Sudeste (4,37) e Sul (2,25).

No Estado de São Paulo, desde o encontro dos primeiros casos autóctones de leishmaniose tegumentar americana, foram realizados diversos estudos envolvendo alguns determinantes de sua distribuição em diferentes áreas geográficas. A análise dos resultados obtidos indicou que, em geral, a parasitose tinha incidência em ambos os sexos (TOLEZANO et al 1980, GOMES et al 1992), em indivíduos nas diferentes idades, valendo ressaltar, que no Vale do Ribeira, dentre 221 pessoas com a parasitose, 63 (28,5%) encontravam-se na faixa etária até 10 anos (FORATTINI e OLIVEIRA 1957, BASTOS 1979, TOLEZANO et al 1980, GOMES et al 1992).



Quanto à ocupação dos pacientes, foi verificada a ocorrência da parasitose em trabalhadores como palmiteiros, roçadores de matas e lenhadores, os quais obtêm o seu sustento na floresta (FORATTINI e OLIVEIRA 1957, FORATTINI et al. 1973, ROCHA e SILVA et al. 1980). A doença foi também diagnosticada em outros indivíduos tais como: estudantes, agricultores, professor, funcionário público, vigias, domésticas e outros (TOLEZANO et al. 1980).

Atualmente, encontra-se em expansão no território paulista, porém os níveis de incidência mostram-se distintos em diferentes áreas. A taxa de incidência média acumulada no período de 1986-1995, para a Diretoria Regional de Saúde de Osasco (DIR V), que congrega municípios localizados a oeste da Grande São Paulo, apresentou-se como a 2ª mais elevada (8,73/100.000 hab.), sendo inferior, apenas, da de Registro, na área do Vale do Ribeira (32,29/100 mil hab.) (NEVES 1999).

### **1.3 A Leishmaniose Visceral**

A Leishmaniose Visceral Americana (LVA) ocorre desde o sul do México ao norte da Argentina, com o Brasil representando cerca de 90 por cento dos casos. No Brasil, ocorre um ciclo de transmissão peridoméstico, tendo o cão doméstico como principal reservatório e um ciclo silvestre, no qual raposas e gambás atuam como reservatórios (NEVES 2003).

Com cerca de 3.300 casos notificados anualmente entre 1993 e 2002 (CVE 2004), a LVA vem sendo assinalada em vários municípios de todas as regiões do Brasil, exceto na Região Sul. Ocorre em zonas rurais, periurbanas e urbanas de grandes centros como Teresina (PI), São Luiz (MA), Rio de Janeiro (RJ), Belo Horizonte (MG), Araçatuba (SP), Campo Grande, Corumbá e Três Lagoas (MS) entre outros. Atualmente, no Brasil, a LVA está registrada em 19 dos 27 Estados (dado em revisão Funasa 2003-CVE 2003).

Para a forma visceral da doença, a espécie mais frequentemente envolvida no Brasil é a *Leishmania (L.) chagasi* que parasita células do sistema monocítico fagocitário, afetando, principalmente, fígado e baço (PETERS W e KILLICK-KENDRICK 1987)

A infecção pela *L. (L.) chagasi* é relativamente freqüente entre as pessoas que vivem em áreas endêmicas, porém as manifestações clínicas clássicas da Leishmaniose Visceral ocorrem, sobretudo, em crianças desnutridas ou em adultos imunodeprimidos (BADARÓ et al 1986). Em áreas brasileiras, sobretudo no Nordeste, onde cerca de 90% dos casos se concentram, representa importante problema de Saúde Pública, face à gravidade dos casos e incidência em caráter esporádico ou endêmico-epidêmica, atingindo sobretudo as faixas etárias abaixo dos 10 anos de idade, com 60% dos casos em menores de 4 anos (GOMES et al 1996).

Embora canídeos silvestres tenham sido encontrados infectados pela *L. (L.) chagasi* (DEANE e DEANE 1955, MELLO et al 1988, TOLEZANO et al 1999), bem como didelfídeos (SHERLOCK et al 1984, CORREDOR et al 1989), considera-se que os principais reservatórios domésticos da LVA são os cães domésticos.

Além de *Lutzomyia longipalpis*, incriminada como o principal vetor da endemia (LAINSON e SHAW 1979), na área hiperendêmica de Corumbá/Ladário, em Mato Grosso do Sul, onde essa espécie não foi capturada, as evidências epidemiológicas apontaram para duas outras: *Lu. forattinii* Galati, Rego, Nunes & Teruya, 1985 e *Lu. cruzi* Mangabeira, 1938 (GALATI et al. 1997), mas apenas para a última se observou a infecção natural por *L. chagasi* (SANTOS et al 1998).

No Estado de São Paulo, embora haja relatos da ocorrência da *Lu. longipalpis* desde os anos de 1970, em áreas rurais dos municípios de Pirapora do Bom Jesus (região da Grande São Paulo), Salto de Pirapora (região de Sorocaba) e Cássia dos Coqueiros (região de Ribeirão Preto) (FORATTINI et al 1976), bem como, evidências da transmissão da LVA em duas áreas na região da Grande São Paulo, porém, sem o encontro da principal espécie vetora nas mesmas, desde o final da década de 70 e início da de 80 (IVERSSON et al. 1981), somente em 1998, foi detectado cães no município de Araçatuba (região oeste do Estado) com suspeita da LVA e presença de *Leishmania* sp em exame parasitológico direto. Este fato associado à detecção, em 1997, do inseto transmissor *Lu. longipalpis* no município, desencadearam investigação epidemiológica que levou à identificação de *Leishmania (L.) chagasi* como agente causal, confirmando a transmissão autóctone

de LVA em cães na área urbana de Araçatuba. Em 1999, houve a confirmação do primeiro caso autóctone humano nesse município (CVE 2003).

Até julho de 2003, foi detectado o vetor *Lu. longipalpis* em 41 municípios da região oeste do Estado e diagnosticada a transmissão da Leishmaniose Visceral Americana canina, com prevalências variando de 2,2% a 10,1%, em 23 deles. Casos humanos autóctones foram registrados em 21 desses municípios. Embora esforços venham sendo empenhados no sentido de conter a doença, à medida em que há a adaptação do vetor nos municípios do Estado, somada ao fluxo migratório, responsável pela introdução da fonte de infecção para o vetor a endemia se expande pelo território paulista (CVE 2003, SUCEN 2004).

A expansão da LVA para outras áreas além da noroeste do Estado pôde ser confirmada com a identificação de um gato e de três cães com infecção por *L. (L.) chagasi* no município de Cotia da Grande São Paulo (LINO et al 2003). Todavia, segundo Secretaria da Saúde do município de Cotia, até o momento, o principal vetor do continente americano não foi encontrado. Outros cães foram identificados com a infecção nos municípios de Embu e Itapeverica da Serra (CVE - Secretaria de Estado da Saúde 2003).

Distintamente do que ocorre na região noroeste do Estado, cuja transmissão se dá em ambiente urbano consolidado, na região da Grande São Paulo, a ocorrência atual tem sido associada a áreas com a presença de matas residuais, podendo-se considerar uma transição entre urbano e rural ou mesmo rural. As capturas de flebotomíneos nos focos de transmissão do município de Cotia<sup>\*</sup> revelaram a presença de espécies ainda com estreita dependência de matas.

#### **1.4 OS FLEBOTOMÍNEOS**

Os vetores, denominados genericamente de flebotomíneos, pertencem à família Psychodidae (Diptera), subfamília Phlebotominae. No mundo, cerca de 10% das espécies de flebotomíneos já foram incriminadas como vetoras ou consideradas como suspeitas na transmissão de *Leishmania* (MARCONDES 2001). As espécies americanas, segundo GALATI (2003), estão em duas tribos, Hertigiini e Phlebotomini,

pertencendo a esta última, as espécies de importância em Saúde Pública. As espécies implicadas como vetoras estão distribuídas em vários gêneros das subtribos Lutzomyiina e Psychodopygina, tais como *Lutzomyia*, *Pintomyia* e *Migonemyia* que pertencem à primeira e *Psychodopygus*, *Nyssomyia* e *Bichromomyia* à segunda.

Os flebotomíneos constituem um grupo de insetos de origem antiga, com registros de fósseis de cerca de 120 milhões de anos. Apresentam ampla distribuição no mundo, sendo conhecidas na América, cerca de 470 espécies, com a metade delas ocorrendo no Brasil e cerca de 60, no Estado de São Paulo (GALATI 2003).

Esses insetos são pequenos e muito pilosos, com as asas em forma de ponta de lança, mantidas entreabertas sobre o corpo, quando pousados. São popularmente conhecidos no Brasil como asa branca, asa dura, birigui, cangalhinha, mosquito palha, tatuquira, frebóti etc. Em inglês, são chamados de sandflies. São mais comuns em áreas florestais, ou próximo destas, mas podem invadir domicílios e anexos em grande quantidade, incomodando o homem com suas picadas. Também são encontrados em áreas abertas, inclusive em ambiente urbano e em cavernas. Algumas áreas apresentam grande diversidade, podendo-se capturar 30 diferentes espécies em uma única armadilha luminosa, em uma noite apenas (KILLICK-KENDRICK 2003).

As suas formas imaturas desenvolvem-se em solo úmido, ao abrigo da incidência direta de luz, rico em matéria orgânica, situado entre raízes expostas, em baixo de folhas caídas e de pedras, em gretas de rochas, tocas de animais e ambiente antrópico, em chiqueiro, galinheiro ou outros ecótopos que as condições adequadas se fizerem presentes (FORATTINI, 1973).

Ambos os sexos necessitam de açúcares em sua dieta. Apenas as fêmeas são consideradas hematófagas, sugando um largo espectro de vertebrados, representados por mamíferos, aves e de animais de sangue frio (COLMENARES et al 1995, MORRISON et al 1993, NGUMBI et al 1992, OGOSUKU et al 1994, TESH et al 1972).

A atividade hematofágica de maneira predominante é noturna, mas também podem exercê-la durante o dia (GOMES et al 1989, GALATI et al 2003). As formas

---

\* informação obtido junto à Secretaria Municipal de Saúde de Cotia

aladas abrigam-se nos mesmos locais de criadouros ou em tronco de árvores e folhas de arbustos ou entre o folheto caído no chão. Ambos os sexos tendem a não se afastarem muito dos seus criadouros ou locais de abrigos, embora possam ser capturados até a cerca de 1 Km do ponto de soltura, com a maioria não indo além dos 250 m (MORRISON et al 1993; CASANOVA, 2001; GALATI et al. 2005).

Os flebotomíneos apresentam importância médica e veterinária, não só pelo fato de atuarem como vetores de arboviroses, bartonelose e das leishmanioses, como também por serem incluídos como insetos importunos, devido à sua picada dolorida, com freqüentes reações alérgicas. Em áreas com elevada densidade desses dípteros é comum observarem-se pessoas com o corpo todo marcado pelas suas picadas, ficando, assim, com aspecto “sarampento” (SHERLOCK 2003).

Também foram isolados do tubo digestivo de flebotomíneos, tripanossomos de importância para o homem ainda por esclarecer. Pertencentes aos subgêneros *Herpetomonas* e *Megatrypanum* (MILES et al 1983, NAIFF et al 1989).

Entre os parâmetros que norteiam a incriminação de uma espécie como vetora de determinada parasitose, além da distribuição geográfica coincidente com a da doença e da competência vetorial, são fatores relevantes, o seu grau de relacionamento com os reservatórios e/ou homem, densidade e taxa de infecção natural pelo parasito. Em relação a esta, a infecção por flagelados observada sob microscopia em fêmeas de flebotomíneos dissecadas de áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar na Região Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, tem sido em torno de 0,2% (BARRETTO 1943, CASANOVA et al 1995, GALATI et al 1996) e áreas endêmicas para leishmaniose visceral esta taxa foi observada na Região Centro-Oeste de 0,38% (SANTOS et al 1997) e na região Norte 7,14% (LAINSON et al 1985). Todavia, essas taxas obtidas com técnicas moleculares tem se revelado mais elevadas (PAIVA 2005).

Diversas espécies de flebotomíneos estão relacionadas à transmissão de *Leishmania braziliensis*. Na floresta primária da Serra dos Carajás (PA), é o *Psychodopygus wellcomei*, altamente antropofílica, picando o homem mesmo durante o dia, com grande atividade na estação das chuvas. Nos Estados do Rio de Janeiro e

São Paulo, *Nyssomyia intermedia*, s. lat. é a principal espécie de flebotomíneo sobre a qual recai a suspeita de apresentar capacidade vetorial, participando dos ciclos domésticos e silvestres da parasitose (GOMES 1982, SOUZA 2001). Nesse último Estado, existiria ainda o possível envolvimento das espécies *Migonemyia migonei* e *Pintomyia pessoai*, *Pintomyia fischeri* e *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) (BARRETO 1943, GOMES 1992). No Paraná, *Nyssomyia whitmani* (LUZ et al. 2002), Em Minas Gerais e em alguns Estados da Região Nordeste (CE e BA) o flebotomíneo mais freqüentemente capturado em domicílios, peridomicílios, bananais e áreas de florestas é *Nyssomyia whitmani* (MAYRINK 1979). As espécies *Nyssomyia intermedia* s. lat. e *Nyssomyia whitmani*, contrariamente ao *Psychodopygus wellcomei*, encontram-se adaptadas a ambientes domiciliares e peridomiciliares, possivelmente, como resultado da destruição pelo homem de seus habitats silvestres e naturais (GOMES 1978, TEODORO 1998).

No Estado de São Paulo, a ocorrência da LTA, até os meados do século 20, se associava às primitivas matas, com os seus vetores numa estreita dependência das mesmas. Com o extensivo desmatamento que o Estado vinha sofrendo julgava-se que o fim das florestas levaria à eliminação da doença (SAMPAIO 1951). Até esta época, destacavam-se como espécies de flebotomíneos predominantes e antropofílicas nas áreas de ocorrência da doença *Nyssomyia whitmani*, *Pintomyia pessoai* e *Pintomyia fischeri* e, embora, a *N. intermedia* s. lat. não se apresentasse em abundância, chamava a atenção a sua grande dispersão (BARRETO 1943). Com o progressivo desmatamento, este táxon assumiu dominância entre as espécies de flebotomíneos, em praticamente todas as áreas de transmissão (FORATTINI et al. 1976 a b, CASANOVA et al 1995, CONDINO et al 1998, DOMINGOS et al 1998).

O táxon *N. intermedia*, na realidade, compreende duas espécies crípticas: a *N. intermedia*, s. str. que se distribui na área litorânea do Estado e a *N. neivai*, até então, considerada na sinonímia da primeira, em área do Planalto Paulista, com ocorrência em simpatria em municípios não litorâneos do Vale do Ribeira e do Paraíba (MARCONDES 1996). Embora em níveis inferiores ao de *N. intermedia* s.

lat, a espécie, *Migonemyia migonei* vem assumindo importância na transmissão da LTA por todo o Estado (NEVES 1999).

Para a *Leishmania guyanensis*, na região amazônica, o vetor que parece deter a maior responsabilidade na transmissão dos parasitos é *Nyssomyia umbratilis*. Esse é encontrado, muitas vezes, em grande número, repousando em troncos de grandes árvores e, quando perturbados, o ataque ao homem ocorre em grande intensidade. Infecções naturais ocasionais foram relatadas em *Nyssomyia anduzei*, o qual pode ter algum papel vetorial secundário (MARZOCHI 1992, AZEVEDO 2002, CVE 2003).

Para a *Leishmania amazonensis* a principal espécie vetora é *Bichromomyia flaviscutellata* e, secundariamente, atribui-se também algum papel vetorial à espécie *Bichromomyia olmeca nociva*. Essas duas espécies possuem hábitos noturnos e vôo baixo sendo, entretanto, consideradas pouco antropofílicas (DORVAL et al. 2002, CVE 2003).

## 2 JUSTIFICATIVAS

Existem evidências da transmissão da LVA na Grande São Paulo, desde o final da década de 70 e início da de 80 (IVERSSON et al 1981) e que não foram identificados nesta área a presença de vetor(es) e reservatório(s), importantes elos da cadeia epidemiológica. A LVA assume importância enquanto problema de Saúde Pública no Estado de São Paulo, no final da década de 90, quando se identifica a sua ocorrência no cão e a seguir no homem em Araçatuba na região noroeste do Estado de São Paulo. A partir de então, a doença tem se espalhado, com registros de casos humanos em 21 municípios, no período de 1999 a 2004, com elevada letalidade (CVE-SP 2004). Recentemente, a infecção por *Leishmania (L.) chagasi*, agente da LVA foi identificada na população canina dos municípios de Embu e Cotia.

Embora existam registros da ocorrência da principal espécie vetora, *Lu. longipalpis*, na Grande São Paulo, no município de Pirapora do Bom Jesus (FORATTINI et al 1976), a mesma não foi encontrada em pesquisas entomológicas

realizadas no município de Cotia na área onde ocorreu o caso em felídeo e também em outras áreas com transmissão canina\*\*

No município de Embu, capturas de flebotomíneos realizadas pela Superintendência de Controle das Endemias do Estado de São Paulo (SUCEN) no quintal de uma residência situada próxima a uma pequena reserva de mata, junto à qual se encontrava instalado um canil, com a presença de cães com LVA, também não foram capturadas *Lu. longipalpis*. No interior do canil, foram capturadas, entre outras, as espécies, *Pintomyia fischeri*, *Migonemyia migonei* e *Evandromyia edwardsi*, cujas fêmeas foram dissecadas no Laboratório de Phlebotominae da Faculdade de Saúde Pública/USP. Em três de cinco fêmeas dissecadas de *Ev. edwardsi* observou-se infecção natural por flagelados com distribuição suprapilária (Galati EAB, informação pessoal), mas cuja identificação por técnicas moleculares do lote formado pelos cinco espécimes revelou pertencerem a *Leishmania (V.) braziliensis* (CAMARGO-NEVES, 2004).

Das espécies capturadas na área de ocorrência do caso em felino (CAMARGO-NEVES, 2004), destacam-se *Psychodopygus lloydi*, *M. migonei* e *P. fischeri*. Com exceção de *M. migonei* já encontrada naturalmente infectada, no Estado do Ceará (AZEVEDO et al 1990) por *Leishmania (V.) braziliensis*, principal agente da Leishmaniose Cutânea-Mucosa encontrado em praticamente todo território nacional, e da evidência de infecção experimental em *P. fischeri* pela provável *Leishmania (V.) braziliensis* (PESSÔA e COUTINHO 1941) nada se conhece a respeito do possível papel como vetores de leishmanioses das demais espécies.

As espécies *P. fischeri* e *M. migonei* embora associadas a matas primitivas e de segunda formação estão amplamente distribuídas no Estado de São Paulo. *P. fischeri* ocorre com grande densidade em capoeiras e pequenas matas de segunda formação, em áreas há muito desmatado, sobretudo quando em seu interior ou em suas proximidades ocorrem habitações humanas e de animais domésticos. Invade o

---

\*\* Informação obtida na Secretaria Municipal de Saúde de Cotia



intradomicílio e aí permanece durante o dia. Na década de 40, era a espécie mais abundante em capturas no município de São Paulo (BARRETTO 1943).

*Mg. migonei* é uma espécie muito antropofílica e pica animais domésticos. Embora apresente uma das mais amplas distribuições entre os flebotomíneos do Estado de São Paulo, de um modo geral ocorre com baixas frequências. No entanto, uma análise de regressão multivariada apontou para esta espécie, como sendo a mais associada aos mais elevados coeficientes padronizados de incidência média acumulada da leishmaniose tegumentar nas matas do Planalto Atlântico (CAMARGO-NEVES 1999). Deve-se, ainda, ressaltar a importância do ciclo enzoótico, especialmente o comportamento dos reservatórios e da fauna de flebotomíneos nessa região.

*Ev. edwardsi* foi a espécie mais freqüente encontrada em cavernas do Vale do Ribeira e também comumente encontrada em matas da Serra do Mar e de Paranapiacaba (EAB Galati -informação pessoal).

Frente ao ritmo acelerado de expansão da LVA, a presença da infecção em população canina e felina da Grande São Paulo, áreas estas bastante populosas e a possibilidade de outras espécies de flebotomíneos estarem participando da transmissão dos parasitos;

Embora, para algumas das espécies já se conheça as suas formas imaturas, o mesmo não se pode dizer em relação aos criadouros.

Assim, face ao exposto pretendeu-se com o presente trabalho estudar o comportamento da fauna flebotomínea em focos de transmissão de LTA e LVA do município de Cotia, com o intuito de identificar o(s) vetor(es) dessas parasitoses, pois para a LVA, tem sido uma constante a infecção canina preceder a humana (GOMES 1996).

Acresce-se que se confirmada a ausência da *Lu. longipalpis*, *Lu. cruzi* praticamente único vetor comprovado até o momento para o Brasil da LVA, há a necessidade de se apontar para outra(s) espécie(s) que possam estar desempenhando tal papel. Isto implicará em mudanças na estratégia de controle da doença, que está alicerçada com grande peso na presença da *Lu. longipalpis*

As informações sobre os criadouros dos flebotomíneos poderão auxiliar em medidas de manejo ambiental, direcionadas para o controle destes dípteros e com isto, enfraquecer um importante elo da cadeia epidemiológica das leishmanioses.

### **3 Objetivos**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Estudar a ocorrência de leishmaniose, bem como a fauna de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae), em área de Leishmanioses, no município de Cotia, Estado de São Paulo, Brasil.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- 3.2.1. Descrever a distribuição dos casos de Leishmanioses na macrorregião de Osasco (onde se insere geopoliticamente o município de Cotia) e calcular o Coeficiente de Incidência Média Acumulada de acordo com casos notificados no período de 1996 a 2004;
- 3.2.2. Relacionar as diversas espécies de flebotomíneos capturadas no período estudado e comparar com estudos previamente realizados;
- 3.2.3. Comparar a ocorrência de flebotomíneos em diferentes ecótopos;
- 3.2.4. Comparar as capturas realizadas com armadilha de Shannon branca e preta;
- 3.2.5. Descrever o ritmo horário noturno e o ritmo nictemeral dos flebotomíneos atraídos na armadilha de Shannon;
- 3.2.6. Descrever a sazonalidade das espécies mais abundantes em um ano de estudo;
- 3.2.7. Relacionar a ocorrência das espécies de flebotomíneos capturadas com os componentes ambientais: índice pluviométrico e temperatura;
- 3.2.8. Buscar por criadouros de flebotomíneos;
- 3.2.9. Identificar infecção natural por flagelados em flebotomíneos;
- 3.2.10. Correlacionar as espécies mais abundantes e suas possíveis implicações epidemiológicas como vetoras nos casos humanos de Leishmaniose Tegumentar e caninos de Leishmaniose Visceral notificados pela Secretaria de Saúde Municipal de Cotia.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Tipo de estudo

Estudo do tipo observacional descritivo. Para a população humana foi realizada amostragem por julgamento (não-probabilística) com coleta de dados retrospectiva (MEDRONHO 2004), através do Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE) do Estado de São Paulo.

Para a população de insetos a amostragem foi aleatória simples (probabilística) com coleta de dados prospectiva (MEDRONHO 2004).

### 4.2 Região de estudo

Cotia localiza-se a sudoeste da Grande São Paulo, dista 34 km do marco zero da capital e conta com uma área total de 325 km<sup>2</sup> de agricultura e pecuária e de 182 km<sup>2</sup> de áreas urbanas (figura 1).

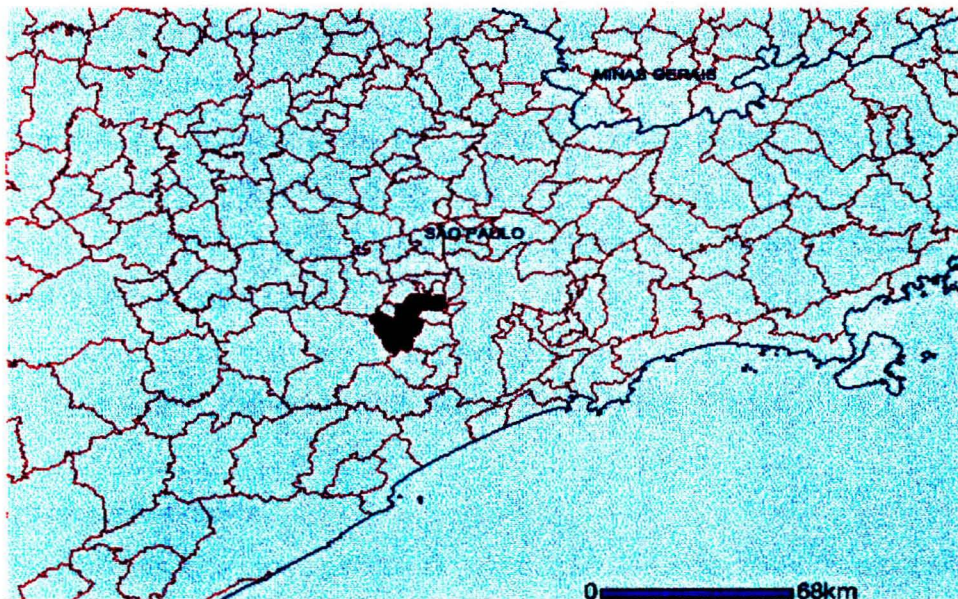


Figura1: Mapa da localização do município de Cotia no estado de São Paulo.

Situa-se a 820 metros de altitude em relação ao nível do mar, na latitude S 23° 36' 09" e longitude W 46° 55' 52". Possui clima ameno, com temperaturas médias entre 18°C e 25°C, com relevo montanhoso e área de reserva florestal tombada pelo CONDEPHAAT (Conselho de Defesa do Patrimônio Histórico, Artístico, Arqueológico e Turístico).

Conta com dois distritos:

Sede e Caucaia do Alto, que dista cerca de 12 km da sede, com nítida delimitação geográfica.

A população é de 170.296 habitantes, em 2004, (IBGE, 2005) caracterizando o município como de grande porte, com predomínio de população urbana, embora existam conglomerados populacionais distantes da sede, voltados para a atividade agrícola.

O setor industrial é predominante, com forte presença de empregados, alto índice de ocupação na construção civil e existência de atividade agropecuária.

A situação de moradias é contrastante, possui condomínios de alto padrão, ao lado de habitações inadequadas, Possui cinco favelas já consolidadas e apresenta conglomerados dispersos nos bairros, constituídos de habitações do tipo barracos.

A economia baseia-se na atividade industrial, no comércio e na prestação de serviços, com alguma atividade agropecuária remanescente.

A atividade industrial compõe-se de indústrias de transformação nas áreas de metalurgia, têxtil e química.

A agricultura concentra-se em culturas permanentes de frutas, e de temporárias como: milho, flores e horticultura.

Na pecuária, a principal atividade é a avicultura, seguida de produção de leite, lã, ovos, mel e cera de abelhas.

É limítrofe dos municípios de: Itapevi, Jandira, Carapicuíba, Osasco, Vargem Grande Paulista, Ibiúna, Itapeçerica da Serra, Embu e São Roque.

#### **4.3 Pontos amostrados:**

Foram amostrados cinco pontos no município de Cotia, listados a seguir:

Ponto 1: Chácara do Sr. Antônio, próxima ao bairro Monte Verde (com caso de leishmaniose visceral canina). Na figura 2 pode-se observar uma residência localizada neste ponto.





**Figura 2: Residência da chácara do Sr. Antônio no município de Cotia.**

Ponto 2: Bairro Santa Paula (caso humano de leishmaniose tegumentar e visceral felino). Figura 3 residência localizada no bairro Santa Paula.



**Figura 3: Residência na rua Inglaterra no bairro Santa Paula, município de Cotia.**



Ponto 3: Bairro Monte Verde (leishmaniose visceral canina). Figura 4 galinheiro em quintal de residência no ponto 3.



**Figura 4: Galinheiro em Residência na rua Butiá no bairro Monte Verde, município de Cotia.**

Ponto 4: Bairro Jardim das Oliveiras (caso humano de leishmaniose tegumentar). Observa-se na figura 5 quintal de residência do ponto 4.



**Figura 5: quintal de residência no Jardim das Oliveiras, município de Cotia.**

Ponto 5: Bairro das Pitas (condições para transmissão da doença, presença de galinheiro próximo à mata e do domicílio).

Portanto, os locais de amostragem foram escolhidos em virtude da ocorrência de casos de LVA em felino e cães e LTA em humanos e também presença de condições de transmissão de leishmaniose, tais como abrigo de animais domésticos situado próximo à mata e domicílio. Os pontos foram amostrados em ambientes de mata, peridomiciliar (em abrigos de animais domésticos) e no intradomicílio.

As amostragens de todos os pontos englobam regiões rurais com peridomicílio (figura 6 ) e mata (figura 7 ) e urbanas (figura 8 ).



**Figura 6: Ambiente peridomiciliar na Chácara do Sr. Antônio, município de Cotia.**





**Figura 7: Ao fundo Ambiente de mata, onde foram realizadas capturas na Chácara do Sr. Antônio, município de cotia.**



**Figura 8: Ambiente urbano ou peri-urbano no município de Cotia.**

## **4.4 LEVANTAMENTO DE DADOS**

### **4.4.1 DADOS CLIMÁTICOS**

A variação sazonal foi analisada à luz dos dados meteorológicos (temperatura e pluviosidade) obtidos da Estação meteorológica do instituto agrônomo no município de São Paulo, através do site: <http://www.iac.sp.gov.br/ciiagro/>. Além disto foram coletados dados de temperatura local e informações gerais de eventos climáticos, durante as campanhas de captura.

### **4.4.2 POPULAÇÃO HUMANA:**

#### **4.4.2.1 Dados demográficos;**

Os dados demográficos para o cálculo dos índices de incidência da LTA do município de Cotia e municípios limítrofes foram obtidos no site do IBGE.

#### **4.4.2.2 Casos notificados;**

Levantamento de dados (BERQUÓ et al 1981) foi do tipo contínuo: os eventos "indivíduos portadores de Leishmanioses" que foram registrados à medida que tiveram seu diagnóstico clínico-laboratorial caracterizado como infectados, no período de 1996 a 2004. Foi realizada uma amostragem por conveniência mediante dados secundários registrados pelo Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo e disponíveis na Internet.

#### **4.4.2.3 Coeficiente de Incidência Média Acumulada – CI**

As informações obtidas junto aos órgãos públicos responsáveis, referentes aos casos de leishmanioses notificados, foram utilizadas para o cálculo do nível de incidência das leishmanioses nos municípios da diretoria V (Osasco) da Vigilância Epidemiológica. O Coeficiente de Incidência Média Acumulado foi calculado segundo SZKLO 1993, de acordo com a fórmula a seguir:

$$CI = \frac{\left( \frac{n}{\frac{P1 + P2}{2}} \right)}{A} \times 100.000$$

Onde:

CI = Coeficiente de Incidência Média Acumulada

n = número de casos no período

P1 = População inicial

P2 = População final

A = número de anos do período de estudo

#### 4.4.3 POPULAÇÃO DE INSETOS:

##### 4.4.3.1 Captura de adultos de Flebotomíneos

As capturas dos espécimes foram realizadas durante um ano, com uma periodicidade mensal. Cada campanha de captura teve duração de três dias.

##### 4.4.3.2 Métodos de captura e transporte

Na chácara do Sr. Antônio foram utilizadas três tipos de armadilhas para a captura dos insetos, além da busca ativa e aspiração em ambientes suspeitos.

As armadilhas de Shannon (SHANNON 1939) modificadas nas cores branca e preta (figura 9) (GALATI et al. 2001), iluminadas com lampião a gás. Nestas armadilhas os flebotomíneos foram capturados individualmente, ou aspirados por dois indivíduos munidos de lanterna, nas primeiras duas horas do crepúsculo vespertino, dois dias consecutivos a cada mês. Mensalmente, durante 13 horas, para determinação do ritmo horário noturno. Uma vez a cada estação, foi realizada uma captura durante 25 horas para a determinação do ritmo nictemeral. Além das armadilhas automáticas luminosas tipo CDC (NATAL et al 1991), que foram instaladas mensalmente das 18:00 às 6:00 horas, por três noites, sendo distribuídas em ambiente domiciliar, peridomiciliar e mata.



**Figura 9: Foto das armadilhas de Shannon montadas em ambiente de mata na Chácara do Sr. Antônio, município de Cotia.**

Nos outros pontos foram utilizadas apenas armadilhas tipo CDC em ambiente peridomiciliar, entretanto no bairro Santa Paula foi colocada uma armadilha tipo CDC em ambiente de mata. Nestes pontos as armadilhas foram colocadas pelos funcionários da Secretaria Municipal de Saúde de Cotia.

Os insetos capturados por armadilha tipo CDC foram congelados ou sacrificados mediante resfriamento ou com inseticida, triados e acondicionados em recipientes de plástico entre papel filtro embebido com substâncias antifúngicas, para serem encaminhados ao laboratório para preparação, montagem e identificação.

Os flebotomíneos capturados por armadilha de Shannon foram alimentados com solução açucarada e acondicionados em caixa de isopor, em umidade adequada, para serem encaminhados ao laboratório. Nas fêmeas foi investigada a ocorrência de infecção natural por flagelados.

#### 4.4.3.3 Montagem e identificação dos insetos:



Os flebotomíneos capturados no campo e encaminhados para o laboratório foram clarificados e corados pela técnica descrita por FORATTINI (1973) e observados em microscópio óptico para identificação da espécie.

A identificação dos espécimes foi realizada mediante aspecto morfológico, segundo GALATI (2003).

As amostras selecionadas para a realização de reação de PCR foram identificadas por exame direto dos espécimes ou de partes destes.

Após o término dos trabalhos, amostras dos insetos foram incorporadas à coleção entomológica do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública/USP.

#### 4.4.3.4 Formas imaturas

##### 4.4.3.4.1 Métodos de coleta

Para a busca de criadouros, foram utilizadas armadilhas desenvolvidas por CASANOVA (2001), que consistem basicamente de uma bacia grande com a câmara coletora acoplada ao seu fundo. A câmara coletora é feita com tubo em PVC vedado com tela miúda. Em seu interior, foi fixada uma tira de papel com substância adesiva. Essas armadilhas foram colocadas em alguns pontos onde houve suspeitas de servir como criadouro (figura 10). Foram fixadas ao solo pelas bordas. Estas foram recobertas com terra do local, onde permaneceram por aproximadamente sessenta dias, quando foram retiradas as câmaras e examinadas, para verificar a existência de insetos adultos aderidos à tira de papel.

O ponto de captura também foi amostrado mensalmente em ambiente peridomiciliar e mata. Foram coletadas quatro amostras de 100 ml de solo em diferentes locais que apresentavam condições de servirem de criadouros para os flebotomíneos. As amostras foram colocadas em sacos plásticos, devidamente identificadas transportadas ao Laboratório de Phlebotominae, do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública/USP para busca de formas imaturas.



**Figura 10: Criadouro potencial em mata na Chácara do Sr Antônio, município de Cotia.**

#### 4.4.3.4.2 Método de investigação

Para essa busca foi empregado o método de Macfadyen. Este método fundamenta-se na ação repelente para as larvas, quando submetidas à câmara de dessecação com a presença de luz. Para se livrarem da dessecação, as larvas migram para áreas mais profundas do substrato que se assenta sobre uma rede. Esta permite a passagem das larvas que caem em um frasco conectado por um funil à rede (MAROLI et al 1997).

Foram obtidos dados relativos à abundância, densidade, sazonalidade, diversidade nos ambientes (naturais e antrópicos) e presença de outras populações de artrópodes coabitando no mesmo ambiente.

#### 4.4.3.5 Infecção natural por flagelados

Para a verificação da infecção natural, as fêmeas foram anestesiadas com éter e a seguir transferidas para uma lâmina esterilizada e observadas sob um microscópio estereoscópico. Nesta lâmina, foram retiradas as patas e asas com auxílio de dois estiletos. A seguir foi transferida nesta própria lâmina para uma gota

de solução salina, também estéril. A cabeça foi então separada do resto do corpo. Um dos estiletos foi colocado inclinado sobre o tórax e com o outro se fez pequenas trações no VIII segmento abdominal, em sentido posterior, até expor completamente o tubo digestivo que ficava ligado a terminália. Então, foi coberta por uma lamínula estéril e observada em microscópio óptico com aumento de 400 vezes. Depois de feita a observação do tubo digestivo, se procedeu a identificação do flebotomíneo por meio de suas espermatecas. Quando estas estavam difíceis de serem observadas, fez-se uma compressão com a ponta do lápis ou da caneta sobre a lamínula de modo a expô-las. Após o exame, os espécimes foram armazenados em isopropanol para estudos com técnicas moleculares para identificação de infecção natural.

#### 4.4.3.6 Realização da reação em cadeia da polimerase (PCR)

Para a realização do exame de PCR foram selecionadas as fêmeas capturadas em armadilha de Shannon e dissecadas e também aquelas capturadas nas armadilhas tipo CDC modificada e instaladas nas seguintes localidades: chácara Sr. Antônio - da mata-mina e galinheiro; bairro Santa Paula (rua Inglaterra) - mata e varanda.

O armazenamento foi feito com até 10 insetos da mesma espécie, local e data em tubos plásticos de Ependorff (1,5 ml). Este material foi levado ao laboratório de Protozoologia do Instituto de Medicina Tropical/USP para a extração dos ácidos nucléicos. No laboratório de Doenças Tropicais do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública/USP foi feita a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). A PCR foi realizada com um primer para amplificação de DNA-ribossômico, presente em tripanossomatídeos citado em PAIVA (2005).

## 4.5 Tratamento estatístico

Os resultados obtidos no presente trabalho foram analisados mediante o emprego dos seguintes indicadores: Índice de diversidade, Índice de Abundância Padronizado (ROBERTS e HSI, 1979), Índice de SORENSE, 1948 e Média de Williams (SERVICE 1993). Além disto, utilizaram-se percentuais em algumas das análises.

#### 4.5.1 CÁLCULO DO ÍNDICE DE DIVERSIDADE DE ESPÉCIES (MARGALEF 1949, citado por SERVICE 1993).

O cálculo do índice de diversidade das espécies foi proposto por Margalef, como uma definição de medida da riqueza e abundância. Esta análise de diversidade de espécies deve levar em consideração a riqueza de espécies e a eqüitabilidade na repartição dos indivíduos entre as espécies (SERVICE 1993).

Para este cálculo utilizou-se a seguinte fórmula:

$$D = \frac{(S - 1)}{\log_e N}$$

**S** = número de espécies

**N** = número de indivíduos

#### 4.5.2 CÁLCULO DO ÍNDICE DE ABUNDÂNCIA DE ESPÉCIES (ROBERTS & HSI 1979)

O índice de abundância das espécies é calculado sobre os dados referentes a capturas em ambientes diferentes, com a mesma metodologia de captura e estima a abundância das espécies capturadas em diferentes ecótopos ou em uma seqüência temporal.

Para o cálculo deste índice, os autores definiram a seguinte fórmula:



$$IAE = \frac{a + R_j}{K}$$

**IAE** = Índice de Abundância de Espécies

**a** = número de ausências da espécie nos ecótopos ou horários pesquisados multiplicado por **c**

**c** = considerando todos os pontos ou horários de capturas deve-se fazer um “ranking” das espécies e o maior valor obtido para as posições de todas as espécies deve ser acrescido de + 1

**R<sub>j</sub>** = somatório das posições da espécie avaliada em cada ecótopos ou horário de atividade

**K** = número de ecótopos amostrados

Convertem-se os valores do IAE em uma escala de zero a um, para se obter o Índice de Abundância de Espécies Padronizado (IAEP). Deste modo, as análises poderão ser realizadas considerando-se os valores mais próximos de 1 para as espécies mais abundantes e os valores mais próximos de 0 referem-se às espécies menos abundantes. A fórmula para o cálculo do IAEP é:

$$IAEP = \frac{c - IAE}{c - 1}$$

#### 4.5.3 CÁLCULO DO ÍNDICE DE SIMILARIDADE ENTRE AS LOCALIDADES PESQUISADAS

O cálculo de similaridade entre as faunas de distintos ambientes é uma análise quantitativa sobre o número de espécies capturadas em cada ambiente ou localidade, onde o índice encontrado deve estar entre os valores zero e 1, indicando maior ou menor grau de similaridade entre as faunas de dois ambientes. Para tal utiliza-se o Índice de Sorensen (SORENSEN 1948, MAGURRAN 1988; SERVICE 1993) dado pela seguinte fórmula:

$$S = \frac{2J}{(a+b)}$$

S = Índice de Sorensen

J = número de espécies comuns aos dois ambientes comparados

a = número de espécies em a

b = número de espécies em b

#### 4.5.4 CÁLCULO DA MÉDIA DE WILLIAMS (HADOW 1954 e 1960)

A Média de Williams é na verdade uma média geométrica modificada, portanto trata-se de uma medida de tendência central, na qual assumem importância a frequência e regularidade das espécies, além da abundância das mesmas.

Para tal, a fórmula utilizada para o cálculo desta média é:

$$\bar{X}_w = \left[ \text{antilog} \left( \frac{\sum \log(y_1 + 1) + \log(y_2 + 1) \dots \log(y_n + 1)}{N} \right) \right]^{-1}$$

n

Y = número de espécimes da espécie estudada em cada uma das capturas.

1

N = número de capturas

#### 4.5.5 TESTE DE HIPÓTESE

Para comparar as capturas realizadas pelas armadilhas de Shannon na cor preta e branca utilizou-se o teste de Qui-quadrado ( $X^2$ ) (Siegel, 1975). Este teste foi realizado somente para *P fisheri*, pois as outras amostras se apresentaram com freqüências muito reduzidas.

#### 4.5.6 AVALIAÇÃO DO PERÍODO DE ATIVIDADE NOTURNA

Foi calculada a Média de Williams em doze meses de capturas, e foram apresentados o número absoluto e a média horária geral dos flebotomíneos e da espécie mais abundante durante doze horas noturnas.

#### 4.5.7 TENDÊNCIA SAZONAL

A tendência sazonal foi obtida através da Média de Williams para os flebotomíneos capturados com as armadilhas do tipo CDC em todos os pontos de amostragem, e seguiu-se a comparação com a temperatura média mensal e o índice pluviométrico.

A infecção natural por flagelados será apresentada na forma de taxa percentual. Será considerado o número mínimo de insetos infectados nos lotes com resultados positivos.

### 4.6 FINANCIAMENTO

Para o transporte, foi utilizado veículo da Secretaria Municipal de Saúde do município de Cotia.

Os equipamentos e substâncias foram cedidos pelo Laboratório de Phlebotominae, do Departamento de Epidemiologia da FSP/USP, obtidos com verbas de projetos que já se encerraram, financiados pela FAPESP (Nº 00/06811-0).

A execução do projeto foi realizada por dois alunos de mestrado da FSP-USP; Delano Aníbal da Silva (bolsista CAPES), Mauro Brenevilieri Fonseca e dois funcionários da Secretaria Municipal de Saúde de Cotia.

A identificação PCR de flagelados foi realizada no Instituto de medicina tropical e na Faculdade de Saúde Pública.

## 5 Resultados

### 5.1 Casos humanos

#### Coeficiente de Incidência Acumulada nas Diretorias Regionais de Saúde do Estado de São Paulo.

Na tabela 1 consta o número de casos de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) notificados à Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo referente à diretoria V, que engloba 14 municípios, e com sede no município de Osasco. No período de 1996 a 2004, foram notificados 138 casos da doença, com um súbito aparecimento de notificações a partir do ano de 1999.

**Tabela 1. Número de casos humanos de LTA notificados à vigilância epidemiológica dir. V Osasco, segundo os municípios e ano do período de 1996 a 2004**

Município/Ano	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	total
Barueri	-	-	-	2	-	1	2	-	-	5
Carapicuíba	-	-	-	3	4	4	2	1	1	15
Cotia	-	-	-	3	4	4	3	1	1	16
Embú	-	-	-	6	2	2	4	1	1	16
Embú-Guaçú	-	-	-	1	2	-	-	-	1	4
Itapecerica da Serra	-	-	-	1	1	2	1	-	7	12
Itapevi	-	-	-	5	2	2	1	4	1	15
Jandira	-	-	-	1	1	-	-	-	-	2
Juquitiba	-	-	-	-	-	1	-	1	-	2
Osasco	-	-	-	5	5	4	3	1	2	20
Santana do Parnaíba	-	-	-	-	1	-	1	1	-	3
São Lourenço da Serra	-	-	-	-	1	-	-	-	2	3
Taboão da Serra	-	-	-	-	1	5	2	3	-	11
Vargem Grande Paulista	-	-	-	1	1	5	5	2	-	14
<b>Dir. V Osasco</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>28</b>	<b>25</b>	<b>30</b>	<b>24</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>138</b>

Os Coeficientes de Incidência Média Acumulada para o período de 1996 a 2004, por 100 mil habitantes, dos 14 municípios da dir. V da Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo podem ser observados na figura 11. Todos os municípios apresentaram casos de LTA, sendo o coeficiente mais elevado (9,52) o do município de Vargem Grande Paulista e Cotia apresentou o terceiro maior coeficiente (2,39).

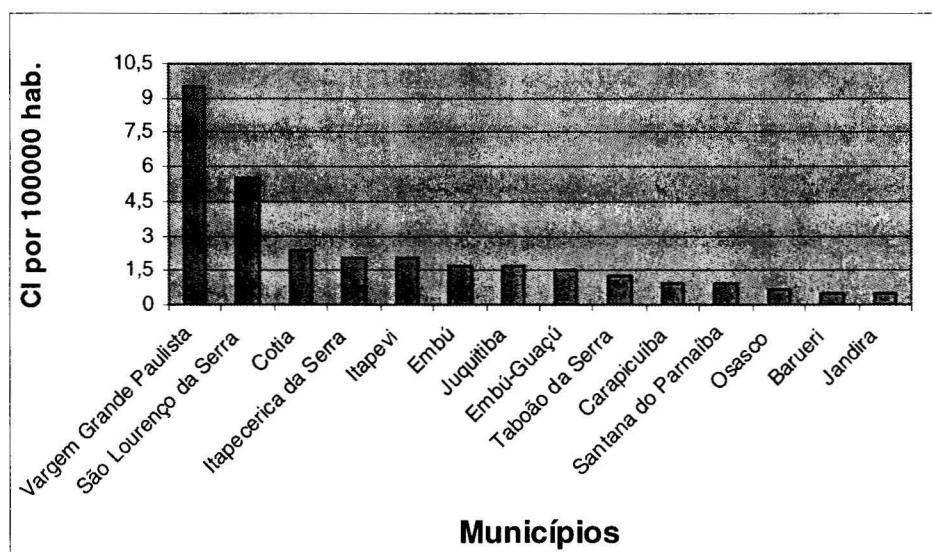


Figura 11. Coeficiente de Incidência Média Acumulada (CI) dos municípios da diretoria V da Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo no período de 1996 a 2004.

## 5.2 Composição das espécies capturadas nas localidades pesquisadas

O total de flebotomíneos capturados durante o período de estudo, junho de 2004 a agosto de 2005, com os três métodos de coleta foi de 2.690 espécimes. A fauna esteve representada por 15 espécies distribuídas segundo as subtribos: BRUMPTOMYIINA: *Brumptomyia brumpti* (Larrousse, 1920), *Brumptomyia cardosoi* (Barretto & Coutinho, 1941) e *Brumptomyia nitzulescui* (Costa Lima, 1932); LUTZOMYIINA: *Evandromyia cortelezii* (Brèthes, 1923), *Evandromyia lenti* (Mangabeira, 1938), *Evandromyia edwardsi* (Mangabeira, 1941), *Expapillata firmatoi* (Barretto, Martins & Pelegriano, 1956), *Migonemyia migonei* (França, 1920), *Pintomyia fischeri* (Pinto, 1926) e *Pintomyia monticola* (Costa Lima, 1932); PSYCHODOPYGINA: *Psathyromyia pascalei* (Coutinho & Barretto, 1940), *Psathyromyia lanei* (Barretto & Coutinho, 1941), *Psychodopygus ayrozai* (Barretto & Coutinho, 1940) e *Psychodopygus lloydi* (Antunes, 1937); SERGENTOMYIINA: *Micropygomyia ferreirana* (Barretto, Martins & Pelegriano, 1956). Além destas espécies foi capturada, manualmente, no bairro das Pitas, uma espécie do gênero *Nemopalpus*.

Na chácara do Sr. Antônio capturou-se 63,75% dos espécimes (1.715), distribuídos em 13 espécies e apresentados segundo sexo na tabela 2 distribuídos segundo sexo conforme tabela 2.

Adicionalmente, foram amostrados outros quatro pontos no município de Cotia, que no seu conjunto perfazem 12 espécies e um total de 976 espécimes, distribuídos segundo sexo, na tabela 3.

**Tabela 2: Número e percentual dos flebotomíneos capturados na chácara do Sr. Antônio, município de Cotia, segundo sexo, de junho de 2004 a maio de 2005.**

Espécies	fêmeas		machos		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Brumptomyia brumpti</i>	4	0,50	4	0,50	8	0,47
<i>Brumptomyia cardosoi</i>	-	-	3	1,00	3	0,18
<i>Brumptomyia nitzulescui</i>	2	40,0	3	60,0	5	0,18
<i>Evandromyia cortelezzi</i>	8	1,00	-	-	8	0,47
<i>Evandromyia edwardsi</i>	1	100,0	-	-	1	0,06
<i>Evandromyia lenti</i>	7	100,0	-	-	7	0,41
<i>Micropygomyia ferreirana</i>	-	-	1	1,00	1	0,06
<i>Migonemyia migonei</i>	171	59,4	117	40,6	288	16,79
<i>Pintomyia fischeri</i>	554	50,5	543	49,5	1097	64,06
<i>Pintomyia monticola</i>	42	80,7	10	19,3	52	3,03
<i>Psathyromyia pascalei</i>	-	-	3	1,00	3	0,18
<i>Psychodopygus ayrozai</i>	2	40,0	3	60,0	5	0,29
<i>Psychodopygus lloydi</i>	161	67,9	76	32,1	237	13,82
<b>Total</b>	<b>943</b>	<b>55,0</b>	<b>763</b>	<b>45,0</b>	<b>1715</b>	<b>100,0</b>

**Tabela 3: Número e percentual dos flebotomíneos capturados em quatro pontos amostrais no município de Cotia, segundo sexo, de julho de 2004 a agosto de 2005.**

Espécies	fêmeas		machos		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Brumptomyia brumpti</i>	-	-	4	100,0	4	0,41
<i>Brumptomyia cardosoi</i>	-	-	1	100,0	1	0,10
<i>Brumptomyia nitzulescui</i>	-	-	1	100,0	1	0,10
<i>Evandromyia cortelezzi</i>	10	100,0	-	-	10	1,02
<i>Expapillata firmatoi</i>	1	100,0	-	-	1	0,10
<i>Migonemyia migonei</i>	63	50,8	61	49,2	124	12,71
<i>Pintomyia fischeri</i>	460	60,9	295	39,1	755	77,36
<i>Pintomyia monticola</i>	2	50,0	2	50,0	4	0,41
<i>Psathyromyia lanei</i>	1	100,0	-	-	1	0,10
<i>Psathyromyia pascalei</i>	-	-	2	100,0	2	0,21
<i>Psychodopygus lloydi</i>	54	75,0	18	25,0	72	7,38
<i>Psychodopygus ayrozai</i>	-	-	1	100,0	1	0,10
<b>Total</b>	<b>591</b>	<b>60,6</b>	<b>385</b>	<b>39,4</b>	<b>976</b>	<b>100,00</b>

### 5.3 Índice de diversidade

O Índice de Diversidade de Espécies (D) de todos os pontos de captura, no período de junho de 2004 a agosto de 2005 foi de:  $D=1,773$ .

### 5.4 Índice de abundância

O Índice de abundância de Espécies Padronizado (IAEP) é apresentado na figura 12. As espécies que mais se destacam são *Pi. fischeri*, (0,95), seguido por *Ps. lloydi* (0,85), *Mg. migonei* (0,69) e *P. monticola* (0,52), *Ev. cortelezzii* (0,22), *Ev. lenti* (0,17), *Br. nitzulescui* (0,15), *Br. brumpti* (0,14), *Br. cardosoi* (0,11), *Pa. pascalei* (0,10), *Ps. ayrozai* (0,07), *Ev. edwardsi* (0,00), *Pa. lanei* (0,00), *Ex. firmatoi* (0,00) e *Mi. ferreirana* (0,00).

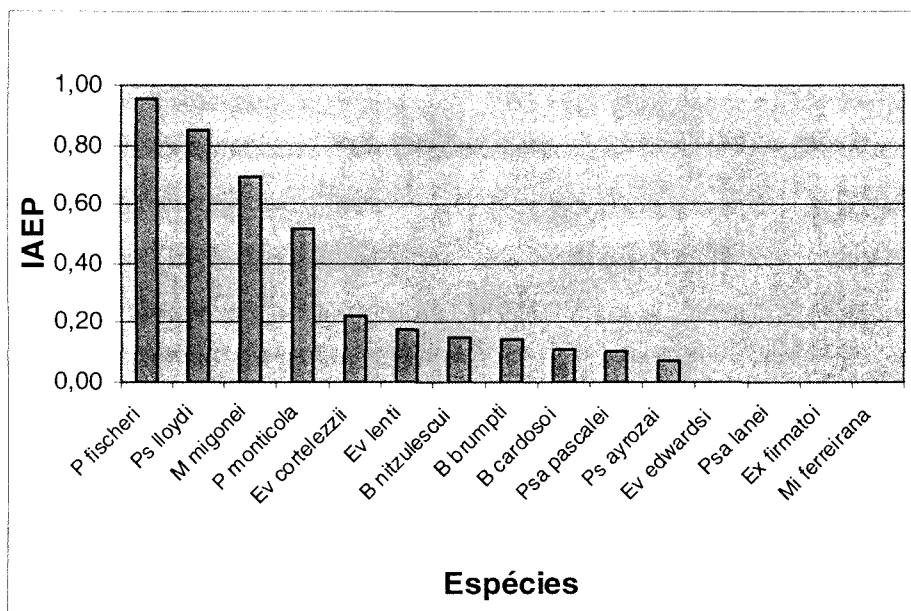


Figura 12: Índices de Abundância de Espécies Padronizado capturadas por armadilhas tipo CDC na chácara do Sr. Antônio, município de Cotia, de junho de 2004 a maio de 2005.

### 5.5 Composição das espécies capturadas segundo armadilha e sexo

As espécies capturadas segundo diferentes métodos de captura, CDC ou armadilha de Shannon são apresentadas na tabela 4, na qual se nota que *Pi. fischeri* predomina, seguida de *Mg. Migonei*, *Ps. lloydi* e *Pi. monticola* sendo que as quatro



juntas perfazem 96,93% do total de flebotomíneos capturados. No total de insetos, coletou-se mais fêmeas do que machos em ambas as armadilhas, porém a razão fêmeas/machos foi de 1,26 para as CDC e 2,81 para a Shannon. Fêmeas e machos de *Pi. fischeri* tiveram praticamente a mesma atração (fêmeas/machos = 1,1) em relação às armadilhas tipo CDC ao passo que na Shannon as fêmeas foram 3,0 vezes mais atraídas que os machos. Fêmeas de *Pi. monticola* também, foram três vezes mais atraídas que machos nos dois métodos empregados. Também para *Ps. lloydi* e *Mg. migonei* as fêmeas foram mais atraídas que os machos, sendo a razão fêmeas/machos, respectivamente para as CDCs e Shannon 2,3 e 2,0 para a primeira e 1,31 e 1,50 para a segunda.

**Tabela 4: Número de flebotomíneos capturados em todos os pontos amostrados do município de Cotia, segundo espécie, tipo de armadilha e sexo, de junho de 2004 a agosto de 2005.**

espécies	CDC		Shannon		subtotal		%		Total	%
	F	M	F	M	F	M	F	M		
<i>Br brumpti</i>	2	8	2	-	4	8	33,33	66,67	12	0,45
<i>Br cardosoi</i>	-	4	-	-	-	4	-	100,00	4	0,15
<i>Br nitzulescui</i>	1	4	1	-	2	4	33,33	66,67	6	0,22
<i>Ev cortelezii</i>	16	-	2	-	18	-	100,00	-	18	0,69
<i>Ev edwardsi</i>	-	-	1	-	1	-	100,00	-	1	0,04
<i>Ev lenti</i>	5	-	2	-	7	-	100,00	-	7	0,26
<i>Ex. firmatoi</i>	1	-	-	-	1	-	100,00	-	1	0,04
<i>Mg migonei</i>	225	172	9	6	234	178	56,80	43,20	412	15,35
<i>Mi ferreirana</i>	-	-	-	1	-	1	-	100,00	1	0,04
<i>Pi fischeri</i>	892	798	121	40	1013	838	54,73	45,27	1851	68,81
<i>Pi monticola</i>	32	8	12	4	44	12	78,57	21,43	56	2,08
<i>Pa pascalei</i>	-	5	-	-	-	5	-	100,00	5	0,19
<i>Pa lanei</i>	1	-	-	-	1	-	100,00	-	1	0,04
<i>Ps ayrozai</i>	1	3	1	1	2	4	33,33	66,67	6	0,22
<i>Ps lloydi</i>	203	88	12	6	215	94	69,58	30,42	309	10,69
<b>Total</b>	<b>1379</b>	<b>1090</b>	<b>163</b>	<b>58</b>	<b>1542</b>	<b>1148</b>	<b>57,32</b>	<b>42,68</b>	<b>2691</b>	<b>100</b>

## 5.6 Produtividade por armadilha

Os flebotomíneos capturados pelas armadilhas tipo CDC em diferentes pontos, segundo sexo, são apresentados na tabela 5. Cinco desses pontos perfazem mais de 88% do total, são eles; galinheiro da chácara Sr. Antônio, mata na rua Inglaterra, mina no interior da mata da chácara do Sr. Antônio, varanda na rua

Inglaterra e rochas no interior da mata da chácara do Sr. Antônio, destes apenas o galinheiro apresenta uma maior proporção de machos em relação a fêmeas.

**Tabela 5: Flebotomíneos capturados pelas armadilhas tipo CDC nos diferentes pontos, segundo sexo, no município de Cotia de junho de 2004 a agosto de 2005.**

Pontos de captura	Nº		%		Total	%
	F	M	F	M		
Mina - interior da mata	150	104	59,06	40,94	254	10,29
Rohas - interior da mata	91	35	72,22	27,78	126	5,10
Mata – Chac. Antônio	14	4	77,78	22,22	18	0,73
Mata – rua Inglaterra	397	291	57,70	42,30	688	27,87
Galinheiro - Chac. Antônio	452	538	45,66	54,34	990	40,10
Limoeiro	1	3	25,00	75,00	4	0,16
Borda mata – Chac. Antônio	35	10	77,78	22,22	45	1,82
Varanda	18	1	94,74	5,26	19	0,77
Butiá galinheiro	3	1	75,00	25,00	4	0,16
Butiá varanda	4	-	100,00	0,00	4	0,16
Oli. Borda mata	10	2	83,33	16,67	12	0,49
Oli. Banheiro	6	3	66,67	33,33	9	0,36
Serv. Galinheiro	48	35	57,83	42,17	83	3,36
Varanda - Inglaterra	109	49	68,99	31,01	158	6,40
Domicílio – Chac. Antônio	41	14	74,55	25,45	55	2,23
<b>Total</b>	<b>1379</b>	<b>1090</b>	<b>55,85</b>	<b>44,15</b>	<b>2469</b>	<b>100</b>

### 5.7 Composição e Média de Williams das espécies capturadas através das armadilhas automáticas luminosas, tipo CDC, por ecótopos e por sexo.

As médias observadas nos diferentes ecótopos mostraram-se diferentes. Para o ambiente de mata, a média geral foi de 0,1243 insetos/armadilha para o peridomicílio foi de 0,0495 e para o intra-domicílio foi de 0,051. Das médias por espécie se destacam *Pi. fischeri* no ambiente de mata, 1,0493; *Mg. migonei* no intra-domicílio, 0,448 e na mata, 0,3556; *Ps. lloydi* na mata, 0,3105. Os resultados são apresentados na tabela 6.

**Tabela 6: Composição e Média de Williams dos flebotomíneos capturados, nas armadilhas tipo CDC, segundo ecótopos e sexo, no município de Cotia de junho de 2004 a agosto de 2005.**

espécies	Mata		Peri-domicílio		domicílio		Média de Williams		
	F	M	F	M	F	M	Mata	Peri-domicílio	Domicílio
<i>Br brumpti</i>	2	5	-	3	-	-	0,0234	0,006	-
<i>Br cardosoi</i>	-	3	-	1	-	-	0,0142	0,002	-
<i>Br nitzulescui</i>	1	3	-	1	-	-	0,0190	0,002	-
<i>Ev cortelezzi</i>	11	-	5	-	-	-	0,044	0,009	-
<i>Ev edwardsi</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ev lenti</i>	3	-	-	-	2	-	0,014	-	0,039
<i>Ex firmatoi</i>	-	-	1	-	-	-	0,005	0,002	-
<i>Mg migonei</i>	91	58	109	102	25	12	0,3556	0,153	0,448
<i>Pi fischeri</i>	438	291	445	505	9	2	1,0493	0,368	0,17
<i>Pi monticola</i>	22	3	10	5	-	-	0,0906	0,023	-
<i>Pa lanei</i>	1	-	-	-	-	-	0,005	-	-
<i>Pa pascalei</i>	-	3	-	2	-	-	0,0142	0,003	-
<i>Ps ayrozai</i>	1	2	-	1	-	-	0,0123	-	-
<i>Ps lloydi</i>	82	60	116	28	5	-	0,3105	0,134	0,084
<b>Total</b>	<b>652</b>	<b>427</b>	<b>686</b>	<b>642</b>	<b>41</b>	<b>14</b>	<b>0,1243</b>	<b>0,0495</b>	<b>0,051</b>

CDC domicílio – T. Domicílio;

CDC mata – M. Mina, M. Rohas, T. Mata, Ingl. Mata;

CDC peridomicílio – T. Galinheiro, Limoeiro, Borda mata, Varanda, Butiá galinheiro, Butiá varanda, Oli. Borda mata, Oli. Banheiro, Serv. Galinheiro, Ingl. Varanda.

### 5.8 Índice de Similaridade entre as faunas de flebotomíneos em diferentes ecótopos das localidades pesquisadas

O Índice de Similaridade para o ambiente de mata e peridomiciliar foi de 0,87.

Na comparação entre mata e domicílio foi de 0,50 e entre peridomicílio e domicílio foi de 0,43. (tabela 7).

**Tabela 7: Índice de Similaridade entre as faunas de flebotomíneos de diferentes ecótopos no município de Cotia de junho de 2004 a agosto de 2005.**

ecótopos	Mata	Peri-domicílio	Domicílio
Mata	1,00	0,87	0,50
Peri-domicílio	0,87	1,00	0,43
Domicílio	0,50	0,43	1,00

Comparando-se as capturas das armadilhas do tipo CDC apenas na chácara do Sr. Antônio, nos ambientes de peridomicílio e intradomicílio encontrou-se um índice de similaridade de  $S=0,46$ .

### 5.9 Comparação das capturas de Shannon branca e preta

Na tabela 8 são apresentados os resultados das espécies capturadas com armadilha de Shannon branca e preta, observa-se que *Pi. fischeri*, *Pi. monticola*, *Mg. migonei*, *Ps. lloydi* são as espécies predominantes e representam mais de 95% do total. Para as espécies mais abundantes predominaram as fêmeas. Adicionalmente observa-se diferenças nas proporções de machos e fêmeas capturados nas armadilhas branca e preta, mas estas diferenças não foram estatisticamente significantes.

**Tabela 8: Composição dos flebotomíneos capturados segundo a cor da armadilha de Shannon, branca e preta, na Chácara de Sr. Antônio no município de Cotia de junho de 2004 a agosto de 2005. Em coletas realizadas simultaneamente.**

Espécies	branca		preta		subtotal		%		tot al	%
	F	M	F	M	F	M	F	M		
<i>Pi fischeri</i>	52	26	60	14	112	40	73,68	26,32	152	72,04
<i>Pi monticola</i>	5	4	7	-	12	4	75,00	25,00	16	7,58
<i>Mg migonei</i>	5	1	4	5	9	6	60,00	40,00	15	7,11
<i>Mi ferreirana</i>	-	-	-	1	-	1	-	-	1	0,47
<i>Ps lloydi</i>	8	6	4	-	12	6	66,67	33,33	18	8,53
<i>Ps ayrozai</i>	1	1	-	-	1	1	50,00	50,00	2	0,95
<i>Ev cortelezzii</i>	1	-	1	-	2	-	100	-	2	0,95
<i>Ev lenti</i>	2	-	-	-	2	-	100	-	2	0,95
<i>Ev edwardsi</i>	-	-	1	-	1	-	100	-	1	0,47
<i>Br brumpti</i>	2	-	-	-	2	-	100	-	2	0,95
<i>Br nitzulescui</i>	1	-	-	-	1	-	100	-	1	0,47
<b>Total</b>	<b>77</b>	<b>38</b>	<b>77</b>	<b>19</b>	<b>154</b>	<b>57</b>	<b>72,99</b>	<b>27,01</b>	<b>212</b>	<b>100</b>

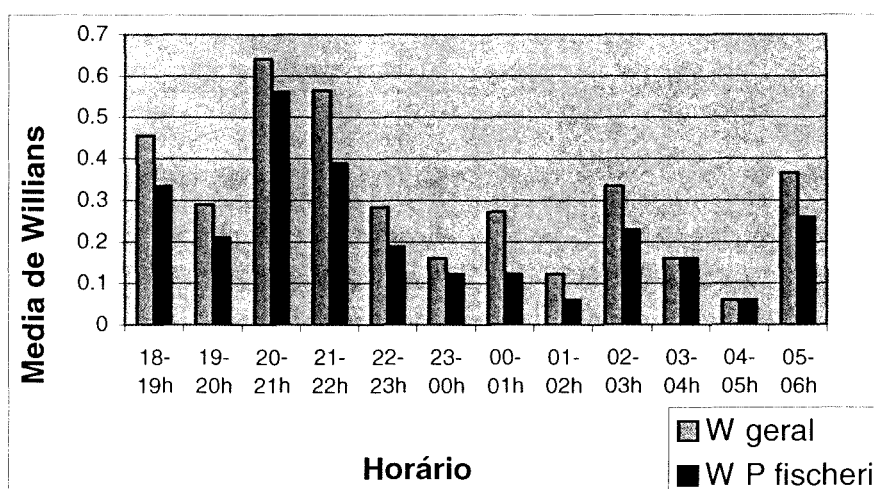
Para ambos os sexos de *Pi. fischeri* não houve diferença estatisticamente significativa nas armadilhas de Shannon branca ou preta,  $\alpha = 5\%$ ; fêmeas  $X^2 = 0,572$  e machos  $X^2 = 3,6$ .

### 5.10 Frequência horária noturna por espécies

A distribuição da frequência horária dos flebotomíneos capturados nas armadilhas de Shannon pode ser observada na tabela 9. Foram obtidas as Médias de Williams geral, para todas as espécies, e para a espécie mais abundante; *Pi. fischeri*. Na figura 13 que apresenta os resultados destas médias, observa-se uma tendência cíclica de aumento e diminuição dos valores no decorrer do período noturno.

**Tabela 9: Distribuição horária dos flebotomíneos capturados, nas armadilhas de Shannon, na Chácara do Sr. Antônio no município de Cotia no período de junho de 2004 a maio de 2005.**

Horário	geral		<i>Pi fischeri</i>	
	número	Média W	número	Média W
18-19	11	0,45	7	0,33
19-20	8	0,29	5	0,21
20-21	16	0,64	13	0,56
21-22	29	0,56	26	0,39
22-23	6	0,28	4	0,19
23-00	3	0,16	2	0,12
00-01	5	0,27	2	0,12
01-02	2	0,12	1	0,06
02-03	7	0,33	4	0,23
03-04	3	0,16	3	0,16
04-05	1	0,06	1	0,06
05-06	21	0,37	15	0,26
14-15	1	0,06	1	0,06
Total	113		83	



**Figura 13: Distribuição da frequência horária noturna geral e de *Pi fischeri* em armadilha de Shannon na Chácara do Sr. Antônio no município de Cotia de junho de 2004 a maio de 2005.**

### 5.11 Ritmo nictemeral nas estações por espécies

Durante a realização das capturas de 25 horas para se determinar o ritmo nictemeral nas estações anuais, foi capturado apenas um espécime de *P. fischeri* no período diurno, o qual está apresentado na tabela 9. Os espécimes capturados no período noturno foram incorporados à amostra das capturas apenas noturnas, para a determinação da frequência horária deste período.

### 5.12 Distribuição sazonal de flebotomíneos capturados e os dados climáticos

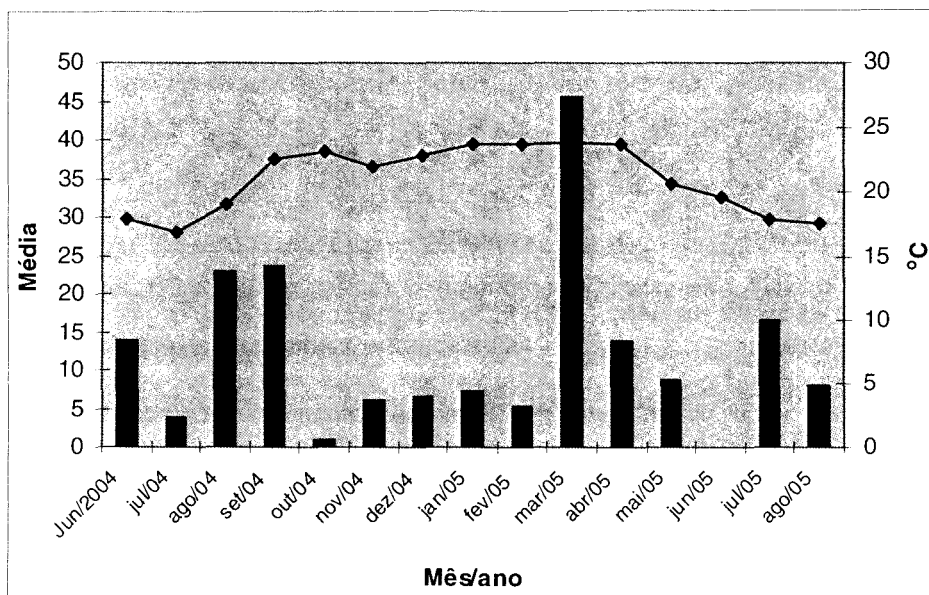
A tabela 10 mostra o número de flebotomíneos capturados nas armadilhas CDC e de Shannon em todos os pontos de amostragem, durante o período estudado. Um aumento no número total de flebotomíneos capturados foi observado no mês de março e também um número mais elevado de flebotomíneos na chácara do Sr. Antônio, apesar de nesta localidade terem sido utilizadas 7 armadilhas durante 12 meses, enquanto nos outros pontos, foram 8 as armadilhas, durante 13 meses.

A tendência geral de sazonalidade pode ser observada nas figuras 4 e 5. O gráfico nos mostra os valores das Médias de Williams obtidas de todas as armadilhas CDC durante o período de estudo. Observa-se uma variação cíclica no decorrer do ano com um aumento acentuado no mês de março.

**Tabela 10: Número de flebotomíneos capturados nas armadilhas de CDC e Shannon em todos os pontos de amostragem no município de Cotia de Junho de 2004 a maio de 2005.**

Mês/Armadilhas	CDC Sr. Antônio	CDC outros pontos	SHANNON	TOTAL
Junho/2004	112	...	74	186
Julho/2004	32	57	9	98
Agosto/2004	184	...	23	207
Setembro/2004	168	210	19	397
Outubro/2004	13	3	1	17
Novembro/2004	19	78	11	108
Dezembro/2004	106	-	9	115
Janeiro/2005	75	41	5	121
Fevereiro/2005	28	56	-	84
Março/2005	408	320	-	728
Abril/2005	216	6	30	252
Maió/2005	132	7	31	170
Junho/2005	...	-	...	-
Julho/2005	...	133	...	133
Agosto/2005	...	65	...	65
Total	1493	976	212	2690

Na figura 14 são apresentadas as médias mensais de temperatura e as Médias de Williams dos flebotomíneos capturados, pode-se observar uma tendência cíclica de aumento e diminuição da população de flebotomíneos no decorrer do ano. Além disso, observa-se um aumento acentuado no mês de março, coincidente com o período mais quente do ano durante o estudo.



**Figura 14:** Temperatura média (linha) mensal e média de Williams de flebotomíneos capturados (colunas) no município de Cotia/SP, nas armadilhas de CDC no período de junho de 2004 a agosto de 2005.

Na figura 15 são apresentadas as médias mensais das chuvas e as Médias de Williams dos flebotomíneos capturados, pode-se observar uma diminuição significativa da população de flebotomíneos em períodos em que houve precipitação constante e em grande quantidade. Houve aumento de captura de flebotomíneos em períodos em que houve momentos de alternância de estiagem e precipitação.

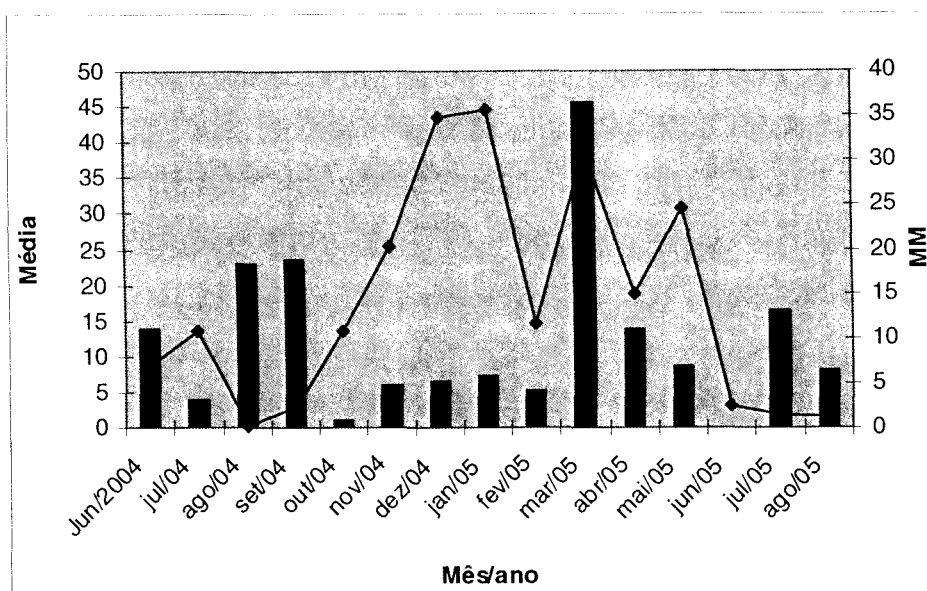


Figura 15: Precipitação (linha) e média de Williams dos flebotomíneos capturados (colunas) no município de Cotia/SP, nas armadilhas de CDC no período de junho de 2004 a agosto de 2005.

### 5.13 Capturas mensais segundo armadilhas tipo CDC

Analisando-se o rendimento das armadilhas tipo CDC, individualmente, observa-se o maior rendimento das armadilhas da Inglaterra-mata com 688 flebotomíneos e Sr. Antônio, galinheiro com 990, totalizando 67,96% dos flebotomíneos capturados.

Tabela 11: Rendimento mensal das armadilhas de CDC segundo o local de captura no município de Cotia de junho de 2004 a maio de 2005.

Meses	CD C	M. Mina	M. Rohas	T. Mata	Ingl. Mat	T. Galinheiro	Limo eiro	Bor da mata	Varar da	Butiá galinheiro	Butiá varanda	Oli. Bord mata	Oli. Banheiro	Serv. Galinheiro	Ingl. varanda	T. Do milio	Tot al
Jun/2004	5	9	...	...	89	1	6	-	...	...	...	...	...	...	...	2	112
Jul/2004	4	9	-	54	8	-	11	-	-	-	-	-	-	1	2	-	89
Ago/2004	9	17	...	...	151	-	5	-	...	...	...	...	...	...	...	2	184
Set/2004	24	18	-	152	124	-	1	-	1	-	3	9	45	-	1	-	378
Out/2004	8	1	-	2	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	16
Nov/2004	10	1	1	33	8	-	-	-	-	-	-	-	-	23	21	-	97
Dez/2004	5	5	-	-	73	3	1	12	-	-	-	-	-	-	-	7	106
Jan/2005	25	5	7	-	31	-	3	1	2	3	-	-	-	10	19	10	116
Fev/2005	3	-	1	40	16	-	-	-	-	-	2	-	-	-	13	9	84
Mar/2005	86	23	6	276	283	-	11	2	-	1	7	-	-	1	29	3	728
Abr/2005	66	24	-	5	95	-	7	4	-	-	-	-	-	1	-	20	222
Mai/2005	9	14	2	4	108	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	139
Jun/2005	...	...	-	-	...	...	...	...	...	...	...	...	...	-	-	...	-
Jul/2005	...	...	1	60	...	...	...	...	...	-	-	-	-	2	70	...	133
Ago/2005	...	...	-	62	...	...	...	...	1	-	-	-	-	-	2	...	65
Total	254	126	18	688	990	4	45	19	4	4	12	9	83	158	55	2469	



#### 5.14 Aspirações

As aspirações realizadas mensalmente na chácara do Sr. Antônio, de Junho de 2004 a maio de 2005, renderam apenas uma fêmea de *Pi. fischeri* no dia 13 de setembro de 2004 capturado no período matutino (9h às 10h) em um barranco dentro da mata, próximo ao galinheiro.

#### 5.15 Criadouros

Na busca por criadouros com as armadilhas de Casa Nova (2001) não foram capturados flebotomíneos. Na análise das 24 amostras de solo obtidas de locais suspeitos, locais que apresentam condições microclimáticas adequadas para o desenvolvimento de formas imaturas de flebotomíneos como: umidade e baixa incidência de luz solar direta, durante o período de estudo não foram detectadas formas imaturas de flebotomíneos.

#### 5.16 Infecção natural

Na observação direta de flebotomíneos vivos para detecção de formas flageladas de tripanossomatídeos, foram analisados 37 fêmeas das seguintes espécies; *Pi. fischeri* (29), *Ps. lloydi* (7) e *Ev. edwardsi* (1) Não foram detectadas formas flageladas em nenhuma delas.

As reações em cadeia da Polimerase (PCR) foram realizadas com um total de 852 fêmeas das seguintes espécies: *P. fischeri* (693), *Mg. migonei* (68), *Ps. lloydi* (90) e *Ev. edwardsi* (1). Entre os lotes submetidos ao PCR com primer para amplificação de DNA-ribossômico foram encontrados 17 lotes positivos. Considerando-se a taxa mínima de infectadas por lote como 1, teremos 17 fêmeas infectadas, que perfazem um total de 1,99% de infectividade. Os lotes com insetos positivos, com as respectivas taxas de infecção natural por tripanossomatídeos segundo o número de fêmeas analisadas foram:; *Pi. fischeri* 8 lotes; 1,15%), *Mg. migonei* - 3 lotes; 4,41%, e *Ps. lloydi* - 6 lotes; 6,7%.

## 6.0 Discussão

### Casos humanos

Os 138 casos de Leishmaniose Tegumentar registrados nos 14 municípios da Dir V e notificados à Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo, no período de 1996 a 2004 (tabela 1) podem não expressar o número real de eventos, devido a diversos fatores, tais como: diagnóstico incorreto, infecções inaparentes, variações de resposta imunológica do hospedeiro e multiplicidade de agentes etiológicos envolvidos (DEDET 1993, MARZOCHI e MARZOCHI 1997, CIMERMAN e CIMERMAN 1999), ao desaparecimento espontâneo das lesões, e à baixa letalidade da doença, apesar da ocorrência de casos mutilantes e severos (BARRAL et al 1991, COSTA et al 1987).

O súbito aparecimento de notificações a partir do ano de 1999 pode ser decorrente de mudanças nos critérios de diagnóstico da doença ou do próprio treinamento dos profissionais de saúde envolvidos no processo de diagnóstico e notificação da doença. Observou-se também uma defasagem entre o número dos casos notificados pela Secretaria de Saúde do Município (7) e os notificados pela Vigilância Epidemiológica do Estado (1).

Os Coeficientes de Incidência Média Acumulada (CI) para os municípios da diretoria V (Osasco) da Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo mostraram-se variáveis. Este índice é uma medida de tendência central e reflete a incidência anual de uma região. O valor mais alto encontrado foi o do município de Vargem Grande Paulista que apresentou o CI de 9,52/100.000 hab. Este dado está entre os valores das diretorias de maior coeficiente do Estado de São Paulo. O município de Cotia apresentou o terceiro maior CI 2,39/100.000 hab., para a dir. V, este valor é comparável à municípios com baixa incidência no Estado de São Paulo (CAMARGO-NEVES 1999).

Ressalta-se o fato de que foram encontrados cães com Leishmaniose Visceral no município de Cotia no ano de 2004<sup>\*\*\*</sup>. Este fato requer atenção ao município, pois a população está sob risco de contrair a doença, desde que haja um vetor competente para transmitir o agente.

---

<sup>\*\*\*</sup>Informação não divulgada, obtida junto à Secretaria Municipal de Cotia,

O total de flebotomíneos capturados durante o período de estudo, junho de 2004 a agosto de 2005, foi de 2690 espécimes. Um número baixo se comparados a outros estudos, (BRITO et al. 2002) captura 2.557 espécimes com esforço de captura menor em estudo realizado no litoral norte do Estado de São Paulo. Esse número pode ter ocorrido devido á coincidente ocorrência de chuva na maioria das campanhas de captura levadas a cabo durante o estudo, pois a ocorrência de chuva diminui o sucesso de capturas de flebotomíneos (BRITO et al. 2002).

O ponto de captura em que se verificou uma densidade mais elevada foi a chácara do Sr. Antônio, com um total de 1.715 espécimes, constituídos de 13 espécies. Os percentuais em relação a machos e fêmeas capturados são similares, evidenciando uma distribuição aleatória das armadilhas em relação aos criadouros, pois não houve predominância de machos (GOMES et al. 1982).

Os outros quatro pontos adicionais no município de Cotia resultaram em um total de 976 espécimes, constituídos de 12 espécies cujos resultados agrupados e apresentados segundo sexo na tabela 3 permitem evidenciar a predominância de fêmeas. Tal fato parece indicar uma tendência em amostrar locais em que há potenciais hospedeiros para as fêmeas exercerem a hematofagia (GOMES et al. 1982). Todas estas armadilhas foram colocadas bem próximas às casas, geralmente em ambiente urbano.

Em relação às espécies capturadas durante este estudo foram encontradas 2 espécies, *Pi. fischeri*, *Ps. lloydi* já relatadas para a região (CAMARGO-NEVES 2004). Outras 13 espécies; *Br. brumpti*, *Br. cardosoi*, *Br. nitzulescui*, *Ev. cortelezzii*, *Ev. lenti*, *Ev. edwardsi*, *Ex. firmatoi*, *Mg. migonei*, *Pi. monticola*, *Pa. pascalei*, *Pa. lanei*, *Ps. ayrozai* e *Mi. ferreirana*. são relatadas pela primeira vez na região.

Além destas espécies foi capturada, manualmente, no bairro das Pitas, uma espécie do gênero *Nemopalpus* (Diptera, Bruchomyiinae) considerado grupo irmão dos flebotomíneos e utilizado como grupo externo no estudo filogenético realizado por GALATI, 1995.

A riqueza observada na área de estudo (13 espécies) é próxima à obtida em outras regiões de mata atlântica no Estado de São Paulo por BRITO et al. (2002). Entretanto, baixo, se comparado a ambientes de Mata Atlântica no Estado do Rio de

Janeiro, com 25 espécies e uma abundância de 45.170 espécimes em três anos de captura (SOUZA et al. 2002). Estas comparações apresentam limitações, pois apesar dos estudos citados terem utilizado o mesmo tipo de armadilha, a metodologia e esforço de captura foram diferentes. No presente estudo, o índice de diversidade obtido foi utilizado para comparar com outro estudo de mesma metodologia, realizado em outros pontos dentro do município de Cotia, a ser divulgado futuramente.

O Índice de abundância de Espécies Padronizado (IAEP) é apresentado na figura 2. As espécies que mais se destacaram foram *Pi. fischeri*, IAEP=0,95 seguido por *Ps. lloydi*, IAEP=0,85; *Mg. migonei*, IAEP=0,69 e *Pi. monticola*, IAEP=0,52. Estas quatro espécies somaram 97,68% do total de flebotomíneos capturados, portanto algumas análises serão feitas apenas com estas espécies, pois as outras não alcançaram um número adequado, o que tornaria as análises sujeitas uma grande margem de erro. A predominância de *Pi fischeri* é notória em todas as armadilhas com bom rendimento. Esta espécie já foi relatada em grande densidade desde a década de 40 para a região da Grande São Paulo, além da capacidade de se infectar com provável *Leishmania (Viannia) braziliensis* sendo apontada como provável vetora de casos esporádicos na região (PESSÔA E COUTINHO 1941, BARRETO 1943, IVERSSON et al. 1979). A segunda espécie mais abundante é *Ps lloydi*, estas duas espécies estão associadas ao ambiente silvestre (BARRETO 1943), sendo este resultado esperado, pois a maioria das armadilhas foram instaladas próximas a matas ou resíduos de matas. A terceira espécie mais abundante, *Mg. migonei*, é altamente antropofílica, já foi encontrada naturalmente infectada por *Leishmania braziliensis* (AZEVEDO et al. 1990) e tem sido considerada vetor secundário em várias regiões endêmicas de LTA no Brasil (PESSOA E COUTINHO 1941, AZEVEDO et al. 1990, MAYO et al. 1998). Além disto, foi encontrada nos domicílios de 49,7% dos municípios com registros de casos de LTA humana no Estado de São Paulo (CAMARGO-NEVES 2002), A quarta espécie mais abundante é *Pi. monticola*. Espécie tipicamente silvestre e encontrada em baixa densidade (BARRETO 1943, GOMES et al. 1989, TEODORO et al. 2004)

Entre as espécies capturadas segundo diferentes métodos, CDC ou Shannon (tabela 4), para *Pi. fischeri* se observa uma maior proporção significativa ( $P < 0,001$ ) de fêmeas em relação a machos na armadilha de Shannon. Esta armadilha pode estar exercendo maior atratividade para as fêmeas, tendo em vista além da luz, a presença dos capturadores, o que também pode ser sugestivo da antropofilia da espécie.

Observa-se, também a predominância de fêmeas em relação a machos das espécies *Pi. monticola* e *Ps. lloydi* para os dois métodos de captura, tal como CUTOLO (2003) observou para a primeira e BARRETTO (1943), para a segunda.

Os flebotomíneos capturados pelas armadilhas tipo CDC em diferentes pontos, segundo sexo são apresentados na tabela 5. Cinco desses pontos perfazem mais de 88% do total, são eles; galinheiro, mata próxima à mina e rochas na mata, os três situados na chácara do Sr. Antônio, mata e varanda na rua Inglaterra; portanto, todos em matas ou fortemente associados às mesmas. Estas estão oferecendo, portanto um conjunto de condições para a manutenção da população de flebotomíneos. Adicionalmente, o município apresenta diversos bairros e condomínios em que as casas estão intimamente rodeadas pela mata aumentando, portanto o risco de transmissão de doenças veiculadas por estes vetores (TEODORO et al. 2004, LOIOLA 2003).

Dos cinco pontos citados, apenas o galinheiro apresenta uma maior proporção de machos em relação a fêmeas, indicando a proximidade do criadouro. Sugere-se que o próprio galinheiro se constitua em criadouro, pois, assim como os abrigos de outros animais domésticos, pode apresentar condições ótimas para o desenvolvimento dos flebotomíneos (GOMES et al. 1982, BARATA et al. 2005), agravando a condição da região em relação à doença.

As médias observadas nos diferentes ecótopos mostraram-se diferentes; para o ambiente de mata, a média geral foi de 0,1243, para o peridomicílio foi de 0,0495 insetos/armadilha e para o intra-domicílio foi de 0,051 insetos/armadilha. A média para o ambiente de mata se destacou, pois as captura foram constantes durante o ano todo na maioria das armadilhas. A menor média foi encontrada para o ambiente de peridomicílio, que apesar de dois pontos terem tido alto rendimento (galinheiro da

chácara do Sr. Antônio e varanda na rua Inglaterra), na maioria, as capturas foram muito pouco produtivas, por terem sido instaladas em locais pouco abrigados, sem condições de criadouros e da atratividade que exercem sobre os flebotomíneos. A média para o intradomicílio apresenta grande margem de erro, considerando que foi amostrado apenas um domicílio.

Das médias por espécie se destacam *Pi. fischeri* no ambiente de mata, 1,0493; *Mg. migonei* no intra-domicílio, 0,448 e mata, 0,3556 e *Ps. lloydi* na mata, 0,3105. Estes resultados confirmam a endofilia de *Mg. migonei*.

O Índice de Similaridade para o ecótono de mata e peridomiciliar foi de 0,87. Indicando que espécies encontradas na mata também se adaptam bem ao peridomicílio, devemos ressaltar ainda, a proximidade destes dois ecótonos nos locais estudados. Na comparação entre mata e domicílio o índice foi de 0,50, nestes ecótonos, portanto houve uma discrepância entre as faunas com espécies diferentes prevalecendo nos diferentes ambientes. O índice entre peridomicílio e domicílio foi de  $S=0,43$ , indicando também a presença de faunas diferentes nestes dois ambientes. Comparando-se as capturas das armadilhas do tipo CDC apenas na chácara do Sr. Antônio nos ambientes de peridomicílio e intradomicílio encontrou-se um índice de similaridade de,  $S=0,46$ , verificando-se que a diferença de fauna observada com todos os pontos também ocorre quando analisamos apenas este ponto.

Na tabela 8 são apresentados os resultados das espécies capturadas com armadilha de Shannon branca e preta, observa-se que *Pi. fischeri*, *Pi. monticola*, *Mg. migonei*, *Ps. lloydi* são as espécies predominantes e representam mais de 95% do total, resultados similares foram encontrados por IVERSSON et al., em 1979, na zona urbana do município de Diadema, na Grande São Paulo. Entretanto GOMES et al. (1989) encontrou maior abundância de *Nyssomyia neivai* (citado pelos autores como *N. intermedia*) em ambientes com fortes alterações antrópicas na região centro-nordeste do Estado de São Paulo. Para as espécies mais abundantes predominaram as fêmeas, como já comentado anteriormente, este resultado reflete a atratividade à localização da armadilha. Adicionalmente observa-se diferenças nas proporções de machos e fêmeas capturados nas armadilhas branca e preta, de maneira geral foi

capturado um percentual maior de fêmeas na Shannon preta, porém estas diferenças não foram estatisticamente significantes, GALATI et al. (2001) encontrou resultados semelhantes.

Em relação a distribuição da frequência horária dos flebotomíneos capturados nas armadilhas de Shannon pode ser observada uma tendência cíclica de aumento e diminuição dos valores no decorrer do período noturno. Adicionalmente observa-se o aumento do número de capturas em dois momentos, o primeiro das vinte as vinte e uma horas, este fenômeno foi observado por vários autores em diferentes regiões (GOMES et al. 1989, BRITO et al. 2002, SOUZA et al. 2002, LOIOLA 2003). Um segundo pico ocorreu das cinco as seis horas podendo ter ocorrido em função da busca dos flebotomíneos por abrigo após o período noturno. O segundo pico ocorreu de maneira mais intensa na Shannon preta.

Durante a realização das capturas de 25 horas para se determinar o ritmo nictemeral nas estações anuais, foi capturado apenas um espécime de *Pi. fischeri* no período diurno. Há alguns relatos na literatura de flebotomíneos capturados durante o dia. A espécie *Ex. firmatoi*, segundo GOMES et al. (1989) tem hábitos diurnos. Para *Pi. fischeri* alguns autores relatam sua captura de modo esporádico no período diurno, em locais onde a captura no período noturno é sempre mais abundante (GOMES et al. 1989). Os espécimes capturados no período noturno foram incorporados à amostra para a determinação da frequência horária noturna.

Em relação à tendência sazonal, podemos observar um aumento no número total de flebotomíneos capturados no mês de março. Isto foi observado no Estado de São Paulo por GOMES et al. (1982) e MAYO et al. (1998), porém outros autores verificaram densidades em períodos diferentes, todavia, predominavam espécies diferentes (BRITO et al. 2002, SOUZA et al. 2002).

Observa-se ainda um maior número de flebotomíneos capturados na chácara do Sr. Antônio, apesar de terem sido utilizadas 7 armadilhas durante 12 meses enquanto nos outros pontos foram utilizadas 8 armadilhas durante 13 meses. Este fato pode estar relacionado com a consistência dos dados, tendo em vista que os diferentes pontos foram amostrados por equipes diferentes.

Na comparação das médias mensais de temperatura e as Médias de Williams dos flebotomíneos capturados, pode-se observar uma tendência cíclica de aumento e diminuição da população de flebotomíneos no decorrer do ano. Além disso, observa-se um aumento acentuado no mês de março, coincidente com o período mais quente do ano durante o estudo. Estas variações têm relação com a temperatura ótima de desenvolvimento das diferentes espécies de flebotomíneos já relatada por Barreto (1942) em condições artificiais.

Em relação às médias mensais de índice pluviométrico e as Médias de Williams dos flebotomíneos capturados (Figura 15), pode-se observar uma diminuição significativa da população de flebotomíneos em períodos em que houve precipitação constante e em grande quantidade. Este fato pode advir da dificuldade de desenvolvimento das formas imaturas nos criadouros em decorrência do encharcamento destes (LOIOLA 2003, BARRETO 1942).

Houve aumento de captura de flebotomíneos em períodos com momentos de alternância de estiagem e precipitação. Isto provavelmente ocorreu porque na área em estudo esta condição determina a manutenção dos criadouros para o desenvolvimento das formas imaturas e mantém boas condições de sobrevivência e reprodução dos adultos.

Analisando-se o rendimento das armadilhas tipo CDC, individualmente, observa-se o maior rendimento das armadilhas da Inglaterra-mata com 688 flebotomíneos e Sr. Antônio, galinheiro com 990, totalizando 67,96% dos flebotomíneos capturados. Nos dois locais havia contato íntimo com a mata e abrigos artificiais para as formas adultas no galinheiro, havia ainda a abundância de matéria orgânica. Ambientes artificiais como estes oferecem boas condições para os flebotomíneos. A abundância de flebotomíneos nestes ambientes é amplamente relatada na literatura (GOMES et al. 1982, LOIOLA 2003, TEODORO et al. 2004, BARATA et al. 2005).

As aspirações realizadas mensalmente na chácara do Sr. Antônio de Junho de 2004 a maio de 2005 renderam apenas um *P. fischeri*, no dia 13 de setembro de 2004, capturado no período matutino (9h às 10h) em um barranco dentro da mata, próximo ao galinheiro. Este resultado sugere que os ambientes amostrados com esta



técnica não eram abrigos de flebotomíneos ou a abundância era muito baixa, ou ainda, os locais de abrigo não puderam ser alcançados através da aspiração por serem locais muito abrigados, especialmente de luz, não sendo possível, portanto, a detecção dos abrigos. GALATI et al. (2005) utilizou a mesma técnica no PETAR, município de Iporanga, no Vale do Ribeira, capturando uma grande quantidade de flebotomíneos, evidenciando a presença de abrigos.

Na busca por criadouros com as armadilhas de Casanova, não foram capturados flebotomíneos, evidenciando-se a dificuldade de se detectar seus criadouros (BARRETO, 1943). Além disto, devemos ressaltar a importância da abundância de flebotomíneos no ambiente como um fator importante na detecção dos criadouros.

Apesar do relato de BARRETTO (1943) do encontro de formas imaturas em solo, na análise das 48 amostras de solo obtidas de locais suspeitos durante o período de estudo não foram detectadas formas imaturas de flebotomíneos.

Embora CAMARGO-NEVES (2004) relate o encontro de cinco exemplares de *Ev. edwardsi* infectados por formas flagelada, posteriormente identificadas como *Le. braziliensis*, no município de Embu, vizinho ao de Cotia, na observação direta das 37 fêmeas para detecção de formas flageladas das espécies; *Pi. fischeri*, *Ps. lloydi* e *Ev. edwardsi* os resultados foram negativos. Todavia, este resultado poderia ser esperado, pois a amostra foi muito pequena se considerarmos que a taxa de infecção observada por vários autores, com esta técnica, em áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar, apresenta-se em torno de 0,2% (BARRETTO 1943, CASANOVA et al 1995, GALATI et al 1996) e de 0,38% (SANTOS et al 1997) e 7,14% (LAINSON et al 1985) em áreas endêmicas para leishmaniose visceral.

Das 852 fêmeas submetidas a PCR englobando as espécies: *Pi. fischeri*, *Mg. migonei*, *Ps. lloydi* e *Ev. edwardsi* resultando em 17 lotes positivos. E considerando-se a taxa mínima de infectados por lote = 1 tem-se 17 espécimes infectados por tripanossomatídeos, ou seja uma taxa mínima de 1,99% de infectividade, sendo as espécies positivas *Pi. fischeri*, *Ps. lloydi* e *Mg. migonei*. Para *Mg. migonei*, PESSOA & COUTINHO (1941) já haviam constatado infecção natural por flagelados, mas para *Pi. fischeri* e *Ps. lloydi* esses achados constituem-se em primeiros relatos de infecção

natural. Deve-se ressaltar a importância deste fato na incriminação de novos vetores, porém, novas pesquisas devem ser realizadas com o intuito de se conhecer melhor os agentes e seus hospedeiros.

Não foram capturados espécimes de *L longipalpis* no estudo esta informação é de grande importância, pois esta espécie é a principal vetora de *Leishmania chagasi* no Brasil. Entretanto foram encontrados cães com LVA no município (SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DE COTIA).

Ressalta-se a não ocorrência de espécies do gênero *Nyssomyia* (*N. intermedia*, *N. neivai* e *N. whitmani*) no estudo, pois estas espécies são consideradas as principais espécies vetoras de LTA, principalmente na Região Sudeste do Brasil, em localidades com condições ambientais que apresentam drásticas alterações antrópicas (GOMES et al. 1982, GOMES et al. 1989, AZEVEDO et al. 1990, MAYO et al. 1998, BRITO et al. 2002, SOUZA et al. 2002, LOIOLA 2003). Diferentemente das condições encontradas neste estudo, pois observa-se a presença de matas primárias em contato direto com as residências humanas oferecendo um risco acentuado para a transmissão de leishmanioses.

Em decorrência do exposto deve-se ressaltar que, dentre as espécies mais abundantes estão *Pi fischeri* e *Ps lloydi*, espécies características de ambiente silvestre. *Pi fischeri* apresenta importância epidemiológica, pois apesar de não apresentar alta antropofilia, já foi experimentalmente infectada por *Leishmania*, possivelmente *L. braziliensis* (COUTINHO 1941).

A presença de *Mg migonei* chama a atenção, pois esta espécie além de apresentar alta antropofilia, tem sido considerada vetora, pois já foi encontrada no Ceará naturalmente infectada por *L. braziliensis* e apresenta distribuição coincidente com diversas áreas de transmissão da doença, sendo apontada como tendo importância secundária na transmissão de Leishmânias em algumas regiões (CAMARGO-NEVES 2002).

Tendo em vista o exposto anteriormente sugere-se estudos mais detalhados das espécies de flebotomíneos de maior importância encontrados na região. Assim como medidas de implementação do sistema de vigilância à saúde e de fiscalização e controle da ocupação humana no município.

## 7 Conclusões

Conclui-se que Cotia é um município com incidência moderada de casos de leishmaniose em relação a municípios do Estado de São Paulo;

As espécies de flebotomíneos capturadas em maior abundância são tipicamente silvestres, sendo as mesmas encontradas na região anteriormente;

As faunas capturadas nos ecótopos de mata e peridomicílio foram similares, porém diferentes daquela encontrada no intradomicílio, onde predominou *Mg. migonei*;

Nas capturas realizadas com armadilha de Shannon branca e preta não houve diferença significativa da fauna capturada;

O horário de maior captura foi das vinte as vinte e uma horas, com apenas um espécime capturado no período diurno;

Março foi o mês de maior rendimento, coincidente com médias de temperatura mais altas e períodos cíclicos de precipitação e estiagem;

Na busca por criadouros não foram encontrados flebotomíneos;

A taxa geral mínima infecção natural por tripanossomatídeos foi de 1,99% e nas espécies: *Pi. fischeri* (1,15%), *Mg. migonei* (4,48%), *Ps. lloydi* (6,7%);

Não foram capturados *Lu. longipalpis*, *Ny intermedia* e *Ny whitmani*, principais vetores das leishmanioses no Estado de São Paulo;

A população do município de Cotia está sob risco de adquirir leishmaniose tegumentar, principalmente devido ao tipo de ocupação do solo, pois apresenta residências em íntimo contato com matas.

As evidências sugerem que *Pi. fischeri*, *Mg. migonei* e *Ps. lloydi* podem atuar na transmissão das leishmanioses na área, todavia mais estudos são necessários para a melhor compreensão no quadro epidemiológico dessas parasitoses.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguilar Cm, Rangel EF, Grimaldi-Filho G & Momen H. Alta frequência de leishmaniose tegumentar canina em um foco endêmico do Estado do Rio de Janeiro. **Mem. Inst Oswaldo Cruz.** 1986; 81(4): 471-472.

Azevedo ARC, Rangel EF, Costa EM, David J, Vasconcelos AW, Lopes UG. *L (Nyssomyia) whitmani* naturally infected by Leishmania of Brasiliensis complex in Baturité, Ceará State, northeast Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1990; 85 (2): 251.

Azevedo ARC, Rangel EF, Queiroz RG. *L migonei* naturally infected with peripylarian flagellates in Baturité, a focus of Cutaneous leishmaniasis in Ceará, Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1990; 85 (4): 479.

Azevedo ACR, Souza NA, Meneses CRV et al. Ecology of Sand Flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the North of the State of Mato Grosso, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 2002; 97 (4): 459-464.

Badaró R, Jones TC, Carvalho EM, Sampaio D, Reed SG, Barral A, Texeira R & Johnson-Jr WD. New perspectives on a subclinical form of visceral leishmaniasis. **J Infec Dis.** 1986;154:1003-1011.

Barata RA, França-Silva JC, Mayrink W et al. Aspectos da ecologia e do comportamento de flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose visceral, Minas Gerais. **Rev Soc Bras Med Trop.** 2005; 38 (5):421-425.

Barral A, Sampaio DP, Grimaldi-Jr G, Momen H, Pratte DMM, Jesus AR, Almeida R, Badaró R, Netto MB, Carvalho EM & Johnson-Jr WD. Leishmaniasis in Bahia, Brazil. Evidence that *Leishmania amazonensis* produces a wide spectrum of clinical diseases. **Amer J Trop Med Hyg.** 1991; 44:536-46.

Barreto MP. **Contribuição para ao estudo da biologia dos flebótomos em condições experimentais (Diptera, Psychodidae).** Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 1942. [Tese de Doutorado].

Barreto MP. **Observações sobre a biologia, em condições naturais, dos flebótomos do Estado de São Paulo (Díptera, Psychodidae).** Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1943. [Livre-Docência].

Berquó ES, Souza JMP, Gottlieb SLD. **Bioestatística.** 1ª ed rev. São Paulo: EPU; 1981.

Brito M, Casanova C, Mascarini LM et al. Phlebotominae (Díptera: Psychodidae) em área de transmissão de leishmaniose tegumentar americana no litoral norte do estado de São Paulo, Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop.** 2002; 35 (5):431-437.

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 Universidade de São Paulo]

Camargo-Neves VLF, Gomes AC, Antunes JLF. Correlação da presença de espécies de flebotomíneos (Díptera: Psychodidae) com registros de casos da leishmaniose tegumentar americana no Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**. 2002; 35 (4):299-306.

Camargo-neves VLF. Detecção de *Lutzomyia edwardsi* infectada na região da grande São Paulo. **Boletim Epidemiológico Paulista**. 2004; (10).

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

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 Univesidade de São Paulo]

Casanova C. A soil emergence trap for collections of Phlebotomine sand flies. **Mem do Inst Oswaldo Cruz**. 2001; 96 (2): 273-275.

Centro de Vigilância Epidemiológica. **II Informe técnico – Leishmaniose Visceral Americana**. São Paulo: 2003.

Cimerman B, Cimerman S. **Parasitologia Humana e seus Fundamentos Gerais**. São Paulo: Atheneu; 1999.

Colmenares M, Portús M, Botet J, Dobaño C, Gállego M, Wolff M & Seguí G. Identification of blood meals of *Phlebotomus perniciosus* (Diptera: Psychodidae) in Spain by a Competitive Enzyme Linked Immunosorbent Assay Biotin/Avidin Method. **J Med Ent**. 1995; 32 (3): 229-33.

Condino MLF, Sampaio SMP, Henriques LF, Galati EAB, Wanderley DMV & Corrêa FMA. Leishmaniose tegumentar americana: flebotomíneos de área de transmissão no município de Teodoro Sampaio, região sudoeste do Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**. 1998; 31 (4):355-60.

Costa JML, Vale KC, Cecilia IN, Osaki NKM, Netto EM, Tada MS, França F, Barreto MC & Marsden PD. Aspectos psicossociais e estigmatizantes na leishmaniose cutâneomucosa. **Rev Soc Bras Med Trop**. 1987; 20:77-82.

Costa AP, Casanova C, Rodas LAC & Galati EAB. Atualização da distribuição geográfica e primeiro encontro de *Lutzomyia longipalpis* em área urbana no Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Saúde Pública**. 1997; 31 (6):632-3.

Cutolo AA. **Inquérito entomofaunístico de flebotomíneos (Díptera: Psychodidae) e sorologia canina para detecção de anticorpos anti-leishmania, no município de Rio Claro, São Paulo. Rio Claro.** Rio Claro, 2003. [Dissertação de mestrado-Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, campus Rio Claro]

Davies CR, Reithinger R, Campbell-Ledrum D et al. The epidemiology and control of leishmaniasis in andean countries. **Cad. Saude Pública.** 2000; 16 (4): 925-950.

Deane LM & Deane MP. Observações preliminares sobre a importância comparativa do homem, do cão e da raposa (*Lycalopex vetulus*) como reservatórios de *Leishmania donovani* em área endêmica de calazar no Ceará. **Hospital.** 1955; 48:61-76.

Dedet JP. Leishmania et leishmanioses du continent américain. **Ann Inst Pasteur/actualités.** 1993; 4:3-25.

Domingos MF, Carrieri-Bruno GC, Ciaravolo RMC, Galati EAB, Wanderley DMV & Corrêa FMA. Leishmaniose tegumentar americana: flebotomíneos de área de transmissão, no município de Pedro de Toledo, região sul do Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop.** 1998; 31 (5):425-32.

Dorval MEC, Oshiro ET, Cupollilo E, Castro ACC. Primeiro relato da ocorrência de *Leishmania amazonensis* no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rev Soc Bras Méd Trop** 2002; 35 Suppl 3:220.

Falqueto A, Coura JR, Barros GC, Grimaldi-Jr G, Sessa PA, Carias VRD, Jesus AC de & Alencar JTA. Participação do cão no ciclo de transmissão da leishmaniose tegumentar no município de Viana, Estado do Espírito Santo, Brasil. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** 1986; 81 (2):155-63.

Forattini OP, Oliveira O. Um foco de leishmaniose tegumentar na zona sul do Estado de São Paulo, Brasil. **Arq Fac Hig Saúde Pública, Univ. São Paulo.** 1957; (11):23-34.

Forattini OP. **Entomologia Médica. Phlebotominae. Leishmanioses. Bartonelose.** 4º v. Edgard Blücher Ltda, 1973; São Paulo, 658.

Forattini OP, Rabello EX, Galati EAB. Novos encontros de flebotomíneos no Estado de São Paulo, Brasil, com especial referência a *Lutzomyia longipalpis*. **Rev Saúde Pública.** 1976; 10:125-8.

Fundação Nacional de Saúde. Ministério da Saúde. Coordenação Nacional de Dermatologia Sanitária (CENEPI). **Guia de controle da leishmaniose tegumentar americana.** 3ª ed. Brasília: 1994.

Galati EAB, Nunes VL, Dorval MEC, Oshiro ET, Cristaldo G, Espíndola MA, Rocha HC & Garcia WB. Estudo dos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em área de leishmaniose tegumentar, no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rev Saúde Pública**. 1996; 30 (2):115-28.

Galati EAB, Nunes VL, Rego-Jr FA, Oshiro ET & Rodrigues M. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rev Saúde Pública**. 1997; 31 (4):378-90.

Galati EAB et al. Attractiveness of Black Shannon Trap for Phebotomines. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. 2001; 96 (5): 641-647.

Galati EAB. Classificação de Phlebotominae – Morfologia e Taxonomia. In: Rangel EF, Laison R. **Flebotomíneos do Brasil**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 2003. 23-51.

Galati EAB, Morfologia, terminologia de adultos e identificação dos táxons da américa – Morfologia e Taxonomia. In: Rangel, EF, Laison R. **Flebotomíneos do Brasil**. 1ª ed. Rio de Janeiro. Editora Fiocruz; 2003.

Galati EAB, Fonseca MB, Marassá AM, Shimabukuro PHF. Dispersion of Nyssomyia intermedia and Nyssomyia neivai (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in the valley region, São Paulo State, Brazil. **Archives de L'Institut Pasteur de Tunis**. 2005; 82 (1) 110. ISOPSV.

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 Públ**. 1982; 16: 149-159.

Gomes AC, Barata JMS, Rocha & Silva EO & Galati EAB. Aspectos 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): 32-9.

Gomes AC, Yamamoto YI, Capinzaiki AN, Amaral NMM, Guimarães AJG. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. 9. Prevalência / incidência da infecção humana nos municípios de Pedro de Toledo e Miracatu, São Paulo, Brasil. **Rev Inst Med Trop**. 1992; 34:149-158.

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

Gomes AC et al. Controle diagnóstico e tratamento da leishmaniose visceral (calazar). Normas e Técnicas. Brasília. Fundação Nacional da Saúde, 1996.

Haddow AJ. Studies on the biting-habits of African mosquitos. An. appraisal of methods employed with special reference to the twenty-four catch. **Bull Ent Res.** 1954; 45:199-242.

Haddow AJ. Studies on the biting-habits and medical importance of East African mosquitos in the genus *Aedes*. I. Subgenera *Aedimorphus*, *Banksinella* and *Nunnius*. **Bull Ent Res.** 1960; 50:759-779.

Iversson LB Camargo ME, Silva EOR et al. investigação epidemiológica de um caso de leishmaniose viscerla autóctone da grande São Paulo, Brasil. **Rev Saúde Públ.** 1979; 13: 159-167.

Jones TC et al. Epidemiology of American cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis braziliensis*. **J Infec Dis.** 1987; 156:73-83.

Killick-Kendrick M, Killick-Kendric R. The initial establishment of sandfly colonies. **Parassitologia.** 1991; 33 Supl 1: 315-320.

Killick-Kendrick R. Prefácio. In: Rangel, EF et al., organizadores. **Flebotomíneos do Brasil.** 1ª ed. Rio de Janeiro. Editora Fiocruz; 2003. p.11-2.

Lainson R, Shaw JJ. The role of animals. In The epidemiology of South American leishmaniasis. In: Lumsden WHR, Evans DA. **Biology of the Knetoplastida.** London: Academy Press; 1979.

Lainson R, Shaw JJ, Ryan L, Ribeiro RSM, Silveira FT. Leishmaniasis in Brazil. Visceral leishmaniasis in the Amazon Region and further observations on the role of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) as the vector. **Trans Roy Soc Trop Med Hyg.** 1985; 79:22-226.

Lainson R, Shaw JJ. **Evolution, classification and geographical distribution** .In: Peter W, Killick-Kendrick R, editors. The leishmaniasis in biology and medicine. London: Academic Press; 1987.

Lainson R. On *Leishmania enriettii* and Other Enigmatic Leishmania Species of the Neotropics. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** 1997; 92:377-387.

Lino AMCDB, Bichiato AP, Petroni-Jr C, Tanaguchi HH, Tolezano JE, Pereira-Chiocola VL. Leishmaniose visceral em animais domésticos no município de Cotia - São Paulo "relato de casos". in: **Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Parasitologia.** 26 á 29 de agosto de 2003 Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Parasitologia; 2003. 294.

Loiola CF. **Epidemiologia das Leishmanioses no sul do Estado de Minas Gerais, Brasil: aspectos referentes à transmissão vetorial (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae).** São Paulo, 2003. [Tese de Doutorado – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo].



Lucas CM, Franke ED, Cachay MI, Tejada A, Cruz ME, Kreutzer RD, Barker DC, McCann SHE, Watts DM. Geographic distribution and clinical description of leishmaniasis cases in Peru. **Am J Med Hyg** 1998; 59:312-317.

Lutz A & Neiva A. Contribuição para o conhecimento de duas espécies do gênero *Phlebotomus* existentes no Brasil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. 1912; 4:82-95.

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

Marcondes CB. **Entomologia Médica e Veterinária**. São Paulo: Atheneu; 2001.

Maroli M, Feliciangeli MD, Arias J. **Metodos de captura, conservacion y montaje de los flebotomos (Diptera: Psychodidae)**. Informe Técnico. OPS/HCP/HCT; 1997.

Marzochi MCA. Leishmanioses no Brasil: as leishmanioses tegumentares. **J Bras Méd**. 1992; 63:82-104.

Marzochi MCA, Marzochi KBF. Leishmaniose em áreas urbanas. **Rev Soc Bras Med Trop**. 1997; 30 Suppl 1:162-164.

Mayo RC, Casanova C, Mascarini LM et al. flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) de area 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 et al. epidemiology of dermal leishmaniasis in the Rio Doce Valley, State of Minas Gerais, Brazil. **Ann trop med parasitology**. 1979; 73 (2): 123-137.

Mello DA, Rego-Jr FA, Oshiro E & Nunes VL. *Cerdocyon thous* (L.) (Carnivora, Canidae) naturally infected with *Leishmania donovani chagasi* (Cunha & Chagas, 1937) in Corumbá (Mato Grosso do Sul State, Brazil). **Mem Inst Oswaldo Cruz**. 1988; 83 (2):259.

Medronho RA et al. **Epidemiologia**. São Paulo: Atheneu; 2004.

Miles MA et al. Vertebrate hosts and vectors of *Trypanosoma rangeli* in the Amazon basin of Brazil. **Am J Trop Med Hyg**. 1983; 32:1251-1259.

Morrison AC, Ferro C & Tesh R. Host preference of sand fly *Lutzomyia longipalpis* at an endemic focus of american visceral leishmaniasis in Colombia. **Am J Trop Med Hyg**. 1993; 49 (1):68-75.

Naiff RD, Barrett TV & Freitas RA. Isolation of *Trypanosoma freitasi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) from *Psychodopygus clausi* (Diptera:Psychodidae). **Mem Inst Oswaldo Cruz**. 1989; 84:273-275.

Natal D, Marucci D, Reis IM, Galati EAB. Modificação da armadilha CDC com testes para coletas de flebotomíneos (Diptera). **Rev bras Ent**. 1991; 35 (4):697-700.

Neves VLFC. **Características da transmissão da leishmaniose tegumentar americana no Estado de São Paulo, Brasil**. São Paulo; 1999. [Mestrado].

Neves DP. **Parasitologia Dinâmica**. São Paulo: Atheneu; 2003.

Ngumbi PM, Lawyer PG, Johnson RN, Kiilu G & Asiago C. Identification of phlebotomine sandfly bloodmeals from Baringo district, Kenya, by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Med Vet Ent**. 1992; 6:385-8.

Ogosuku E, Perez JE, Paz L Nieto E, Monje J & Guerra H. Identification of bloodmeal sources of *Lutzomyia* spp. in Peru. **Ann Trop Med Parasit**. 1994; 88 (3):329-35.

Paiva BR. Desenvolvimento e avaliação da reação em cadeia de polimerase(PCR) na determinação da infecção por leishmania em flebotomíneos vetores (diptera: Psychodidae). São Paulo; 2005. [Mestrado]

Pessôa SB, Coutinho JO. Infecção natural de experimental dos flebotomos pela *Leishmania braziliensis* no Estado de São Paulo. **O Hospital**. 1941; 20:25-35.

Pessôa SB & Barretto MP. **Leishmaniose tegumentar americana**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional;1948.

Pirmez C, Coutinho SG, Marzochi MCA, Nunes MP & Grimaldi-Jr G. Canine American cutaneous leishmaniasis: a clinical and immunological study in dogs naturally infected with *Leishmania braziliensis braziliensis* in an endemic area of Rio de Janeiro, Brazil. **Amer J trop Med Hyg**. 1988. 38 (1):52-8.

Rangel E, de Souza N A, Wermelinger ED, Barbosa AF. Estabelecimento de colônia, em laboratório, de *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Mem Inst Oswaldo Cruz**. 1985; 80:219-226.

Robert DR & Hsi BP. An index of species abundance for use with mosquito surveillance data. **Environm Entomol**. 1979; 8 (6):1007-1013.

Rocha e Silva EO, Capinzaiki AN, Kuratomi CA, Guedes AC. A leishmaniose tegumentar americana no litoral sul de Estado de São Paulo. **Rev Bras Malariol D Trop**. 1980; 32:9-25.

Sampaio LF. O aparecimento, a expansão e o fim da leishmaniose no Estado de São Paulo. **Rev Bras Med**. 1951; 8:717-21.

Shannon RC. Methods for collecting and feeding mosquitoes in jungle yellow fever studies. **Am J Trop Med.** 1939; 19: 131-38.

Sherlock IA, Miranda JC, Sadigursky M & Grimaldi-Jr G. Natural infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia, Didelphidae) with *Leishmania donovani*, in Brazil. **Mem Inst Oswaldo cruz.** 1984; 79 (4):511.

Sherlock IA. Importância Médico Veterinária. In: Rangel EF, Laison R. **Flebotomíneos do Brasil.** 1ª ed Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 2003. 15-22.

Siegel S. **Estatística não-paramétrica.** São Paulo: editora McGraw-Hill; 1975.

Silveira FT, Ishikawa EA, Souza AA, Lainson R. An outbreak of cutaneous leishmaniasis among soldiers in Belém, Para State, Brazil, caused by *Leishmania (Viannia) lindenbergi* n. sp. A new leishmanial parasite of man in the Amazon region. **Parasite.** 2002; 9 (1):43-50.

Sorensen T. A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content and its application to analyses of the vegetation on Danish commons. **Biol Skr.** 1948; 5:1-34.

Souza NA, Andrade-Coelho CA, Vilela ML et al. Seasonality of *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), Occurring Sympatrically in Area of Cutaneous Leishmaniasis in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** 2002; 97:759-765.

Szlok M. **Métodos Epidemiológicos - Medidas de Risco.** São Paulo; 1993. [Apostila do Curso de extensão universitária da Faculdade de Saúde Pública da USP].

Teodoro, Ueslei, Kühl, João Balduino, Rodrigues, Mauro et al. Flebotomíneos coletados em matas remanescentes e abrigos de animais silvestres de zoológico no perímetro urbano de Maringá, sul do Brasil. Estudo preliminar. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Dez 1998; 31 (6): 517-522.

Teodoro U, Thomas-Soccol V, Kühl JB et al. Reorganization and cleanness of peridomiciliar área to control sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in south Brasil. **Brasilian Archives of Biology and Tecnology.** June 2004; 47(2): 205-212.

Tesh RB, Chaniotis BN, Carrera BR & JOHNSON KM. Further studies on the natural host preferences of panamanian sandflies. **Amer J Epidem.** 1972; 95 (1): 88-93.

Tolezano JE, Macoris 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, Luvizotto MCR, Uliana SRB, Araújo MFL, Taniguchi HH, Barbosa JAR, Pinto PLS, Floeter-Winter LM, Shaw JJ. Leishmaniose visceral americana (LVA) em Araçatuba, região oeste do Estado de São Paulo. Investigações laboratoriais e diagnóstico etiológico de uma doença emergente em terras paulistas. **Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.** 1999; 32 (Suplemento I): 218.

Tolezano JE, Rodrigues E, Barbosa JER, Cunha E, Taniguchi HH, Barbosa JAR, et al. Expansão da Leishmaniose visceral por terras paulistas. Focos de transmissão de LV canina em municípios da região metropolitana de São Paulo. **Ver. da Soc. Brasil Med Trop.** 2003; 36 (Supl I): 360.

Yoshida ELA, Correa FMA, Marques AS, Solf HLO, Dillon NL, Momen H & Grimaldi-Jr G. Human canine and equine (*Equus caballus*) leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis* (= *L. braziliensis braziliensis*) in the south-west region of São Paulo State, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** 1990; 85 (1):133-4.

Young DG e Duncan MA. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* and sand flies in México, the West Indies, Central and South America (Diptera:Psychodidae). **Mem Amer Entomol Inst.** 1994; 54:1-88.