

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

KÁRIN ROSI REINHOLD DE CASTRO

Pesquisa de criadouros naturais, impacto de medidas de controle e dinâmica de
flebotomíneos no sul do Brasil

Maringá
2014

KÁRIN ROSI REINHOLD DE CASTRO

Pesquisa de criadouros naturais, impacto de medidas de controle e dinâmica de flebotomíneos no sul do Brasil

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde
Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientador: Prof. Dr. Ueslei Teodoro

Maringá
2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

C355p Castro, Kárin Rosi Reinhold de
Pesquisa de criadouros naturais, impacto de medidas de controle e dinâmica de flebotomíneos no sul do Brasil / Kárin Rosi Reinhold de Castro. -- Maringá, 2014.
64 f. : il. color., figs., tabs.

Orientador : Prof. Dr. Ueslei Teodoro.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2014.

1. Inseto - Phlebotomus - Controle de pragas. 2. Leishmaniose - Saúde pública. 3. Leishmaniose - Vetores de doenças. 3. Flebotomíneo - Criadouros naturais. I. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDD 21.ed. 616.9364
Zss-2070

FOLHA DE APROVAÇÃO

KÁRIN ROSI REINHOLD DE CASTRO

Pesquisa de criadouros naturais, impacto de medidas de controle e dinâmica de flebotomíneos no sul do Brasil

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Ueslei Teodoro
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Prof. Dr. Carlos Brisola Marcondes
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a. Dr^a. Maria Valdrinez Campana Lonardoni
Universidade Estadual de Maringá

Prof^a. Dr^a. Thaís Gomes Verzignassi Silveira
Universidade Estadual de Maringá

Prof^a. Dr^a. Gessilda de Alcantara Nogueira de Melo
Universidade Estadual de Maringá

Prof^a. Dr^a. Mara Cristina Pinto
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Prof. Dr. Dennis Armando Bertolini
Universidade Estadual de Maringá

Aprovada em: 28 de março de 2014

Local de defesa: Sala 01, Bloco 126, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Mário e Lonny, que sempre me incentivaram e proporcionaram condições para que, desde a mais tenra idade, desse passos em direção a uma vida acadêmica de excelência.

AGRADECIMENTOS

Ao meu amparo, fortaleza e alegria, Deus. A Ele, toda honra e glória. DEle vem a força para recomeçar cada novo dia.

Ao meu marido, Angelo, e aos filhos, Bruno e Estela, pelo apoio e paciência, muita paciência, por relevarem minhas ausências. Ausências mais do que física, pois tantas vezes estive presente fisicamente, porém com o pensamento preso às leituras. Espero que o meu esforço em busca da excelência acadêmica fique como um bom exemplo para meus filhos.

À profª Drª Maria Angela Boer. Graças ao seu incentivo e insistência retornei à vida acadêmica, o que me traz imenso prazer.

Ao prof. Dr. Ueslei Teodoro, que não apenas orientou uma tese, mas me ensinou um modo de pesquisar, ler, escrever e ver o mundo de forma mais crítica.

Às minhas amigas e colegas Herintha C. Neitzke Abreu, Jaqueline C. Gasparotto, Bárbara A. dos Santos e Thaís R. Ranucci. Não tem como realizar um trabalho de pesquisa individualmente, além de que o trabalho fica mais gostoso quando há cooperação de pessoas queridas.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PCS), que colaboraram para o meu crescimento profissional.

À Olívia Abeche, secretária do PCS, que é sempre gentil e prestativa.

Aos funcionários dos departamentos de Parasitologia Clínica, Imunologia Clínica e Parasitologia Básica.

Ao Colégio Marista, à Lourdes, ao Basílio e às suas filhas Luana e Bruna, por terem colaborado para a realização do trabalho de campo.

À CAPES, pelo recebimento da bolsa de doutorado.

EPÍGRAFE

Desistir... eu já pensei seriamente nisso, mas nunca me levei realmente a sério; é que tem mais chã nos meus olhos do que o cansaço nas minhas pernas, mais esperança nos meus passos do que tristeza nos meus ombros, mais estrada no meu coração do que medo na minha cabeça.

(CORA CORALINA)

Pesquisa de criadouros naturais, impacto de medidas de controle e dinâmica de flebotomíneos no sul do Brasil

RESUMO

Relatam-se os resultados de uma investigação de criadouros e da dinâmica de flebotomíneos, após o emprego de medidas de controle para reduzir a densidade desses insetos em área endêmica de leishmaniose tegumentar. A pesquisa foi realizada no Recanto Marista, município de Doutor Camargo, estado do Paraná, Brasil. As coletas de flebotomíneos para a avaliação de medidas de controle foram realizadas com armadilhas de Falcão, de julho de 2006 a novembro de 2007. *Nyssomyia neivai* e *Nyssomyia whitmani* foram as espécies mais frequentes. A maioria dos flebotomíneos (93,4%), de um total de 287.473, foi coletada nos galinheiros construídos para atraí-los, enquanto nos ecótopos representados por residências e outras edificações coletaram-se 6,6%. A investigação de criadouros de flebotomíneos foi conduzida de maio de 2010 a agosto de 2012. As coletas de flebotomíneos adultos recém emergidos do solo foram realizadas com armadilhas de Alencar, experimentais e de amostras de solo incubadas em estufa BOD. Foram coletados oito flebotomíneos com armadilhas de Alencar, um com armadilha experimental e 21 em amostras de solo. As espécies coletadas foram *Brumptomyia brumpti*, *Micropygomyia ferreirana*, *Migonemyia bursiformis*, *Migonemyia migonei*, *Ny. neivai*, *Ny. whitmani* e *Pintomyia pessoai*. As ações promovidas pelo homem determinam o crescimento ou a redução da população de flebotomíneos no espaço que ele ocupa. A compreensão da dinâmica de flebotomíneos neste ambiente pode contribuir substancialmente para a prevenção da leishmaniose tegumentar. Criadouros naturais de flebotomíneos foram localizados no Recanto Marista, principalmente entre raízes de árvores, mas a quantidade de adultos que emergiu nas armadilhas e de amostras do solo foi pequena diante da elevada densidade de flebotomíneos que tem sido constatada no Recanto Marista.

Palavras-chave: Phlebotomus. Psychodidae. Controle de pragas. Leishmaniose. Saúde pública. Vetores de doenças.

Natural breeding sites, impact of control measures, and sand fly dynamics in southern Brazil

ABSTRACT

We report the results of an investigation on natural breeding sites, and the results of control measures introduced to reduce density of sand flies in domiciles and subsequent monitoring of the effects of these measures on the population of these insects. The research was conducted in the Recanto Marista, Doutor Camargo municipality, Paraná state, Brazil. Sand flies were collected with Falcão traps for evaluation of control measures, from July 2006 to November 2007. The most frequent species were *Nyssomyia neivai* and *Nyssomyia whitmani*. A total of 268,382 (93.4%) sand flies were collected in ecotypes constructed with the aim of attract sand flies, and 19,091 (6.6%) sand flies were collected in the ecotypes consisting of residences and other buildings. For research on breeding sites of sand flies was used Alencar emergence traps, experimental traps, and soil samples incubated in BOD incubator, from May 2010 to August 2012. Eight sandflies were collected with Alencar emergence traps, one specimen with experimental trap and 21 in soil samples. The collected species were *Brumptomyia brumpti*, *Micropygomyia ferreirana*, *Migonemyia bursiformis*, *Migonemyia migonei*, *Ny. neivai*, *Ny. whitmani*, and *Pintomyia pessoai*. Human actions determine the growth or reduction of the sand fly population in human-occupied space. Understanding the dynamics of sand flies in this environment can substantially contribute to the prevention of cutaneous leishmaniasis. Natural breeding sites of sand flies were located in the Recanto Marista, especially between tree roots, however the amount of adults that emerged in the traps and soil samples was small despite the high density of sand flies that has been recorded in the Recanto Marista.

Keywords: Phlebotomus. Psychodidae. Pest control. Leishmaniasis. Public health. Disease vectors.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Fêmea de <i>Phlebotomus papatasi</i> realizando hematofagia.	13
Figura 2 Flebotomíneo macho.....	13
Figura 3 Cópula de casal de <i>Phlebotomus perniciosus</i>	13
Figura 4 Flebotomíneo fêmea.....	13
Figura 5 Larva de flebotomíneo emergindo de um ovo.....	15
Figura 6 Larva de quarto estágio	15
Figura 7 Pupa de colônia de flebotomíneos.....	15
Figura 8 Flebotomíneo adulto emergindo da pupa.....	15
Figura 9 Situação da leishmaniose visceral no mundo.....	16
Figura 10 Situação da leishmaniose tegumentar no mundo.....	17
Figuras 11 A e B Prováveis locais de criadouros de flebotomíneos.....	18
Figura 12 A e B Armadilha de emergência (Alencar, 2007).....	19
Table 1. Sandflies collected in different ecotopes at the Recanto Marista, municipality of Doutor Camargo, Paraná, Brazil, from July 2006 to November 2007.....	40
Table 2. Seasonality of sandflies collected in different ecotopes at the Recanto Marista, municipality of Doutor Camargo, Paraná, Brazil, from July 2006 to November 2007.....	41
Table 3. Frequency and hourly mean (HM) of sandflies collected in different ecotopes at the Recanto Marista, municipality of Doutor Camargo, Paraná, Brazil, from May 2005 to April 2006 and from July 2006 to November 2007.....	42
Tabela 1 Flebotomíneos que emergiram nas armadilhas de Alencar, no município de Doutor Camargo, Paraná, Brasil.....	57
Tabela 2 Número de amostras de solo, pontos de coleta e flebotomíneos que emergiram no Recanto Marista, no município de Doutor Camargo, estado do Paraná, Brasil.....	58
Figura 1 Pontos de coleta de amostras de solo (S1 a S11), distribuição das armadilhas de Alencar (AA) e experimentais (AE) no Recanto Marista, município de Doutor Camargo (DC), estado do Paraná, Brasil.....	59
Figura 2 Armadilhas de emergência instaladas no Recanto Marista, município de Doutor Camargo, estado do Paraná, Brasil.....	60
Figura 3 Precipitações pluviométricas mensais no município de Doutor Camargo, estado do Paraná, Brasil.....	61

Tese elaborada e formatada conforme as normas da ABNT (Capítulo I) e das publicações científicas (Capítulo II): *Journal of Vector Ecology* (artigo 1) disponível em: <<http://goo.gl/wmJvu>>, *Medical and Veterinary Entomology* (artigo 2) disponível em: <<http://goo.gl/qOFonB>>

SUMÁRIO

1	CAPÍTULO I	12
1.1	Histórico	12
1.2	Flebotomíneos	13
1.3	Importância dos flebotomíneos	14
1.4	Leishmanioses	15
1.5	Criadouros de flebotomíneos	17
1.6	Controle das leishmanioses	19
1.7	Justificativa	19
1.8	Objetivos	20
1.9	Referências	20
2	CAPÍTULO II	27
2.1	Artigo 1: Impact of control measures and dynamics of sand flies in southern Brazil	27
2.2	Artigo 2: Criadouros de flebotomíneos em área rural, sul do Brasil	43
3	CAPÍTULO III	62
3.1	Conclusões	62
3.2	Perspectivas futuras	63

CAPÍTULO I

HISTÓRICO

O primeiro registro de flebotomíneos (Diptera) acredita-se que ocorreu na Itália, com a descrição de *Phlebotomus papatasi* por Scopoli (DEDET et al., 2003). Grassi (1907) fez primeiro relato de uma forma imatura (larva) de flebotomíneo na natureza em Roma, permitindo a descrição uma nova espécie denominada *Phlebotomus mascittii*. Na Índia, McCombie-Young et al. (1926) encontraram um número substancial de larvas e pupas. No Novo Mundo, os primeiros criadouros de flebotomíneos foram encontrados na base do tronco e nos galhos de uma árvore, no Brasil (FERREIRA et al., 1938), enquanto Lutz apud Hanson (1961), obteve adultos em gaiolas colocadas sobre o solo de uma mata.

Aragão (1922) demonstrou pela primeira vez o papel de *Phlebotomus intermedius* na epidemiologia da leishmaniose tegumentar (LT). Forattini encontrou roedores silvestres infectados por *Leishmania*, em áreas florestais do estado de São Paulo (FORATTINI, 1958). Desde então, há registros desta doença em municípios de todos os estados do Brasil (BRASIL, 2007). A LT, que inicialmente acometia pessoas que tinham contato ocasional com as florestas, passou a ocorrer em zonas rurais, quase totalmente desmatadas, e em áreas periféricas das cidades (BRASIL, 2007).

Nas últimas décadas, a despeito dos numerosos estudos sobre a biologia e o comportamento de flebotomíneos, segundo Feliciangeli (2004), pouco tem sido acrescentado sobre criadouros de flebotomíneos. Tanto no Velho como no Novo Mundo têm sido utilizadas técnicas para a pesquisa direta de formas imaturas e indireta de adultos recém-emergidos em potenciais criadouros desses insetos (MCCOMBIE-YOUNG et al., 1926; SHORTT et al., 1930; SMITH et al., 1936; FORATTINI, 1954; DEANE, DEANE, 1957; HANSON, 1961, 1968; ARTEMIEV et al., 1972; FOSTER, 1972; RUTLEDGE, MOSSER, 1972; FORATTINI, 1973; RUTLEDGE, ELLENWOOD, 1975; NICOLESCU, BILBIE, 1980; ARIAS, FREITAS, 1982; POZIO et al., 1983; BIOCCA, COSTANTINI, 1986; KILLICK-KENDRICK, 1987; MUTINGA, KAMAU, 1986; DOHA et al., 1990; GHOSH, BHATTACHARYA, 1991; FERRO et al., 1997; CASANOVA, 2001; ALENCAR, 2007; SINGH et al., 2008; ALENCAR et al., 2011; MONCAZ et al., 2012; PARRAS et al., 2012; SANGIORGI et al., 2012; CASANOVA et al., 2013). No Brasil, no estado do Amazonas, Alencar et al. (2011) recuperaram 138 imaturos e 29 adultos recém emergidos principalmente de amostras de solo coletadas próximo de árvores.

FLEBOTOMÍNEOS

Os flebotomíneos (Figuras 1 a 4) são insetos (Diptera; Psychodidae; Phlebotominae) popularmente conhecidos como mosquito palha, tatuquira, birigui, entre outros (BRAZIL, BRAZIL, 2003). Medem de 2 a 3 mm, têm pilosidade intensa no corpo e cor que varia de palha a castanho escuro, são facilmente reconhecidos pelo voo típico (saltitante) e a forma característica quando pousam nas superfícies, com as asas entreabertas e ligeiramente levantadas (KILLICK-KENDRICK, 1999; BRAZIL, BRAZIL, 2003).



Figura 1. Fêmea de *Phlebotomus papatasi* realizando hematofagia. Fonte: Maroli et al, 2013.



Figura 2. Flebotomíneo macho. Fonte: <http://en.wikipedia.org/wiki/Phlebotomus>



Figura 3. Cópula de casal de *Phlebotomus perniciosus*. Fonte: Maroli et al, 2013.

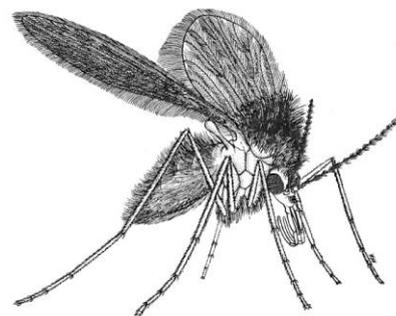


Figura 4. Flebotomíneo fêmea. Fonte: Young & Perkins, 1984.

São insetos holometábolos e têm em seu ciclo de vida as fases de ovo (± 7 dias) (Figura 5), larva (com 4 estádios de ± 20 dias) (Figuras 5 e 6), pupa (± 10 dias) (Figuras 7 e 8) e adulto (Figura 8), que pode sobreviver de 20 a 30 dias, sob condições de laboratório. As fêmeas fazem a postura de ovos (em média, 40 por postura) diretamente no solo e logo após a eclosão as larvas alimentam-se das cascas dos ovos, dos corpos de adultos mortos e de matéria orgânica disponível no solo; as condições ideais de temperatura e umidade para as espécies neotropicais variam de 25 a 27°C e 70 a 90% respectivamente; a duração do ciclo de

vida varia de uma espécie a outra e depende da disponibilidade de alimento (FORATTINI, 1973; BRAZIL, BRAZIL, 2003).

Os adultos alimentam-se de seivas vegetais e secreções açucaradas de afídeos (Hemiptera; Aphididae), porém as fêmeas, além da ingestão de açúcares, necessitam de uma dieta sanguínea para maturação dos ovos (BRAZIL, BRAZIL, 2003; WHO, 2010). São insetos de hábitos crepusculares ou noturnos (FORATTINI, 1973). Devido ao seu revestimento quitinoso delgado, são bastante sensíveis às alterações climáticas e desta forma, a ocorrência de níveis baixos de temperatura e umidade ou chuvas e ventos desfavorecem a saída de flebotomíneos dos abrigos (FORATTINI, 1973). Esses insetos permanecem abrigados em locais confinados e úmidos, como tocas e ninhos de animais, fendas e locais entre e sob rochas e raízes de árvores, folhas, tanto de arbustos como acumuladas no solo, em espaços nos troncos de árvores, onde o microclima ofereça condições que os protejam da dessecação (FORATTINI, 1973; BRAZIL, BRAZIL, 2003). As espécies que invadem os domicílios e seus anexos (pocilgas e galinheiros) têm seus abrigos dentro desses limites ambientais, os quais podem ou não estar associados aos criadouros (FORATTINI, 1973; BRAZIL, BRAZIL, 2003).

Frente às dificuldades para isolar as formas imaturas do substrato onde se desenvolvem (geralmente no solo), os resultados sobre criadouros desses dípteros têm sido frustrantes (FORATTINI, 1973; BRAZIL, BRAZIL, 2003; FELICIANGELI, 2004).

IMPORTÂNCIA DOS FLEBOTOMÍNEOS

Os flebotomíneos são os vetores de protozoários intracelulares obrigatórios do gênero *Leishmania* (Kinetoplastida; Trypanosomatidae) que causam as leishmanioses tegumentar e visceral, presentes em 98 países do Velho e do Novo Mundo, com a estimativa de ocorrência de 1,3 milhões de novos casos e de 20.000 a 30.000 mortes anuais (WHO 2013, 2014). Estes insetos são conhecidos também como vetores de outros patógenos humanos, como *Bartonella* spp. (doença de Carrión) e agentes virais (febre dos flebotomíneos, meningites, encefalites) (SHAW et al., 2003; DEPAQUIT et al., 2010; READY, 2013).

Há mais de 927 espécies ou subespécies de flebotomíneos descritas, das quais aproximadamente 500 ocorrem no Novo Mundo (SHIMABUKURO, GALATI, 2011). No Brasil, 19 espécies são suspeitas ou incriminadas de transmitir *Leishmania* para o homem (BRASIL, 2007), entre elas *Nyssomyia whitmani*, *Nyssomyia intermedia*, *Nyssomyia neivai*, *Migonemyia migonei*, *Pintomyia fischeri*, *Pintomyia pessoai* e *Lutzomyia longipalpis*, todas

com ampla distribuição em vários estados do Brasil (AGUIAR, MEDEIROS, 2003; SILVA et al., 2008; SHIMABUKURO, GALATI, 2011; MARCONDES, 1998).



Figura 5. Larva de flebotomíneo emergindo de um ovo. Fonte: <http://vl-ethiopia.huji.ac.il/gallery.htm>

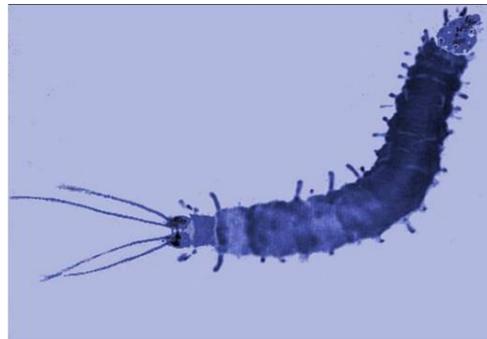


Figura 6. Larva de quarto estágio. Fonte: <http://vl-ethiopia.huji.ac.il/gallery.htm>



Figura 7. Pupa de colônia de flebotomíneos. Fonte: <http://vl-ethiopia.huji.ac.il/gallery.htm>



Figura 8. Flebotomíneo adulto emergindo da pupa. Fonte: <http://vl-ethiopia.huji.ac.il/gallery.htm>

LEISHMANIOSES

As leishmanioses atingem os indivíduos mais pobres do planeta, estão associadas à má nutrição, à imunodeficiência, ao deslocamento populacional e às condições precárias de habitação e saneamento básico (WHO, 2014).

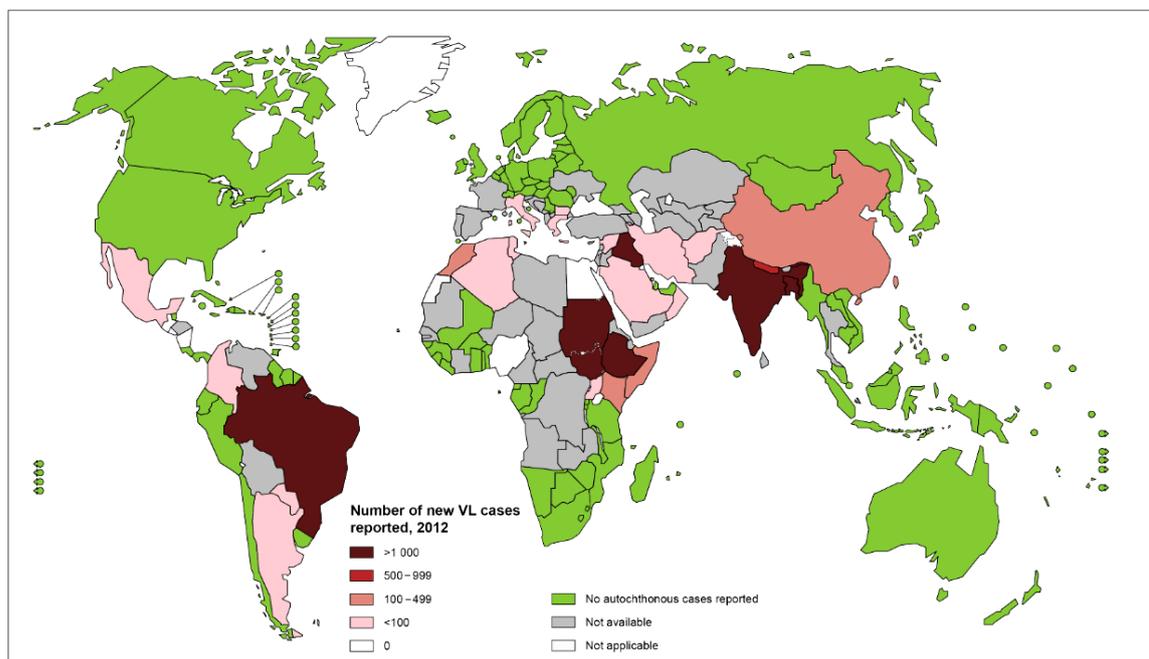
Os protozoários que causam as leishmanioses são transmitidos para os mamíferos pela picada da fêmea de flebotomíneo infectada. O ciclo de vida destes protozoários envolve vertebrados (mamíferos) e invertebrados (flebotomíneos), que se desenvolvem, respectivamente, nas células do sistema mononuclear fagocitário na forma amastigota e no tubo digestório do vetor na forma promastigota (REITHINGER et al., 2007).

A epidemiologia das leishmanioses depende das características da espécie de *Leishmania*, da população humana exposta ao parasito e de características ecológicas do local onde ocorre a transmissão (WHO, 2014).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2014) há três formas de leishmanioses: 1) leishmaniose visceral (calazar), que é fatal se não tratada, é altamente endêmica na Índia e África oriental, com estimativa de 200.000 a 400.000 novos casos anuais no mundo; 90% dos novos casos ocorrem em Bangladesh, Brasil, Etiópia, Índia, Sudão do Sul e Sudão (Figura 9); 2) leishmaniose cutânea, que é a forma mais comum, com aproximadamente 95% dos casos nas Américas, na bacia do Mediterrâneo, no Oriente Médio e na Ásia Central; mais de dois terços dos casos ocorrem no Afeganistão, Brasil e Irã, na Argélia, Colômbia e República Árabe da Síria, estimando-se que há de 700 mil a 1,3 milhões de novos casos anuais no mundo (Figura 10); 3) leishmaniose mucocutânea, com a ocorrência de quase 90% dos casos na Bolívia, no Brasil e Peru (WHO, 2014).

Na América Latina o número de casos de LT vem se mantendo elevado, especialmente no Brasil (BRASIL, 2011), onde foram registrados 587.962, no período de 1990 a 2011. Destes casos, 13.161 ocorreram na região sul do Brasil, dos quais 94,9% no estado do Paraná, abrangendo a maioria dos municípios (BRASIL, 2012).

Status of endemicity of visceral leishmaniasis, worldwide, 2012



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement. © WHO 2013. All rights reserved

Data Source: World Health Organization
Map Production: Control of Neglected
Tropical Diseases (NTD)
World Health Organization



Figura 9. Situação da leishmaniose visceral no mundo.

Fonte: <http://gamapserv.who.int/mapLibrary/app/searchResults.aspx>

rochas, chão de cavernas e raspas de troncos de árvores), a maioria das quais foi processada por flutuação em solução salina ou mantidas em laboratório para a emergência dos adultos.

Alencar et al. (2011) empregaram três técnicas para a coleta de formas imaturas (flutuação-peneiramento, pesquisa direta e filtro de Berlese–Tullgren) e uma para a obtenção de adultos recém emergidos (gaiolas para incubação), em diferentes ecótopos numa floresta de “terra-firme” (estado de Amazonas, Brasil); 138 imaturos e 29 adultos recém emergidos foram coletados, sendo quase 90% provindos da base de árvores. O exame direto foi o mais eficiente para a sobrevivência das larvas, pois embora mais lento e trabalhoso, é um método menos agressivo; com relação à baixa contagem de adultos obtidos de amostras pelo método de flutuação-peneiramento, este pode ter ocorrido devido aos danos causados às larvas e pupas durante o processamento da amostra (Alencar et al. 2011).

A escolha do método para a pesquisa de criadouros de flebotomíneos deve levar em consideração o local onde esta será realizada e as características das amostras. Desta forma, segundo Hanson (1961), a pesquisa visual direta sob microscópio estereoscópico é satisfatória na pesquisa em folhas mortas e outros materiais de maior tamanho (matéria orgânica de potenciais habitats), porém, para amostras constituídas por solo ou detritos, é mais demorado. A técnica de incubação do solo para a emergência de flebotomíneos adultos tem a vantagem de permitir a identificação da espécie do inseto. Mutinga & Kamau (1986) elegeram este o melhor método em suas pesquisas no Quênia. Já no Brasil, vários autores, como Casanova (2001), Alencar (2007), Alencar et al. (2011) e Casanova et al. (2013), empregaram diferentes tipos e tamanhos de armadilhas de emergência sobre o solo de matas ou outros ecótopos, adequando-as ao local pesquisado.



Figuras 11 A e B. Prováveis locais de criadouros de flebotomíneos. Fonte: Arquivos pessoais.



Figura 12 A e B. Armadilha de emergência (Alencar, 2007). Fonte: Arquivos pessoais.

CONTROLE DAS LEISHMANIOSES

Há diversos fatores que podem afetar a incidência das leishmanioses, destacando-se: 1) os assentamentos humanos em áreas desmatadas para o incremento de cultivos agrícolas e a domesticação do ciclo de transmissão; 2) mudanças na temperatura e umidade e no regime de chuvas, que podem afetar a distribuição, o comportamento e o tamanho da população de vetores e reservatórios de *Leishmania*; 3) a urbanização, a pobreza, a precariedade de domicílios e das condições sanitárias; 4) a falta de manejo adequado do lixo doméstico, que pode incrementar os locais de abrigo e de formação de criadouros de flebotomíneos; 5) o hábito de criar cães e outros animais domésticos próximo ao domicílio facilita o contato desses insetos com humanos, podendo promover a infecção humana (WHO, 2014).

Considerando-se o que foi supracitado, o controle das leishmanioses deve integrar o diagnóstico e tratamento precoces e a vigilância epidemiológica; o controle da população de flebotomíneos com inseticidas, o uso de mosquiteiros tratados com inseticidas e o manejo ambiental, para reduzir ou interromper a transmissão doméstica; a mobilização e educação da comunidade (WHO, 2014).

JUSTIFICATIVA

As ações promovidas no espaço ocupado pelo homem, mesmo que sutis, determinam o crescimento ou a redução da população de flebotomíneos em ambientes distintos deste espaço. Os estudos da interação de flebotomíneos com o meio ambiente expõem alguns pontos vulneráveis da endemia, permitem a implantação do monitoramento, da vigilância epidemiológica e podem orientar as ações de controle desses insetos de forma mais eficaz e efetiva, nas áreas onde há risco de transmissão (TEODORO et al., 2011; REINHOLD-CASTRO et al., 2013).

As informações sobre a localização de criadouros naturais de flebotomíneos envolvidos na transmissão de leishmanioses estão disponíveis apenas para 15 de 29 espécies no Velho Mundo e 12 de 44 no Novo Mundo, representando 3% das espécies conhecidas desses insetos (FELICIANGELI, 2004). No estado do Paraná, não há nenhum estudo sobre criadouros desses insetos, a despeito da importância que isto representa para o desenvolvimento de medidas de controle das formas imaturas.

Desta forma, justifica-se plenamente estudos mais detalhados para a compreensão da dinâmica e a localização de criadouros naturais de flebotomíneos para a determinação de condutas que evitem o contato desses insetos com o homem e os animais domésticos.

OBJETIVOS

GERAL

Verificar a dinâmica da população de flebotomíneos sob os efeitos das transformações cotidianas produzidas pelo homem no ambiente antrópico e localizar os criadouros naturais desses insetos.

ESPECÍFICOS

Investigar áreas de solo favoráveis à criação de flebotomíneos com armadilhas de emergência.

Observar a emergência de flebotomíneos em amostras de solo mantidas em estufa BOD.

Coletar e identificar flebotomíneos adultos com armadilhas luminosas de Falcão em ecótopos no domicílio e peridomicílio.

Analisar os resultados de medidas de controle de flebotomíneos empregadas no Recanto Marista.

REFERÊNCIAS

ALENCAR, J.E. Expansão do calazar no Brasil. **Ceará Médico**, v. 5, p. 86-102, 1983.

ALENCAR, R.B. Emergência de Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em Chão de Floresta de Terra Firme na Amazônia Central do Brasil: Uso de um Modelo Modificado de Armadilha de Emergência. **Acta Amazonica**, v. 37, p. 287-292, 2007.

ALENCAR, R.B.; QUEIROZ, R.G.; BARRETT, T.V. Breeding sites of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) and efficiency of extraction techniques for immature stages in terra-firme forest in Amazonas State, Brazil. **Acta Tropica**, v. 118, p. 204-208, 2011.

ALEXANDER, B.; MAROLI, M. Control of Phlebotomine Sandflies. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 17, p. 1-18, 2003.

AGUIAR, G.M.; MEDEIROS, W.M. Distribuição e hábitos. In: Rangel EF, Lainson R, editores. Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, p. 207-255, 2003.

ARAGÃO, H.B.; Transmissão da Leishmaniose no Brasil pelo *Phlebotomus intermedius*. **Brasil Médico**, v. 36, p.129-130, 1922.

ARIAS, J.R.; FREITAS, R.A. On the vectors of cutaneous leishmaniasis in the central Amazon of Brasil. 4. Sand fly emergence from a 'terra firme' forest floor. **Acta Amazonica**, v. 12, p. 609-611, 1982.

ARTEMIEV, M.M.; FLEROVA, O.A.; BELYAEV, A.E. Quantitative evaluation of the productivity of breeding places of sandflies in the wild and in villages. **Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni**, v. 41, p. 31-35, 1972.

BIOCCA, E.; COSTANTINI, R. I pozzi come possibili focolai larvali di flebotomi nell'Isola de Zante. **Annali dell'Istituto Superiore di Sanità**, v. 22, p. 59-60, 1986.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2007. Disponível em: <http://goo.gl/mPcbz>. (Acessado em 04/04/2012).

BRASIL. Ministério da Saúde. Casos de Leishmaniose Tegumentar Americana. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2011. 2012. Disponível em: <http://goo.gl/ijNPpy>. (Acessado em 12/02/2013).

BRAZIL, R.P.; BRAZIL, B.G. Biologia de Flebotomíneos Neotropicais. In: Rangel EF, Lainson R. Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, p. 257-274, 2003.

CASANOVA, C. A Soil Emergence Trap for Collections of Phlebotomine Sand Flies. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v, 96, p. 273-275, 2001.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention 2013. Disponível em: <http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html> (Acessado em: 27/02/2014)

DEANE, L.M.; DEANE, M.P. Observações sobre abrigos e criadouros de flebótomos no noroeste do Estado do Ceará. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 9, p. 225-244, 1957.

DIAS, E.S.; FRANÇA-SILVA, J.C.; SILVA, J.C.; MONTEIRO, E.M.; PAULA, K.M.; GONÇALVES, C.M.; BARATA, R.A. Sandflies (Diptera: Psychodidae) in an outbreak of cutaneous leishmaniasis in the State of Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, p. 49-52, 2007.

DEDET, J.P.; VIGNES, R.; RANGEL, E.F. Morfologia e taxonomia. In: Rangel EF, Lainson R. Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, p. 177-183, 2003.

DEPAQUIT, J.; GRANDADAM, M.; FOUQUE, F.; ANDRY, P.; PEYREFITTE, C. Arthropod-borne viruses transmitted by Phlebotomine sandflies in Europe: a review. **Eurosurveillance**, v. 15, p. 1-8, 2010

DOHA, S.; KAMAL, H.; SHEHATA, M.; HELMY, N.; KADER, M.A.; EL SAID, S.; EL SAWAF, B.M. The breeding habitats of Phlebotomus sand flies (Diptera: Psychodidae) in El Agamy, Alexandria, Egypt. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v. 20, p. 747-752, 1990.

FELICIANGELI, M.D. Natural breeding places of phlebotomine sandflies. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 18, p. 71-80, 2004.

FERREIRA, A.L.; SESSA, P.A.; VAREJÃO, J.B.M; FALQUETO, A. Distribution of Sand Flies (Diptera: Psychodidae) at Different Altitudes in an Endemic Region of American Cutaneous Leishmaniasis in the State of Espírito Santo, Brazil. **Memórias de Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 1061–1067, 2001.

FERREIRA, L.C.; DEANE, L.; MANGABEIRA, F.O. Sobre a biologia dos flebótomos das zonas de leishmaniosis visceral ora em estudo no Estado de Pará. **O'Hospital**, v. 14, p. 3-6, 1938.

FERRO, C.; PARDO, R.; TORRES, M.; MORRISON, A. Larval microhabitats of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. **Journal of Medical Entomology**, v. 34, p. 719-728, 1997.

FORATTINI, O.P. Algumas observações sobre a biologia dos flebótomos dos zones de leishmaniose visceral ora em estudo do Estado de Para. **O'Hospital**, v. 14, p. 3-6, 1954.

FORATTINI, O.P. Nota sobre o encontro de leishmanias em roedores silvestres de zona endêmica de leishmaniose no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Paulista de Medicina**, v. 53, p. 155, 1958.

FORATTINI, O.P. Entomologia médica. São Paulo, E. Blücher/EDUSP, 658p., 1973.

FOSTER, W.A. Studies on Leishmaniasis in Ethiopia. III. Resting and breeding-sites, flight behaviour and seasonal abundance of *Phlebotomus longipes* (Diptera: Psychodidae). **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 66, p. 313-328, 1972.

GRASSI, B. Ricerche sui flebótomi. **Memorie della Società Italiana di Scienze Naturali**, v. 14, p. 353-394, 1907

GHOSH, K.N.; BHATTHACHARYA, A. Breeding places of *Phlebotomus argentipes* Annandale and Brunetti (Diptera: Psychodidae) in West Bengal. **India Parassitologia**, v. 33, p. 267-272, 1991.

HANSON, W.J. The breeding places of *Phlebotomus* in Panama (Diptera: Psychodidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 54, p. 317-322, 1961.

HANSON, W.J. The immature stages of the family Phlebotominae in Panama (Diptera: Psychodidae). PhD Thesis, University of Kansas, U.S.A., 1968.

KILLICK-KENDRICK, R. Breeding places of *Phlebotomus ariasi* in the Cévennes focus of leishmaniasis in the South of France. **Parassitologia**, v. 29, p. 181-191, 1987

KILLICK-KENDRICK, R. The Biology and Control of Phlebotomine Sand Flies. **Clinics in Dermatology**, v. 17, p. 279-289, 1999.

MARCONDES, C.B. Flebotomíneos. In: Marcondes CB. Entomologia Médica e Veterinária. São Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte: Atheneu, 2001.

MARCONDES, C.B. Seria a taxonomia insignificante para a ecologia de vetores? **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, p. 492-493, 1998.

MCCOMBIE-YOUNG, T. C.; RICHMOND, A. E.; BRENDISH, G. R. Sandflies and sandfly fever in the Peshawar District. **Indian Journal of Medical Research**, v. 13, p. 961-1021, 1926.

MONCAZ, A.; FAIMAN, R.; KIRSTEIN, O.; WARBURG, A. Breeding Sites of *Phlebotomus sergenti*, the Sand Fly Vector of Cutaneous Leishmaniasis in the Judean Desert. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, e1725, 2012.

MUTINGA, M.J.; KAMAU, C.C. Investigations of the epidemiology of Leishmaniasis in Kenya-II. The breeding-sites of phlebotomine sandflies in Marigat, Baringo District, Kenya. **Insect Science and its Applications**, v. 7, p. 37-44, 1986.

NICOLESCU, G.; BILBIE, I.I. The scrutiny of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) presence in natural biotopes in Dobrudja. **Archives Roumaines de Pathologie Expérimentales et Microbiologie**, v. 3, p. 271-281, 1980.

PARRAS, M.A.; ROSA, J.R.; SZELAG, E.A.; SALOMÓN, O.D. Identification of the natural breeding sites of sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), potential vectors of leishmaniasis, in the province of Chaco, Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, p. 550-552, 2012.

PIFANO, F. La leishmaniasis tegumentaria en el Estado Yaracuy, Venezuela. **Gaceta Médica de Caracas**, v. 48, p. 292-299, 1941.

POZIO, E.; GRADONI, L., BONARELLI, R.; SQUITTERIN, N.; BETTINI, S.; MAROLI, M.; COCHI, M. Indagini sui focolai dei flebotomi in provincia de Grosseto. **Atti XII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia**, v. 2, p. 395-400, 1983.

READY, P.D. Biology of Phlebotomine Sand Flies as Vectors of Disease Agents. **The Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 227-50, 2013.

REINHOLD-CASTRO, K.R.; FENELON, V.C.; ROSSI, R.M.; BRITO, J.E.C.; FREITAS, J.S.; TEODORO, U. Impact of control measures and dynamics of sand flies in southern Brazil. **Journal of Vector Ecology**, v. 38, p. 63-68, 2013.

REITHINGER, R.; DUJARDIN, J.C.; LOUZIR, H.; PIRMEZ, C.; ALEXANDER, B.; BROOKER, S. Cutaneous leishmaniasis. **The Lancet Infectious Diseases**, v.7, p. 581-596, 2007.

RUTLEDGE, L.C.; ELLENWOOD, D.A. Production of phlebotomine sandflies on the open forest floor in Panama: the species complement. **Environmental Entomology**, v. 4, p. 71-77, 1975.

SANGIORGI, B.; MIRANDA, D.N.; OLIVEIRA, D.F.; SANTOS, E.P.; GOMES, F.R.; SANTOS, E.O.; BARRAL, A.; MIRANDA, J.C. Natural Breeding Places for Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae) in a Semiarid Region of Bahia State, Brazil. **Journal of Tropical Medicine**, Article ID 124068, 5 pages, 2012.

SHAW, J.; ROSA, A.T.; SOUZA, A.; CRUZ, A.C. Transmissão de outros agentes. In: Rangel EF, Lainson R. Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, p. 337-351, 2003.

SHIMABUKURO, P.H.F.; GALATI, E.A.B. Lista de espécies de Phebotominae (Diptera, Psychodidae) do Estado de São Paulo, Brasil, com comentários sobre sua distribuição geográfica. **Revista Biota Neotropica**, v.11, p. 685-704, 2011.

SHORTT, H.E.; SMITH, R.O.A.; SWAMINATH, C.S. The breeding in nature of *Phlebotomus argentipes* Ann. & Brun. **Bulletin of Entomological Research**, v. 21, p. 269-271, 1930.

SILVA, A.M.; DE CAMARGO, N.J.; DOS SANTOS D.R.; MASSAFERA, R.; FERREIRA, A.C.; POSTAI, C.; CRISTÓVÃO, E.C.; KONOLSAISEN, J.F.; ISETTO JR, A.; PERINAZO, R.; TEODORO, U.; GALATI, E.A.B. Diversidade, distribuição e abundância de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Paraná. **Neotropical Entomology**, v.3, p. 209-25, 2008.

SINGH, R.; LAL, S.; SAXENA, V.K. Breeding ecology of visceral leishmaniasis vector sandfly in Bihar state of India. **Acta Tropica**, v.107, p. 117-120, 2008.

SMITH, R.O.A.; MUKERJEE, S.; LAL, C. Bionomics of *P. argentipes*. Part II. The breeding-sites of *P. argentipes* and an attempt to control these insects by anti-larval measures. **Indian Journal of Medical Research**, v. 24, p. 557-562, 1936.

TEODORO, U.; SANTOS, D.R.; SANTOS, A.R.; OLIVEIRA, O.; POIANI, L.P.; SILVA, A.M.; NEITZKE, H.C.; MONTEIRO, W.M.; LONARDONI, M.V.C.; SILVEIRA, T.G.V. Informações preliminares sobre flebotomíneos do norte do Paraná. **Revista Saúde Pública**, v. 40, p. 327-330, 2006.

TEODORO, U.; KÜHL, J.B.; SANCHES, L.A.T. Frequência de flebotomíneos em localidades rurais do município de Prudentópolis, estado do Paraná, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 40, p. 169-177, 2011.

WHO. World Health Organization. Control of the Leishmaniasis. 2010. Disponível em: <http://goo.gl/1WxXs> (Acessado em 12/09/2012).

WHO. World Health Organization. Control of the Leishmaniasis. 2014. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/#> (Acessado em 03/39/2014).

CAPÍTULO II

Artigo 1: “IMPACT OF CONTROL MEASURES AND DYNAMICS OF SAND FLIES IN SOUTHERN BRAZIL”

IMPACT OF CONTROL MEASURES AND DYNAMICS OF SAND FLIES IN SOUTHERN BRAZIL

Kárin R. Reinhold-Castro¹, Vanderson C. Fenelon², Robson M. Rossi³, João E. C. Brito⁴, Janaina S. Freitas¹ and Ueslei Teodoro¹

¹Health Sciences Postgraduate Program, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, state of Paraná, Brazil, Avenue Colombo, 5790, 87020-900, karindecastro@yahoo.com.br, Fax: 55 44 3011-4860

Abstract

We report the results of control measures introduced to reduce the density of sandflies in domiciles, and subsequent monitoring of the effects of these measures on the sand fly populations. The most common species of sand flies were *Nyssomyia neivai* and *Nyssomyia whitmani*, which have been found to be naturally infected by *Leishmania*. A total of 268,382 (93.4%) sand flies were collected in ecotopes constructed with the aim of attracting sand flies, and 19,091 (6.6%) sand flies were collected in the ecotopes consisting of residences and other buildings. Human actions determine the growth or reduction of the sand fly population in human-occupied space. Understanding the dynamics of sand flies in this environment can substantially contribute to the prevention of cutaneous leishmaniasis.

Keywords: sand fly, Psychodidae, insect vector, prevention and control, neglected diseases, cutaneous leishmaniasis

Introduction

Leishmaniasis occurs in four continents and affects 88 countries (World Health Organization 2010). Most cases of cutaneous leishmaniasis (90%) occur in Afghanistan, Brazil, Iran, Peru, Saudi Arabia and Syria (World Health Organization 2010). However, the number of cases of cutaneous leishmaniasis has been underestimated, because of lack of reporting in remote rural areas and because reporting is not compulsorily in 33 countries where it is endemic (World Health Organization 2007). In Latin America, the incidence of cutaneous leishmaniasis (CL) has been high, especially in Brazil, where the wide geographical distribution shows the importance of this disease (Brazil 2010). In southern Brazil, most cases of CL were recorded in the state of Paraná (Brazil 2010).

In the Neotropical region, there are 480 species of sand flies, and 229 of these occur in Brazil, although only some of them are involved in the transmission cycle of *Leishmania* (Aguiar & Medeiros 2003). In the state of Paraná, *Ny. whitmani* (Antunes and Coutinho), *Ny. neivai* (Pinto), *Migonemyia migonei* (France), *Pintomyia pessoai* (Coutinho and Barretto), and *Pintomyia fischeri* (Pinto) are always present in most localities where sand flies were collected, and they might be important in the epidemiology of CL (Silva et al. 2008, Teodoro et al. 2010).

Sand flies have been controlled by employing chemical insecticides on the walls of houses, silos, animal shelters and other domestic buildings (Deane et al. 1955, Gratz 1999, Alexander and Maroli 2003), and impregnated in nets (Alexander and Maroli 2003, Picado et al. 2010). However, the sporadic use of insecticides during inappropriate periods, and poorly constructed housing have limited the success of this tactic (Alexander and Maroli 2003, Alencar 1983). Moreover, because these insects are not closely associated with the domicile, the residual effect of insecticides is eliminated once they return to this environment (Marcondes 2011). The use of insecticides in wild environments represents a danger to non-target organisms and a high cost for achieving adequate coverage of forest areas, making the method impractical in these situations (Alexander and Maroli 2003, Marcondes 2011). Moreover, information on the location of breeding sites of sand flies is scanty (Marcondes 2011).

Sand fly control measures that can be incorporated into the routine of people living in risk areas can reduce the density of these insects in the domicile and peridomicile, reducing the incidence of CL. Several studies have shown that the presence of hen houses in the peridomicile decreases the density of sand flies in the domicile and also their contact with

humans, when the hen houses are located at a distance of approximately 100 m from domiciles (Teodoro et al. 2001, Teodoro et al. 2003, Teodoro et al. 2007a).

This is the fifth study in the Recanto Marista. The first described the fauna, the frequency of sand flies in the domicile, and domestic-animal shelters in the peridomicile, and the environmental conditions (Teodoro et al. 2001). The second study (Teodoro et al. 2003) described the measures introduced to reduce the density of sand flies in the domicile, and the subsequent reports (Teodoro et al. 2007b, Reinhold-Castro et al. 2008) described the monitoring of the results of these measures. In the present study, we evaluated the population dynamics of sand flies as affected by small daily changes in the human-altered environment, and in the natural surroundings.

Materials and Methods

Sand flies were caught in the Recanto Marista, municipality of Doutor Camargo (23° 33' S and 52° 13' W) in north-central Paraná. The area of Recanto Marista was described previously (Teodoro et al. 2003).

Sand flies were collected with Falcão light traps, twice a month, from 22:00 to 02:00 hs each night, from July 2006 to November 2007, for a total of 136 hours per trap. The hourly collection schedule was the same as in previous studies in Recanto Marista (Teodoro et al. 2001, Teodoro et al. 2003, Teodoro et al. 2007b, Reinhold-Castro et al. 2008). The traps were installed in the following ecotopes:

- Ecotope 1 (E1): on the porch of a residence at the entrance of the Recanto Marista;
- Ecotope 2 (E2): in a hen house next to another animal shelter built in January 2006, where sheep and cattle take refuge at night;
- Ecotope 3 (E3): in the foundation of a house that is occasionally rented to visitors; ecotope E3 corresponds to the ecotope R of the previous study (Reinhold-Castro et al. 2008);
- Ecotope 4 (E4): an addition next to a house, where temporary workers are occasionally housed;
- Ecotope 5 (E5): a hen house at a distance of 40 m from a house (E6);
- Ecotope 6 (E6) on the porch of a residence;
- Ecotope 7 (E7): a hen house 15 m distant from a house (E6);
- Ecotope 8 (E8): the main entrance of a lodge on the banks of the Ivaí River, used by groups of people as a spiritual retreat;
- Ecotope 9 (E9): a hen house behind the lodge;
- Ecotope 10 (E10): a hen house on the right side of the lodge, in the woods;

- Ecotope 11 (E11): a hen house built in June 2002, near the gate of the Recanto Marista, with the aim of attracting sand flies from ecotope E1.

The measures employed to reduce the density of sand flies in peridomestic habitats were: i) removal of fallen leaves and fruit, agricultural residues, animal feces and the remains of food offered to them, and other types of soil organic matter, ii) provide appropriate disposal for water for domestic use, preventing it from soaking the soil around the houses. In addition to these measures, buildings (houses, barns and others) and domestic-animal shelters were sprayed with an insecticide to control sand flies (Teodoro et al. 2003, Teodoro et al. 2007b, Reinhold-Castro et al. 2008).

The hen houses were constructed previously (Teodoro et al. 2003) to act as zooprophyllactic barriers. The hen houses are lighted at night with 40 to 60W lamps, in order to attract sand flies; on the sampling nights, they were not lighted.

The results of this study are compared with the results of the study period in 2005/2006 (Reinhold-Castro et al. 2008).

The sand flies were prepared and identified at the identified in the Laboratory of Parasitology, Department of Basic Health Sciences of the Universidade Estadual de Maringá (UEM). The nomenclature of the species follows Galati (2003), and the abbreviations of the sand fly genera follow Marcondes (2007).

The Mann-Whitney statistical test was used to compare the total numbers of *Ny. whitmani* and *Ny. neivai* collected. Nonparametric ANOVA Kruskal-Wallis and their respective multiple comparisons were used to compare the samples taken in different ecotopes. The same procedure was used to compare the period in which the number of sand flies collected increased, with the previous and subsequent periods, in ecotope 5 (E5). The Mann-Whitney test was used to compare the hourly means (HM) from the periods 2005/2006 and 2006/2007. For the tests, we used the software Statistica (StatSoft, Inc., 2010; STATISTICA data analysis software system), version 9.0, with a significance level of 5%.

The temperature was measured at the beginning and end of each collection of sandflies. From July 2006 to November 2007, the mean temperature was 22.8°C at 22:00 hs and 19.9°C at 02:00 hs. During this period, the total rainfall was 2112.6 mm. The rainfall data were provided by the Weather Station of the UEM.

Results

The sand fly species collected were *Brumptomyia brumpti* (Larrousse), *Brumptomyia cunhai* (Mangabeira), *Evandromyia cortelezzii* (Brèthes), *Expapillata firmatoi* (Barretto,

Martins & Pellegrino), *Mi. migonei* (France), *Ny. neivai* (Pinto), *Ny. whitmani* (Antunes & Coutinho), *Pi. fischeri* (Pinto), *Pintomyia monticola* (Costa Lima), *Pi. pessoai* (Barreto & Coutinho) and *Psathyromyia shannoni* (Dyar). Of the total 287,473 sand flies collected, *Ny. neivai* (87.4%) and *Ny. whitmani* (10.9%) predominated, representing 98.3% of the total (Table 1). The Mann-Whitney statistical test indicated a significant difference between the total numbers of *Ny. whitmani* and *Ny. neivai* collected ($p=0.005237$).

Multiple comparisons indicated significant differences among the numbers of sand flies collected in the different ecotopes, as seen in Table 2. A total of 268,382 (93.4%) sand flies were collected in ecotopes E2, E5, E7, E9, E10 and E11, constructed with the aim of attracting sandflies (Table 2). In the other ecotypes (E1, E3, E4, E6, E8), represented by houses and other buildings, 19,091 (6.6%) sand flies were collected (Table 2). The Mann-Whitney test showed a significant difference between the number of sand flies collected in hen houses and in the other ecotopes ($p = 0.000$) (Table 2).

The number of sand flies collected in ecotope E5 was higher in the period from January 2007 to April 2007, totaling 78,436 (77.7%) of the total specimens collected in this biotope. The Kruskal-Wallis ANOVA indicated a significant difference between the number of sand flies collected in this period, and the previous ($p = 0.007686$) and subsequent periods ($P = 0.000966$) (Table 2). The sand flies were collected mostly (90.9%) from September 2006 to April 2007; during this period the total rainfall was 1,429.3 mm of rain, against 683.3 mm in the remaining months (Table 2). The HM of sand flies collected in ecotopes E2, E4, E5 and E9 increased markedly during 2006/2007 in relation to the 2005-2006 period (Table 3).

Discussion

The species collected have been recorded previously in the Recanto Marista, with a predominance of *Ny. neivai* (Teodoro et al. 2001, Teodoro et al. 2003, Teodoro et al. 2007b, Reinhold-Castro et al. 2008). The species *Ny. neivai*, *Ny. whitmani*, *Mi. migonei*, *Pi. fischeri* and *Pi. pessoai* have been reported often in the Recanto Marista and elsewhere in the Paraná (Silva et al. 2008, Membrive et al. 2004, Teodoro et al. 2006). *Ny. neivai*, the most frequent species in Recanto Marista, has been found naturally infected by *Leishmania* (Córdoba-Lanús et al. 2006, Marcondes et al. 2009), including at the Recanto Marista (Oliveira et al. 2011). This species is anthropophilic, occurs in forests, adapts well to forest edges and modified environments, and may develop in the peridomicile and invade houses (Marcondes 2011). The second most frequent species in the Recanto, *Ny. whitmani*, was also observed to be naturally infected by *Leishmania* (Azevedo et al. 1990, Luz et al. 2000), is anthropophilic and

adapts to forest environments, but tends to be scarce in deforested areas (Marcondes 2011). Peterson & Shaw (2003) suggested that *Ny. whitmani* might represent an example of high tolerance of an insect to drastic ecological changes, with its ability to survive and adapt to new ecological niches. In the eastern state of Santa Catarina, *Ny. neivai* predominated close to homes where cases of CL were reported (Marcondes et al. 2005). In this region the vegetation is much altered, which probably facilitated the adaptation of this species in areas close to houses (Marcondes et al. 2005). Thus, a new epidemiological profile of CL can result from environmental changes caused by humans, resulting in “a partial or complete domiciliation of some sandfly species” (Costa et al. 2007). *Ny. neivai* and *Ny. whitmani* show similar seasonal behavior; the population increase of these species coincides with the months of highest rainfall, as noted earlier, in this locality (Teodoro et al. 2007b, Reinhold-Castro et al. 2008).

In ecotopes E2, E5 and E9, the hourly mean (HM) of sandflies collected in 2006/2007 increased markedly compared with the means for sand flies collected in 2005/2006. The increase in sand fly HM in the ecotope E2 was due to the presence of cattle and sheep that sheltered at night in a small shed next to E2 (hen house). The presence of these animals provides blood sources and an accumulation of organic matter (waste feed and animal feces) in the soil. It is thought that the sand fly increase in ecotope E5 was due to the organic waste removed from the hen houses and which was used as fertilizer in the kitchen-garden next to E5, in the period from January to April 2007. During this period, 77.7% of the sandflies were collected from ecotope E5. Is important to emphasize that from July 2006 to November 2007, were collected 35.1% from the total of insects in ecotope E5, against 3.0% from total previously observed (Teodoro et al. 2007b). This increase in the number of insects collected probably occurred because of the formation of breeding sites in that kitchen-garden, due to the deposition of organic matter in very moist soil. The disposal of waste in that kitchen-garden was suspended in April, as soon as this was discovered. In following months, the number of insects collected in E5 decreased sharply. The growth of HM in ecotope E9 may have occurred because of inattention to cleanliness and the constant leakage of water in this biotope. In all three situations, the accumulation of organic matter (waste feed and animal feces) and the moist soil near the ecotopes may have favored the formation of sandfly breeding sites. The opposite situation was observed in ecotope E10 in several collections, i.e., a significant decrease in HM, which may have occurred as a consequence of the absence of chickens and lack of light.

The proportion of sand flies (93.4%) collected in the hen-house ecotopes was significantly higher than in the other ecotopes. Previous studies in this locality found similar

results, showing that the hen houses may be acting as zooprophyllactic barriers, reducing the population of sand flies in the residences and in the lodge (Teodoro et al. 2003, Teodoro et al. 2007b, Reinhold-Castro et al. 2008). However, cleaning the chicken yard is essential to prevent the formation of sand fly breeding sites in these environments beside other measures of environmental management (Teodoro et al. 2003, Teodoro et al. 2007b, Reinhold-Castro et al. 2008). Alexander et al. (2002) mention that the shelters clearly offer important refuges for sand flies and an existing infection might be eliminated when the sandflies took a second blood meal from the chickens. On the other hand, in experimental studies, were observed that chicken blood support the development of *Leishmania* infections in sand flies (Nieves & Pimenta 2002, Sant'Anna 2010) as well as improves the development of the insect (Noguera 2006).

In the Recanto Marista, in addition to environmental management, chemical insecticides are sprayed on the buildings two to three times a year, when the manager realizes that the sand fly population has grown too much. Moreover, the windows and doors of domiciles are all screened. However, all these measures combined are not enough to prevent CL (Campbell-Lendrum et al. 2001), if the inhabitants of endemic areas fail to implement them fully. The use of residual insecticides requires improved knowledge of the vector's behavior, a public-health infrastructure with trained personnel, adequate equipment (Alexander and Maroli 2003, Maroli and Khoury 2006) and a commitment to maintain active entomological surveillance.

The results of research in Paraná (Silva et al. 2008, Teodoro et al. 2003, Teodoro et al. 2007b, Reinhold-Castro et al. 2008) have shown that the actions taken by humans in the place where they live, even if subtle, determine the growth or reduction of the sand fly population in different microenvironments. Therefore, entomological studies should be performed in several endemic units, because when they are restricted to a few units in a very large area it is impossible to know the complexity and dynamism for each unit that make up the *Leishmania* transmission network (Teodoro et al. 2010, Teodoro et al. 2011). Studies of sand fly interaction with the environment have exposed some vulnerability of these endemic disease-bearing insects, allowing monitoring of the deployment of anti-sand fly measures and epidemiological surveillance, and can guide efforts to control these insects more efficiently and effectively in areas where there is a transmission risk (Teodoro et al. 2010, Teodoro et al. 2011). One strategy to stop any vector-borne disease is to reduce human-vector contact, since the capacity of a vector to transmit pathogens is related to its density (Umakant & Sarman

2008). Thus, in a dynamic human-altered environment, the understanding of sandfly survival dynamics can contribute substantially to the prevention of CL.

The decentralization model of health services adopted in Brazil has been a monumental failure, especially in the case of endemic vector-borne diseases where its actual effects have been opposite of positive. Hence the importance of reflecting on the words of Halstead (1988), that even in situations where resources for vector control are appropriate for the implementation of a program, they have often been unsuccessful, mainly due to five factors: the desire to find easier solutions, the loss of technical skills and managerial personnel, increase in the size of the problem, indifference to past experiences, and the expectation of failure, reflected in past unsuccessful experiences in controlling dengue and other vector-borne diseases. It is also necessary to reflect on the fact that “we are faced with a critical shortage of specialists trained to respond effectively to the resurgence of vector-borne diseases” and “adequately trained personnel are lacking in most developing countries, as are academic institutions with the programs to train them” (Gubler 1998).

Acknowledgements

The Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (Process 410550/2006-0) for financial support. The Colégio Marista, for permission to conduct the assessments, and logistical support. João B. Köhl, technician of the Department of Basic Health Sciences of UEM, for instruction and aid in the identification of sandflies.

References

- Aguiar, G.M. and W.M. Medeiros. 2003. Distribuição regional e habitats das espécies de flebotomíneos do Brasil. In: E.F. Rangel, and R. Lainson (eds.) pp. 207-56. Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro, Ed. Fiocruz.
- Alencar, J.E. 1983. Expansão do calazar no Brasil. Ceará Médico. 5: 86-102.
- Alexander, B., R.L. Carvalho, H. McCallum, and M.H. Pereira. 2002. Domestic chicken (*Gallus gallus*) in the epidemiology of urban visceral leishmaniasis in Brazil. Emerg. Infect. Dis. [serial on line] <http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/8/12/01-0485.htm> Accessed 03 May 2005.
- Alexander, B. and M. Maroli. 2003. Control of Phlebotomine Sandflies. Med. Vet. Entomol. 17: 1-18.
- Azevedo, A.C.R., E.F. Rangel, E.M. Costa, J. David, A.W. Vasconcelos, and U.G. Lopes. 1990. Natural infection of *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* (Antunes & Coutinho,

- 1939) by *Leishmania* of the *Braziliensis* complex in Baturité, Ceará state, northeast Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 85: 251.
- Brazil, Ministry of Health, Health Surveillance Secretariat. 2010. Casos de leishmaniose tegumentar americana. Brasil, grandes regiões e unidades federadas. 1990 to 2010. <http://goo.gl/Jy3Lc>. Accessed 02 February 2012.
- Campbell-Lendrum, D., J.P. Dujardin, E. Martinez, M.D. Feliciangeli, J.E. Perez, L.N.M.P. Silans, and F. Desjeux. 2001. Domestic and peridomestic transmission of American cutaneous leishmaniasis: changing epidemiological patterns present new control opportunities. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 96: 159-162.
- Córdoba-Lanús, E., M.L.D. Grosso, J.E. Piñero, B. Valladares, and O.D. Salomón. 2006. Natural infection of *Lutzomyia neivai* with *Leishmania* spp. in northwestern Argentina. Acta Trop. 98: 1-5.
- Costa, S., M. Cechinel, V. Bandeira, J.C. Zannuncio, R. Lainson, and E.F. Rangel. 2007. *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *whitmani* s.l. (Antunes & Coutinho, 939) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): geographical distribution and the epidemiology of american cutaneous leishmaniasis in Brazil – Mini-review. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 102: 149-153.
- Deane, L.M., M.P. Deane, and J.E. Alencar. 1955. Observações sobre o combate ao *Phlebotomus longipalpis* pela desinsetização domiciliária, em focos endêmicos de calazar no Ceará. Rev. Bras. Malariol. Doenças Trop. 7: 131-141.
- Galati, E.A.B. 2003. Morfologia e Taxonomia. In: E.F. Rangel, and R. Lainson (eds) pp. 23-206. Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro, Ed. Fiocruz.
- Gratz, N.G. 1999. Emerging and resurging vector-borne diseases. Annu. Rev. Entomol. 44: 51-75.
- Gubler, D.J. 1998. Resurgent vector-borne diseases as a global health problem. Emerging Infect. Dis. 4: 442-450.
- Halstead, S.B. 1988. *Aedes aegypti*: Why can't we control it? Bull. Soc. Vector Ecol. 13: 304-311.
- Luz, E., N. Membrive, E.A. Castro, J. Dereure, F. Pratlong, J.A. Dedet, A. Pandey, and V. Thomaz-Soccol. 2000. *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) as vector of *Leishmania* (V.) *braziliensis* in Paraná state, southern Brazil. Ann. Trop. Med. Parasitol. 94: 623-631.
- Marcondes, C.B., B.E.M. Conceição, M.G.T. Portes, and B.P. Simão. 2005. Phlebotomine sandflies in a focus of dermal leishmaniasis in the eastern region of the Brazilian state

- of Santa Catarina: preliminary results (Diptera: Psychodidae). Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 38: 353-355.
- Marcondes, C.B. 2007. A proposal of generic and subgeneric abbreviations for phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the world. Entomol. News 118: 351-356.
- Marcondes, C.B., I.A. Bittencourt, P.H. Stoco, I. Eger, E.C. Grisard, and M. Steindel. 2009. Natural infection of *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) by *Leishmania (Viannia)* spp. in Brazil. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 103: 1093-1097.
- Marcondes, C.B. 2011. Flebotomíneos. In: C.B. Marcondes (eds) pp. 45-70. Entomologia Médica e Veterinária. São Paulo, Ed. Atheneu.
- Maroli, M. and C. Khoury. 2006. Current approaches to the prevention and control of leishmaniasis vectors. Vet. Res. Commun. 30: 49-52.
- Membrive, N.A., G. Rodrigues, U. Membrive, W.M. Monteiro, H.C. Neitzke, M.V.C. Lonardoni, T.G.V. Silveira, and U. Teodoro. 2004. Sandflies of municipalities in north of Paraná state, south of Brazil. Entomol. Vect. 11: 673-680.
- Nieves, E. and P.F.P. Pimenta. 2002. Influence of vertebrate blood meals on the development of *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in the sand fly *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae). J. Trop. Med. Hyg. 67: 640-647.
- Noguera, P., M. Rondón, and E. Nieves. 2006. Effect of blood source on the survival and fecundity of the sand fly *Lutzomyia ovallesi* Ortiz (Diptera: Psychodiadae) vector of *Leishmania*. Biomedica. 26: 57-63.
- Oliveira, D.M., K.R. Reinhold-Castro, M.V.Z. Bernal, C.M.O. Legriffon, M.V.C. Lonardoni, U. Teodoro, and T.G.V. Silveira. 2011. Natural infection of *Nyssomyia neivai* by *Leishmania (Viannia)* spp. in the state of Paraná, southern Brazil, detected by multiplex polymerase chain reaction. Vector-Borne and Zoonotic Dis. 11: 137-143.
- Peterson, A.T. and J. Shaw. 2003 *Lutzomyia* vectors for cutaneous leishmaniasis in southern Brazil: ecological niche models, predicted geographic distributions, and climate change effects. Int. J. Parasitol. 33: 19-31.
- Picado, A., S.P. Singh, S. Rijal, S. Sundar, B. Ostyn, F. Chappuis, S. Uranw, K. Gidwani, B. Khanal, M. Rai, I.S. Paudel, M.L. Das, R. Kumar, P. Srivastava, J.C. Dujardin, V. Vanlerberghe, E.W., C.R. Davies, and M. Boelaert. 2010. Longlasting insecticidal nets for prevention of *Leishmania donovani* infection in India and Nepal: paired cluster randomised trial. B.M.J. 341: c6760.

- Reinhold-Castro, K.R., R.B.L. Scodro, A.C. Dias-Sversutti, H.C. Neitzke, R.M. Rossi, J.B. Köhl, T.G.V. Silveira, and U. Teodoro. 2008. Evaluation of sandfly control measures. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 41: 269-276.
- Sant'Anna, M.R.V., A. Nascimento, B. Alexander, E. Dilger, R.R. Cavalcante, H.M. Diaz-Albiter, P.A. Bates, R.J. Dillon. 2010. Chicken provides a suitable blood meal for the sand fly *Lutzomyia longipalpis* and does not inhibit *Leishmania* development in the gut. *Parasit. Vectors* 3:3.
- Silva, A.M., N.J. Camargo, D.R. Santos, R. Massafra, A.C. Ferreira, C. Postai, E.C. Cristóvão, J.F. Konolsaisen, A. Bisetto Jr., R. Perinazo, U. Teodoro, and E.A.B. Galati. 2008. Diversity, distribution and abundance of sandflies (Diptera: Psychodidae) in Paraná state, southern Brazil. *Neotrop. Entomol.* 37: 209-225.
- Teodoro, U., T.G.V. Silveira, D.R. Santos, E.S. Santos, A.R. Santos, O. Oliveira, and J.B. Köhl. 2001. Frequency of phlebotomines in domicile and peridomicile in the municipalities of Cianorte and Doutor Camargo, state of Paraná, southern Brazil. *Rev. Patol. Trop.* 30: 209-223.
- Teodoro, U., T.G.V. Silveira, D.R. Santos, E.S. Santos, A.R. Santos, O. Oliveira, J.B. Köhl, and D. Alberton. 2003. Influence of rearrangement and cleaning of the peridomiciliary area and building disinsectization on sandfly population density in the municipality of Doutor Camargo, Paraná state, Brazil. *Cad. Saúde Pública* 19: 1801-1813.
- Teodoro, U., D.R. Santos, A.R. Santos, O. Oliveira, L.P. Poiani, A.M. Silva, H.C. Neitzke, W.M. Monteiro, M.V.C. Lonardoni, and T.G.V. Silveira. 2006. Preliminary information on sandflies in the north of Paraná state, Brazil. *Rev. Saúde Pública* 40: 327-330.
- Teodoro, U., M.V.C. Lonardoni, T.G.V. Silveira, A.C. Dias, M. Abbas, D. Alberton, and D.R. Santos. 2007a. Light and hens as attraction factors of *Nyssomyia whitmani* in a rural area, Southern Brazil. *Rev. Saúde Pública* 41: 383-388.
- Teodoro, U., D.R. Santos, A.R. Santos, O. Oliveira, L.P. Poiani, J.B. Köhl, M.V.C. Lonardoni, T.G.V. Silveira, W.M. Monteiro, and H.C. Neitzke. 2007b. Evaluation of sandfly control measures in northern Paraná state, Brazil. *Cad. Saúde Pública* 23: 2597-2604.
- Teodoro, U., D.R. Santos, A.M. Silva, R. Massafra, L.E. Imazu, W.M. Monteiro, and H.C. Neitzke-Abreu. 2010. Sandfly fauna in counties of the pioneer north of Paraná state, Brazil. *Rev. Patol. Trop.* 39: 322-330.

- Teodoro, U., J.B. Kühn, and L.A.T. Sanches. 2011. Fauna and frequency of sandflies in rural areas in the municipality of Prudentópolis, State of Paraná, Brazil. *Rev. Patol. Trop.* 40: 169-177.
- Umakant, S. and S. Sarman. 2008. Insect vectors of *Leishmania*: distribution, physiology and their control. *J. Vector Borne Dis.* 45: 255-272.
- World Health Organization. 2007. Control of leishmaniasis: Report by the Secretariat. Geneva. <http://goo.gl/M9zci> Accessed 25 April 2011.
- World Health Organization. Leishmaniasis. 2010. <http://goo.gl/scgWuQ> Accessed 20 March 2012.

Table 1. Sandflies collected in different ecotopes at the Recanto Marista, municipality of Doutor Camargo, Paraná, Brazil, from July 2006 to November 2007.

Species/Ecotope	E1	E2*	E3	E4	E5*	E6	E7*	E8	E9*	E10*	E11*	Total
<i>Nyssomyia neivai</i>	4,959	56,638	1,514	4,914	85,921	3,108	12,830	3,352	38,633	8,874	30,411	251,154
<i>Nyssomyia whitmani</i>	248	6,073	126	448	12,360	185	832	73	5,510	1,210	4,366	31,431
<i>Migonemyia migonei</i>	16	402	7	30	1,800	23	120	12	227	137	251	3,025
<i>Pintomyia fischeri</i>	5	69	2	23	364	6	31	7	94	58	138	797
<i>Pintomyia pessoai</i>	5	135	0	7	349	4	27	5	111	30	55	728
<i>Pintomyia monticola</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	3	15	20
<i>Psathyromyia shannoni</i>	2	18	0	0	109	0	7	1	67	23	9	236
<i>Expapillata firmatoi</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	1	6	0	9
<i>Evandromyia cortelezzi</i>	1	1	0	0	0	0	0	1	3	2	0	8
<i>Brumptomyia brumpti</i>	0	0	0	1	1	1	5	0	9	31	1	49
<i>Brumptomyia cunhai</i>	0	0	0	0	1	0	0	1	7	6	1	16
Total	5,236	63,336	1,649	5,427	100,905	3,327	13,852	3,452	44,662	10,380	35,247	287,473

Trap locations: E1: porch/residence; E3: foundation/house; E4: addition/house; E6: porch/residence; E8: lodge; *hen houses. Ecotope E3 corresponds to the ecotope R of the previous study by Reinhold-Castro (2008).

Mann-Whitney statistical test showed a significant difference between the totals of *Ny. whitmani* and *Ny. neivai* collected ($p=0.005237$).

Table 2. Seasonality of sandflies collected in different ecotopes at the Recanto Marista, municipality of Doutor Camargo, Paraná, Brazil, from July 2006 to November 2007.

Month/Year	E1	E2*	E3	E4	E5*	E6	E7*	E8	E9*	E10*	E11*	Total	Rainf.
July 2006	20	99	5	526	126	42	34	2	107	1,983	500	3,444	53.1
August	5	1,906	17	61	226	0	22	34	6,820	144	91	9,326	20.6
September	332	2,017	152	771	3,713	355	1,820	408	5,009	3,019	2,131	19,727	271.1
October	1,139	8,616	412	1,044	5,382	841	4,058	1,697	6,041	238	11,008	40,476	95.7
November	1,780	2,748	206	930	5,744	294	622	128	4,205	74	11,627	28,358	86.4
Dezember	423	814	10	64	157	8	136	138	100	34	3,390	5,274	283.3
January 2007	23	3,224	10	33	20,898	9	492	17	475	94	735	26,010	271.5
February	154	1,058	166	50	25,953	387	1,435	147	1,769	625	97	31,841	207.4
March	117	1,076	11	29	19,475	29	249	16	835	626	618	23,081	150.0
April	127	9,265	2	38	12,110	67	384	34	1,991	594	1,193	25,805	63.9
May	0	8	0	0	113	0	0	0	1	1	0	123	51.4
June	129	1,022	32	163	1,160	3	101	47	157	151	192	3,157	7.8
July	214	3,648	55	388	500	82	85	99	1,020	61	874	7,026	227.9
August	155	1,271	22	128	302	28	41	4	66	47	1,010	3,074	14.0
September	47	1,196	73	859	1,970	255	245	256	5,741	959	328	11,929	31.7
October	5	444	10	93	101	13	372	113	1,478	51	12	2,692	105.4
November	566	24,924	466	250	2,975	914	3,756	312	8,847	1,679	1,441	46,130	171.4
TOTAL	5,236	63,336	1,649	5,427	100,905	3,327	13,852	3,452	44,662	10,380	35,247	287,473	

Trap locations: E1: porch/residence; E3: foundation/house; E4: addition/house; E6: porch/residence; E8: lodge; *hen houses. Ecotope E3 corresponds to the ecotope R of the previous study by Reinhold-Castro et al. (2008). Rainf.: rainfall (mm).

Multiple comparisons by Kruskal-Wallis test showed significant differences between the number of sandflies collected in the following ecotopes: E1 x E2 ($p=0.001936$) • E1 x E5 ($p=0.00050$) • E1 x E9 ($p=0.01994$) • E2 x E3 ($p=0.000002$) • E2 x E4 ($p=0.019227$) • E2 x E6 ($p=0.000049$) • E2 x E8 ($p=0.000177$) • E3 x E5 ($p=0.000000$) • E3 x E9 ($p=0.000046$) • E3 x E11 ($p=0.006578$) • E4 x E5 ($p=0.005838$) • E5 x E6 ($p=0.000010$) • E5 x E8 ($p=0.000039$) • E6 x E9 ($p=0.000770$) • E8 x E9 ($p=0.002421$).

The Mann-Whitney test showed a difference between the number of sandflies collected in the hen houses and in the other ecotopes ($p=0.000$).

A significant difference was also found between the number of sandflies collected before ($p=0.007686$) and after ($p=0.000966$) the January-April 2007 period.

Table 3. Frequency and hourly mean (HM) of sandflies collected in different ecotopes at the Recanto Marista, municipality of Doutor Camargo, Paraná, Brazil, from May 2005 to April 2006 and from July 2006 to November 2007.

2005/2006*			2006/2007		
Ecotope	Total	HM	Ecotope	Total	HM
E1	9,230	48.1	E1	5,236	38.5
E2†	17,018	88.6	E2	63,336	465.7
E3	1,190	6.2	E3	1,649	12.1
E4	2,118	11.0	E4	5,427	39.9
E5†	6,487	33.7	E5	100,905	741.9
E6	3,666	19.1	E6	3,327	24.5
E7†	12,025	62.6	E7	13,852	101.9
E8	7,867	410	E8	3,452	25.4
E9†	2,957	154.0	E9	44,662	328.4
E10†	51,779	270.0	E10	10,380	76.3
E11†	72,858	379.5	E11	35,247	259.2
Total	213,195	1,113.8	Total	287,473	2,113.8

*Reinhold-Castro et al. 2008. Trap locations: E1: porch/residence; E3: foundation/house; E4: addition/house; E6: porch/residence; E8: lodge; †then houses. Ecotope E3 corresponds to the ecotope R of the previous study by Reinhold-Castro et al. (2008).

The Mann-Whitney test showed a difference between sandflies collected during 2006/2007 in relation to the 2005-2006 period, in ecotopes E2 ($p=0,010670$), E4 ($p=0,047604$), E5 ($p=0,038041$) e E8 ($p=0,033886$).

Artigo 2: “CRIADOUROS DE FLEBOTOMÍNEOS EM ÁREA RURAL, SUL DO BRASIL”

CRIADOUROS DE FLEBOTOMÍNEOS EM ÁREA RURAL, SUL DO BRASIL

K. R. REINHOLD-CASTRO, J. C. GASPAROTTO, H. C. NEITZKE-ABREU e U. TEODORO

Resumo

Relatam-se os resultados de uma investigação de criadouros de flebotomíneos realizada no Recanto Marista, município de Doutor Camargo, estado do Paraná, Brasil, de maio de 2010 a agosto de 2012. As coletas de flebotomíneos adultos recém emergidos do solo foram realizadas com armadilhas de Alencar (AA) e experimentais (AE) e de amostras de solo incubadas em estufa BOD. Foram coletados oito flebotomíneos em armadilhas de Alencar, um em armadilha experimental e 21 em amostras de solo, das espécies *Brumptomyia brumpti*, *Micropygomyia ferreirana*, *Migonemyia bursiformis*, *Migonemyia migonei*, *Nyssomyia neivai*, *Nyssomyia whitmani* e *Pintomyia pessoai*. Criadouros naturais de flebotomíneos foram localizados no Recanto Marista, principalmente entre raízes de árvores, mas a quantidade de adultos que emergiu nas AA e AE e de amostras do solo foi pequena diante da elevada densidade de flebotomíneos que tem sido constatada no Recanto Marista.

Palavras-chave: Phlebotomus, Psychodidae, Controle de pragas, Leishmaniose, Saúde pública, Vetores de doenças.

Introdução

Dada a importância dos vetores (flebotomíneos) de *Leishmania*, as investigações sobre a biologia e o comportamento destes insetos devem ser integradas à rotina dos serviços de saúde pública, sobretudo nas áreas onde as leishmanioses são endêmicas. Nas últimas décadas os conhecimentos sobre a biologia de flebotomíneos têm sido ampliados, porém pouco se acrescentou a respeito de seus criadouros (Feliciangeli, 2004). Embora a redução dos criadouros de flebotomíneos não seja, no momento, uma abordagem prática para o controle desses insetos, com a identificação de criadouros é possível modificar estes locais, tornando-os inadequados para a reprodução destes insetos (Warburg & Faiman, 2011).

Atualmente há mais de 927 espécies ou subespécies de flebotomíneos descritas, das quais aproximadamente 500 ocorrem no Novo Mundo (Shimabukuro & Galati, 2011). No Brasil, 19 espécies são suspeitas ou incriminadas na transmissão de *Leishmania* para o homem (Brasil, 2007). As espécies *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho), *Nyssomyia neivai* (Pinto),

Migonemyia migonei (França), *Pintomyia fischeri* (Pinto) e *Pintomyia pessoai* (Coutinho & Barreto) têm presença marcante na epidemiologia da leishmaniose tegumentar (LT) e ampla distribuição nos estados do Paraná (Membrive *et al.*, 2004; Teodoro *et al.*, 2006; 2010; Silva *et al.*, 2008), Rio Grande do Sul (Pita-Pereira *et al.*, 2009; 2011), Santa Catarina (Dias *et al.*, 2013; Marcondes *et al.*, 2009), Mato Grosso do Sul (Galati *et al.*, 1996), São Paulo (Shimabukuro & Galati, 2011), Rio de Janeiro (Pita-Pereira *et al.*, 2005), Espírito Santo (Ferreira *et al.*, 2001), Minas Gerais (Carvalho *et al.*, 2008; Dias *et al.*, 2007; Saraiva *et al.*, 2009; Souza *et al.*, 2004), Bahia (Carvalho *et al.*, 2010a), Pernambuco (Carvalho *et al.*, 2010b) e Ceará (Azevedo *et al.*, 1990a, 1990b).

As pesquisas de criadouros de flebotomíneos têm utilizado técnicas de pesquisa direta de formas imaturas e pesquisa indireta de adultos recém-emergidos, em potenciais criadouros desses insetos no Velho e no Novo Mundo (Forattini, 1973; Rutledge & Ellenwood, 1975; Arias & Freitas, 1982; Killick-Kendrick, 1987; Mutinga *et al.*, 1989; Casanova, 2001; Alencar, 2007; Singh *et al.*, 2008; Alencar *et al.*, 2011; Moncaz *et al.*, 2012; Parras *et al.*, 2012; Sangiorgi *et al.*, 2012).

Apesar das pesquisas realizadas no estado do Paraná sobre a distribuição geográfica, a biologia, o comportamento e controle de flebotomíneos (Membrive *et al.*, 2004; Teodoro *et al.*, 2001, 2003a, 2006, 2007, 2010; Reinhold-Castro *et al.*, 2008, 2013; Silva *et al.*, 2008), ainda há carência de informações sobre os criadouros naturais destes insetos neste estado. A quantidade extraordinária de flebotomíneos que tem sido coletada no Recanto Marista (Teodoro *et al.*, 2001, 2003a, 2007; Reinhold-Castro *et al.*, 2008, 2013) sugere que existem áreas de solo bastante favoráveis à criação desses insetos nesta localidade. Este fato suscitou a realização desta pesquisa para a detecção de criadouros naturais, com o intuito de subsidiar medidas de controle da população de flebotomíneos.

Materiais e métodos

Área de estudo

A pesquisa foi realizada no Recanto Marista, situado às margens do rio Ivaí, no município de Doutor Camargo (52°13' O e 23°33' S), inserido na mesorregião norte central paranaense (Fig. 1), de maio de 2010 a agosto de 2012. O Recanto Marista tem 57,6 hectares, dos quais 40,8 são cobertos por mata do tipo Floresta Estacional Semidecidual que, apesar de ter sofrido grandes alterações, ainda é habitada por aves e mamíferos silvestres (Teodoro *et al.*, 2001). A média anual da precipitação pluviométrica no período de 2010 a 2012 foi 1.451

mm, a temperatura média 23,7°C e a umidade relativa média do ar 67%, conforme dados fornecidos pela Estação Climatológica da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

Armadilha de emergência de Alencar (AA)

As armadilhas de Alencar (2007), foram instaladas no solo para a coleta de flebotomíneos que viessem a emergir (Fig. 2A). Para a instalação dessas armadilhas foram escolhidas preferencialmente as áreas onde havia acúmulo de matéria orgânica (acentuada deposição de folhas, galhos e cascas de árvores), com o solo pouco compactado e a umidade evidente na maior parte dos meses no decorrer desta pesquisa.

Foram instaladas dez armadilhas de emergência de Alencar (AA1 a AA10) dentro de mata ciliar remanescente, ao lado de um alojamento usado para retiros espirituais, na margem do rio Ivaí. As AA1 a AA5 foram instaladas em maio de 2011, as AA6 e AA7 em setembro de 2011, as AA8 a AA10 em novembro de 2011. Todas as armadilhas foram retiradas em julho ou agosto de 2012. As AA foram inspecionadas para verificar a emergência de flebotomíneos a cada 15-30 dias, quando o volume de álcool 70% dos potes coletores era complementado. A cada três ou quatro meses as AA eram lavadas, reparadas quando necessário e mudadas de lugar. Todas as armadilhas ficaram instaladas na mata por um período de 7,5 a 11 meses, numa área com um raio de aproximadamente 32 m, com uma distância mínima de 1,7 m entre elas e a pelo menos 2 m de três árvores de maior porte, de onde foram retiradas amostras de solo (Fig. 1).

Armadilha experimental de emergência de flebotomíneos (AE)

Foram feitas duas armadilhas experimentais (AE1 e AE2) com estrutura metálica e formato cúbico, desmontáveis ($2 \times 2 \times 1,80 \text{ m} = 7,20 \text{ m}^3$), paredes e teto de tecido semitransparente de poliéster (*voile*) (Fig. 2B e 2C). Na porção inferior foi feita uma barra com 20 cm de tecido sintético impermeável, que foi dobrada para o lado externo da armadilha, mantendo-a livre da umidade do solo. Sobre a barra foram colocados terra, pedaços de galhos e folhas secas para vedar a armadilha e evitar a entrada ou saída de insetos. A abertura da armadilha foi feita em uma das arestas, com fechamento em velcro. A AE1 foi instalada sob uma cobertura fixa, com telhas de fibrocimento, sustentada por quatro palanques de madeira (Fig. 2B) e a AE2 no interior de uma tenda com estrutura de varas de aço (Tenda Northpole Poliéster Luxo Varas em Aço Tela 4,6 m x 3,9 m) (Fig. 2C).

A AE1 foi instalada em novembro de 2011, com localização próxima às AA, entre o alojamento e um galinheiro (Fig. 1). Neste local o solo era mais compactado e tinha pequeno

acúmulo de folhas em decomposição. Após a instalação desta armadilha, durante um mês suas paredes permaneceram abertas para possibilitar o acesso das fêmeas de flebotomíneos para que realizassem a oviposição no solo. Neste período lançou-se sobre o solo matéria orgânica (ração triturada para coelhos, fezes de galinha curtidas e resíduos vegetais) e água para umedecer o solo, com a finalidade de atrair as fêmeas.

A AE2 foi instalada em dezembro de 2011 num local da mata com solo pouco compactado e abundância de folhas em decomposição, a aproximadamente 20 m da AE1 e 80 m da margem do rio Ivaí (Fig. 1).

Durante o mês de fevereiro de 2012, as duas armadilhas foram abertas para que as fêmeas realizassem a oviposição. Sobre o solo da AE1 lançou-se novamente matéria orgânica e água para umidificar o solo. Em maio de 2012 este procedimento foi repetido, mas as armadilhas (AE1 e AE2) permaneceram abertas somente 15 dias e apenas fezes de bovinos foram espalhadas no solo da AE1.

As AE1 e AE2 foram inspecionadas a cada cinco dias para a coleta de flebotomíneos até novembro de 2012, quando as armadilhas foram removidas. O flebotomíneo que emergiu foi retirado com um aspirador tipo Castro, morto com clorofórmio e armazenado em tubos tipo eppendorf contendo etanol 50%, para posterior identificação.

Coleta das amostras de solo

As amostras de solo foram coletadas preferencialmente em locais onde havia dificuldades para a instalação das armadilhas (Fig. 1), nos meses de maio, agosto e outubro de 2010, fevereiro, abril, maio, agosto, setembro, novembro e dezembro de 2011, e fevereiro, março e abril de 2012. Foram retiradas 64 amostras de espaços existentes entre a origem de raízes na base de troncos de árvores nos pontos de coleta S2, S3, S4, S5, S7, S10 e S11; 24 amostras debaixo de galhos e troncos de árvores caídos e em decomposição nos pontos S4, S10 e S11; 20 amostras de espaços ociosos na base de árvores dos pontos S4, S6 e S10; 10 amostras do lado externo de galinheiros nos pontos S5, S8, S9 e S10; três amostras de bifurcações do tronco de uma árvore no ponto S4 (uma amostra a 2 m e duas amostras a 1 m de altura do solo) e outra amostra retirada próximo de um abrigo de bovinos no ponto S1 (Fig. 1).

As amostras de solo, de 200 a 500 g, foram coletadas de uma profundidade de 3 a 5 cm com uma pá e acondicionadas em potes de plástico atóxico de polipropileno com capacidade de 2 L, cobertos com uma tela semitransparente presa por um elástico, de modo a impedir a saída dos insetos que emergissem. Tais amostras foram armazenadas por 46 a 60 dias em estufa BOD, entre 25,5 e 26,5°C e 70 a 90% de umidade relativa do ar. Às amostras foram

adicionadas água destilada para a manutenção da umidade e pequenas quantidades de ração para coelhos, finamente triturada, para alimentar as larvas. A temperatura e a umidade foram averiguadas diariamente, retirando-se fungos e insetos que poderiam comprometer o desenvolvimento das larvas e pupas. Os flebotomíneos que emergiram foram retirados com um aspirador tipo Castro, mortos com clorofórmio e armazenados em tubos tipo eppendorf contendo etanol 50%, para posterior identificação.

Identificação dos flebotomíneos

Os flebotomíneos coletados foram identificados no Laboratório de Entomologia do Departamento de Ciências Básicas da Saúde da UEM. A nomenclatura segue Galati (2003) e a abreviação é de Marcondes (2007).

Análise dos dados

O cálculo da produção de flebotomíneos pelas AA segue o modelo de Rutledge & Ellenwood (1975), que considerou o número total de flebotomíneos coletados, o número de coletas diárias e o total da área coberta por armadilha (0,25 m²). Cada dia de permanência da armadilha foi considerado como sendo uma coleta diária de flebotomíneos recém-emergidos.

Resultados

As AA permaneceram instaladas durante dois anos e três meses em bom estado de conservação, exceto o tecido que apresentou manchas escuras e alguns potes coletores que foram substituídos. Em quatro das dez AA foram coletados oito flebotomíneos (Tabela 1), numa razão de dois flebotomíneos por armadilha. Em relação às AA, houve uma produção de 0,8 flebotomíneos por 100m² por dia. Os insetos foram coletados nos seguintes dias, sendo considerado como ponto de referência para a localização das AA um conjunto de três árvores de onde foram coletadas amostras de solo (Fig. 1):

- 18/09/2011 - uma fêmea de *Ny. whitmani* na AA1 e um macho de *Ny. whitmani* na AA2, instaladas em 18/05/2011. As armadilhas distavam pouco mais de 6 m uma da outra e 8-10 m do ponto de referência;
- 30/09/2011 - um macho de *Pi. pessoai* na AA6, instalada em 18/09/2011 a uma distância de 3,6 m do ponto de referência;
- 18/12/2011 - uma fêmea de *Ny. whitmani* na AA1, instalada em 30/09/2011 a 4 m do ponto de referência;

- 13/02/2012 - uma fêmea de *Micropygomyia ferreirana* (Barreto, Martins & Pellegrino) na AA1, instalada em 09/01/2012 a 6 m do ponto de referência;
- 24/04/2012 - duas fêmeas de *Ny. whitmani* e uma fêmea não identificada na AA3, instalada em 09/01/2012 a pelo menos 10 m da AA1.

Em janeiro de 2012, no 36º dia após a instalação da tela na AE1, emergiu um flebotomíneo macho da espécie *Mi. ferreirana*.

Dentre 122 amostras de solo incubadas foram coletados 21 flebotomíneos: um exemplar de *Brumptomyia brumpti* (Larrousse, 1920), um de *Migonemyia bursiformis* (Floch & Abonnenc, 1944), um de *Mi. migonei*, cinco exemplares de *Ny. whitmani*, seis de *Ny. neivai*, dois de *Nyssomyia sp.* e cinco espécimes não identificados (Tabela 2). Apesar dos cuidados ao coletar as amostras de solo e na montagem das armadilhas de emergência, a manipulação das amostras de solo podem ter sido um fator de agressão para as formas imaturas, prejudicando o endurecimento completo da camada externa de quitina do flebotomíneo adulto recém emergido. O que dificultou a identificação de alguns exemplares ao nível de gênero e espécie.

Discussão

As espécies de flebotomíneos coletados foram *Br. brumpti*, *Mi. ferreirana*, *Mi. bursiformis*, *Mi. migonei*, *Ny. neivai*, *Ny. whitmani* e *Pi. pessoai*, registradas anteriormente no Recanto Marista (Teodoro *et al.*, 2003a, 2007; Reinhold-Castro *et al.*, 2008, 2013), exceto *Mi. bursiformis*. Esta espécie foi relatada pela primeira vez por Santos (informação pessoal) no estado do Paraná e agora, pela segunda vez, relata-se no Recanto Marista. Destaca-se que as espécies *Ny. whitmani* e *Ny. neivai* foram encontradas naturalmente infectadas por *Leishmania spp.* na localidade em pauta (Oliveira *et al.*, 2011).

A média de dois flebotomíneos coletados por armadilha (AA) foi semelhante aos resultados de Alencar (2007), que registrou a média de 2,08 flebotomíneos por armadilha. A produção de flebotomíneos nas AA foi de 0,8 por 100 m² por dia, menor do que a obtida por Rutledge & Ellenwood (1975), Casanova (2001) e Alencar (2007), respectivamente 24,4, 24 e 2,2. Entre estes autores, o tempo de permanência da armadilha no mesmo lugar variou de 14 a 84 dias. Segundo Alencar (2007), quanto maior a mudança de armadilhas de um local para outro, maiores são as chances de captura de adultos, uma vez que há cobertura de uma área mais extensa de solo, ainda que o tempo de permanência das armadilhas no mesmo local seja mais curto. No entanto, quanto maior tempo de exposição de uma armadilha no mesmo local maior é a possibilidade de que a coleta seja mais próxima do real numa mesma área, além de permitir a coleta de espécies com ciclo de vida mais longo. Nas AA, a coleta de seis

flebotomíneos ocorreu entre 79 e 123 dias. O mesmo fato foi observado em estudos sobre o ciclo biológico de espécies neotropicais que, em média, superam 30 dias (Alencar, 2007; Ximenes *et al.*, 2001; Justiniano *et al.*, 2004).

Verificou-se que a emergência de adultos nas AA foi maior em setembro de 2011, quando a precipitação de chuva foi menor do que a média mensal (131,6 mm), e abril de 2012, com precipitação maior do que a média mensal (110,7 mm) (Fig. 3). Estas situações foram observadas no Parque do Ingá, perímetro urbano de Maringá, onde a maioria dos exemplares adultos foi coletada num dos meses mais secos e frios (Teodoro *et al.*, 2003a), enquanto no Recanto Marista, na zona rural de Doutor Camargo, a maioria dos insetos foram coletados nos meses mais quentes e úmidos (Teodoro *et al.*, 2003b). Ximenes *et al.* (2001) constataram maior oviposição das fêmeas de flebotomíneos no início e no final da estação de chuvas.

As espécies mais coletadas nas AA e amostras de solo incubadas em BOD foram *Ny. whitmani* e *Ny. neivai*. Nenhum espécime de *Ny. neivai* emergiu nas AA. Contudo, não é possível afirmar qual dos dois métodos é mais eficiente para a pesquisa de criadouros de flebotomíneos devido ao pequeno número de insetos coletados. As AA não delimitam as camadas abaixo da superfície do solo nos pontos onde são instaladas, nem impedem a ventilação e a entrada de luz, o que provavelmente mantém o ambiente interno pouco alterado (Alencar, 2007). Porém, não é possível a sua instalação em locais como a base de troncos de árvores, devido a irregularidades nestes pontos; situação está contornada com a coleta das amostras de solo para incubação em BOD.

Nas AE emergiu apenas um espécime de *Mi. ferreirana*, apesar do enriquecimento do solo com matéria orgânica para favorecer a formação de criadouros de flebotomíneos. As AE foram idealizadas tendo em vista que anteriormente, no Recanto Marista, verificou-se um aumento significativo na quantidade de flebotomíneos coletados num galinheiro próximo de uma horta onde foram depositadas fezes de galinhas como fertilizante (Reinhold-Castro *et al.*, 2013). No entanto, constatou-se que as AE são inadequadas para pesquisa de criadouros de flebotomíneos.

Das amostras de solo incubadas em BOD emergiram 21 flebotomíneos. Todos de amostras retiradas dentre as raízes e ocos na base de troncos de árvores e sob galhos em decomposição, com grande quantidade de matéria orgânica e elevada umidade (S4 e S10). Nas amostras de solo coletadas do entorno dos galinheiros (S5, S8, S9 e S10) não houve emergência de flebotomíneos, embora grande número de flebotomíneos tenha sido coletado anteriormente nestes galinheiros (Teodoro *et al.*, 2003a, 2007; Reinhold-Castro *et al.*, 2008,

2013). Entre as medidas empregadas no Recanto Marista para evitar o contato de flebotomíneos com o homem, houve o cuidado de se manter os galinheiros e o entorno livres de fezes de galinhas, restos de ração e do excesso de umidade no solo para impedir a formação de criadouros desses insetos (Teodoro *et al.*, 2003a, 2007; Reinhold-Castro *et al.*, 2008, 2013). Além disso, a matéria orgânica acumulada no solo sob as árvores (folhas e galhos secos) era retirada, amontoada e queimada, causando impacto no solo. Não houve emergência de flebotomíneos na amostra (S1) coletada próximo ao abrigo de bovinos, onde o solo, do tipo latossolo vermelho e vermelho-amarelo ou nitossolo não oferecia condições apropriadas para a formação de criadouros desses insetos, talvez pelo excesso de umidade produzido pelo vazamento de água de uma torneira (Forattini, 1973).

Criadouros naturais de flebotomíneos foram localizados no Recanto Marista, principalmente entre raízes de árvores, mas a quantidade de adultos que emergiu nas armadilhas e de amostras do solo em BOD foi pequena diante da elevada densidade de flebotomíneos que tem sido constatada nesta localidade, o que talvez seja reflexo das medidas de controle de flebotomíneos aqui empregadas (Teodoro *et al.*, 2003a, 2007; Reinhold-Castro *et al.*, 2008, 2013). Como as leishmanioses continuam fazendo vítimas em 98 países do mundo (WHO, 2013) e pouco se faz para controlar os vetores dessas doenças, há necessidade de aprofundar os estudos de biologia e ecologia e especialmente sobre criadouros de flebotomíneos, tendo em vista reduzir a densidade desses insetos em áreas endêmicas.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (Processo 410550/2006-0) e à CAPES, pelo auxílio financeiro. Ao Colégio Marista, pela permissão para a realização do trabalho de campo e pelo suporte logístico.

Referências

- Alencar, R.B. (2007) Emergência de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em chão de floresta de terra firme na Amazônia Central do Brasil: uso de um modelo modificado de armadilha de emergência. *Acta Amazonica*, **37**, 287–292.
- Alencar, R.B., Queiroz, R.G. & Barrett, T.V. (2011) Breeding sites of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) and efficiency of extraction techniques for immature stages in terra-firme forest in Amazonas State, Brazil. *Acta Tropica*, **118**, 204–208.

- Arias, J.R. & Freitas, R.A. (1982) On the vectors of cutaneous leishmaniasis in the central Amazon of Brasil. 4. Sand fly emergence from a 'terra firme' forest floor. *Acta Amazonica*, **12**, 609–611.
- Azevedo, A.C.R., Rangel, E.F., Costa, E.M., David, J., Vasconcelos, A.W. & Lopes, U.G. (1990a) Natural infection of *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) by *Leishmania* of the *Braziliensis* complex in Baturité, Ceará state, northeast Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **85**, 251.
- Azevedo, A.C.R., Rangel, E.F., Queiroz, R.G. (1990b) *Lutzomyia migonei* (França, 1920) naturally infected with peripylarian flagellates in Baturité, a focus of cutaneous leishmaniasis in Ceará state, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **85**, 479.
- Brasil (2007) Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar americana. Brasília: Editora do Ministério da Saúde. 180 p. Disponível em: <http://goo.gl/mPcbz> (Accessed: 04/04/2012).
- Casanova, C. (2001) A soil emergence trap for collections of Phlebotomine sand flies. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **96**, 273–275.
- Carvalho, G.M.L., Andrade, J.D.F., Falcão, A.L., Lima, A.C.V.M.R. & Gontijo, C.M.F. (2008) Naturally infected *Lutzomyia* sand flies in a *Leishmania*-endemic area of Brazil. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, **8**, 407–414.
- Carvalho, S.M.S., Santos, P.R.B., Lanza, H., Brandão-Filho, S.P. (2010a) Diversity of phlebotomine sand flies in Ilheus, state of Bahia, Brazil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, **19**, 239–244.
- Carvalho, M.R., Valença, H.F., Silva, F.J., Pita-Pereira, D., Araújo-Pereira, T., Britto, C., Brazil, R.P. & Brandão-Filho, S.P. (2010b) Natural *Leishmania infantum* infection in *Migonemyia migonei* (França, 1920) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil. *Acta Tropica*, **116**, 108–110.
- Dias, E.S., França-Silva, J.C., Silva, J.C., Monteiro, E.M., Paula, K.M., Gonçalves, C.M. & Barata, R.A. (2007) Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de um foco de leishmaniose tegumentar no estado Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, **40**, 49–52.
- Dias, E.S., Michalsky, E.M., Nascimento, J.C., Ferreira, E.C., Lopes, J.V. & Fortes-Dias, C.L. (2013) Detection of *Leishmania infantum*, the etiological agent of visceral leishmaniasis, in *Lutzomyia neivai*, a putative vector of cutaneous leishmaniasis. *Journal of Vector Ecology*, **38**, 193–196.

- Feliciangeli, M.D. (2004) Natural breeding places of phlebotomine sandflies. *Medical and Veterinary Entomology*, **18**, 71–80.
- Ferreira, A.L., Sessa, P.A., Varejão, J.B.M. & Falqueto, A. (2001) Distribution of sand flies (Diptera: Psychodidae) at different altitudes in an endemic region of american cutaneous leishmaniasis in the state of Espírito Santo, Brazil. *Memórias de Instituto Oswaldo Cruz*, **96**, 1061–1067.
- Forattini, O.P. (1973) Entomologia médica. São Paulo, E. Blücher/EDUSP, 658p.
- Galati, E.A.B. (2003) Morfologia e taxonomia. In: E.F. Rangel, and R. Lainson (eds) pp. 23–206. Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro, Ed. Fiocruz.
- Galati, E.A.B., Nunes, V.L.B., Dorval, M.E.C., Oshiro, E.T., Cristaldo, G., Espíndola, M.A., Rocha, H.C. & Garcia, W.B. (1996) Estudo dos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae), em área de leishmaniose tegumentar, no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, **30**, 115–128.
- Justiniano, S.C.B., Chagas, A.C., Pessoa, F.A.C. & Queiroz, R.G. 2004. Comparative biology of two populations of *Lutzomyia umbratilis* (Diptera: Psychodidae) of Central Amazonia, Brazil, under laboratory conditions. *Brazilian Journal of Biology*, **64**, 227–235.
- Killick-Kendrick, R. (1987) Breeding places of *Phlebotomus ariasi* in the Cevennes focus of leishmaniasis in the south of France. *Parassitologia*, **29**, 181–191.
- Marcondes, C.B. (2007) A proposal of generic and subgeneric abbreviations for phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the world. *Entomological News*, **118**, 351–356.
- Marcondes, C.B., Bittecourt, I.A., Stoco, P.H., Eger, I., Grisard, E.C. & Steindel, M. (2009) Natural infection of *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) by *Leishmania (Viannia)* spp. in Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **103**, 1093–1097.
- Membrive, N.A., Rodrigues, G., Membrive, U., Monteiro, W.M., Neitzke, H.C., Lonardoni, M.V.C., Silveira, T.G.V. & Teodoro U. (2004) Flebotomíneos de municípios do norte do estado do Paraná, sul do Brasil. *Entomologia y Vectores*, **11**, 673–680.
- Moncaz A, Faiman R, Kirstein O, Warburg A (2012) Breeding sites of *Phlebotomus sergenti*, the Sand Fly Vector of Cutaneous Leishmaniasis in the Judean Desert. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **6**, e1725. doi:10.1371/journal.pntd.0001725.
- Mutinga, M.J., Kamau, C.C., Kyai, F.M. & Omogo, D.M. (1989) Epidemiology of leishmaniasis in Kenya. V. Wider search for breeding habitats of phlebotomine sandflies in three kala-azar endemic foci. *East African Medical Journal*, **66**, 173–182.

- Oliveira, D.M., Reinhold-Castro, K.R., Bernal, M.V.Z., Legriffon, C.M.O., Lonardon, M.V.C., Teodoro, U. & Silveira, T.G.V. (2011) Natural infection of *Nyssomyia neivai* by *Leishmania (Viannia)* spp. in the state of Paraná, southern Brazil, detected by multiplex polymerase chain reaction. *Vector-Borne Zoonotic Diseases*, **11**, 137–143.
- Parras, M.A., Rosa, J.R., Szelag, E.A. & Salomón, O.D. (2012) Identification of the natural breeding sites of sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), potential vectors of leishmaniasis, in the province of Chaco, Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **107**, 550–552.
- Pita-Pereira, D., Alves, C.R., Souza, M.B., Brazil, R.P., Bertho, A.L., Barbosa, A.F. & Britto, C.C. (2005) Identification of naturally infected *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia migonei* with *Leishmania (Viannia) braziliensis* in Rio de Janeiro (Brazil) revealed by a PCR multiplex non-isotopic hybridisation assay. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **99**, 905–913.
- Pita-Pereira, D., Souza, G.D., Pereira, T.A., Zwetsch, A., Britto, C. & Rangel, E.F. (2011) *Lutzomyia (Pintomyia) fischeri* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), a probable vector of american cutaneous leishmaniasis: Detection of natural infection by *Leishmania (Viannia)* DNA in a specimens from the municipality of Porto Alegre (RS), Brazil, using multiplex PCR assay. *Acta Tropica*, **120**, 273–275.
- Pita-Pereira, D., Souza, G.D., Zwetsch, A., Alves, C.R., Britto, C. & Rangel, E.F. (2009) First report of *Lutzomyia (Nyssomyia) neivai* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) naturally infected by *Leishmania (Viannia) braziliensis* in a periurban area of south Brazil using a multiplex polymerase chain reaction assay. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **80**, 593–595.
- Reinhold-Castro, K.R., Scodro, R.B.L., Dias-Sversutti, A.C., Neitzke, H.C., Rossi, R.M., Kühn, J.B., Silveira, T.G.V. & Teodoro, U. (2008) Avaliação de medidas de controle de flebotomíneos. *Revista da Sociedade de Medicina Tropical*, **41**, 269–276.
- Reinhold-Castro, K.R., Fenelon, V.C., Rossi, R.M., Brito, J.E.C., Freitas, J.S. & Teodoro, U. (2013) Impact of control measures and dynamics of sand flies in southern Brazil. *Journal of Vector Ecology*, **38**, 63–68.
- Rutledge, L.C. & Ellenwood, D.A. (1975) Production of phlebotomine sandflies on the open forest floor in Panama: the species complement. *Environmental Entomology*, **4**, 71–77.
- Sangiorgi, B., Miranda, D.N., Oliveira, D.F., Santos, E.P., Gomes, F.R., Santos, E.O., Barral, A. & Miranda, J.C. (2012) Natural breeding places for Phlebotomine sand flies (Diptera:

- Psychodidae) in a semiarid region of Bahia state, Brazil. *Journal of Tropical Medicine*, Article ID 124068, 5 pages.
- Saraiva, L., Carvalho, G.M.L., Gontijo, C.M.F., Quaresma, P.F., Lima, A.C.V.M.R., Falcão, A.L. & Andrade Filho, J.D. (2009) Natural infection of *Lutzomyia neivai* and *Lutzomyia sallesi* (Diptera: Psychodidae) by *Leishmania infantum chagasi* in Brazil. *Journal of Medical Entomology*, **46**, 1159–1163.
- Shimabukuro, P.H.F & Galati, E.A.B. (2011) Lista de espécies de Phebotominae (Diptera, Psychodidae) do Estado de São Paulo, Brasil, com comentários sobre sua distribuição geográfica. *Biota Neotropica*, **11**, 685–704.
- Silva, A.M., Camargo, N.J., Santos, D.R., Massafra, R., Ferreira, A.C., Postai, C., Cristóvão, E.C., Konolsaisen, J.F, Bisetto Jr., A., Perinazo, R., Teodoro, U. & Galati, E.A.B. (2008) Diversidade, distribuição e abundância de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Paraná state, southern Brazil. *Neotropical Entomology*, **37**, 209–225.
- Singh, R., Lal, S. & Saxena, V.K. (2008) Breeding ecology of visceral leishmaniasis vector sandfly in Bihar state of India. *Acta Tropica*, **107**, 117–120.
- Souza, C.M., Pessanha, J.E., Barata, R.A., Monteiro, E.M., Costa, D.C. & Dias, E.S. (2004) Study on Phlebotomine sand fly (Diptera: Psychodidae) fauna in Belo Horizonte, state of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **99**, 795–803.
- Teodoro, U., Alberton, D., Kühn, J.B., Santos, E.S., Santos, D.R., Santos, A.R., Oliveira, O., Silveira, T.G.V. & Lonardoni, M.V.C. (2003b) Ecologia de *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *whitmani* em área urbana do município de Maringá, Paraná. *Revista de Saúde Pública*, **37**, 651–656.
- Teodoro, U., Santos, D.R., Santos, A.R., Oliveira, O., Poiani, L.P., Kühn, J.B., Lonardoni, M.V.C., Silveira, T.G.V., Monteiro, W.M. & Neitzke, H.C. (2007) Avaliação de medidas de controle de flebotomíneos no norte do Estado do Paraná, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, **23**: 2597–2604.
- Teodoro, U., Santos, D.R., Santos, A.R., Oliveira, O., Poiani, L.P., Silva, A.M., Neitzke, H.C., Monteiro, W.M., Lonardoni, M.V.C. & Silveira, T.G.V. (2006) Informações preliminares sobre flebotomíneos do norte do Paraná. *Revista de Saúde Pública*, **40**, 327–330.
- Teodoro, U., Santos, D.R., Silva, A.M., Massafra, R., Imazu, L.E., Monteiro, W.M. & Neitzke-Abreu, H.C. (2010) Fauna de flebotomíneos em municípios do norte pioneiro do estado do Paraná, Brasil. *Revista de Patologia Tropical*, **39**, 322–330.

- Teodoro, U., Silveira, T.G.V., Santos, D.R., Santos, E.S., Santos, A.R., Oliveira, O. & Kühl, J.B. (2001) Frequência da fauna de flebotomíneos no domicílio e em abrigos de animais domésticos no peridomicílio, nos municípios de Cianorte e Doutor Camargo – estado do Paraná – Brasil. *Revista de Patologia Tropical*, **30**, 209–223.
- Teodoro, U., Silveira, T.G.V., Santos, D.R., Santos, E.S., Santos, A.R., Oliveira, O., Kühl, J.B., & Alberton, D. (2003a) Influência da reorganização, da limpeza do peridomicílio e a da desinsetização de edificações na densidade populacional de flebotomíneos no Município de Doutor Camargo, Estado do Paraná, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, **19**, 1801–1813.
- Warburg, A. & Faiman, R. (2011) Research priorities for the control of Phlebotomine sand flies. *Journal of Vector Ecology*, **36**, S10–S16.
- World Health Organization. Leishmaniasis (2013) <http://goo.gl/PiM9n> (Accessed: 21/01/2013).
- Ximenes, M.F.F.M., Maciel, J.C. & Jerônimo, S.M.B. (2001) Characteristics of the biological cycle of *Lutzomyia evandroi* Costa Lima & Antunes, 1936 (Diptera: Psychodidae) under experimental conditions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **96**, 883–886.

Tabela 1. Flebotomíneos que emergiram nas armadilhas de Alencar, no município de Doutor Camargo, Paraná, Brasil.

Espécie	Mês				Sexo		Total	%
	S	D	F	A	♂	♀		
<i>Micropomyia ferreirana</i>	0	0	1	0	0	1	1	12,5
<i>Nyssomyia whitmani</i>	2	1	0	2	1	4	5	62,5
<i>Pintomyia pessoai</i>	1	0	0	0	1	0	1	12,5
Não identificado	0	0	0	1	0	1	1	12,5
Total	3	1	1	3	2	6	8	100

S=setembro; D=dezembro; F=fevereiro; e A=abril

Tabela 2. Número de amostras de solo, pontos de coleta e flebotomíneos que emergiram no Recanto Marista, no município de Doutor Camargo, estado do Paraná, Brasil.

Mês/Ano	Pontos de coleta/Amostras examinadas						Total	Espécie							Total
	pg	bf	bt	ot	gp	ab		Brb	Mib	Mim	Ny	Nyn	Nyw	Ni	
2010															
Maio	4		7			1	12								
Agosto	1		1	2	2		6								
Outubro	2		2	1	1		6								
2011															
Fevereiro			10 (3)*				10 (3)*				2	1		3	
Abril			10 (1)*				10 (1)*		1					1	
Maio	3		7				10								
Agosto			8 (6)*		2		10 (6)*					2	2	2	
Setembro			7 (3)*		3		10 (3)*	1					2	3	
Novembro			3 (1)*	7 (4)*			10 (5)*			1			3	1	
Dezembro		3	3	2	2 (3)*		10 (3)*					3		3	
2012															
Fevereiro				8			8								
Março					10		10								
Abril			6		4		10								
Total	10	3	64 (14)*	20 (4)*	24 (3)*	1	122 (21)*	1	1	1	2	6	5	5	21

pg=próximo de galinheiro, bf=bifurcação de tronco, bt=base de tronco, ot=oco na base de tronco, gp=debaixo de galho podre, ab=abrigo de bovinos, *=número de flebotomíneos que emergiram, Brb=*Brumptomyia brumpti*, Mib=*Migonemyia bursiformis*, Mim=*Migonemyia migonei*, Ny=*Nyssomyia* sp., Nyn=*Nyssomyia neivai*, Nyw=*Nyssomyia whitmani*, Ni=não identificado.

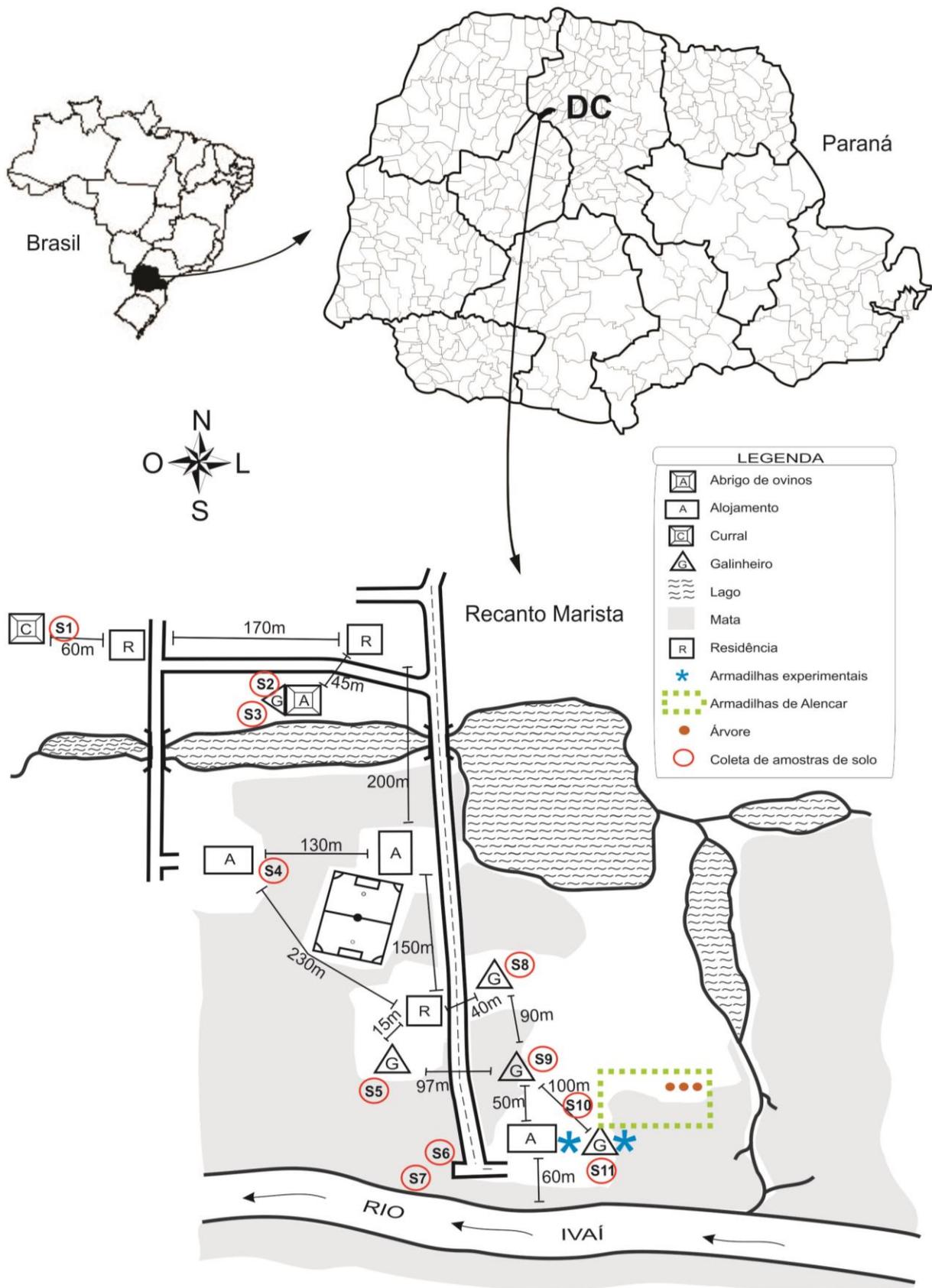


Figura 1. Pontos de coleta de amostras de solo (S1 a S11), distribuição das armadilhas de Alencar (AA) e experimentais (AE) no Recanto Marista, município de Doutor Camargo (DC), estado do Paraná, Brasil.



Figura 2. Armadilhas de emergência instaladas no Recanto Marista, município de Doutor Camargo, estado do Paraná, Brasil. **A.** Armadilha de Alencar (AA). **B.** Armadilha experimental fixa (AE1). **C.** Armadilha experimental móvel (AE2).

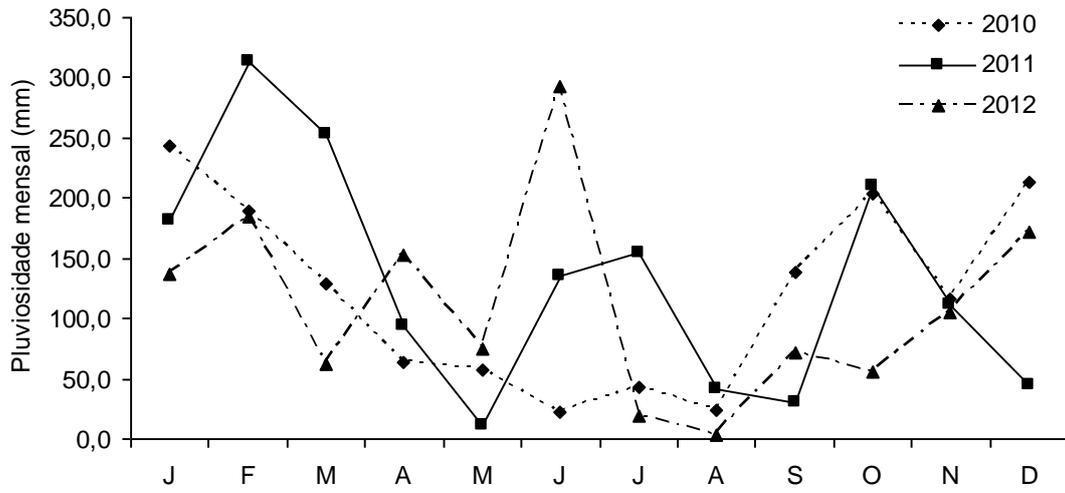


Figura 3. Precipitações pluviométricas mensais no município de Doutor Camargo, estado do Paraná, Brasil.

CAPÍTULO III

CONCLUSÕES

Os estudos sobre flebotomíneos mostraram que:

- 1) As espécies de flebotomíneos predominantes no Recanto Marista foram *N. neivai* e *N. whitmani*, perfazendo 98,3% do total de flebotomíneos capturados.
- 2) A maior proporção de flebotomíneos (93,4%) foi coletada nos galinheiros construídos para atraí-los, enquanto nos ecótopos representados por residências e outras edificações coletaram-se 6,6%.
- 3) As ações promovidas pelo homem determinam o crescimento ou a redução da população de flebotomíneos no espaço por ele ocupado, mostrando a importância das medidas de controle de flebotomíneos.
- 4) Foram localizados criadouros naturais de flebotomíneos no Recanto Marista, principalmente entre raízes de árvores.
- 5) Este estudo mostrou que existem formas alternativas para o controle da população de flebotomíneos, evitando-se o uso indiscriminado de inseticidas.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Embora os estudos mostrem que as medidas adotadas para o controle de flebotomíneos surtem efeito, faz-se necessário um constante acompanhamento da manutenção das medidas implantadas, visto que a descontinuidade da manutenção dessas medidas pode levar ao surgimento de novos casos de leishmaniose tegumentar (LT). Estas medidas de controle poderão ser implantadas e avaliadas em outras áreas endêmicas de LT, no estado do Paraná.

Devido ao baixo número de formas imaturas encontradas, faz-se necessário a continuidade de novos estudos sobre a localização dos mesmos.