

MARGARETE MARTINS DOS SANTOS AFONSO

**ESTUDOS SOBRE ALGUMAS POPULAÇÕES BRASILEIRAS DE
Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis (LUTZ & NEIVA, 1912) (DIPTERA:
PSYCHODIDAE:PHLEBOTOMINAE): MORFOLOGIA,
MORFOMETRIA E HÁBITOS ALIMENTARES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2008

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

A257e
2008

Afonso, Margarete Martins dos Santos, 1980-
Estudos sobre algumas populações brasileiras de
Lutzomyia (*Lutzomyia*) *longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912)
(Diptera : Psychodidae : Phlebotominae) : morfologia,
morfometria e hábitos alimentares / Margarete Martins dos
Santos Afonso. – Viçosa, MG, 2008.
xiii, 80f.: il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Mara Garcia Tavares.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. *Lutzomyia longipalpis* - Morfologia. 2. Leishmamirose
visceral. 3. Hábitos alimentares. I. Universidade Federal de
Viçosa. II.Título.

CDD 22.ed. 595.772

MARGARETE MARTINS DOS SANTOS AFONSO

**ESTUDOS SOBRE ALGUMAS POPULAÇÕES BRASILEIRAS DE
Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis (LUTZ & NEIVA, 1912) (DIPTERA:
PSYCHODIDAE:PHLEBOTOMINAE): MORFOLOGIA,
MORFOMETRIA E HÁBITOS ALIMENTARES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 28 de fevereiro de 2008.

Pesq. Elizabeth Ferreira Rangel
(Co-orientadora)

Profa. Juliana Lopes Rangel Fietto

Pesq. Gustavo Marins Aguiar

Pesq. Rubens Pinto de Mello

Profa. Mara Garcia Tavares
(Orientadora)

Dedico,

*Ao meu pai,
Á minha mãe,
Ao meu irmão.*

“O homem é do tamanho do seu sonho”

Fernando Pessoa

Agradecimentos

A Deus por minha vida;

Aos meus pais, por todo amor e dedicação, por estarem sempre ao meu lado, nos momentos bons e ruins;

Ao meu irmão, por ser meu grande amigo;

À minha orientadora Dra. Mara Tavares Garcia, do Departamento de Biologia Geral, da Universidade Federal de Viçosa (UFV) pela orientação, apoio, incentivo e amizade demonstrados;

À minha co-orientadora Dra. Elizabeth Ferreira Rangel, do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses/ Laboratório de Referência em Vigilância Entomológica: Taxonomia e Ecologia de Vetores das Leishmanioses do Instituto Oswaldo Cruz/ FIOCRUZ, pela orientação, encorajamento, apoio e pela amizade ao longo desses anos;

Ao meu co-orientador Dr. José Cola Zanuncio, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), pelo apoio e dedicação;

À Profa. Rosemere Duarte, do Laboratório de Imunodiagnóstico, Departamento de Ciências Biológicas, Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca / FIOCRUZ, pela cooperação e apoio necessários aos estudos sobre os hábitos alimentares dos flebotomíneos além de toda sua dedicação e amizade;

Ao Biólogo Cláudio Roberto Valente Meneses, University of Califórnia at Davis, Departamento of Entomology, pelas sugestões durante a análise do dendograma relativo ao estudo de morfometria dos flebotomíneos;

Ao Prof. Alfredo Carlos Rodrigues de Azevedo, e ao biólogo Daniel Motta da Silva, do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses/ Laboratório de Referência em Vigilância Entomológica: Taxonomia e Ecologia de Vetores das Leishmanioses do Instituto Oswaldo Cruz/ FIOCRUZ, por suas sugestões durante a análise dos dados relativos aos estudos de morfologia e morfometria dos flebotomíneos;

Ao Dr. Pedro Cabello, do Laboratório de Genética Humana do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, por suas sugestões ao longo da análise estatística dos dados sobre morfologia e morfometria;

À Bióloga Kátia Felisbino, do Laboratório de Epidemiologia Molecular de Doenças Infecciosas do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ pelo auxílio e amizade demonstrados;

A Genilton Vieira, Robrigo Mexas e Bruno Eschenazi, do Setor de Produção e Tratamento de Imagens do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, pelo auxílio na parte fotográfica, capa e prancha do Capítulo 1.

Aos amigos Maurício Luis Vilela, Simone Miranda da Costa, Wagner Alexandre Costa, Sandra Maria Pereira de Oliveira, Cheryl Gouveia, Marianna Carvalheiro da Costa, Bruno Moreira de Carvalho, do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses/Laboratório de Referência em Vigilância Entomológica: Taxonomia e Ecologia de Vetores das Leishmanioses, André Figueiredo Barbosa, do Laboratório de Transmissores de Hematozoários, ambos laboratórios do Instituto Oswaldo Cruz, pela colaboração, carinho e incentivos demonstrados ao longo da realização deste trabalho;

A toda a equipe do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses/Laboratório de Referência em Vigilância Entomológica: Taxonomia e Ecologia de Vetores das Leishmanioses, do Instituto Oswaldo Cruz/ FIOCRUZ, pelo companheirismo;

A toda a equipe do Laboratório de Imunodiagnóstico, Departamento de Ciências Biológicas, Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca/FIOCRUZ, pela ajuda e acolhimento;

Às Secretárias Ângela Lúcia de Carvalho, Éster Lucia Gomes da Silva e Simone Tavares Marujo, do Instituto Oswaldo Cruz, pela amizade e disposição em colaborar;

À Diretoria do Instituto Oswaldo Cruz, pela infra-estrutura e pelo suporte financeiro;

À Sra. Maria Paula Aparecida da Costa e Sra. Miriam Magalhães, Secretárias da Pós-Graduação em Entomologia, da Universidade Federal de Viçosa, pela disposição em ajudar e carinho demonstrado durante a realização deste trabalho;

Aos amigos e colegas das disciplinas cursadas durante o curso de Pós-Graduação em Entomologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), pelo apoio e amizade demonstrados;

Aos professores da Pós-Graduação em Entomologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), que muito contribuíram para minha formação profissional;

À Direção da Pós-Graduação em Entomologia, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), pela oportunidade de realização do curso;

Aos colegas Humberto Feitosa, da Secretaria de Saúde do Estado de Piauí, Lindenberg Caranha, Rithcristhi, Francisca, Fabrício, Nonato, Helder e Mariza, da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, pelo precioso apoio durante as coletas dos flebotomíneos;

Aos pesquisadores José Miranda, Edna e Carla, do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, pelo apoio ao durante as coletas de flebotomíneos;

Aos moradores de todos os locais visitados, por permitirem que entrássemos em suas casas, pelo apoio e dedicação demonstrados, por dividirem suas experiências e saberes;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, pela bolsa de Mestrado;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq (Edital MCT-CNPq / MS-SCTIE-DECIT – N° 25/2006, processo: 410503/2006-1), pelo apoio financeiro.

Conteúdo

	Página
Resumo -----	x
Abstract -----	xii
Introdução geral -----	01
Leishmanioses -----	01
As Leishmanioses no Brasil -----	02
Leishmaniose Tegumentar Americana -----	03
Leishmaniose Visceral Americana -----	05
<i>Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis</i> e a leishmaniose visceral no Brasil -----	07
<i>Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis</i> : complexo de espécies críplicas? -----	08
Relevância -----	11
Referências Bibliográficas -----	12
Objetivos -----	22
Objetivo geral -----	22
Objetivos específicos -----	22
Capítulo 1 - Estudos morfológicos e morfométricos de algumas populações brasileiras de <i>Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis</i> (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), procedentes de áreas endêmicas de leishmaniose visceral no nordeste do Brasil -----	23
Introdução -----	24
Materiais e Métodos -----	25
Resultados -----	33
Discussão -----	50
Referências bibliográficas -----	54
Capítulo 2 – Estudos sobre os hábitos alimentares de algumas populações brasileiras de <i>Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis</i> (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), procedentes de áreas endêmicas de leishmaniose visceral no nordeste do Brasil -----	60
Introdução -----	61
Materiais e Métodos -----	62
Resultados -----	66
Discussão -----	71
Referências Bibliográficas -----	75
Conclusões gerais -----	80

Resumo

AFONSO, Margarete Martins dos Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2008. **Estudos sobre algumas populações brasileiras de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): morfologia, morfometria e hábitos alimentares.** Orientadora: Mara Garcia Tavares. Co-orientadores: Elizabeth Ferreira Rangel e José Cola Zanuncio.

Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis (Lutz & Neiva, 1912) possui ampla distribuição no território brasileiro e está incriminada como transmissora da *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* (Cunha & Chagas 1937). Considerando a discordância de informações quanto à hipótese de *L. (L.) longipalpis* ser ou não um complexo de espécies em relação às populações brasileiras, e que informações sobre a biologia deste flebotomíneo, ainda, são insuficientes para o sucesso das ações de controle da LVA, o objetivo deste trabalho foi o de contribuir com o conhecimento de algumas populações brasileiras de *L. (L.) longipalpis* de Teresina (PI), Jequié (BA), Sobral e Massapê (CE) (as duas últimas foram consideradas quatro populações, de acordo com o padrão de manchas abdominais nos machos), estudando a morfologia e morfometria de espécimes adultos machos, e os hábitos alimentares das fêmeas. Na morfologia e morfometria foram considerados 21 caracteres, distribuídos pela cabeça, tórax e abdome, analisados pelos testes ANOVA e Student-Newman-Keuls (SNK) e para conhecimento das fontes alimentares utilizou-se a técnica de ELISA. Os dados obtidos através da morfologia revelaram, nas seis populações analisadas, exemplares com um par e dois pares de manchas abdominais, havendo sempre a predominância de machos da forma “um-par”. A fórmula palpal mais frequente foi 1.2.4.3.5; outras duas fórmulas, também, foram observadas, ainda que em poucos exemplares, 1.4.2.3.5 e 1.(2.4).3.5. Na análise morfométrica, através do teste de SNK foram encontradas uniões, disjunções e intersecções entre as populações analisadas. Baseado na análise de seis caracteres foi possível observar que as populações de Jequié e Teresina

formavam um conjunto disjunto daqueles formados pelas populações do Ceará. Na população de Jequié, quando comparada às populações do Ceará (Massapê e Sobral), pode-se observar que 79 a 95% dos caracteres revelaram diferenças significativas. Através da ANOVA, no cruzamento entre as populações do Ceará, foram detectadas poucas diferenças significativas. O dendograma gerado a partir do programa TFPGA, revelou separação entre as populações do Ceará e as demais, bem como evidenciou as populações de Sobral, S1P e S2P, em ramos isolados. Valores de *bootstrap* demonstraram que as populações do Ceará (S1P, S2P, M1P e M2P) e Teresina/ Jequié constituem ramos isolados, com um nível de confiança de 100%. As populações de Sobral, S1P e S2P se apresentaram como ramos isolados, com *bootstrap* de 53%. Com relação aos estudos das fontes alimentares, foram testadas 609 fêmeas, obtendo-se um índice geral de positividade de 40,72%. No município de Jequié, as fêmeas revelaram maior positividade para o anti-soro de ave, seguido de humano, cão e de gambá. Em Teresina obteve-se o mais alto índice de positividade, embora com reatividade, apenas, para o anti-soro de ave (maior percentual), seguido do anti-soro de cão. Nos flebotômicos procedentes de Sobral, mais uma vez, o anti-soro de ave revelou maior percentual de positividade, seguido de cão e gambá. Nos espécimes procedentes de Massapê foi encontrada a maior diversidade de combinações de fontes alimentares, sendo esta a única população que obteve reatividade para todos os anti-soros. Também, em Teresina, Jequié e Sobral, foram identificadas fêmeas com reatividade para mais de um anti-soro.

Abstract

AFONSO, Margarete Martins dos Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February 2008. **Studies of some populations of brazilian *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): morphology, morphometry and feeding habits.** Adviser: Mara Garcia Tavares. Co- advisers: Elizabeth Ferreira Rangel and José Cola Zanuncio.

Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis (Lutz & Neiva 1912) has wide distribution in the Brazilian territory and is incriminated as transmitting the *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* (Cunha & Chagas 1937). Considering the inconsistency of information about the possibility of *L. (L.) longipalpis* to be a complex or not of species for Brazilian populations, and that information on the biology of this phlebotomine sand fly are still insufficient for the success of the shares to control the LVA, this paper aims to contribute to the knowledge of some Brazilian populations of *L. (L.) longipalpis* of Teresina (PI), Jequié (BA), and Sobral Massapé (CE) (the latter two were considered four populations, according to the pattern of abdominal spots in males), studying the morphology and morphometry of specimens adult males, and the eating habits of females. In morphology and morphometry were considered 21 characters, distributed by the head, thorax and abdomen, analyzed by ANOVA and Student-Newman-Keuls (SNK). For the knowledge of the blood sources of females the ELISA test was applied. Data obtained through morphology revealed, among the six populations analyzed, individuals with one pair and two pairs of abdominal spots, within the predominance of "one-pair" males. The most frequent palpal formula was 1.2.4.3.5; other two formulae were also observed, although in a few specimens, 1.4.2.3.5 and 1. (2.4) .3.5. In morphometric analysis, through SNK test, were found unions, disjunctions and intersections among populations analyzed. Based on the analysis of six characters, could observe that the Jequié and Teresina populations produced an individual set from those formed by the Ceará populations. In population of Jequié, when compared to population of Ceará (Massapé and Sobral), it can be observed that 79 to 95% of the

characters revealed significant differences. By ANOVA, at the crossroads between the population of Ceará, few significant differences were detected. The dendrogram created by TFPGA, revealed a split between the Ceará and others populations, and verified that Sobral populations, S1P and S2P, were in isolated arms. Values of bootstrap showed that the populations of Ceará (S1P, S2P, M1P and M2P) in Teresina/Jequié branches are isolated, with a confidence level of 100%. The populations of Sobral, S1P and S2P, have become isolated arms, with 53% of bootstrap. About the blood feeding sources studies, 609 females were tested, obtaining an index of general positivity of 40.72%. In the municipality of Jequié, the females showed greater positive for the anti-serum of bird, followed by the human, dog and opossum. In Teresina, was found the highest rate of positivity, although with reactivity only for the anti-serum from bird (higher percentage), followed by the dog anti-serum. In sand flies from Sobral, once again, bird anti-serum showed a higher percentage of positivity, followed by dog and opossum. In specimens from Massapê, it was found the greatest diversity of blood sources combinations, being the only population who got reactivity for all anti-sera. Also, in Teresina, Jequié and Sobral, females were identified with reactivity for more than one anti-serum.

Introdução Geral

Leishmanioses

As leishmanioses são protozoonoses causadas por protozoários flagelados heteroxenos do gênero *Leishmania* Ross 1903, pertencentes à ordem Kinetoplastida e família Trypanosomatidae. São transmitidas através da picada de flebotomíneos, dípteros da família Psychodidae e sub-família Phlebotominae, dos gêneros *Lutzomyia* (Continente Americano) e *Phlebotomus* (Velho Mundo) (Young & Duncan 1994).

Estas enfermidades constituem graves problemas de saúde pública, acometendo indistintamente, homens, mulheres e crianças e encontram-se entre as seis mais importantes doenças parasitárias. As leishmanioses manifestam-se sob diferentes formas clínicas devido, sobretudo, à variedade de parasitas que afetam a população humana (Peters & Killick-Kendrick 1987).

Sua distribuição ocorre em 88 países, atingindo os continentes Americano, Europeu, Asiático, Africano e Australiano, com cerca de trezentos e cinquenta milhões de pessoas vivendo em área de risco (Desjeux 2001, OMS 2008).

As leishmânias são protozoários que têm seu ciclo de vida associado a dois hospedeiros: os vertebrados, onde vivem sob a forma de amastigotas, nas células do sistema fagocítico mononuclear de alguns órgãos, e os invertebrados (flebotomíneos), onde se desenvolvem e se multiplicam no tubo digestivo (Walters et al. 1989, Grimaldi & Tesh 1993).

Cerca de vinte e duas espécies de leishmânias são encontradas infectando o homem (Grimaldi et al. 1991, Shaw 1994, Ashford 2000, Silveira et al. 2002) e destas, quinze ocorrem nas Américas (Shaw 1994, Silveira et al. 2002).

Os reservatórios das espécies de leishmânias são, principalmente, mamíferos silvestres pertencentes às ordens Carnivora, Rodentia, Marsupialia, Edentata, Primata e Artiodactyla. Estes mamíferos participam do ciclo primário de transmissão, servindo como fonte de infecção para flebotomíneos e mantendo assim o ciclo silvestre (Lainson & Shaw 1998). Contudo, sugere-se que alguns animais domésticos (cães e equinos), em determinadas situações, sejam responsáveis pela manutenção dos ciclos peridoméstico e

urbano, onde as espécies de flebotomíneos vetores estariam adaptadas ao ambiente domiciliar e/ou peridomiciliar (Rangel et al. 1990, Rangel 1995, Brasil-SVS/MS 2007).

A competência vetorial de uma espécie de flebotomíneo é determinada pela aptidão da *Leishmania* em sobreviver, se multiplicar e diferenciar dentro do trato digestivo, de modo que seja transmitida aos vertebrados. Tal processo depende de fatores intrínsecos do flebotomíneo, os quais irão determinar sua capacidade de ser susceptível ou refratário ao desenvolvimento da *Leishmania*. Tais fatores sugerem a existência de um processo de co-evolução entre as espécies de leishmânias e seus vetores (Pimenta et al. 2003). Diversas espécies de leishmânias podem ser transmitidas aos mamíferos, inclusive ao homem, somente através das fêmeas, que desenvolveram a hematofagia em sua busca por alimento e, por conseguinte, podem ocasionalmente, ingerir a *Leishmania*. O sangue ingerido, contendo as formas amastigotas, é contido no intestino médio, onde os parasitas se diferenciam nas formas promastigotas. Nesta fase ocorre sua multiplicação ao longo da digestão sanguínea, seguida da migração e colonização nas diferentes porções do trato digestivo, onde inicialmente podem alojar-se na parte posterior, no piloro (parasitas da seção peripilária, leishmânias do subgênero *Viannia*) ou ainda, no intestino médio (parasitas da seção suprapilária, leishmânias do subgênero *Leishmania*) para, em seguida, migrarem para a porção anterior do tubo digestivo, onde novamente ocorre a multiplicação celular. A transmissão dos parasitas ocorre quando fêmeas infectadas realizam nova alimentação sanguínea, regurgitando formas promastigotas infectivas (Walters et al. 1987, 1992, Walters 1993, Pimenta et al. 2003).

As Leishmanioses no Brasil

As leishmanioses, no Novo Mundo, segundo a manifestação clínica, estão divididas em Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), que apresenta um padrão diferenciado de manifestações clínicas (cutânea e mucosa), e Leishmaniose Visceral Americana, (LVA), cujo tropismo do parasito pelo sistema fagocítico mononuclear do baço e do fígado acarreta a hiperplasia e hipertrofia desses órgãos (Brasil-SVS/MS 2006, 2007).

No Brasil, as leishmanioses estão incluídas no quadro das grandes endemias, pertencendo à lista do Sistema Nacional de Informação de Doenças de Notificação

Compulsória (SNDC), do Ministério da Saúde. Estão presentes em todas as Unidades Federadas. Nos últimos vinte anos, sua incidência tem aumentado em praticamente todos os estados e, nesse período, houve crescente processo de instalação das leishmanioses nas áreas urbanas e peri-urbanas (Rangel 1995).

No Brasil, o conceito de leishmanioses como zoonoses de animais silvestres, em que o homem torna-se hospedeiro acidental no momento que invade as florestas primárias onde estão presentes os reservatórios naturais das espécies de leishmânias e seus respectivos vetores, atualmente, restringe-se à Floresta Amazônica, a resíduos de Mata Atlântica e ao Cerrado. Entretanto, encontra-se, hoje, um novo perfil de transmissão que está associado às alterações ambientais, com comprometimento da cobertura vegetal natural, em decorrência de inúmeros fatores. Estas alterações ambientais favorecem a aproximação de mamíferos silvestres (alguns atuando como reservatórios de *Leishmania*) do ambiente domiciliar, onde flebotomíneos, principalmente os que apresentam elevado ecletismo alimentar, acabam por estabelecer ciclos de transmissão próximos ao homem.

Dessa forma, a incidência das leishmanioses no Brasil vem crescendo em várias regiões do país, ao mesmo tempo em que apresentam mudanças em seu quadro epidemiológico (Lainson 1983, 1988, Wash et al. 1993, Laison et al. 1994). Nas regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul, vêm sendo descritos novos perfis epidemiológicos, ocorrendo, em muitos casos, a transmissão domiciliar e/ou peridomiciliar, sendo facilmente observada a presença destes agravos em áreas metropolitanas, onde a Mata Atlântica tem sido devastada.

Leishmaniose Tegumentar Americana

Segundo o Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) (Brasil-SVS/MS 2007), pode-se definir a LTA como uma doença infecciosa, não contagiosa, causada por diferentes espécies de protozoários do gênero *Leishmania*, que acomete pele e mucosas. Casos humanos têm sido registrados com diferentes formas clínicas que incluem desde lesão cutânea localizada, múltiplas lesões (forma disseminada), nodulações não ulceradas (cutânea difusa) e comprometimento de mucosa (Brasil-SVS/MS 2007).

A LTA possui ampla distribuição no Continente Americano, havendo registro de casos desde o extremo sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina, com exceção do

Chile e Uruguai. No Brasil, sua transmissão é descrita em diversos municípios de todas as unidades federadas (Brasil-SVS/MS 2007).

Atualmente, a LTA no Brasil está categorizada em três padrões epidemiológicos (Brasil-SVS/MS 2007): 1) silvestre, onde a transmissão ocorre em área de vegetação primária, neste caso a doença é exclusivamente caracterizada como uma zoonose de animais silvestres, podendo atingir o ser humano apenas quando este entra em contato com o ambiente silvestre, onde esteja ocorrendo a enzootia; 2) ocupacional e/ou lazer (padrão de áreas impactadas), está associado à exploração desordenada da floresta e a derrubada de matas para construção de estradas, usinas hidrelétricas, instalação de povoados, extração de madeira, desenvolvimento de atividades agropecuárias, de treinamentos militares e ecoturismo; 3) rural e periurbano, em áreas de colonização antiga, relacionado ao processo migratório, com ocupação de encostas e aglomerados na periferia de centros urbanos, sempre associado a matas secundárias ou residuais, e não a derrubadas de matas. Neste padrão de transmissão sugere-se que cães, eqüinos e roedores sejam reservatórios.

A LTA é uma doença com diversidade de agentes etiológicos, reservatórios e vetores que determinam diferentes ciclos de transmissão em nichos ecológicos restritos (Rangel 1995).

Esta enfermidade é causada por leishmânias dermatrópicas dos subgêneros *Leishmania* e *Viannia*, sendo três de maior importância epidemiológica: *Leishmania (Viannia) braziliensis*, a de mais ampla distribuição, *Leishmania (Viannia) guyanensis* e *Leishmania (Leishmania) amazonensis*.

As leishmânias do subgênero *Viannia* têm sua transmissão associada com *Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia* (Lutz & Neiva 1912), *L. migonei* (França, 1920), *L. (Pintomyia) fischeri* (Pinto 1926), *L. (Nyssomyia) umbratilis* (Ward & Fraiha 1977), *L. (Psychodopygus) wellcomei* Fraiha, Shaw & Lainson 1971, *L. (Psychodopygus) complexa* (Mangabeira 1941), *L. (Psychodopygus) ayrozai* (Barretto & Coutinho 1940), *L. (Psychodopygus) paraensis* (Costa Lima 1941), *L. (Psychodopygus) squamiventris squamiventris* (Lutz & Neiva 1912), *L. (Trichophoromyia) ubiquitalis* (Mangabeira 1942), *L. (Nyssomyia) antunesi* (Coutinho 1939), *L. (Viannamyia) tuberculata* (Mangabeira 1941) e *L. (Nyssomyia) whitmani s.l.* (Antunes & Coutinho 1939) (Lainson & Shaw 1998, Shaw 2002, Rangel & Lainson 2003). Como principal transmissor da *L. (L.) amazonensis*, destaca-se *L. (Nyssomyia) flaviscutellata* (Mangabeira 1942) (Lainson & Shaw 1998, Shaw 2002, Rangel & Lainson 2003).

Já foram registradas infecções por LTA em algumas espécies de animais silvestres, sinantrópicos e domésticos, sendo o papel, destes últimos, como reservatórios, ainda não definidos. Como hospedeiros e possíveis reservatórios naturais das leishmânias dermatrópicas destacam-se espécies de mamíferos silvestres, tais como as preguiças (*Choloepus didactylus*), tamanduás (*Tamandua tetradactyla*), roedores (*Bolomys lasiurus*, *Rattus rattus*, *Nectomys squamipes*, *Proechymis*), primatas (*Cebus apella*), dentre outros (Lainson & Shaw 1998). São numerosos os registros de infecção em animais domésticos (cães, especialmente, equinos e gatos) os quais, em algumas situações, são sugeridos como reservatórios, embora não haja comprovações científicas que confirmem o papel destes animais como fontes de infecção para os flebotomíneos (Lainson & Shaw 1998, Rangel & Lainson 2003).

Leishmaniose Visceral Americana

A leishmaniose visceral americana (LVA) tornou-se uma das doenças mais importantes da atualidade, devido a sua incidência e alta letalidade, sobretudo em indivíduos não tratados e crianças desnutridas. Além disso, é considerada emergente em indivíduos portadores de infecção pelo vírus de imunodeficiência adquirida (HIV). Com comprometimento do fígado, do baço, da medula óssea e dos tecidos linfóides pode progredir para um quadro bastante grave e, se não tratada precocemente e de forma adequada, pode evoluir para o óbito (Brasil-SVS/MS 2006).

Na América Latina, a doença já foi descrita em 12 países, sendo que 90% dos casos ocorrem no Brasil, especialmente concentrados nas Regiões Nordeste e Centro-Oeste (Brasil-SVS/MS 2006).

Esta doença tem apresentado mudanças importantes no padrão de transmissão, como resultado gradativo da modificação do meio ambiente, particularmente associados aos processos de urbanização desordenados. Os dados epidemiológicos das últimas décadas apontam a urbanização e periurbanização da LVA, destacando-se surtos em cidades como Santarém (PA), Corumbá (MS), Natal (RN), São Luiz (MA), Teresina (PI), Belo Horizonte (MG), Araçatuba (SP), Rio de Janeiro (RJ), Fortaleza (CE), Camaçari (BA), Três Lagoas (MS), Campo Grande (MS) e Palmas (TO), com cerca de 1.600 municípios apresentando transmissão autóctone (Brasil-SVS/MS 2006).

A LVA, inicialmente, estava associada ao ambiente rural e periferia das grandes cidades, entretanto este perfil vem se modificando, em algumas regiões, onde a doença

encontra-se urbanizada. Segundo o Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (Brasil-SVS/MS 2006), podem ser definidos dois padrões epidemiológicos para a LVA: 1) padrão clássico, associado ao ambiente rural, periferia das grandes cidades, presença de baixo nível sócio-econômico e pobreza; 2) padrão recente, encontrado no ambiente urbano, em cidades de médio e grande porte, principalmente nas regiões Sudeste e Centro-Oeste.

O Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV), para melhor desenvolver as ações preconizadas, classifica os municípios como áreas de transmissão esporádica, moderada ou intensa (Brasil-SVS/MS 2006).

O agente etiológico da LVA no Continente Americano é a *Leishmania (Leishmania) chagasi*, cujo vetor principal é *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva 1912), espécie altamente adaptada ao ambiente urbano e que reúne fortes evidências quanto à sua competência vetorial (Deane 1956, Lainson et al. 1977, 1990, Laison & Shaw 1979, Ryan et al. 1986, Lainson & Rangel 2003, 2005).

Uma situação diferenciada, com relação à transmissão da LVA, observa-se na região central do Brasil. Em 1998, Santos et al. sugeriram que *Lutzomyia cruzi* estaria envolvido com a transmissão de LVA em Corumbá e Ladário (MS), por sua antropofilia, alta densidade e pela ausência de *L. (L.) longipalpis* nas áreas de transmissão. Em 2003, o mesmo grupo relatou o achado de infecção natural em *L. cruzi*. Recentemente, Missawa & Lima (2006) apontaram algumas evidências da participação de *L. cruzi* na transmissão da LVA no município de Jaciara (MT).

No ambiente silvestre, os reservatórios da LVA são as raposas (*Dusicyon vetulus* e *Cerdocyon thous*) e, possivelmente, os marsupiais (*Didelphis albiventris*); no Brasil já foram encontradas raposas infectas no Nordeste, Sudeste e região Amazônica. Já na área urbana, o cão (*Canis familiaris*) é tido como principal fonte de infecção para os flebotomíneos (Deane 1956, Lainson & Shaw 1998, Lainson & Rangel 2003, 2005, Brasil-SVS/MS 2006).

A identificação das fontes alimentares de insetos hematófagos tem trazido informações bastante úteis para o delineamento de estratégias de controle de vários agravos por eles transmitidos (Ngumbi et al. 1992, Savage et al. 1993).

Na avaliação dos hábitos alimentares dos flebotomíneos, a aplicação do teste de precipitina tem contribuído para demonstrar sua atração pelos prováveis hospedeiros de leishmânias, além de conhecer o grau de antropofilia das espécies (Tesh et al. 1971, Christensen et al. 1982, Ogosuku et al. 1994, Nery et al. 2004, Afonso et al. 2005).

Dada a sua importância epidemiológica, estudos sobre os hábitos alimentares de *L. (L.) longipalpis* têm sido realizados nesse sentido, as primeiras análises foram realizadas em populações da Colômbia, já revelando o ecletismo da espécie e, posteriormente, populações brasileiras passaram a ser analisadas (Morrison et al. 1993).

Mesmo conhecendo a especificidade do teste de precipitina, a técnica imunoenzimática (ELISA), começou a ser empregada, dada sua maior sensibilidade (Burkot et al. 1981, Edrissian & Hafizi 1982, Duarte 1997). Quinnell et al. (1992) utilizaram o teste de ELISA para avaliar experimentalmente a preferência alimentar de fêmeas de *L. (L.) longipalpis*, provenientes do Pará. Estes autores concluíram que a atração exercida pelo hospedeiro, seria variável em relação ao seu tamanho relativo. Marassá et al. (2004) detectaram a eficácia do método avitina-biotina em fêmeas de *L. (L.) longipalpis*.

Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis e a leishmaniose visceral americana no Brasil

Os estudos sobre a LVA no Brasil tiveram início em 1934, quando Penna estudando a febre amarela, encontrou leishmânias em fragmentos de fígado de algumas pessoas, cujas mortes suspeitava-se terem sido por febre amarela; num total de 47.000 exames, 41 deles foram positivos para leishmânias (Lainson & Rangel 2003, 2005).

Chagas (1936), em Sergipe, relatou um caso autóctone de LVA, informando o achado de formas semelhantes à *Leishmania (Leishmania) donovani* (= *L. (L.) infantum chagasi*), além de capturar *Phlebotomus longipalpis* (= *L. (L.) longipalpis*) na casa deste paciente. Posteriormente, em 1938, no Estado do Pará, Chagas et al. registraram casos humanos e caninos desta enfermidade, sendo *L. (L.) longipalpis* o flebotomíneo sugerido como vetor.

Deane & Deane, trouxeram contribuições relevantes para o estudo da epidemiologia da LVA no Brasil. No Ceará, encontraram “leptomonas”, consideradas *L. donovani* (= *L. (L.) infantum chagasi*), em espécimes de *L. (L.) longipalpis* (Deane & Deane 1954a). Posteriormente, obtiveram a infecção experimental de *L. (L.) longipalpis*, quando estes flebotomíneos foram alimentados em raposas e cães infectados, bem como em pacientes (Deane & Deane 1954b). Ainda, em estudos epidemiológicos, Deane (1956) observou que a distribuição espacial de *L. (L.) longipalpis* coincidia com a da doença, uma vez que este flebotomíneo correspondia a

97% dos exemplares capturados, com elevada incidência nos domicílios das áreas de transmissão.

Em 1977, Lainson et al. confirmaram a competência vetorial de *L. (L.) longipalpis*, através da transmissão experimental de *Leishmania (Leishmania) chagasi* (= *L. (L.) infantum chagasi*), pela picada (hamster a hamster). Em 1985, Lainson et al., no Estado do Pará, detectaram taxa de infecção natural de flebotomíneos variando entre 7% a 14%, sendo os exemplares de *L. (L.) longipalpis* coletados nas residências onde residiam pessoas e cães doentes.

Os estudos pioneiros de Deane (1956), sobre a epidemiologia da LVA no Ceará, descreveram raposas infectadas com amastigotas, além da forte atração que exerciam sobre os flebotomíneos, que se tornavam infectados, sugerindo estes mamíferos como reservatórios primários na LVA. Também, foi demonstrado que *L. (L.) longipalpis* picava avidamente cães. Através de xenodiagnóstico, observou que cerca de 30% dos flebotomíneos se infectaram, aspecto relevante para sugerir o cão como importante fonte de infecção para o vetor no ambiente domiciliar. Posteriormente, outras investigações discutiram o papel de cães na epidemiologia da LVA (Genaro 1993, Miles et al. 1999, Gradoni 1999, França-Silva 2003, Camargo-Neves 2004).

Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis: complexo de espécies crípticas?

Sherlock & Sherlock (1961) sugeriram pela primeira vez que *L. (L.) longipalpis* seria um complexo de espécies, a partir de variações observadas em populações nordestinas na capacidade de se infectar e transmitir *Leishmania*, experimentalmente. Mangabeira (1969) observou diferenças morfológicas em machos de *L. (L.) longipalpis* de duas populações brasileiras: a população do Ceará apresentou dois pares de manchas claras abdominais (no terceiro e quarto tergitos abdominais), enquanto que a população do Pará apresentou apenas um par de manchas (no quarto tergito). Estas evidências morfológicas, de fato, fizeram com que Mangabeira levantasse a hipótese de que *L. (L.) longipalpis* seria um complexo de espécies.

A partir de então, vários estudos com populações de *L. (L.) longipalpis*, do Continente Americano, vêm sendo desenvolvidos com o uso de diferentes ferramentas para discutir o *status* taxonômico desde flebotomíneo.

Análises por microscopia eletrônica revelaram detalhes micromorfológicos das manchas, indicando que se tratavam de numerosas pápulas, com função secretora de

feromônios, sendo que estas variavam em número (Lane & Ward 1984). Posteriormente, Lane et al. (1985) correlacionaram diferentes feromônios isolados à quantidade de manchas que encontravam em cada população.

Lanzaro et al. (1993), através de técnicas isoenzimáticas, observaram diferenciação entre populações oriundas do Brasil, Colômbia e Costa Rica.

Na década de 90, a análise morfométrica mostrou-se uma ferramenta eficiente na taxonomia de flebotomíneos, complementando as observações morfológicas. Rangel et al. (1996), ao analisarem populações de *L. (N.) whitmani* (Antunes & Coutinho 1939) procedentes do Pará, do Ceará e da Bahia, observaram, através da análise morfométrica, diferenças significativas entre as populações do Nordeste (CE e BA) e do Norte (PA), em algumas estruturas da cabeça, tórax e abdome. Estas foram consideradas evidências importantes que, associadas a estudos de biologia e com marcadores moleculares, sugeriram a existência de duas linhagens geográficas de *L. (N.) whitmani*. Marcondes (1996) revalidou *L. neivai* (Pinto 1926) após análise das dimensões e das proporções de algumas estruturas morfológicas, tanto de machos como de fêmeas, verificando que eram estatisticamente diferentes das observadas para *L. (L.) intermedia* (Lutz & Neiva 1912).

Os primeiros estudos comparando populações brasileiras de *L. (L.) longipalpis*, através da observação de caracteres morfológicos e morfométricos foram realizados por Azevedo et al. (2000) sugerindo um elevado polimorfismo intrapopulacional que não justificaria a existência de um complexo de espécies confirmado, pelos mesmos autores, com base em estudos isoenzimáticos.

A morfologia foi importante para descrição da primeira espécie do “complexo *longipalpis*”, a *Lutzomyia pseudolongipalpis*, diferenças morfológicas foram complementadas pela descrição de um *locus* diagnóstico (Arrivillaga & Feliciangeli 2001).

Posteriormente, outras ferramentas foram empregadas na comparação de populações de *L. (L.) longipalpis*, Oliveira et al. (2001), na análise de variação molecular nos genes *cacophony* e *period* de populações de *L. (L.) longipalpis*, sugerem que o som de corte mostra-se importante para o estudo do processo de especiação do complexo “*longipalpis*”, uma vez que os resultados obtidos revelaram variações entre as populações estudadas (Natal/RN, Jacobina/BA e Gruta da Lapinha/MG). Posteriormente, Bauzer et al. (2002), estudando as mesmas populações, utilizando o

gene *period* como marcador molecular, encontraram resultados que corroboraram o estudo anterior, apontando diferenças indicativas deste flebotomíneo se tratar de um complexo de espécies, uma vez que este gene controla o ritmo biológico e o som de corte, podendo levar as espécies ao isolamento reprodutivo. Souza et al. (2004), trabalharam com populações da Ilha de Marajó/PA, Natal/RN, Jacobina/BA, Gruta da Lapinha/MG e duas populações simpátricas da localidade de Sobral/CE (onde se encontram machos apresentando um e dois pares de manchas abdominais) e observaram quatro tipos de sons, sugerindo que *L. (L.) longipalpis* no Brasil seria um complexo de, pelo menos, quatro espécies.

Arrivilaga et al. (2002), estudando seqüências de DNA mitocondrial de doze populações de *L. (L.) longiplapis* (Costa Rica, Colômbia, Venezuela, e outras seis brasileiras Roraima/RR, Salvaterra/PA, Santarém/PA, Baturité/CE, Jacobina/BA e Gruta da Lapinha/MG), sugeriram a existência de quatro espécies: a de Lara (Venezuela) que corresponde a *L. pseudolongipalpis*, a brasileira (*L. (L.) longipalpis*/espécie tipo), a Cis-Andina e a Trans-Andina. Em 2003, o mesmo grupo, sustentou esta divergência populacional baseando-se na distribuição mitocondrial e variação isoenzimática.

Hodgkinson et al. (2003), estudando apenas populações brasileiras deste flebotomíneo (Natal/RN, Itamaricá/PE, Juazeiro/BA, Monte Santo/BA, Feira de Santana/BA e Pancas/ES), sugeriram através de análise das seqüências de haplótipos que estas populações não representavam um complexo de espécies.

Bottecchia et al. (2004), compararam cinco populações brasileiras (Jacobina/BA, Gruta da Lapinha/MG, Natal/RN, e duas populações simpátricas provenientes de Sobral/CE), através do gene *cacophony* (gene envolvido no isolamento reprodutivo). Os dados sugeriram diferenças entre as populações analisadas, embora não apresentassem a clara separação entre as mesmas.

Hamilton et al. (2005) sugeriram que populações brasileiras de *L. (L.) longipalpis* representem um complexo de espécies, uma vez que foram detectados diferentes feromônios sexuais, o que poderia levar a um isolamento reprodutivo entre as populações estudadas (Sobral/CE, Estrela de Alagoas/AL, Sol da Costa/AL, Santarém/PA, Gruta da Lapinha/MG e Montes Claros/MG).

De Queiroz Balbino et al. (2006), estudaram sete populações oriundas do nordeste brasileiro (São Luis/MA, Teresina/PI, Patos/PB, João Pessoa/PB, Itamaracá/PE, Calumbim/PE e Camaçari/BA), através da técnica de RAPD-PCR, e

concluíram que tais populações apresentavam distâncias genéticas compatíveis com populações de uma mesma espécie.

Bauzer et al. (2007) apresentaram uma revisão sobre este tema, discutindo evidências favoráveis e contrárias ao complexo “*longipalpis*” e admitem que as populações até o momento estudadas estariam passando por um processo de especiação recente. Posteriormente, Maingon et al. (2008), ainda dentro dessa abordagem, citaram sobre a existência de barreiras reprodutivas e hibridizações entre as diferentes populações deste flebotomíneo.

Relevância

O Brasil enfrenta a expansão e a urbanização da LVA e, diante deste cenário, cresce a necessidade de produção de conhecimentos mais precisos sobre o vetor.

Permanece, ainda, em relação às populações brasileiras, uma discrepância quanto à hipótese de *L. (L.) longipalpis* ser ou não um complexo de espécies, com duas possibilidades: *L. (L.) longipalpis* representaria um complexo de espécies na América do Sul, havendo uma espécie altamente polimórfica no Brasil ou a espécie, na verdade, seria um complexo, também no território brasileiro, com pelo menos quatro subespécies, possivelmente ainda em processo de especiação. Considerando que as variações morfológicas observadas em machos foram o marco para a discussão da identidade taxonômica de *L. (L.) longipalpis* e que pouco se conhece sobre a morfometria desse flebotomíneo, tais ferramentas são utilizadas no presente estudo, na análise comparativa entre diferentes populações, na busca de novas evidências que auxiliem na elucidação taxonômica deste vetor.

Dentre as ações preconizadas na estratégia de controle de LVA, destacam-se as medidas de vigilância e combate ao vetor. Sob esta ótica, pouco se conhece sobre os hábitos alimentares de *L. (L.) longipalpis*. Assim, estudar o padrão alimentar desse flebotomíneo, como propõe o presente estudo, poderá contribuir com conhecimentos sobre a relação hospedeiro-vetor e, conseqüentemente, no melhor entendimento da eco-epidemiologia da LVA.

Referências Bibliográficas

- Afonso MMS, Gomes AC, Meneses CRV, Rangel EF 2005. Studies on the feeding habits of *Lutzomyia (N.) intermedia* (Diptera, Psychodidae), vector of cutaneous Leishmaniasis in Brazil. *Cad de Saúde Pública*, 21: 109-118.
- Arrivillaga JC, Feliciangeli MD 2001. *Lutzomyia pseudolongipalpis*: the first new species within the *longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) complex from La Rinconada, Curarigua, Lara State, Venezuela. *J Med Entomol* 38: 783-790.
- Arrivillaga JC, Norris DE, Feliciangeli MD, Lanzaro GC 2002. Phylogeography of the neotropical sand fly *Lutzomyia longipalpis* inferred from mitochondrial DNA sequences. *Infect Gene Evol* 2: 83-95.
- Arrivillaga J, Mutebi JP, Piñango H, Norris D, Alexander B, Feliciangeli MD, Lanzaro G 2003. The taxonomic status of genetically divergent populations of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) based on the distribution of mitochondrial and isozyme variation. *J of Med Entomol* 40: 615-627.
- Asford RW 2000. The Leishmaniases as emerging and reemergind zoonoses. *Inst J Parasito* 30: 1269-1281.
- Azevedo ACR, Monteiro FA, Cabello PH, Souza NA, Rosa-Freitas MG, Rangel EF 2000. Studies on populations of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phebotominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 305-322.
- Bauzer LGRS, Souza NA, Ward RD, Kyriacou CP, Peixoto AA 2002. The *period* gene and genetic diferentiation between three brazilian populations of *Lutzomyia longipalpis*. *Insecta Mol Bio* 11: 315-323.
- Bauzer LG, Souza NA, Maingon RD, Peixoto AA 2007. *Lutzomyia longipalpis* in Brazil: a complex or a single species? A mini-review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102:1-12.

- Bottecchia M, Oliveira SG, Bauzer LGRS, Souza NA, Ward RD, Garner KY, Kyriacou CP, Peixoto AA 2004. Genetic divergence in the *cacophony* IVS6 intron among five brazilian populations of *Lutzomyia longipalpis*. *Jornal Med Evol* 58: 754-761.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde 2006. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 1 ed. – Brasília : Editora do Ministério da Saúde, p.120.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde 2007. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 2 ed. – Brasília : Editora do Ministério da Saúde, p.182.
- Burkot TR, Goodman WG, Defoliart GR 1981. Identification of mosquito blood meals by enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Hyg* 30: 1336-1341.
- Camargo - Neves VLF de 2004. Aspectos epidemiológicos e avaliação das medidas de controle da leishmaniose visceral americana no Estado de São Paulo, Brasil. Doutorado na Faculdade de Saúde Pública/USP, 205 pp.
- Chagas E 1936. Primeira verificação em indivíduo vivo da leishmaniose visceral no Brasil. *Brasil Médico* 50: 221-222.
- Chagas E, Cunha AM, Ferreira LC, Deane L, Deane G, Guimaraes FN, Paumgarten MJ, Sá B 1938. Leishmaniose visceral americana (Relatório dos trabalhos realizados pela comissão encarregada do estudo da leishmaniose visceral americana em 1937. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 33: 189-229.
- Christensen HA, Alias JA, Vasquez AM, Freitas RA 1982. Hosts of sandfly vectors of *Leishmania brasiliensis gyanensis* in the Central Amazon in Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 31: 239-242.

- De Queiroz Balbino V, Coutinho-Abreu IV, Sonoda IV, Melo MA, De Andrade PP, De Castro JA, Rebelo JM, Carvalho SM, Ramalho-Ortigão M. 2006. Genetic structure of natural populations of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) from the Brazilian northeastern region. *Acta Trop* 98: 15-24.
- Deane LM 1956. Leishmaniose visceral no Brasil. Estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará. Rio de Janeiro, *Serviço Nacional de Educação Sanitária*.
- Deane LM, Deane MP 1954a. Infecção experimental de *Phlebotomus longipalpis* em caso humano de leishmaniose visceral. *O Hospital* 46: 487-489.
- Deane LM, Deane MP 1954b. Encontro de leishmânias nas vísceras e na pele de uma raposa, em zona endêmica de calazar, nos arredores de Sobral, Ceará. *Hospital (Rio de Janeiro)* 45: 419-421.
- Desjeux P 2001. The increase in risk factors for Leishmaniasis worldwide. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 95:239-243.
- Duarte R 1997. *Ensaio Imunoenzimático ELISA para identificação experimental de fontes alimentares em Panstrongylus megistus (Burmeister, 1835) (Hemiptera: Reduviidae)*, Dissertação de Mestrado. Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, 103 pp.
- Edrissian GH, Hafizi A 1982. Application of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to identification of *Anopheles* mosquito blood meals. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 76: 54-56.
- França-Silva JC 2003. Distribuição espacial e temporal da Leishmaniose Visceral Canina em relação à densidade vetorial e ao controle de cães infectados em Porteirinha, Minas Gerais, Brasil (1998-2002). Belo Horizonte. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.
- Genaro O 1993. Leishmaniose visceral canina experimental. Belo Horizonte. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.

- Gradoni L 1999. Epizootiology of canine L.sis in southern Europe. In: *Canine Leishmaniasis: an update. Proceedings of the International Canine L.sis. Forum* Barcelona, Spain; Ed. R. Killick-Kendrick, Wiesbaden: Hoechst Roussel Vet. P. 32-39.
- Grimaldi GJr, Momen H, Naiff RD, McMahon-Pratt D, Barret TV 1991 Characterization of classification of Leishmanial parasites from human, wild mammals, and sand flies in the Amazon Region of Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 44: 645-661.
- Grimaldi GJr, Tesh RB 1993. Leishmanises of the New World: current concepts and implications for future research. *Clin Microbiol Rev* 6: 230-250.
- Hamilton JGC, Maingon R, Alexander B, Ward R, Brazil RP 2005. Analysis of the sex phetomone extract of individual male *Lutzomyia longipalpis* from Jacobina, Brazil. *J Chem Ecol* 22: 1477-2340.
- Hodgkinson VH, Birungi J, Quintana M, Deitze R, Munstermann LE 2003. Mitochondrial cytochrome B variation in populations of the visceral L.sis vector *Lutzomyia longipalpis* across eastern Brazil. *Am J Trop Hyg* 69: 386-392.
- Lainson 1983. The American leishmaniasis: some observations on their ecology and epidemiology. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 77: 569-96.
- Lainson 1988. Demographic changes and their influence on the epidemiology of the american leishmaniasis. In: *Demography and vector-borne disease* - ed. M.W. Service - Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc, p.85-106.
- Lainson R, Ward RD, Shaw JJ 1977. Experimental transmission of *Leishmania chagasi* causative agente of neotropical visceral L.sis by the sand fly *Lutzomyia longipalpis*. *Nature* 266: 628-630.

- Lainson R, Shaw JJ 1979. The role of animals in the epidemiology of South American Leishmaniasis. In *Biology of Kinetoplastida*, 2. WHR Lumsden, DA Evans Eds. P. 1-116, Academic Press, London, New York & San Francisco.
- Lainson R, Shaw JJ, Ryan L, Rineiro RS, Silveira FT 1985. Leishmaniasis in Brazil. XXI Visceral L. is in the Amazon region and further observations on the role of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) as vector. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 79: 223-226.
- Lainson R, Dye C, Shaw JJ, Macdonald DW, Courtenay O, Souza AA, Silveira FT 1990. Amazonian visceral leishmaniasis-distribution of the vector *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) in relation to the fox *Cerdocyon thous* (linn.) and the efficiency of this reservoir host as a source of infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 85:135-7.
- Lainson R, Shaw JJ, Silveira FT, de Souza AA, Braga RR, Ishikawa EA 1994. The dermal leishmaniasis of Brazil, with special reference to the eco-epidemiology of the disease in Amazonia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 89:435-43.
- Lainson R, Shaw JJ 1998. New World Leishmaniasis the neotropical *Leishmania* species. In: Topley and Wilson's Collier L, Ballows A & Sussman M. (Eds) *Microbiology and Microbial Infections*. p. 241-266.
- Lainson R, Rangel EF 2003. *Lutzomyia longipalpis* e a eco-epidemiologia da leishmaniose visceral americana (LVA) no Brasil, In: Rangel EF e Lainson R (eds); *Flebotomínoes do Brasil*, Rio de Janeiro, Fiocruz, pp: 311-336.
- Lainson R, Rangel EF 2005. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100: 811-827.
- Lane R, Ward RD 1984. The morphology and possible function of abdominal patches in males of the two forms of the leishmaniasis vector *Lutzomyia longipalpis*. *Cah Orstom Ser Ent Med Parasit* 22: 245-249.

- Lane R, Phillips A, Molyneux DH, Procter G, Ward RD 1985. Chemical analysis of the abdominal glands of two forms of *Lutzomyia longipalpis*: site of a possible sex pheromone? *Ann Trop Med Parasitol*. 79: 225-229.
- Lanzaro GC, Ostrovska K, Herrero MV, Lawyer PG, Warburg A 1993. *Lutzomyia longipalpis* is a species complex: genetic divergent and interspecific hybrid sterility among three populations. *Am J Trop Med Hyg* 48: 839-847.
- Maingon RD, Ward RD, Hamilton JG, Bauzer LG, Peixoto AA 2008. The *Lutzomyia longipalpis* species complex: does population sub-structure matter to *Leishmania* transmission? *Trends Parasitol* 24: 12-17.
- Mangabeira Filho O 1969. Sobre a sistemática e biologia dos *Phebotomus* do Ceará. *Rev Bras Mal Doenc Trop* 21: 3-26.
- Marassá AM, Consales CA, Galati EAB 2004. Padronização da técnica imunoenzimática do ELISA de captura, no sistema avidina-biotina para a identificação de sangue ingerido por *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912). *Rev Soc Bras Med Trop* 37: 441-446.
- Marcondes CB 1996. A redescription of *Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) and resurrection on *Lutzomyia neivei* (Pinto, 1926) (Diptera: Psychodidae, Phebotominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 457-462.
- Miles R, Vexenat JA, Campos JHF, Castro JAF 1999. Canine Leishmaniasis in Latin American: control strategies for visceral Leishmaniasis. In: *Canine Leishmaniasis: an update. Proceedings of the International Canine Leishmaniasis. Forum* Barcelona, Spain; Ed. R. Killick-Kendrick, Wiesbaden: Hoechst Roussel Vet. P. 46-53.
- Missawa NA, Lima GB 2006. Spatial distribution of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) and *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) in the State of Mato Grosso. *Rev Soc Bras Med Trop* 39: 337-340.

- Morrison AC, Ferro C, Tesh RB 1993. Host preference of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* at an endemic focus of american visceral Leishmaniasis in Colômbia. *Am J Trop Med Hyg* 49: 68-75.
- Nery LCR, Lorosa ES, Franco, AMR 2004. Feeding preference of the sand flies *Lutzomyia umbratilis* and *Lutzomyia spathotrichia* (Diptera: Psychodidae, Phebotominae) in an urban forest patch in the city of Manaus, Amazonas, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 571-574.
- Ngumbi PM, Lawyer PG, Johnson RN, Kiilu G, Assiago C 1992. Identifications of phebotomine sandfly bloodmeals from Baringo district, Kenya, by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Med Vet Entomol* 6:385-388.
- Ogosuku E, Perez JE, Paz L, Nieto E, Monje J, Guerra H 1994. Identification of bloodmeal sources of *Leishmania* spp. in Peru. *Ann Trop Med and Parasitol* 88: 329-335.
- Oliveira SG, Bottecchia M, Bauzer LGSR, Souza NA, Ward RD, Kyriacou CP, Peixoto AA 2001. Courtship song genes and speciation in sand flies. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 403-405.
- Organização Mundial de Saúde 2008. Internet <http://www.who.ch>.
- Penna HA 1934. Leishmaniose visceral no Brasil. *Brasil-Médico*, 48: 949-950.
- Peters W, Killick-Kendrick R 1987. The *Leishmaniasis in Biology and Medicine*, London, Academic Press, v.I, 941pp.
- Pimenta FP, Nágila FC, Blanco EEN 2003. Interação Vetor-Hospedeiro. In: Rangel EF e Lainson R (edts); *Flebotomínoes do Brasil*, Rio de Janeiro, Fiocruz, pp: 275-289.
- Quinnell RJ, Dye C, Shaw JJ 1992 Host preference of the phebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Amazonian Brazil. *Med Vet Entom* 6: 195-200.

- Rangel, EF 1995. Transmission of American Cutaneous Leishmaniasis in peridomestic foci in Rio de Janeiro State and other similar situations compared to the classical epidemiology in Amazon region. *Tropical Disease, Society and the Environment*. Relatórios de Conferências 2: 103-110.
- Rangel EF, Azevedo ACR, Andrade CA, Souza NA, Wermwlinger ED 1990. Studies on sandfly fauna (Diptera: Psychodidae) in a focus of Cutaneous Leishmaniasis in Mesquita, Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 85: 39-45.
- Rangel EF, Lainson R, Souza AA, Ready P, Azevedo ACR 1996. Variation between geographical populations of *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) *sensu lato* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 91: 43-50.
- Rangel EF, Lainson R 2003. *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ. p.367.
- Ryan L, Phillips A, Milligan P, Lainson R, Molyneux DH, Shaw JJ 1986. Separation of female *Psychodopygus wellcomei* and *P. complexus* (Diptera, Psychodidae) by cuticular hydrocarbons. *Act Trop* 43: 11-16.
- Santos SO, Arias JR, Ribeiro AA, Hoffmann MP, Freitas RA, Malacco MAF 1998. Incrimination of *Lutzomyia (Lutzomyia) cruzi* as a vector of American Visceral Leishmaniasis. *Med and Vet Entomol* 12: 315-317.
- Santos SO, Arias JR, Hoffmann MP, Furian MBG, Ferreira WF, Pereira C, Ferreira L 2003. The presence of *Lutzomyia longipalpis* in a focus of American Visceral Leishmaniasis where the only proven vector is *Lutzomyia cruzi*. Corumbá, Mato Grosso do Sul State. *Rev Soc Bras Med Trop* 36: 633-634.

- Savage HM, Niebylski ML, Smith GC, Mitchell CJ, Craig-JR GBJ 1993. Host-feeding patterns of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) at a temperate North American site. *J Med Ent* 30: 27-34.
- Shaw JJ 1994. Taxonomy of the genus *Leishmania*: present and future trends and their implications. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 89: 471-478.
- Shaw JJ 2002. New world Leishmaniasis the ecology of Leishmaniasis and the diversity of Leishmanial species in Central and South América, p. 11-31. In Fanell, ed. World Class Parasites: 4 Kluwer Academic Publisher Boston, Dordrecht, London.
- Sherlock IA, Sherlock VC 1961. Sobre a infecção experimental de "*Phlebotomus longipalpis*" pela "*Leishmania donovani*". *Rev Bras Bio* 2: 409-418.
- Silveira FT, Ishikawa EAY, Souza AA, Lainson R 2002. NA outbreak of cutaneous leishmaniasis among soldiers in Belém, Pará State, Brazil. Caused by *Leishmania (Viannia) lindenbergi* sp. A new leishmanial parasite of man in the Amazon Region. *Parasite* 9: 43-50.
- Souza NA, Vigoder FM, Araki AS, Ward RD, Kyriacou CP, Peixoto AA 2004. Analysis of the copulatory courtship songs of *Lutzomyia longipalpis* in six populations from Brazil. *J Med Entomol* 41: 906-913.
- Tesh RB, Chaniotis BN, Aranson MD, Jahson KM 1971. Natural host preference of Panamanian phlebotomine sandflies as determined by precipitin test. *J Trop Med Hyg* 20: 150-156.
- Walters LL 1993. *Leishmania* differentiation in natural and unnatural sand fly hosts. *J Euk Microbiol* 40: 196-206.

- Walters LL, Modi GB, Tesh RB, Burrage T 1987. Host-parasite relationship of *Leishmania mexicana mexicana* and *Lutzomyia abonenci* (Diptera: Psychodidae). *Ann J Trop Med Hyg* 36: 294-314.
- Walters LL, Modi GB, Chaplin GL, Tesh RB 1989. Ultrastructural development of *Leishmania chagasi* in its vector, *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Am J Trop Med Hyg* 41:295-317.
- Walters LL, Irons KP, Modi GB, Tesh RB 1992. Refractory barriers in the sand fly, *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae). *Ann Trop Med Parasitol* 72: 269-276.
- Wash JF, Molyneus DH, Birley MH 1993. Infecção experimental de *Lutzomyia whitmani* em cães infectados com *Leishmania braziliensis braziliensis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 81: 125-126.
- Young DC, Duncan NA 1994. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sandflies in México, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Mem An Entomol Institut* 54: 1-881.

Objetivos

Objetivo Geral

Contribuir com o conhecimento sobre populações brasileiras de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*, o mais importante vetor do agente da Leishmaniose Visceral Americana, no Brasil.

Objetivos específicos

Comparar a morfologia e a morfometria de espécimes adultos (machos) de algumas populações de *Lutzomyia (L.) longipalpis*, procedentes dos Estados do Ceará, Piauí e Bahia.

Avaliar o grau de polimorfismo inter e/ou intrapopulacional das populações estudadas, promovendo a aplicação de testes estatísticos, nos dados obtidos na análise morfométrica.

Estudar os hábitos alimentares das populações supracitadas, aplicando a técnica imunoenzimática (ELISA).

Avaliar a associação de *Lutzomyia (L.) longipalpis* com os reservatórios de *Leishmania (L.) infantum chagasi*.

CAPÍTULO I

**ESTUDOS MORFOLÓGICOS E MORFOMÉTRICOS DE ALGUMAS POPULAÇÕES
DE *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (LUTZ & NEIVA, 1912) (DIPTERA:
PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE), PROCEDENTES DE ÁREAS ENDÊMICAS
DE LEISHMANIOSE VISCERAL NO NORDESTE DO BRASIL**

Introdução

Lutzomyia (L.) longipalpis (Lutz & Neiva 1912) é considerado o principal transmissor do agente etiológico da leishmaniose visceral americana (LVA), *Leishmania (L.) infantum chagasi* (Cunha & Chagas 1937), no Continente Americano (Deane, 1956, Lainson & Shaw 1998, Lainson & Rangel 2005). Esta espécie possui ampla distribuição no território brasileiro estendendo-se, também, a outros países da América do Sul, Central e do Norte (Young & Duncan 1994).

Considerando sua ocorrência em diferentes regiões do Brasil, Mangabeira (1969) comentou sobre a existência de barreiras geográficas que poderiam impedir a migração de populações desse flebotomíneo. Este autor levantou a hipótese de *L. (L.) longipalpis* ser um complexo de espécies crípticas com base em diferenças morfológicas observadas nos machos, ao comparar espécimes oriundos dos Estados do Pará (PA) e do Ceará (CE). Segundo este autor, espécimes do Pará apresentavam um par de manchas brancas no quarto tergito abdominal, enquanto que os do Ceará possuíam um par adicional no terceiro tergito. Mangabeira (1969) sugeriu que estas duas formas, por apresentarem diferenças morfológicas e ocuparem diferentes condições fisiogeográficas poderiam representar duas diferentes espécies. Estudos posteriores revelaram que a forma “duas-manchas” estaria concentrada no Nordeste, inclusive ocorrendo em simpatria em alguns estados, tais como Maranhão, Piauí, Ceará e Rio Grande do Norte (Ward et al. 1985, Ward et al. 1988, Young & Duncan 1994, Mukhopadhyay et al. 1998a).

Na tentativa de elucidar o verdadeiro *status* taxonômico de *L. (L.) longipalpis*, vários estudos vêm sendo desenvolvidos utilizando diferentes ferramentas, como genes mitocondriais, gene *period*, gene *cacophony*, isoenzimas, morfologia, morfometria, feromônios, som de corte, microsátélites, PCR-RAPD (Ribeiro et al. 1989, Lanzaro et al. 1993, Mukhopadyay et al. 1998b, Azevedo et al. 2000, Oliveira 2001, Bauzer et al. 2002, Arrivillaga et al. 2003, Hodgkinson et al. 2003, Maingon et al. 2003, Souza et al. 2004, Bottecchia et al. 2004, Hamilton et al. 2005, De Queiroz Balbino et al. 2006).

Alguns trabalhos demonstram claramente que, no Continente Americano, *L. (L.) longipalpis* é de fato um complexo de espécies, com a existência de quatro distintas populações, incluindo a primeira espécie descrita para o complexo “*longipalpis*”, *Lutzomyia pseudolongipalpis* (Arrivillaga e Feliciangeli 2001), com base na análise de

exemplares de Curarigua, na Venezuela. No Brasil, várias pesquisas sustentam a existência de uma única espécie, a espécie-tipo (conjunto de populações dos diferentes Estados) (Mutebi et al. 1999, 2002, Arrivilaga & Feliciangeli 2001, Arrivilaga et al. 2002, 2003, Azevedo et al. 2000, Hodgkinson et al. 2004, De Queiroz Balbino et al. 2006).

Contudo, em relação às populações brasileiras existem, ainda, posições conflitantes, já que alguns autores trabalham com a hipótese de haver, no Brasil, pelo menos, quatro diferentes espécies, especialmente no nordeste (Natal/RN, Jacobina/BA, Sobral/CE, população 1-par de manchas e população 2-pares de manchas) (Bauzer et al. 2002, Maingon et al. 2003, Souza et al. 2004).

A definição da posição taxonômica de *L. (L.) longipalpis*, no Brasil, tem merecido algumas considerações: as diferentes populações estudadas poderiam representar um início do processo de especiação, ao invés de espécies válidas para o complexo “*longipalpis*” (Bottecchia et al. 2004, Bauzer et al. 2007), ou, talvez, esta seria uma espécie altamente polimórfica e variável geograficamente, onde possivelmente não caberia a definição de complexo de espécies (Bauzer et al. 2002).

Mesmo sendo a morfologia clássica, a mais tradicional e uma das mais importantes ferramentas taxonômicas, tem sido pouco utilizada nos estudos relativos a *L. (L.) longipalpis* (Azevedo et al. 2000, Arrivillaga & Feliciangeli 2001).

Com o intuito de contribuir com a definição do *status* taxonômico de *L. (L.) longipalpis*, este artigo apresenta dados sobre a morfologia e a morfometria de algumas populações de algumas cidades do nordeste do Brasil; Teresina (PI), Jequié (BA), Sobral (CE) e Massapê (CE).

Materiais e Métodos

Procedência dos espécimes

Os flebotomíneos foram coletados, em área rural, nos municípios de Jequié (BA), Sobral e Massapê (CE), e na periferia de Teresina (PI) (Figura 1). A escolha destes municípios levou em conta a classificação em relação à transmissão de LVA, sendo escolhidos dois municípios com transmissão intensa alta (aqueles que apresentam a média de casos humanos dos últimos três anos superior a 55), Teresina e Sobral, um município com transmissão intensa média (média de casos humanos nos últimos três

anos entre 18 e 55), Jequié, e um município de transmissão esporádica, Massapê (classificação segundo a nova proposta do Programa Nacional de Leishmanioses, de categorização dos municípios priorizando áreas onde as ações de controle devem ser intensificadas).

As coletas foram realizadas em março de 2006, no município de Teresina, em julho e setembro de 2007, no município de Jequié, e em setembro de 2007, nos municípios de Sobral e Massapê.

Descrição das áreas de coletas

Jequié (BA): localiza-se a 360 km da cidade de Salvador, ao sudoeste da Bahia. Possui como coordenadas 13°51'50" de latitude sul e 40°04'54" de longitude oeste, altitude de 216m e área em torno de 3.313km². Sua temperatura varia entre 13°C e 36°C, possuindo clima semi-árido. Situa-se numa área de transição entre mata e caatinga árida, apresenta paisagens contrastantes em sua vegetação: caatinga, mata de cipó e mata tropical (<http://www.jequie.ba.gov.br/index.php>).

Teresina (PI): localiza-se no nordeste do Estado do Piauí e possui coordenadas entre 2°44'49" e 10°55'05" de latitude sul e 40°22'12" e 45°59'42" de longitude oeste, altitude de 880m e área em torno de 252.378km². Sua temperatura varia entre 18°C e 39°C, possui clima tropical. A cobertura vegetal se apresenta como caatinga e cerrado (<http://www.pi.gov.br/index.php>).

Sobral (CE): localiza-se na região norte do Estado do Ceará, a 235km da cidade de Fortaleza, entre as águas do Rio Acaraú e a Serra da Meruoca. Possui como coordenadas 3°42'47" de latitude sul e 40°20'10" de longitude oeste, altitude de 70m e área aproximada de 2.129km². Apresenta temperatura média, em torno de 30°C, clima semi-árido; a vegetação é do tipo caatinga (<http://www.sobral.ce.gov.br/cidade/sobral.htm>).

Massapê (CE): localiza-se na região norte do Estado do Ceará, vizinho ao município de Sobral. Possui como coordenadas 3°42'44" de latitude sul e 40°23'56" de longitude oeste e cobre uma área em torno de 571,531km². Sua temperatura varia entre 26°C e

28°C, possui clima semi-árido quente, mantendo a vegetação típica da região, a caatinga (<http://pt.wikipedia.org/wiki/Massap%C3%AA>).

Coletas e processamento

Os flebotomíneos foram capturados com o uso de armadilhas luminosas do tipo CDC (Sudia & Chamberlain 1962), modificada (modelo HP, HP Biomedical, Pugedo et al. 2005), e armadilha de Shannon (Shannon 1939). Nesta os flebotomíneos foram coletados com o auxílio do aspirador manual de Castro (Castro 1939). As armadilhas luminosas foram instaladas no período das 18:00h às 06:00h e as coletas com a armadilha de Shannon ocorreram entre 18:00h e 22:00h. Em cada localidade escolhida foram selecionados pelo menos três diferentes pontos de coleta, que possuíam no mínimo 300 metros de distância entre si. As coletas foram realizadas no domicílio e no peridomicílio, próximo aos abrigos de animais domésticos, até uma distância máxima de 50m.

Os flebotomíneos foram transportados vivos até o laboratório (Núcleos de Entomologia dos municípios), em gaiolas de náilon presas a armações de ferro, envoltas por sacos plásticos, acondicionadas em caixas térmicas, e uma vez contidos no aspirador manual de Castro, foram mortos por congelamento, sendo os machos fixados em álcool 70% e enviados para o Laboratório de Transmissores de Leishmanioses, do Instituto Oswaldo Cruz. A seguir, passaram por uma bateria de substâncias para que suas estruturas fossem diafanizadas (clarificação), permitindo posterior observação. Durante o processo de clarificação, os espécimes foram transferidos para uma placa contendo fenol, durante vinte e quatro horas; hidróxido de potássio (KOH) à 15%, durante doze horas; ácido acético à 10%, durante dez minutos, e uma série de álcool a 70%, 80%, 95% e absoluto, durante dez minutos cada. Após a diafanização, os exemplares foram imersos em eugenol e, em seguida, montados entre lâmina e lamínula, em Bálsamo do Canadá (Galati 1990) com modificações: não foi acrescentada fuccina ácida ao ácido acético, e o creosoto de Faya foi substituído por Eugenol. A montagem dos exemplares foi realizada em microscópio estereoscópico (Carl Zeiss) da seguinte forma: cabeça dissecada e colocada na posição dorsal, tórax e abdômen mantidos lateralmente.

Após a montagem, os caracteres a serem analisados foram observados em microscópio de luz (Zeiss Germany Axioskop), com o auxílio de retículo micrométrico (referência 474066-9901-000 modelo Crossline micrometer 10:100, d=26 mm, Carl

Zeiss). O modelo padrão para medir os caracteres foi o adotado pela Lista analítica de las variables y sus modalidades (Dedet & Torrez1992).

Caracteres analisados

Foram analisados os caracteres morfológicos e morfométricos de cinquenta machos, de cada população estudada. Nas populações provenientes do Ceará (Sobral e Massapê) foram analisados 100 exemplares, de cada, sendo 50 machos que apresentavam um par de manchas abdominais e 50 machos com dois pares de manchas abdominais. A terminologia utilizada foi a proposta por Young & Duncan (1994).

Foram analisados os caracteres morfológicos e morfométricos, num total de 21, previamente apontados na distinção entre populações brasileiras de *L. (L.) longipalpis* (Azevedo et al. 2000) (Figuras 2 à 6):

- comprimento da cabeça;
- comprimento do labroepifaringe;
- comprimento do segmento F1 da antena;
- comprimento do segmento F2 da antena;
- comprimento do segmento F13 da antena;
- comprimento do segmento F14 da antena;
- comprimento do primeiro segmento do palpo;
- comprimento do segundo segmento do palpo;
- comprimento do terceiro segmento do palpo;
- comprimento do quarto segmento do palpo;
- comprimento do quinto segmento do palpo;
- fórmula dos palpos;
- comprimento da quinta veia radial da asa;
- comprimento da veia gama da asa;
- comprimento do fêmur anterior;
- comprimento da tíbia anterior;
- comprimento do tarsômero anterior;
- comprimento do lobo lateral;
- comprimento do dististilo;
- comprimento do filamento genital;
- número de manchas abdominais.

Análise dos dados

Foram aplicados dois testes paramétricos, o Student–Newman-Keuls (SNK), que permite discriminar qual (ou quais) amostra (s) é (são) considerada(s) diferente(s), e o teste ANOVA, que agrupa populações a partir da sua similaridade. Os testes foram realizados utilizando-se o programa “SPSS for Windows” versão 10,0, a um nível de significância de 5%.

Os resultados obtidos no teste SNK foram representados através de gráficos, similares aos diagramas de Euler-Venn. Os diagramas de Euler-Venn podem representar conjuntos finitos através de um recinto plano delimitado por uma linha fechada não entrelaçada, inscrito num quadrado ou retângulo. Nesses diagramas, os elementos do conjunto são representados por pontos internos ao recinto, e elementos que não pertencem ao conjunto são representados por pontos externos ao mesmo recinto (Abe & Papavero 1991).

A partir das médias dos caracteres, foi produzida uma matriz de dados binários, utilizada na análise computadorizada; a partir de então, foi empregado o método UPGMA (Sokal & Sneath 1963). Os agrupamentos foram feitos pelo programa computacional Tools for Population Genetic Analyses-TFPGA versão 1.3 (Miller 1997); o método Taylor Expansion (Lynch & Milligan 1994) foi utilizado para o cálculo de variação interpopulacional e da distância genética, segundo Roger (1972) modificado por Wright (1978). O dendograma foi gerado considerando os resultados por *bootstrap* com 10.000 permutações conduzidas.

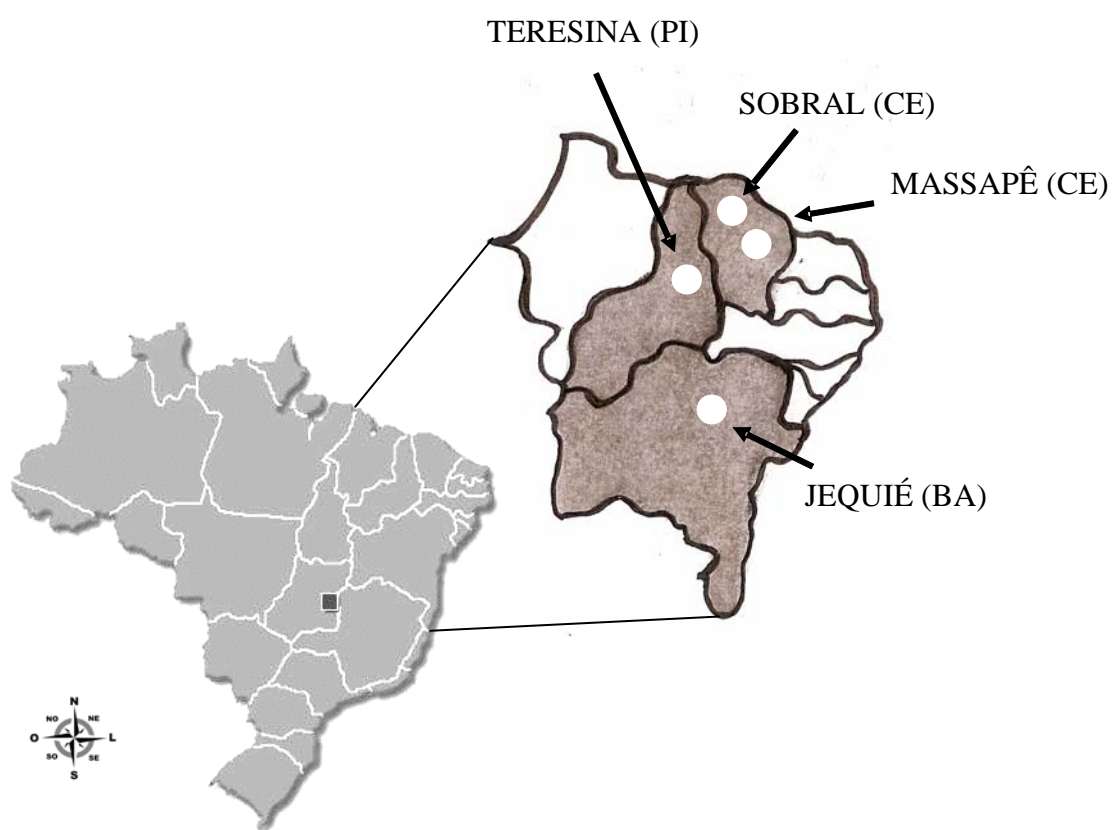


Figura. 1. Locais de coletas das populações de *Lutzomyia (L.) longipalpis* estudadas.

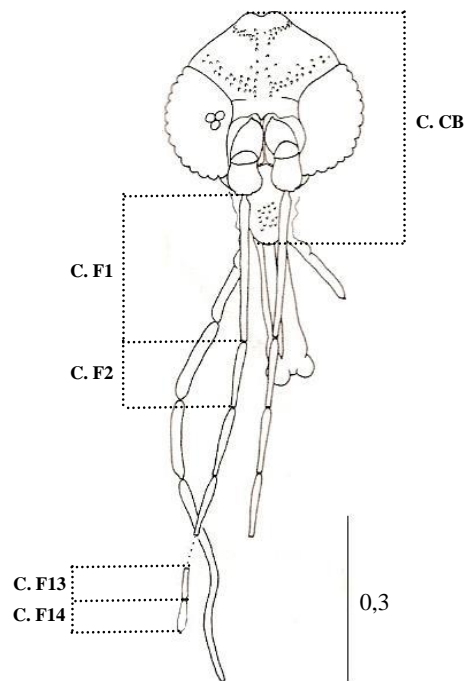


Figura 2. Desenho esquemático dos caracteres morfológicos da cabeça do macho de *Lutzomyia (L.) longipalpis* (Young & Duncan 1994, com modificações).
 C.CB – comprimento da cabeça, C. F1 – comprimento do segmento F1 da antena, C. F2 – comprimento do segmento F2 da antena, C. F13 – comprimento do segmento F13 da antena, C. F14 – comprimento do segmento F14 da antena.

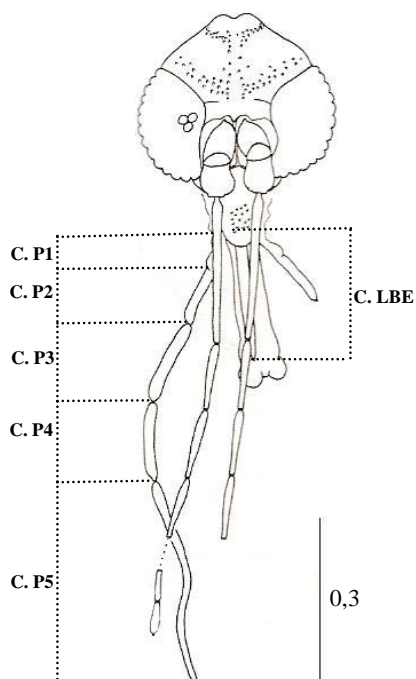


Figura 3. Desenho esquemático dos caracteres morfológicos da cabeça do macho de *Lutzomyia (L.) longipalpis* (Young & Duncan 1994, com modificações).
 C. LBE – comprimento do labroepifarynx, C. P1 – comprimento do primeiro segmento do palpo, C. P2 – comprimento do segundo segmento do palpo, C. P3 – comprimento do terceiro segmento do palpo, C. P4 – comprimento do quarto segmento do palpo, C. P5 – comprimento do quinto segmento do palpo.

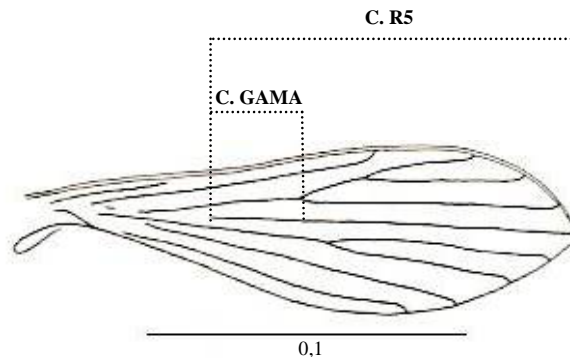


Figura 4. Desenho esquemático dos caracteres morfológicos da asa do macho de *Lutzomyia (L.) longipalpis* (Young & Duncan 1994).
C. R5 – comprimento da quinta veia radial, C. GAMA – comprimento da veia gama.

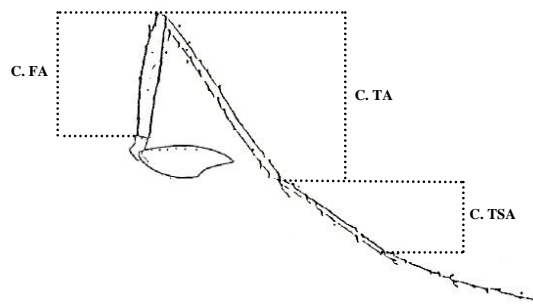


Figura 5. Desenho esquemático dos caracteres morfológicos da pata do macho de *Lutzomyia (L.) longipalpis* (Dedet & Torrez 1992).
C. FA – comprimento do fêmur anterior, C. TA – comprimento da tíbia anterior, C. TSA – comprimento do tarsômero anterior.

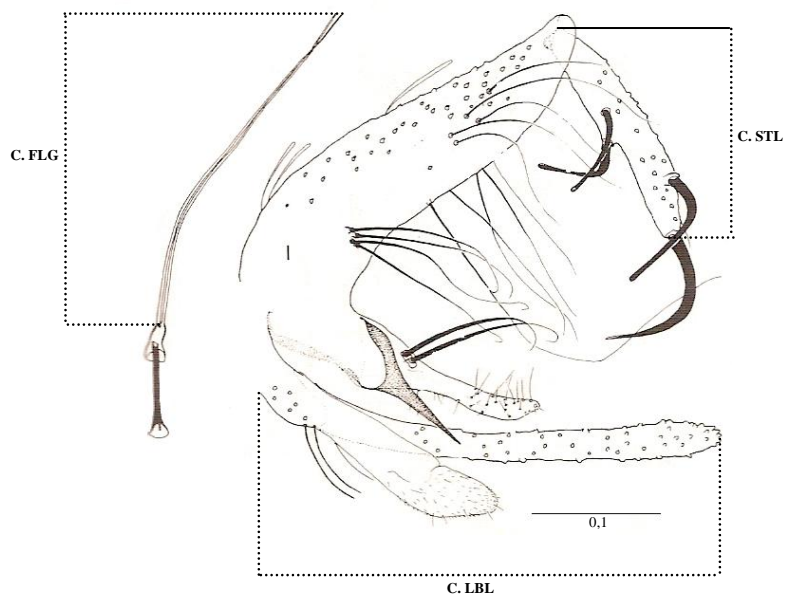


Figura 6. Desenho esquemático dos caracteres morfológicos da genitália do macho de *Lutzomyia (L.) longipalpis* (Young & Duncan 1994).
C. FLG – comprimento do filamento genital, C. STL – comprimento do dististilo, C. LBL – comprimento do lobo lateral.

Resultados

Morfologia

Nas seis populações analisadas foram encontrados exemplares com 1 par e 2 pares de manchas abdominais, havendo sempre a predominância de machos da forma “um-par”. Na população de Jequié, foram encontrados apenas 3 machos com dois pares de manchas, enquanto que na de Teresina foram encontrados 6 machos com tal característica. As populações provenientes do Ceará, Sobral e Massapê, foram previamente separadas segundo a característica das manchas (Sobral 1P, Sobral 2P, Massapê 1P, Massapê 2P), uma vez que existem evidências associando o padrão de manchas com possíveis espécies do complexo “*longipalpis*”. Foi observado, durante o processo de triagem dos exemplares, tal como nas outras populações, o domínio da forma “um-par”.

Em relação à fórmula palpal, a proporção mais frequente foi 1.2.4.3.5; outras duas fórmulas, também, foram observadas, ainda que em poucos exemplares, 1.4.2.3.5 e 1.(2.4).3.5. Excetuando-se as populações de Massapê, as demais apresentaram as três variações palpais.(Tabela 1).

Morfometria

As Tabelas de 2 a 7 apresentam os valores obtidos nas diferentes populações, após medição dos caracteres, ilustrados na Figura 7. Alguns deles não foram possíveis de serem medidos em todos os exemplares analisados, pela perda ao longo do processo de clarificação/diafanização e montagem.

A aplicação do teste ANOVA, comparando as seis populações, mostrou diferença significativa para todos os caracteres (Tabela 8). A análise da variância de cada caráter indicou que as populações de Massapê (1P e 2P) são mais homogêneas enquanto que a população de Teresina seguida de Jequié são mais heterogêneas.

Quando o teste ANOVA foi aplicado, a fim de comparar as populações duas a duas, num total de 15 combinações (Tabela 9), os dados evidenciaram que nas populações de Massapê, com 1 e 2 pares de manchas abdominais, não foi encontrada diferença significativa para nenhum caráter, indicando que as médias dos caracteres

analisados são estatisticamente iguais. Quando comparadas as populações de Sobral, S1P e S2P, foram observadas diferenças significativas em apenas seis caracteres (comprimento da cabeça, comprimento do segmento F13 da antena, comprimento da veia gama da asa, comprimento do fêmur anterior, comprimento da tíbia anterior e comprimento do dististilo). Ainda, no cruzamento apenas entre as populações do Ceará (S1P, S2P, M1P e M2P) foram detectadas poucas diferenças significativas, contrariamente quando tais populações foram comparadas as de Teresina e Jequié.

Na comparação entre a população de Jequié e Teresina, 32% dos caracteres mostraram-se estatisticamente diferentes, já entre a população de Jequié e as populações do Ceará (Massapê e Sobral), pode-se observar que 79 a 95% dos caracteres revelavam diferenças significativas separando a população de Jequié das demais.

A aplicação do teste de Student-Newman-Keuls (SNK) para os caracteres, foi com a finalidade de detectar possível heterogeneidade inter-populacional. Os resultados obtidos neste teste estão representados graficamente pelos diagramas de Euler-Venn (Figuras 8 à 10).

Através do teste de Student-Newman-Keuls foram encontradas uniões, disjunções e intersecções entre as populações analisadas.

Os espécimes procedentes do município de Jequié e Massapê, M1P foram os que apresentaram valores extremos com as maiores e menores médias, respectivamente.

Foi possível observar que as populações de Jequié e Teresina formavam um conjunto disjunto daqueles formados pelas populações do Ceará, com base na análise de 6 caracteres (32%) (comprimento do segmento F1 da antena, comprimento do segmento F2 da antena, comprimento do primeiro segmento do palpo, comprimento da veia gama da asa, comprimento do fêmur anterior e comprimento do tarsômero anterior).

Também foi observada disjunção, em relação à população de Jequié e as demais, considerando 7 caracteres (37%) (comprimento do labroepigaringe, comprimento do segundo segmento do palpo, comprimento do terceiro segmento do palpo, comprimento do quarto segmento do palpo, comprimento do quinto segmento do palpo, comprimento da quinta veia radial da asa e comprimento da tíbia anterior).

Quanto às populações do Ceará, observou-se união entre as populações de Sobral (S1P e S2P) ficando agrupadas em 16 dos 19 caracteres, com exceção de: comprimento do segmento F3 da antena, comprimento do fêmur anterior e comprimento da tíbia anterior. Nas populações de Massapê (M1P e M2P) observou-se união para todos os caracteres.

O dendograma demonstrou que as populações do Ceará (S1P, S2P, M1P e M2P) constituem um ramo isolado, separado das demais populações (Teresina, Jequié), com um nível de confiança de 100% (*bootstrap*), que apresentam uma menor distância genética entre si e formou conseqüentemente um único grupo, contudo com um valor de *bootstrap* de 53%, entre Teresina e Jequié. Considerando apenas as populações de Sobral, observa-se que S1P e S2P se apresentam como ramos isolados, com *bootstrap* de 53%. As populações de Massapê (M1P e M2P) não apresentaram diferença significativa, sustentada por 100% de *bootstrap* (Figura 11).

Tabela 1: Variação na fórmula palpal dos machos das populações de *Lutzomyia (L.) longipalpis* estudadas.

Fórmula Palpal	Jequié	Teresina	Sobral 1P	Sobral 2P	Massapê 1P	Massapê 2P
1.2.4.3.5	44	40	42	45	50	48
1.4.2.3.5	4	2	4	1	-	-
1. (2.4).3.5	2	8	4	4	-	2

Sobral1P – Sobral (CE) com 1 par de manchas abdominais, Sobral2P – Sobral (CE) com 2 pares de manchas abdominais, Massapê1P – Massapê (CE) com 1 par de manchas abdominais, Massapê2P – Massapê (CE) com 2 pares de manchas abdominais.

Tabela 2. Medidas, em µm, dos caracteres da cabeça, tórax e abdome dos machos de *Lutzomyia (L.) longipalpis* provenientes do município de Jequié (BA).

	C. CB	C. LBE	C. F1	C. F2	C. F13	C. F14	C. P1	C. P2	C. P3	C. P4	C. P5	F. P	C. R5	C. GAM A	C. FA	C. TA	C. TSA	C. LBL	C. STL	C. FLG	P. M	CH
1	420	250	275	125	50	70	50	110	175	150	450	1.2.4.3.5	1300	400	760	850	450	400	200	350	1	
2	390	250	250	120	50	65	40	125	150	150	425	1.2.4.3.5	1200	370	700	840	400	350	200	400	1	
3	400	275	250	125	55	60	50	140	160	150	460	1.2.4.3.5	1300	400	740	790	450	350	190	430	1	
4	400	260	250	120	50	60	50	200	250	225	500	1.2.4.3.5	1200	400	700	750	450	400	175	375	1	
5	425	300	272	125	-	-	50	145	160	150	450	1.2.4.3.5	1350	400	800	850	450	400	160	400	2	
6	425	285	300	135	50	65	50	135	175	150	425	1.2.4.3.5	1400	400	800	900	500	400	160	400	1	
7	425	300	300	250	50	70	45	150	175	150	450	1.4.2.3.5	1420	420	800	880	460	400	210	500	1	
8	400	275	280	225	50	60	50	200	225	200	450	1.(2.4).3.5	1350	450	750	800	450	360	200	450	1	
9	375	250	265	150	50	60	50	100	150	135	375	1.2.4.3.5	1180	410	690	730	420	400	185	375	2	
10	400	285	250	125	50	65	50	125	150	140	400	1.2.4.3.5	1190	400	700	750	440	350	180	350	1	
11	400	260	250	135	40	65	40	100	150	135	350	1.2.4.3.5	1250	350	720	800	400	400	150	350	1	
12	350	250	250	125	65	50	50	125	150	125	400	1.(2.4).3.5	1230	410	700	750	410	350	170	350	1	
13	425	275	275	125	50	65	40	125	150	140	375	1.2.4.3.5	1340	390	800	840	440	400	190	325	1	
14	400	275	275	125	40	55	40	125	150	140	-	1.2.4.3.5	1290	390	750	800	450	350	150	325	1	
15	400	275	275	115	40	65	40	115	150	140	375	1.2.4.3.5	1240	350	750	790	440	375	175	375	2	
16	400	275	250	125	40	65	40	125	150	135	400	1.2.4.3.5	1220	350	700	760	430	375	175	325	1	
17	435	300	300	135	50	75	40	150	175	135	475	1.4.2.3.5	1400	380	750	900	490	385	195	350	1	
18	425	300	275	125	50	75	50	150	185	160	465	1.2.4.3.5	1450	450	800	850	450	375	185	400	1	
19	385	260	180	125	50	65	40	125	150	140	400	1.2.4.3.5	1250	350	700	790	400	375	175	350	1	
20	415	275	300	125	50	65	40	125	175	150	450	1.2.4.3.5	1200	350	750	840	440	375	175	325	1	
21	415	300	285	130	50	65	35	135	175	125	425	1.4.2.3.5	1360	500	790	890	470	415	200	350	1	
22	340	255	275	130	50	65	50	115	160	135	365	1.2.4.3.5	1300	390	690	800	440	400	175	325	1	
23	445	310	325	150	50	75	50	160	190	150	500	1.4.2.3.5	1500	400	840	850	500	400	200	350	1	
24	390	275	275	125	50	65	40	130	140	125	450	1.2.4.3.5	1250	350	700	810	450	350	185	350	1	
25	400	275	275	125	40	65	50	115	150	140	375	1.2.4.3.5	1310	390	700	800	440	390	200	425	1	
26	435	300	285	130	50	65	40	135	165	145	450	1.2.4.3.5	1450	500	760	850	460	400	185	450	1	
27	385	275	275	125	50	65	50	125	160	150	425	1.2.4.3.5	1250	350	720	800	440	360	175	400	1	
28	415	275	275	135	50	65	50	115	175	160	460	1.2.4.3.5	1430	400	800	850	450	400	185	425	1	
29	420	275	275	125	-	-	40	150	175	160	400	1.2.4.3.5	1350	400	800	860	460	375	190	425	1	
30	365	250	260	115	40	65	50	115	150	140	400	1.2.4.3.5	1200	350	700	760	450	350	175	400	1	
31	415	285	275	140	50	60	50	125	150	135	400	1.2.4.3.5	1300	350	740	800	440	375	190	425	1	
32	400	250	250	125	50	65	40	125	160	140	400	1.2.4.3.5	1320	390	700	800	450	375	175	350	1	
33	350	275	290	125	-	-	40	110	160	150	385	1.2.4.3.5	1230	350	700	730	430	425	185	400	1	
34	450	275	275	125	50	65	50	115	150	140	375	1.2.4.3.5	1200	450	680	700	400	350	175	400	1	
35	385	275	235	115	50	65	50	125	160	140	385	1.2.4.3.5	1180	460	680	760	440	375	175	425	1	
36	365	250	275	125	50	65	40	125	150	140	425	1.2.4.3.5	1290	350	650	760	410	350	140	325	1	
37	400	275	280	135	50	60	40	125	165	150	425	1.2.4.3.5	1300	400	750	850	450	400	185	400	1	
38	415	275	275	135	50	65	40	135	175	150	500	1.2.4.3.5	1420	400	750	850	450	425	175	350	1	
39	425	285	290	140	50	75	40	125	175	150	475	1.2.4.3.5	1380	380	800	880	480	375	160	375	1	
40	390	275	315	125	50	65	40	135	150	140	400	1.2.4.3.5	1270	360	710	810	450	350	175	375	1	
41	450	285	290	140	50	65	50	130	175	165	425	1.2.4.3.5	1310	400	810	900	450	400	200	425	1	
42	375	275	250	115	50	65	40	115	150	125	390	1.2.4.3.5	1230	330	700	800	440	385	175	400	1	
43	410	275	300	125	50	65	50	125	160	150	425	1.2.4.3.5	1320	390	740	800	440	335	125	350	1	
44	390	250	250	115	50	65	35	125	150	135	350	1.2.4.3.5	1170	320	650	740	420	350	160	375	1	
45	400	275	250	125	50	75	50	140	165	150	475	1.2.4.3.5	1400	450	750	800	440	375	165	400	1	
46	400	250	300	150	50	80	35	140	160	150	425	1.2.4.3.5	1300	350	740	840	460	385	200	350	1	
47	425	300	285	135	50	65	50	125	165	150	425	1.2.4.3.5	1340	390	790	900	490	425	175	450	1	
48	415	300	285	135	50	75	40	125	160	150	400	1.2.4.3.5	1350	400	800	850	490	425	175	400	1	
49	410	250	225	100	-	-	40	100	150	140	350	1.2.4.3.5	1150	300	650	700	400	350	165	350	1	
50	385	250	260	115	50	65	40	125	150	135	385	1.2.4.3.5	1250	390	700	840	450	350	185	425	1	

Tabela 3. Medidas, em μm , dos caracteres da cabeça, tórax e abdome dos machos de *Lutzomyia (L.) longipalpis* provenientes do município de Teresina (PI).

	C. CB	C. LBE	C. F1	C. F2	C. F13	C. F14	C. P1	C. P2	C. P3	C. P4	C. P5	F. P	C. R5	C. GAMA	C. FA	C. TA	C. TSA	C. LBL	C. STL	C. FLG	P.	MCH
1	375	225	275	125	35	50	40	125	150	115	325	1.2.4.3.5	1200	400	-	-	-	400	175	375	1	1
2	420	275	275	225	50	60	40	100	135	125	400	1.2.4.3.5	1250	400	-	-	-	400	200	350	1	1
3	420	225	295	125	50	65	50	125	170	150	350	1.2.4.3.5	1300	400	750	820	450	400	170	450	1	1
4	400	280	275	125	50	60	40	125	150	140	375	1.2.4.3.5	1200	300	750	800	450	400	190	500	2	2
5	425	275	300	140	50	60	50	160	180	150	425	1.4.2.3.5	1300	400	750	800	450	400	200	450	2	2
6	375	275	260	125	40	60	60	100	150	125	400	1.2.4.3.5	1250	400	700	800	420	400	200	350	2	2
7	390	225	250	135	50	75	50	100	150	125	375	1.2.4.3.5	1150	350	700	780	430	350	200	300	2	2
8	380	250	260	125	40	60	40	125	150	140	375	1.2.4.3.5	1150	450	690	780	440	400	170	350	1	1
9	400	260	280	250	50	70	40	125	150	135	400	1.2.4.3.5	1250	350	690	740	450	400	200	400	1	1
10	390	260	275	125	50	50	50	125	150	125	350	1.(2.4).3.5	1225	425	700	790	450	400	190	400	1	1
11	380	250	250	120	50	50	40	110	175	150	375	1.2.4.3.5	1230	330	700	750	450	350	180	390	1	1
12	425	225	220	120	50	60	30	125	175	150	425	1.2.4.3.5	1240	350	700	775	450	400	180	350	2	2
13	415	275	275	125	50	65	40	125	175	175	375	1.2.4.3.5	1300	350	750	840	450	350	190	425	1	1
14	390	300	280	115	50	65	50	135	165	140	450	1.2.4.3.5	1440	370	750	890	440	375	180	325	1	1
15	425	300	275	135	50	65	50	140	175	150	475	1.2.4.3.5	1350	440	790	840	470	350	175	400	1	1
16	400	250	265	185	50	65	50	125	150	160	465	1.2.4.3.5	1290	390	700	840	450	375	185	375	1	1
17	390	300	265	125	50	75	50	125	165	135	400	1.2.4.3.5	1240	350	700	800	450	400	175	325	1	1
18	425	300	300	150	60	65	50	150	175	160	500	1.2.4.3.5	1450	350	850	900	500	425	200	450	1	1
19	410	275	285	125	50	65	50	125	165	175	425	1.2.4.3.5	1350	400	750	800	450	375	175	350	1	1
20	350	250	260	115	50	65	40	135	150	135	425	1.(2.4).3.5	1210	410	740	790	440	375	175	450	1	1
21	400	250	300	125	50	65	50	135	150	140	400	1.2.4.3.5	1250	350	700	720	450	375	175	415	1	1
22	380	250	265	125	40	65	40	125	150	135	425	1.2.4.3.5	1250	400	710	780	420	375	175	400	1	1
23	450	300	300	135	40	65	50	115	150	135	425	1.2.4.3.5	1350	350	790	850	480	400	190	385	1	1
24	400	300	275	115	50	65	40	125	175	125	325	1.(2.4).3.5	1250	450	750	800	450	450	175	425	1	1
25	415	225	275	125	50	65	50	125	150	125	400	1.(2.4).3.5	1280	380	750	800	450	375	160	375	1	1
26	385	260	260	125	50	65	50	115	150	140	400	1.2.4.3.5	1200	350	680	740	440	350	175	375	1	1
27	400	260	250	140	50	65	50	125	160	175	400	1.2.4.3.5	1250	450	700	780	390	375	200	415	1	1
28	375	250	250	125	50	65	50	115	160	140	375	1.2.4.3.5	1200	450	690	730	420	375	175	375	1	1
29	385	275	275	125	-	-	50	110	150	150	350	1.2.4.3.5	1240	350	750	810	450	400	175	375	1	1
30	400	275	265	100	50	65	50	125	150	125	400	1.(2.4).3.5	1200	350	700	750	450	375	175	375	1	1
31	425	275	285	125	-	-	50	125	160	140	415	1.2.4.3.5	1300	400	780	850	410	400	180	375	1	1
32	415	275	275	125	50	65	50	115	150	150	350	1.2.4.3.5	1310	400	800	850	430	375	185	350	1	1
33	390	250	250	125	-	-	40	115	150	125	325	1.2.4.3.5	1310	460	700	740	400	350	175	350	1	1
34	400	275	265	125	50	75	35	125	175	135	375	1.2.4.3.5	1210	300	740	790	410	360	175	335	1	1
35	375	250	250	115	50	65	40	115	150	135	400	1.2.4.3.5	1175	425	750	800	450	350	190	300	1	1
36	410	275	275	125	50	60	50	135	165	150	425	1.2.4.3.5	1250	350	750	800	440	400	185	400	1	1
37	425	300	275	125	50	65	50	125	165	125	425	1.2.4.3.5	1320	350	790	850	450	375	175	400	1	1
38	415	250	260	135	50	75	50	125	135	125	375	1.(2.4).3.5	1200	350	700	760	400	375	175	400	1	1
39	400	260	275	125	40	65	40	125	175	125	375	1.(2.4).3.5	1240	400	700	800	450	375	165	325	1	1
40	415	300	300	125	40	50	40	140	150	125	325	1.4.2.3.5	1320	410	760	800	500	400	190	375	1	1
41	400	275	225	110	40	50	60	125	160	150	375	1.2.4.3.5	1200	300	700	700	420	375	185	350	1	1
42	400	275	285	125	40	50	40	115	175	140	375	1.2.4.3.5	1200	350	720	800	450	375	175	350	1	1
43	385	250	275	125	40	65	50	125	150	135	300	1.2.4.3.5	1200	350	690	790	450	375	175	325	1	1
44	325	250	250	115	40	50	40	125	140	125	350	1.(2.4).3.5	1200	350	650	700	400	350	175	350	1	1
45	350	250	275	125	35	50	35	115	150	140	375	1.2.4.3.5	1240	340	700	750	420	375	175	325	2	2
46	390	275	250	125	50	65	50	125	150	135	365	1.2.4.3.5	1380	400	690	780	410	375	175	300	1	1
47	390	250	250	125	50	60	30	115	175	125	300	1.2.4.3.5	1200	350	750	790	430	375	185	350	1	1
48	425	275	275	135	50	65	50	125	140	135	400	1.2.4.3.5	1250	350	750	790	450	375	175	400	1	1
49	410	250	250	125	50	65	40	115	150	140	400	1.2.4.3.5	1200	300	700	720	450	375	175	325	1	1
50	400	275	275	135	40	65	40	125	150	140	400	1.2.4.3.5	1300	400	750	880	480	400	175	425	1	1

Tabela 4. Medidas, em μm , dos caracteres da cabeça, tórax e abdome dos machos de *Lutzomyia (L.) longipalpis* provenientes do município de Sobral (CE), população com 1 par de manchas abdominais.

	C. CB	C. LBE	C. F1	C. F2	C. F13	C. F14	C. P1	C. P2	C. P3	C. P4	C. P5	F. P	C. R5	C. GAMA	C. FA	C. TA	C. TSA	C. LBL	C. STL	C. FLG	P. M	C. H
1	425	275	275	125	60	65	35	125	165	165	400	1.2.4.3.5	1200	400	800	900	500	375	190	425	1	
2	360	250	255	115	40	65	35	125	150	140	425	1.2.4.3.5	1150	350	750	800	400	400	175	350	1	
3	425	275	275	125	50	65	40	125	160	145	425	1.2.4.3.5	1400	500	700	850	450	375	200	375	1	
4	400	250	275	135	50	65	35	125	160	150	400	1.2.4.3.5	1200	300	800	850	450	355	150	360	1	
5	410	250	260	130	50	75	50	140	150	100	400	1.4.2.3.5	1150	350	850	900	500	400	200	400	1	
6	400	250	280	125	50	60	50	125	150	140	-	1.2.4.3.5	1200	300	740	800	440	400	200	400	1	
7	365	250	250	115	50	65	35	115	140	135	350	1.2.4.3.5	1150	350	650	720	410	400	175	450	1	
8	400	280	300	125	50	60	50	115	150	140	425	1.2.4.3.5	1250	350	750	840	450	390	210	325	1	
9	420	280	300	125	55	-	50	120	160	150	430	1.2.4.3.5	1300	400	650	850	420	400	200	410	1	
10	380	225	260	120	-	70	40	125	150	180	350	1.2.4.3.5	1100	300	650	710	400	300	175	325	1	
11	425	300	325	200	55	60	50	150	175	150	475	1.(2.4).3.5	1350	400	780	880	470	375	200	450	1	
12	385	250	250	145	50	60	35	115	150	125	425	1.2.4.3.5	1410	360	700	790	420	410	180	350	1	
13	400	275	275	125	-	70	40	125	150	125	300	1.4.2.3.5	1270	320	750	750	450	400	175	425	1	
14	360	250	260	125	50	-	35	125	125	125	375	1.(2.4).3.5	1225	425	670	750	400	375	175	350	1	
15	360	225	225	100	50	70	40	125	150	150	375	1.2.4.3.5	1230	350	620	640	400	375	175	300	1	
16	410	260	275	125	-	60	60	125	150	125	420	1.(2.4).3.5	1200	350	670	750	410	375	185	400	1	
17	420	275	275	125	50	70	40	125	175	150	450	1.2.4.3.5	1250	400	720	810	400	400	175	425	1	
18	425	275	280	125	50	65	40	125	175	140	440	1.2.4.3.5	1230	350	710	930	500	365	175	375	1	
19	400	250	275	115	50	65	40	125	150	125	-	1.(2.4).3.5	1260	310	720	800	400	375	175	375	1	
20	425	275	275	125	50	65	40	135	175	150	450	1.2.4.3.5	1310	410	800	850	460	400	175	375	1	
21	380	250	275	125	50	75	35	150	160	125	350	1.4.2.3.5	1250	350	700	750	420	400	150	325	1	
22	425	255	255	125	-	-	50	125	150	140	425	1.2.4.3.5	1330	380	690	790	430	400	190	350	1	
23	400	250	250	125	50	60	40	125	140	135	450	1.2.4.3.5	1250	350	700	800	450	350	165	400	1	
24	360	250	250	135	-	-	40	135	150	140	-	1.2.4.3.5	1190	340	680	700	400	400	145	400	1	
25	350	250	225	135	40	65	35	115	150	135	360	1.2.4.3.5	1100	300	700	740	390	400	125	400	1	
26	350	225	235	115	50	65	25	115	150	125	390	1.2.4.3.5	1050	300	650	700	400	350	175	350	1	
27	390	250	250	125	50	65	25	115	150	125	360	1.2.4.3.5	1210	360	700	760	400	390	185	400	1	
28	400	275	275	125	50	70	40	115	160	100	400	1.4.2.3.5	1290	390	750	790	410	375	185	425	1	
29	375	255	250	115	50	65	40	115	150	125	400	1.2.4.3.5	1190	390	700	750	400	400	175	350	1	
30	400	275	255	115	50	65	40	125	150	140	400	1.2.4.3.5	1270	320	700	740	400	365	185	450	1	
31	400	275	265	115	40	60	50	140	160	125	425	1.4.2.3.5	1260	360	740	790	440	385	175	425	1	
32	375	250	245	115	80	60	40	125	150	135	400	1.2.4.3.5	1130	330	700	760	400	390	175	375	1	
33	400	250	250	125	50	65	40	115	140	130	360	1.2.4.3.5	1120	400	700	720	400	400	175	375	1	
34	400	250	265	115	50	65	40	125	165	150	400	1.2.4.3.5	1280	350	680	750	400	400	175	425	1	
35	400	275	250	115	50	65	50	120	140	125	415	1.2.4.3.5	1210	350	700	720	400	450	185	450	1	
36	390	275	225	125	50	60	40	125	150	135	415	1.2.4.3.5	1150	350	600	730	420	350	175	400	1	
37	340	245	235	100	50	60	25	125	175	135	350	1.2.4.3.5	1140	320	640	700	390	400	175	425	1	
38	365	275	260	115	50	65	35	115	150	135	400	1.2.4.3.5	1180	350	680	750	400	400	175	375	1	
39	350	250	260	115	50	65	40	115	150	125	400	1.2.4.3.5	1200	350	680	750	410	400	175	425	1	
40	385	240	265	125	50	65	40	125	150	135	375	1.2.4.3.5	1230	350	700	740	400	425	175	425	1	
41	350	250	225	125	40	60	40	115	150	125	350	1.2.4.3.5	1230	340	640	740	400	350	160	400	1	
42	400	275	265	115	50	60	50	125	150	140	-	1.2.4.3.5	1300	450	740	750	400	400	175	450	1	
43	435	275	275	125	-	-	40	125	175	150	460	1.2.4.3.5	1320	400	760	780	430	400	185	500	1	
44	350	260	245	115	40	65	35	125	145	130	350	1.2.4.3.5	1100	340	650	740	390	425	175	400	1	
45	385	250	250	115	50	65	25	115	150	135	350	1.2.4.3.5	1140	340	660	740	390	400	175	425	1	
46	385	250	265	115	50	65	40	115	150	135	415	1.2.4.3.5	1150	300	650	750	400	410	175	425	1	
47	400	275	250	115	40	65	35	125	175	150	425	1.2.4.3.5	1240	350	740	790	440	400	175	425	1	
48	375	250	215	100	40	60	35	115	140	125	350	1.2.4.3.5	1140	340	650	700	390	425	175	400	1	
49	360	260	275	125	40	65	40	115	150	135	360	1.2.4.3.5	1220	340	660	700	400	425	175	425	1	
50	410	265	280	125	50	60	40	125	150	140	400	1.2.4.3.5	1310	450	740	780	420	450	175	450	1	

Tabela 5. Medidas, em μm , dos caracteres da cabeça, tórax e abdome dos machos de *Lutzomyia (L.) longipalpis* provenientes do município de Sobral (CE), população com 2 pares de manchas abdominais.

	C. CB	C. LBE	C. F1	C. F2	C. F13	C. F14	C. P1	C. P2	C. P3	C. P4	C. P5	F. P	C. R5	C. GAMA	C. FA	C. TA	C. TSA	C. LBL	C. STL	C. FLG	P. M	C. H
1	380	250	250	120	-	-	40	120	150	125	375	1.2.4.3.5	1200	400	770	750	400	400	175	375	2	
2	390	275	275	115	50	60	40	125	130	140	410	1.2.4.3.5	1300	400	720	790	400	375	175	350	2	
3	400	250	260	125	50	60	40	115	150	125	400	1.2.4.3.5	1200	300	720	750	400	375	175	400	2	
4	415	275	280	125	40	50	35	125	175	150	400	1.2.4.3.5	1200	350	740	780	440	415	125	375	2	
5	390	275	250	125	40	50	50	125	165	175	385	1.2.4.3.5	1280	330	750	850	550	375	175	325	2	
6	385	275	255	115	50	65	50	125	160	125	400	1.(2.4).3.5	1240	350	720	750	450	375	150	350	2	
7	350	255	250	115	50	65	50	100	140	125	375	1.2.4.3.5	1140	340	640	730	400	350	175	300	2	
8	400	275	275	125	50	65	40	140	175	150	365	1.2.4.3.5	1270	320	710	770	450	375	175	350	2	
9	410	275	275	125	50	65	40	125	150	150	400	1.2.4.3.5	1250	350	700	770	440	375	175	350	2	
10	390	275	300	125	50	60	40	125	150	125	375	1.(2.4).3.5	1220	320	720	750	420	365	175	450	2	
11	385	275	265	125	40	65	50	125	175	150	400	1.2.4.3.5	1200	350	700	750	400	350	200	375	2	
12	410	250	250	125	50	70	40	125	150	135	400	1.2.4.3.5	1200	300	700	730	400	375	175	325	2	
13	425	250	275	175	50	60	50	125	165	150	-	1.2.4.3.5	1230	340	700	800	450	390	185	400	2	
14	350	225	225	115	50	60	40	115	125	115	350	1.(2.4).3.5	1250	350	600	600	370	350	175	375	2	
15	360	265	350	100	45	65	40	115	150	135	400	1.2.4.3.5	1200	340	700	740	400	425	200	375	2	
16	350	225	255	135	50	60	40	115	150	135	350	1.2.4.3.5	1130	320	720	740	410	400	150	350	2	
17	350	250	240	100	40	75	25	100	140	125	350	1.2.4.3.5	1090	340	640	700	400	400	150	350	2	
18	410	265	275	125	50	65	40	175	150	140	425	1.2.4.3.5	1250	350	750	800	440	400	175	425	2	
19	360	250	260	125	50	65	40	125	150	135	375	1.4.2.3.5	1210	360	740	750	440	400	175	400	2	
20	385	225	235	125	50	65	40	125	150	140	350	1.2.4.3.5	1200	390	690	740	450	400	175	425	2	
21	400	275	250	125	-	-	40	125	150	135	360	1.2.4.3.5	1100	300	700	750	400	425	175	425	2	
22	350	275	260	115	40	65	35	115	150	125	400	1.2.4.3.5	1150	350	650	700	410	425	185	450	2	
23	330	225	240	110	50	60	35	115	150	125	375	1.2.4.3.5	1110	310	620	750	400	400	170	475	2	
24	365	275	250	125	50	65	45	115	140	135	480	1.2.4.3.5	1210	320	680	740	390	350	150	425	2	
25	400	255	250	115	50	65	40	115	150	135	350	1.2.4.3.5	1200	350	680	740	400	400	175	400	2	
26	400	275	275	125	50	70	40	125	150	140	425	1.2.4.3.5	1250	350	690	750	400	450	160	400	2	
27	360	240	275	125	50	65	40	125	150	135	-	1.2.4.3.5	1210	300	660	700	400	400	175	450	2	
28	350	250	255	100	40	60	50	125	140	135	-	1.2.4.3.5	1120	360	660	740	390	400	175	450	2	
29	340	225	225	110	40	60	40	115	150	125	385	1.2.4.3.5	1250	300	610	650	360	425	175	400	2	
30	400	275	265	115	50	65	50	130	150	140	425	1.2.4.3.5	1300	360	650	800	450	440	160	450	2	
31	350	250	225	100	50	65	50	125	145	130	375	1.2.4.3.5	1220	310	620	700	400	450	175	425	2	
32	350	225	250	115	50	65	40	115	150	125	350	1.2.4.3.5	1110	310	650	750	400	350	150	400	2	
33	350	250	250	115	40	60	30	110	135	125	350	1.2.4.3.5	1110	310	650	680	370	350	175	425	2	
34	350	250	260	125	40	65	40	120	150	125	350	1.2.4.3.5	1190	340	680	770	420	430	175	425	2	
35	350	240	240	110	50	65	40	100	135	125	325	1.2.4.3.5	1070	320	600	700	400	450	160	400	2	
36	390	250	225	115	40	65	50	125	150	125	350	1.(2.4).3.5	1210	410	720	800	450	350	160	390	2	
37	390	250	225	115	50	65	50	100	150	125	350	1.2.4.3.5	1100	350	650	700	400	425	175	400	2	
38	400	255	275	115	50	65	50	125	150	140	400	1.2.4.3.5	1250	350	690	740	420	400	175	400	2	
39	390	265	265	125	40	60	40	135	150	140	425	1.2.4.3.5	1250	350	700	800	400	425	175	400	2	
40	350	250	250	125	40	65	40	115	150	125	400	1.2.4.3.5	1170	350	640	720	400	400	175	375	2	
41	390	275	250	115	-	-	40	115	150	125	350	1.2.4.3.5	1140	340	690	740	410	375	150	450	2	
42	350	250	255	115	50	65	40	115	140	125	350	1.2.4.3.5	1180	360	650	700	390	425	185	400	2	
43	410	265	275	125	50	65	40	135	185	145	450	1.2.4.3.5	1250	390	740	790	430	475	185	475	2	
44	365	245	245	115	-	-	45	110	145	125	375	1.2.4.3.5	1100	310	650	700	390	450	175	375	2	
45	365	265	255	115	40	65	40	120	150	135	400	1.2.4.3.5	1170	290	650	770	430	425	165	475	2	
46	365	245	250	110	-	-	25	115	145	125	375	1.2.4.3.5	1120	330	660	830	420	350	165	400	2	
47	410	250	265	115	40	65	40	125	155	135	375	1.2.4.3.5	1150	390	690	750	440	450	175	375	2	
48	400	250	250	115	40	60	40	115	150	130	400	1.2.4.3.5	1250	350	700	750	400	400	175	400	2	
49	410	250	250	115	40	60	40	125	155	140	350	1.2.4.3.5	1200	360	710	760	400	400	175	425	2	
50	420	250	260	115	40	60	40	115	140	125	425	1.2.4.3.5	1250	370	750	800	450	420	175	425	2	

Tabela 6. Medidas, em μm , dos caracteres da cabeça, tórax e abdome dos machos de *Lutzomyia (L.) longipalpis* provenientes do município de Massapê (CE), população com 1 par de manchas abdominais.

	C. CB	C. LBE	C. F1	C. F2	C. F13	C. F14	C. P1	C. P2	C. P3	C. P4	C. P5	F. P	C. R5	C. GAMA	C. FA	C. TA	C. TSA	C. LBL	C. STL	C. FLG	P.	MCH
1	400	275	280	120	50	60	55	125	160	150	400	1.2.4.3.5	1250	450	750	800	400	400	180	300		1
2	410	300	290	125	50	60	50	125	175	150	425	1.2.4.3.5	1290	340	760	850	450	375	200	350		1
3	415	250	270	125	40	60	40	125	150	135	400	1.2.4.3.5	1250	350	700	800	440	425	175	425		1
4	410	275	255	125	40	60	35	125	155	135	325	1.2.4.3.5	1130	330	700	750	400	425	185	450		1
5	425	250	250	115	40	60	35	125	155	130	350	1.2.4.3.5	1210	360	700	790	420	350	175	425		1
6	400	280	250	125	50	60	40	115	150	125	350	1.2.4.3.5	1180	350	690	790	400	365	180	450		1
7	385	255	250	120	40	65	40	115	150	125		1.2.4.3.5	1200	350	650	750	430	350	175	435		1
8	400	250	250	125	40	60	40	115	150	125	325	1.2.4.3.5	1220	360	700	790	400	400	160	400		1
9	425	250	250	115	40	60	40	125	150	140	325	1.2.4.3.5	1240	320	740	780	440	375	175	400		1
10	400	260	250	120	40	60	40	115	150	125	400	1.2.4.3.5	1180	360	690	750	390	400	175	375		1
11	350	250	235	120	40	60	50	120	160	125	350	1.2.4.3.5	1110	310	650	700	390	360	160	425		1
12	425	275	300	140	50	65	40	135	175	145	400	1.2.4.3.5	1300	400	750	850	500	425	200	375		1
13	410	275	290	130	-	-	40	125	155	140	400	1.2.4.3.5	1200	350	720	740	400	425	175	390		1
14	380	250	250	110	40	60	40	125	150	135	425	1.2.4.3.5	1190	390	700	750	400	375	175	400		1
15	350	250	235	110	40	60	40	125	140	130	350	1.2.4.3.5	1080	300	600	650	380	340	160	375		1
16	360	240	250	135	40	75	50	125	150	140	425	1.2.4.3.5	1140	340	660	720	400	400	185	450		1
17	385	250	275	125	-	-	40	125	160	135	375	1.2.4.3.5	1190	350	700	720	390	400	175	425		1
18	380	240	250	110	50	60	40	115	140	125	325	1.2.4.3.5	1080	350	650	670	370	350	165	390		1
19	410	260	255	120	50	60	40	115	150	135	435	1.2.4.3.5	1190	340	650	740	390	385	185	425		1
20	365	225	250	110	40	60	40	110	150	130	375	1.2.4.3.5	1140	350	640	660	390	350	175	350		1
21	400	250	260	125	40	60	40	110	150	130	425	1.2.4.3.5	1180	330	660	740	400	375	165	400		1
22	360	235	225	110	40	50	40	100	135	125	400	1.2.4.3.5	1100	300	660	690	390	375	175	375		1
23	350	250	240	115	40	60	35	100	135	125	360	1.2.4.3.5	1150	350	650	740	400	350	150	360		1
24	360	225	200	100	40	60	40	110	125	120	350	1.2.4.3.5	1090	330	600	690	360	350	175	430		1
25	390	265	250	115	-	-	30	100	150	125	350	1.2.4.3.5	1220	330	-	-	-	400	175	425		1
26	340	250	250	110	50	60	40	110	150	125	325	1.2.4.3.5	1090	340	660	720	360	350	150	390		1
27	390	275	260	115	-	-	40	125	160	130	350	1.2.4.3.5	1240	340	700	740	450	360	140	400		1
28	400	255	250	120	40	50	40	110	150	125	375	1.2.4.3.5	1180	330	650	750	400	350	175	450		1
29	360	240	230	100	-	-	40	110	135	125	325	1.2.4.3.5	1110	360	660	690	390	375	175	450		1
30	400	260	250	110	50	60	40	110	160	125	410	1.2.4.3.5	1160	350	720	750	400	375	175	425		1
31	360	230	225	100	40	65	40	115	140	130	400	1.2.4.3.5	1080	360	590	690	360	350	160	425		1
32	375	250	-	-	-	-	30	110	150	125	350	1.2.4.3.5	1190	390	650	730	400	350	175	375		1
33	370	255	240	115	50	60	40	125	140	130	340	1.2.4.3.5	1310	360	700	740	360	375	190	425		1
34	350	250	250	115	50	65	40	115	150	135	325	1.2.4.3.5	1200	310	640	740	400	350	190	450		1
35	400	275	275	115	50	65	40	125	160	150	425	1.2.4.3.5	1240	360	740	800	450	360	175	375		1
36	350	230	240	115	50	60	40	115	150	125	325	1.2.4.3.5	930	290	600	700	390	425	170	360		1
37	400	250	275	115	40	50	40	125	150	130	350	1.2.4.3.5	1200	350	710	790	430	350	180	375		1
38	385	250	215	100	-	-	40	125	150	130	375	1.2.4.3.5	-	-	600	750	360	350	175	400		1
39	385	225	260	125	40	50	40	115	150	140	360	1.2.4.3.5	1150	350	700	720	330	350	140	425		1
40	340	225	225	110	50	60	40	115	140	130	325	1.2.4.3.5	1040	290	550	650	360	350	160	400		1
41	400	280	290	125	-	-	40	130	160	140	400	1.2.4.3.5	1350	400	740	760	440	400	180	500		1
42	375	250	260	115	-	-	40	125	140	130	400	1.2.4.3.5	1240	390	680	720	420	350	185	410		1
43	380	250	250	125	40	60	50	110	135	125	400	1.2.4.3.5	1160	310	640	710	410	350	180	425		1
44	400	250	260	125	50	60	40	125	160	150	400	1.2.4.3.5	1220	390	700	790	400	400	180	410		1
45	350	240	250	110	40	60	40	110	140	125	400	1.2.4.3.5	1060	310	640	720	390	350	175	350		1
46	390	250	255	115	40	60	50	115	140	135	375	1.2.4.3.5	1270	350	690	740	420	375	175	385		1
47	385	250	255	125	40	60	40	110	150	125	350	1.2.4.3.5	1200	300	630	700	390	350	175	425		1
48	400	250	250	125	-	-	40	115	150	140	400	1.2.4.3.5	1240	340	700	740	410	350	150	350		1
49	400	260	270	125	50	65	40	125	150	135	425	1.2.4.3.5	1300	390	690	790	410	350	185	450		1
50	390	260	235	110	50	65	40	125	150	135	355	1.2.4.3.5	1180	330	690	720	390	350	175	375		1

Tabela 7. Medidas, em μm , dos caracteres da cabeça, tórax e abdome dos machos de *Lutzomyia (L.) longipalpis* provenientes do município de Massapê (CE), população com 2 pares de manchas abdominais.

	C. CB	C. LBE	C. F1	C. F2	C. F13	C. F14	C. P1	C. P2	C. P3	C. P4	C. P5	F. P	C. R5	C. GAMA	C. FA	C. TA	C. TSA	C. LBL	C. STL	C. FLG	P. M	CH
1	400	275	275	140	50	65	50	125	170	180	425	1.2.4.3.5	1250	350	710	850	450	375	200	400	2	
2	420	300	300	125	-	-	50	125	150	140	400	1.2.4.3.5	1340	350	750	800	450	400	200	410	2	
3	375	275	250	115	40	60	40	125	160	150	400	1.2.4.3.5	1200	350	650	680	390	375	185	400	2	
4	400	250	275	100	40	60	35	125	125	135	-	1.2.4.3.5	1040	260	600	700	390	425	165	400	2	
5	390	275	255	125	40	60	40	115	140	130	350	1.2.4.3.5	1230	330	690	740	425	360	175	425	2	
6	400	250	260	115	50	60	50	125	150	140	400	1.2.4.3.5	1250	350	720	760	410	425	175	400	2	
7	410	275	290	125	-	-	50	130	160	150	390	1.2.4.3.5	1300	350	790	840	450	350	190	450	2	
8	410	260	265	115	40	60	40	125	160	150	400	1.2.4.3.5	1270	400	740	760	430	425	180	425	2	
9	360	240	250	105	40	60	40	110	150	135	360	1.2.4.3.5	1120	320	680	700	420	350	160	350	2	
10	360	275	250	120	40	60	40	125	150	140	375	1.2.4.3.5	1210	290	690	750	420	350	175	400	2	
11	375	250	235	115	50	65	40	115	140	125	375	1.2.4.3.5	1150	300	660	700	400	400	175	425	2	
12	350	235	200	110	50	65	35	110	135	-	-	1.2.4.3.5	1070	270	600	750	390	325	135	350	2	
13	410	275	260	115	50	60	40	130	160	140	350	1.2.4.3.5	1220	360	720	800	420	390	175	400	2	
14	360	250	230	115	40	50	40	115	150	125	350	1.2.4.3.5	1200	340	650	750	400	350	175	350	2	
15	350	275	250	115	40	60	40	125	150	135	360	1.2.4.3.5	1200	410	700	720	400	400	150	400	2	
16	350	225	240	115	40	60	40	115	135	125	335	1.2.4.3.5	1050	300	590	650	370	350	160	360	2	
17	410	260	250	125	40	60	40	125	150	135	425	1.2.4.3.5	1340	390	720	760	420	400	180	450	2	
18	380	250	240	115	50	65	40	110	150	125	325	1.2.4.3.5	1170	320	680	740	400	350	175	375	2	
19	350	250	250	115	40	60	40	110	140	125	300	1.2.4.3.5	1150	350	650	700	400	360	175	425	2	
20	400	275	260	120	40	60	50	125	160	150	350	1.2.4.3.5	1230	350	700	750	420	425	180	450	2	
21	350	225	240	110	40	55	40	115	150	125	325	1.2.4.3.5	1180	380	610	680	370	350	175	425	2	
22	400	275	265	125	40	65	50	125	150	135	360	1.2.4.3.5	1200	350	720	790	420	400	185	400	2	
23	425	260	275	125	50	60	40	135	160	150	425	1.2.4.3.5	1250	400	-	-	-	400	200	450	2	
24	400	250	260	125	50	75	40	135	150	140	400	1.2.4.3.5	1220	360	700	900	460	400	160	400	2	
25	390	275	-	-	-	-	40	125	150	135	350	1.2.4.3.5	1200	350	660	750	400	350	155	355	2	
26	380	275	265	125	50	65	40	135	160	150	360	1.2.4.3.5	1280	290	690	790	410	350	180	350	2	
27	355	250	255	120	50	65	40	115	150	125	350	1.2.4.3.5	1160	310	660	690	390	340	175	425	2	
28	390	275	275	125	-	-	50	125	160	150	425	1.2.4.3.5	1260	410	-	-	-	350	175	425	2	
29	410	275	275	125	40	65	40	125	160	135	350	1.2.4.3.5	1310	410	700	790	400	400	175	400	2	
30	360	250	250	115	40	60	40	110	140	115	350	1.2.4.3.5	1110	360	640	700	390	450	185	400	2	
31	400	275	275	125	0	60	40	125	160	135	340	1.2.4.3.5	1270	350	750	800	400	425	175	425	2	
32	340	250	255	115	35	50	40	115	150	125	340	1.2.4.3.5	1110	320	700	650	300	340	175	325	2	
33	350	260	255	115	40	60	40	115	150	125	350	1.2.4.3.5	1200	310	650	700	400	350	180	400	2	
34	350	250	240	110	-	-	40	110	135	125	340	1.2.4.3.5	1240	340	640	720	390	340	175	375	2	
35	390	275	255	125	40	60	40	125	160	150	325	1.2.4.3.5	1180	330	690	710	400	350	175	400	2	
36	350	250	260	125	50	60	40	110	150	125	325	1.2.4.3.5	1160	260	650	700	400	350	175	375	2	
37	360	250	275	125	40	60	40	115	140	125	400	1.2.4.3.5	1220	310	640	700	340	350	175	400	2	
38	425	260	270	125	50	60	50	125	160	125	400	1.2.4.3.5	1200	340	620	750	400	350	175	400	2	
39	350	250	250	115	-	-	40	110	150	115	325	1.2.4.3.5	1200	350	-	-	-	350	185	425	2	
40	350	240	260	110	40	60	40	125	150	140	400	1.2.4.3.5	1200	360	700	660	300	375	175	400	2	
41	350	235	225	100	40	60	40	100	145	115	-	1.2.4.3.5	1060	310	600	660	360	350	155	375	2	
42	390	275	265	125	40	60	40	125	140	125	375	1.2.4.3.5	1200	360	700	760	410	350	160	375	2	
43	400	250	275	125	40	50	40	110	160	125	350	1.2.4.3.5	1300	410	700	750	410	350	150	350	2	
44	365	250	250	115	40	60	40	115	150	125	350	1.2.4.3.5	1150	300	640	790	400	350	150	400	2	
45	375	250	250	110	40	60	40	110	150	125	350	1.2.4.3.5	1130	330	660	800	400	400	175	375	2	
46	390	275	275	125	50	60	40	130	160	140	360	1.2.4.3.5	1200	360	-	-	-	375	175	425	2	
47	400	260	265	125	50	60	35	125	150	140	380	1.2.4.3.5	1210	360	700	760	390	425	175	375	2	
48	385	250	250	115	40	60	25	110	140	130	340	1.2.4.3.5	1120	310	640	660	360	390	175	410	2	
49	410	265	260	125	50	60	50	125	175	150	350	1.2.4.3.5	1300	350	690	740	400	350	180	440	2	
50	360	240	225	110	40	50	40	110	140	125	325	1.2.4.3.5	1180	320	700	750	400	350	175	375	2	

Legenda referente às tabelas 2 a 7.

C.CB–comprimento da cabeça, C.LBE–comprimento do labroepifaringe, C.F1–comprimento do segmento F1 da antena, C.F2–comprimento do segmento F2 da antena, C.F13–comprimento do segmento F13 da antena, C.F14–comprimento do segmento F14 da antena, C.P1–comprimento do primeiro segmento do palpo, C.P2–comprimento do segundo segmento do palpo, C.P3–comprimento do terceiro segmento do palpo, C.P4–comprimento do quarto segmento do palpo, C.P5–comprimento do quinto segmento do palpo, F.P–fórmula palpal, C.R5–comprimento da quinta veia radial da asa, C.GAMA–comprimento da veia gama da asa, C.FA–comprimento do fêmur anterior, C.TA–comprimento da tíbia anterior, C.TSA–comprimento do tarsômero anterior, C.LBL–comprimento do lobo lateral, C.STL–comprimento do dististilo, C.FLG–comprimento do filamento genital, MCH–número de manchas dos tergitos abdominais.

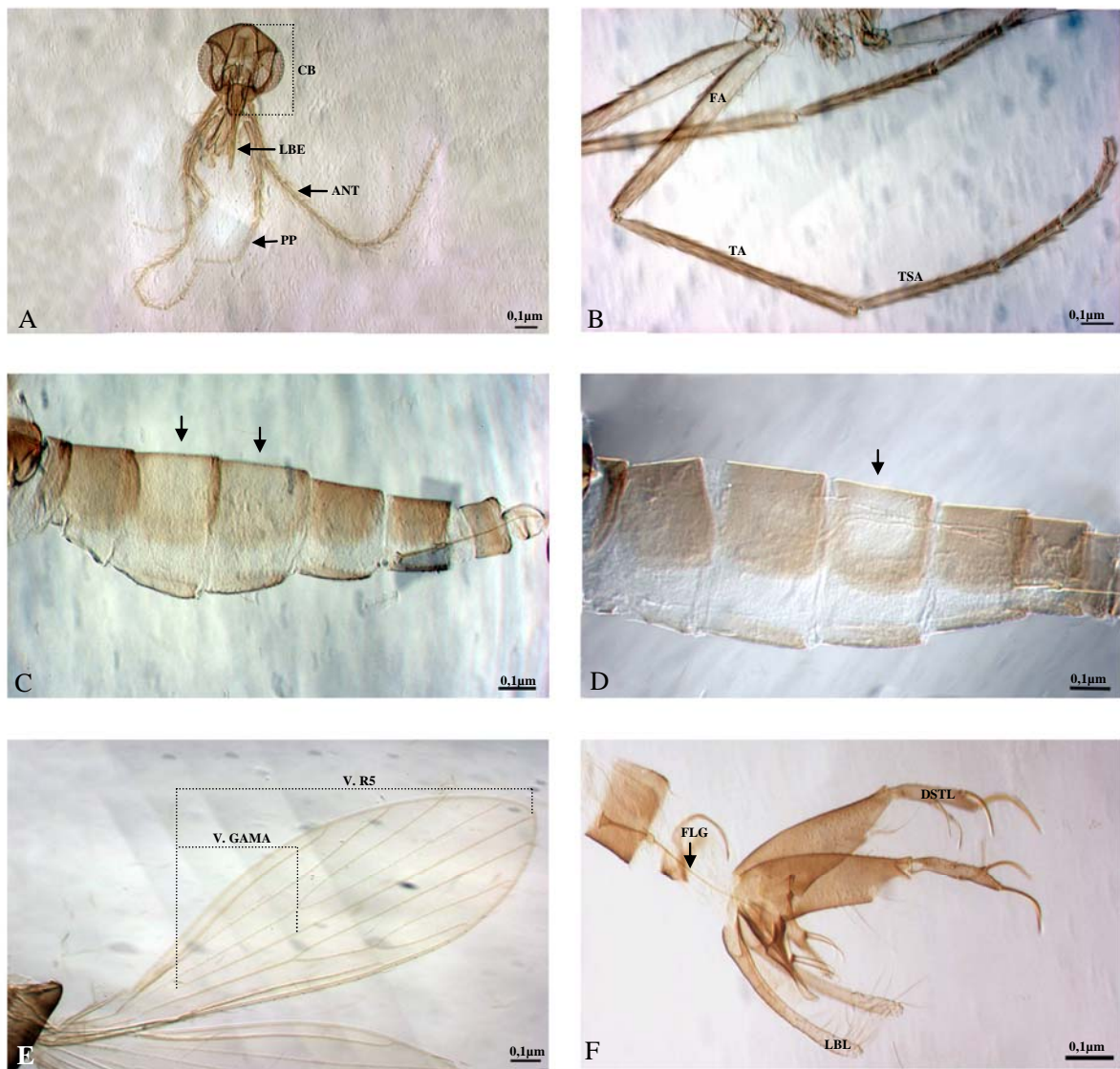


Figura 7. Alguns caracteres morfológicos de *Lutzomyia (L.) longipalpis*.

A - CB-cabeça, LBE-labroepifaringe, ANT-antena, PP-palpo. B - FA-fêmur anterior, TA-tíbia anterior, TSA-tarsômero anterior. C - setas-manchas abdominais (2 pares). D - seta-mancha abdominal (1 par). E - V. GAMA-veia gama da asa, V. R5-quinta veia radial da asa. F - FLG-filamento genital, DSTL-dististilo, LBL-lobo lateral.

Tabela 8. Número de indivíduos analisados (N), e respectivos valores mínimos, máximos, médias, desvio padrão e valores de significância (p) dos machos das populações de *Lutzomyia (L.) longipalpis* estudadas.

Caracteres	N	Mínimo – máximo (μm)	Média – desvio padrão (μm)	ANOVA p
c.da cabeça	300	325-450	389,12 \pm 25,75	0,000
c.do labroepifaringe	300	225-310	260,82 \pm 18,43	0,000
c. do segmento F1 da antena	298	180-350	261,38 \pm 21,23	0,000
c. do segmento F2 da antena	298	100-250	123,42 \pm 17,52	0,000
c. do segmento F13 da antena	266	35-80	46,58 \pm 5,63	0,000
c. do segmento F14 da antena	267	50-80	62,79 \pm 5,36	0,000
c. do primeiro segmento do palpo	300	25-60	42,12 \pm 6,12	0,000
c. do segundo segmento do palpo	300	100-200	122,52 \pm 12,33	0,000
c. do terceiro segmento do palpo	300	125-250	154,15 \pm 13,35	0,000
c. do quarto segmento do palpo	299	100-225	136,86 \pm 13,54	0,000
c. do quinto segmento do palpo	288	300-500	387,59 \pm 40,22	0,000
c. da quinta veia radial da asa	299	930-1500	1224,83 \pm 83,40	0,000
c. da veia gama da asa	299	250-500	358,58 \pm 42,10	0,000
c. do fêmur anterior	293	550-850	700,89 \pm 51,19	0,000
c. da tíbia anterior	293	600-930	767,46 \pm 57,40	0,000
c. do tarsômero anterior	293	300-550	420,26 \pm 33,27	0,000
c. do lobo lateral	300	300-475	382,78 \pm 28,76	0,000
c. do dististilo	300	125-210	175,78 \pm 13,73	0,002
c. do filamento genital	300	300-500	393,13 \pm 39,89	0,001

c. – comprimento. Valores significativos estão em negrito (p<0,05)

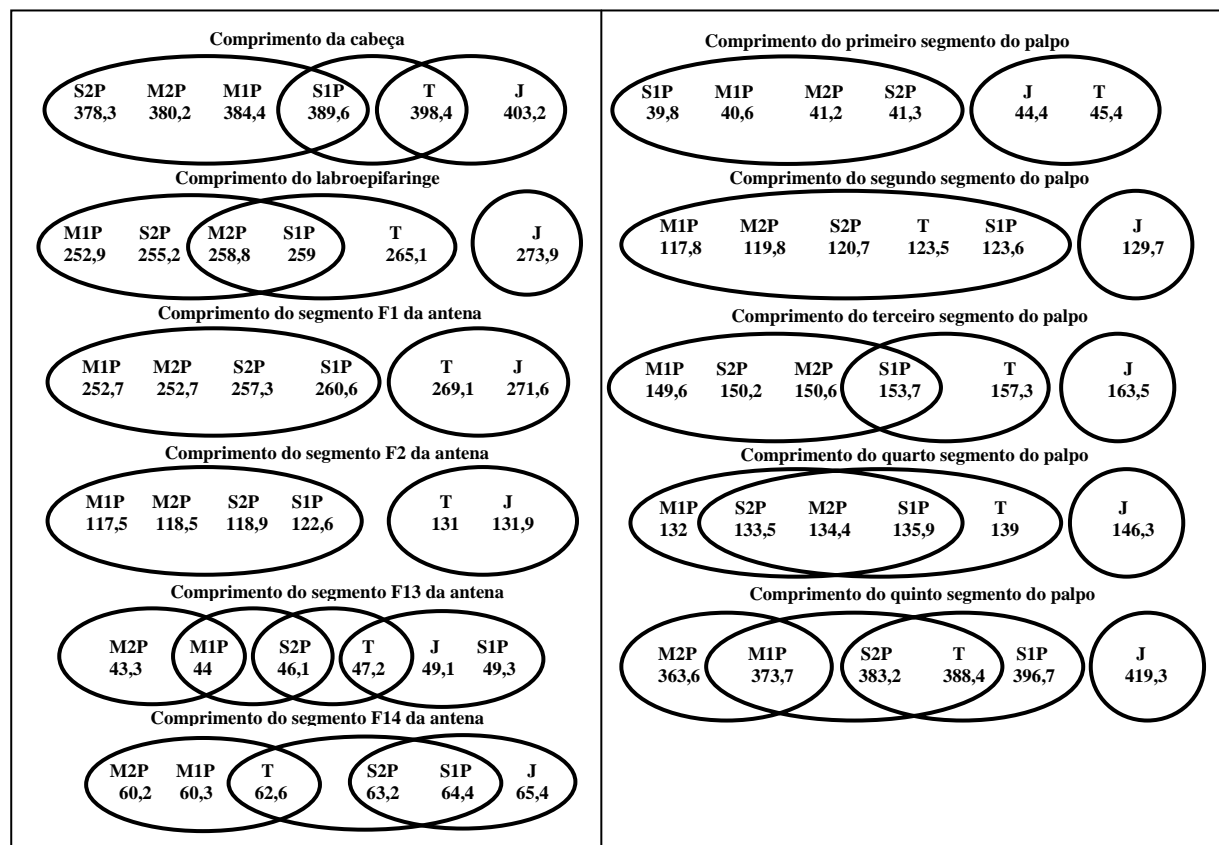


Figura 8. Estudo da homogeneidade de alguns caracteres da cabeça dos machos das populações *Lutzomyia (L.) longipalpis* estudadas. J – Jequié (BA), T – Teresina (PI), S1P – Sobral (CE) com 1 par de manchas abdominais, S2P – Sobral (CE) com 2 pares de manchas abdominais, M1P – Massapê (CE) com 1 par de manchas abdominais, M2P – Massapê (CE) com 2 pares de manchas abdominais.

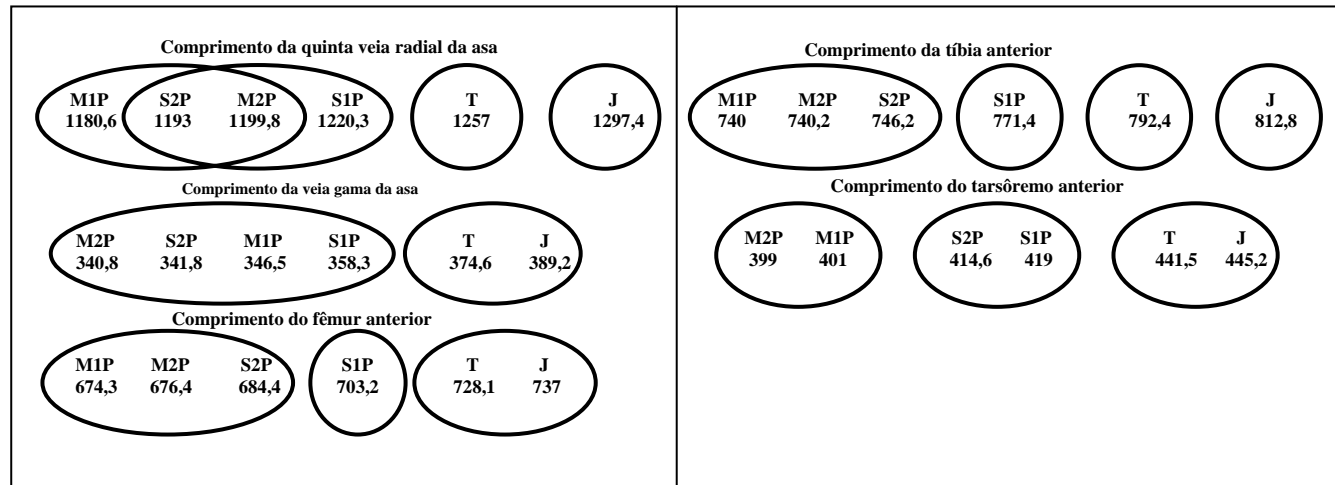


Figura 9. Estudo da homogeneidade de alguns caracteres do tórax dos machos das populações *Lutzomyia (L.) longipalpis* estudadas. J – Jequié (BA), T – Teresina (PI), S1P – Sobral (CE) com 1 par de manchas abdominais, S2P – Sobral (CE) com 2 pares de manchas abdominais, M1P – Massapê (CE) com 1 par de manchas abdominais, M2P – Massapê (CE) com 2 pares de manchas abdominais.

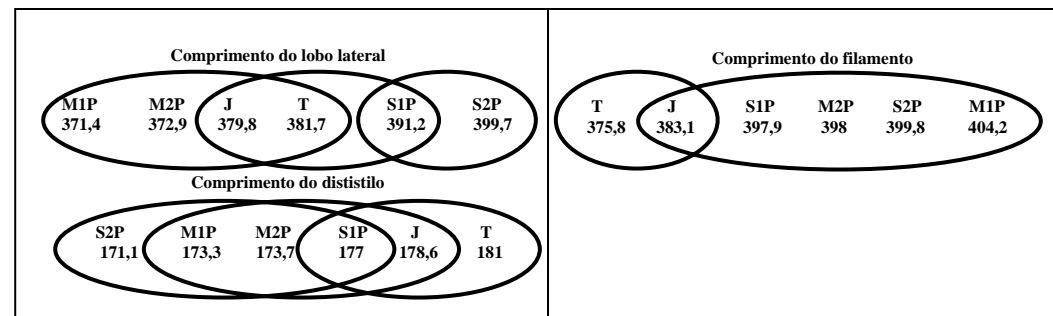


Figura 10. Estudo da homogeneidade de alguns caracteres do abdome dos machos das populações *Lutzomyia (L.) longipalpis* estudadas. J – Jequié (BA), T – Teresina (PI), S1P – Sobral (CE) com 1 par de manchas abdominais, S2P – Sobral (CE) com 2 pares de manchas abdominais, M1P – Massapê (CE) com 1 par de manchas abdominais, M2P – Massapê (CE) com 2 pares de manchas abdominais.

Tabela 9. Teste ANOVA aplicado às populações de *Lutzomyia (L.) longipalpis* estudadas.

Caracteres	J- T	J- S1P	J- S2P	J- M1P	J- M2P	T- S1P	T- S2P	T- M1P	T- M2P	S1P- S2P	S1P- M1P	S1P- M2P	S2P- M1P	S2P- M2P	M1P- M2P
c.da cabeça	0,309	0,007	0,000	0,000	0,000	0,068	0,000	0,003	0,000	0,037	0,286	0,063	0,264	0,797	0,385
c.da labroepifaringe	0,027	0,000	0,000	0,000	0,000	0,111	0,013	0,002	0,100	0,235	0,057	0,949	0,473	0,259	0,065
c. do segmento F1 da antena	0,553	0,016	0,002	0,000	0,001	0,030	0,004	0,000	0,001	0,431	0,052	0,319	0,256	0,885	0,277
c. do segmento F2 da antena	0,854	0,020	0,001	0,000	0,000	0,041	0,003	0,001	0,001	0,149	0,031	0,073	0,475	0,824	0,540
c. do segmento F13 da antena	0,060	0,871	0,002	0,000	0,000	0,097	0,293	0,004	0,000	0,010	0,000	0,000	0,051	0,008	0,516
c. do segmento F14 da antena	0,018	0,227	0,020	0,000	0,000	0,108	0,577	0,072	0,059	0,159	0,000	0,000	0,003	0,002	0,982
c. do primeiro segmento do palpo	0,413	0,000	0,007	0,000	0,002	0,000	0,002	0,000	0,000	0,254	0,504	0,253	0,504	0,926	0,519
c. do segundo segmento do palpo	0,052	0,044	0,006	0,000	0,001	0,959	0,226	0,004	0,060	0,156	0,001	0,025	0,151	0,657	0,224
c. do terceiro segmento do palpo	0,056	0,002	0,000	0,000	0,000	0,121	0,003	0,001	0,003	0,113	0,049	0,136	0,770	0,846	0,602
c. do quarto segmento do palpo	0,019	0,001	0,000	0,000	0,000	0,262	0,034	0,002	0,083	0,328	0,083	0,564	0,422	0,701	0,251
c. do quinto segmento do palpo	0,000	0,006	0,000	0,000	0,000	0,305	0,510	0,060	0,001	0,062	0,002	0,000	0,165	0,003	0,142
c. da quinta veia radial da asa	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000	0,013	0,000	0,000	0,000	0,052	0,013	0,171	0,379	0,604	0,205
c. da veia gama da asa	0,097	0,000	0,000	0,000	0,000	0,067	0,000	0,001	0,000	0,025	0,121	0,031	0,439	0,882	0,414
c. do fêmur anterior	0,317	0,001	0,000	0,000	0,000	0,008	0,000	0,000	0,000	0,047	0,004	0,008	0,256	0,370	0,818
c. da tíbia anterior	0,043	0,000	0,000	0,000	0,000	0,053	0,000	0,000	0,000	0,018	0,004	0,009	0,493	0,556	0,983
c. do tarsômero anterior	0,444	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,463	0,003	0,002	0,027	0,015	0,751
c. do lobo lateral	0,680	0,028	0,001	0,100	0,221	0,049	0,002	0,031	0,099	0,156	0,000	0,002	0,000	0,000	0,793
c. do dististilo	0,387	0,610	0,014	0,078	0,102	0,110	0,000	0,001	0,002	0,034	0,176	0,227	0,394	0,313	0,875
c. do filamento genital	0,390	0,072	0,041	0,007	0,040	0,010	0,005	0,001	0,004	0,814	0,416	0,989	0,567	0,800	0,357

c.- comprimento

J - Jequié, T - Teresina, S1P – Sobral com 1 par de mancha abdominal, S2P – Sobral com 2 pares de manchas abdominais, M1P- Massapê com 1 par de mancha abdominal, M2P – Massapê com 2 pares de manchas abdominais.

Valores significativos estão em negrito (p<0,05).

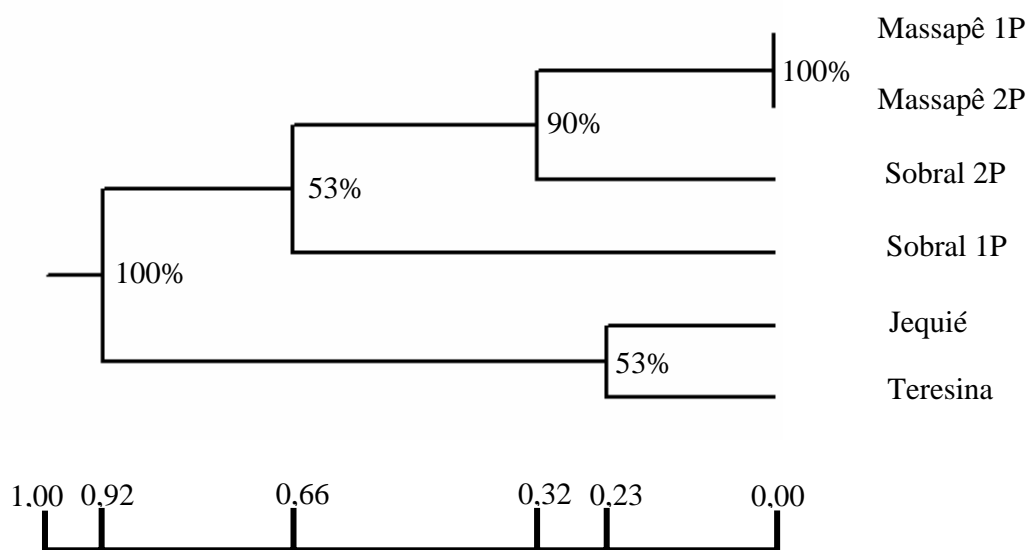


Figura 11. Dendrograma construído pelo método de UPGMA, baseado nos valores de distância genética (Roger 1972 modificado por Wright 1978), entre as seis populações de *Lutzomyia (L.) longipalpis* analisadas, com os valores de *bootstrap*.

Discussão

A partir de variações morfológicas, observadas em machos oriundos do Pará e Ceará, foi levantada a hipótese de que *L. (L.) longipalpis* poderia ser um complexo de espécies (Mangabeira, 1969), inclusive, o autor comentou que não tinha conhecimento de algum outro flebotomíneo, a não ser este, com capacidade de ocupar diferentes habitats. De fato, estudos posteriores demonstraram que *L. (L.) longipalpis* no Brasil poderia ocupar diferentes ecótopos, em quatro das cinco regiões geográficas (Nordeste, Norte, Sudeste e Centro-Oeste), demonstrando capacidade para se adaptar a variados habitats, que vão desde o ambiente silvestre até o urbano (Lainson & Rangel 2005, Brasil-SVS/MS, 2006).

Warburg et al. (1994) sugeriram que as manifestações clínicas, determinadas por *L. (L.) infantum chagasi*, que ocorriam na Costa Rica (lesões cutâneas) diferente do que se observa na Colômbia e no Brasil (comprometimento do fígado, do baço e da medula óssea) poderiam estar associadas às variações na composição e concentração de maxadilan (vasodilatador presente na saliva) das distintas populações de *L. (L.) longipalpis*, levantando a hipótese de que a variabilidade genética do vetor modularia a patogenia do agente etiológico por ele transmitido.

Estudos com populações da Costa Rica, Colômbia, Venezuela e Brasil demonstram, com fortes evidências (eletroforese de isoenzimas, SSCP, citocromo mitocondrial, genes mitocondriais COI, 12S e 16S), que *L. longipalpis* é um complexo de espécies, no Continente Americano, e que este seria formado por quatro espécies: *Lutzomyia pseudolongipalis*, da Venezuela, *L. (L.) longipalpis*, a espécie-tipo, constituída pelas diferentes populações brasileiras, uma espécie Cis-Andina e outra Trans-Andina (Lanzaro et al 1993, Mutebi et al 2002, Arrivilaga et al 2002, 2003).

Embora a discussão taxonômica de *L. (L.) longipalpis* tenha sido iniciada a partir da observação de diferenças morfológicas, comuns apenas nas populações brasileiras (Young & Duncan, 1994), estudos morfológicos ainda são escassos no sentido de avaliar o *status* taxonômico deste flebotomíneo (Azevedo et al 2000, Arrivilaga & Feliciangeli 2001).

Para o presente trabalho, a análise foi feita apenas com exemplares machos, considerando as observações de Mangabeira (1969) e de Azevedo et al. (2000), onde as diferenças morfológicas eram mais nítidas. Com relação às populações de Sobral e Massapê, buscou-se comparar as duas formas entre si (um par e dois pares de manchas),

como duas populações, pois existem alguns estudos que sugerem que Sobral 1P e Sobral 2P seriam espécies distintas do complexo “*longipalpis*” vivendo em simpatria (Ward et al. 1983, 1988, Bauzer et al. 2002, Maingon et al. 2003, Bottecchia et al. 2004, Souza et al. 2004); análise semelhante foi aplicada para Massapê, por ser contíguo a Sobral.

Através da análise morfológica das populações de *L. (L.) longipalpis* procedentes de Jequié (BA), Teresina (PI), Sobral (CE) e Ceará (CE), o padrão de manchas nos tergitos abdominais não permitiu separar as diferentes populações. A fórmula palpal apresentou variações que ocorreram apenas a nível intra-populacional nos exemplares de Jequié, Teresina e Sobral, sendo 1.2.4.3.5 a mais freqüente, o que foi também relatada para as populações de Canindé (CE), Ilha de Marajó (PA), São Luiz (MA), Natal (RN) e Lagoa Santa (MG) (Azevedo et al. 2000). Tais aspectos da morfologia sugerem uma homogeneidade nas populações.

Nos estudos de morfometria, a população de Jequié mostrou-se diferenciada das demais, tanto pelo teste ANOVA, com diferenças significativas em mais de 80% dos caracteres, quanto pelo teste SNK, separando-a das demais com base em 37% dos caracteres analisados. Entretanto, há que se considerar que tais resultados não sustentam a separação total, uma vez que se podem observar interseções e uniões que envolviam a população de Jequié e as outras, com base em caracteres da cabeça (6), do tórax (3) e abdome (3). O valor de *bootstrap* obtido, 53%, inferior a 70%, o mínimo a ser considerado como confiável na separação de clados (Hillis & Bull 1993), sugere que as populações de Jequié e Teresina são mais homogêneas entre si, porém seriam mais heterogêneas quando comparadas as do Ceará. Vale recordar que uma população da Bahia, do município de Jacobina, ao ser comparada com populações do Rio Grande do Norte e Minas Gerais, através de análises de som de corte e gene *period*, foi considerada como uma espécie do complexo “*longipalpis*” (Souza et al 2002, Bauzer et al 2002).

Considerando as quatro populações do Ceará (S1P, S2P, M1P e M2P), verificou-se um alto grau de homogeneidade, revelado pela interseção dos conjuntos associados a 18 dos 19 caracteres analisados. Tais populações mostraram-se muito semelhantes quando submetidas ao teste ANOVA, principalmente a população de Massapê que não apresentou nenhuma distinção entre suas formas simpátricas (M1P e M2P), com valor de *bootstrap* de 100%. Todavia, o dendograma revelou um ramo isolado para S1P.

Alguns estudos (análise de feromônios sexuais, gene *period*, gene *cacophany*), realizados com as populações simpátricas provenientes de Sobral (S1P e S2P),

demonstraram que tais sub-populações seriam na verdade duas espécies do complexo “*longipalpis*” (Ward et al. 1988, Bauzer et al. 2002, Bottechia et al. 2004 Souza et al. 2004, Hamilton et al. 2005). Entretanto, estudos utilizando eletroforese de isoenzimas e genes mitocondriais, que compararam Sobral com outras populações concluíram que Sobral teria um grau de heterogeneidade compatível a uma única espécie (Mukhopadhyay et al. 1997, Mutebi et al. 1999, Arrivillaga et al. 2003).

Neste estudo, as populações de Sobral (S1P e S2P) encontram-se disjuntas em apenas 3 dos 19 caracteres analisados. Deve-se ressaltar, as interseções comumente encontradas, para os demais caracteres, sugerindo que S1P e S2P não se separam completamente, pela lógica da Teoria Intuitiva dos Conjuntos. E, ainda, o dendograma, que trabalhou com as médias dos comprimentos dos caracteres, revelou um ramo isolado para S1P, com um valor de confiança de apenas 53%. Esta informação é relevante, pois, segundo Hillis & Bull (1993), apenas os valores de *bootstrap* acima de 70% são confiáveis para sustentar clados de um dendograma.

Mesmo sendo a análise morfológica de caracteres importante e a base da taxonomia clássica, em determinados casos os dados de morfologia, devem ser complementados com outro tipo de análise, para avaliação de heterogeneidade inter-populacional, tal como ocorreu nos estudos com populações de *L. (L.) longipalpis*, (Azevedo et al. 2000) e com populações de *Lutzomyia (N.) whitmani*, do Nordeste (CE e BA) e Norte (PA), (Rangel et al. 1996) cujos estudos morfológicos foram complementados por análise de DNA. No entanto, as análises morfológica e morfométrica, por si só, podem ser consideradas evidências mais consistentes, quando se observa um percentual elevado de diferenças significativas entre as populações. Azevedo et al. (2002), por exemplo, ao avaliarem a hipótese de *Lutzomyia umbratilis* ser um complexo de espécies, obtiveram 77% dos caracteres morfométricos avaliados revelando uma disjunção que separava a população venezuelana do conjunto formado pelas brasileiras. Dados como estes, entretanto, nunca foram observados nos estudos com populações de *L. (L.) longipalpis*.

Para alguns autores é provável que a inconsistência de informações, com o uso de diferentes ferramentas, poderia ser atribuída a alguns fatores tais como a manutenção de um polimorfismo ancestral num processo de especiação recente, e que determinados marcadores como, por exemplo, isoenzimas, não seriam capazes de detectar populações em processo de especiação (Bauzer et al.2007). Por conseguinte, como já discutido por Amorim (1997) levando em consideração a característica morfológica analisada, tanto

dados morfológicos como dados moleculares, podem representar com fidelidade a história evolutiva que se pretende discutir.

Considerando o conjunto de informações obtidas neste estudo, pode-se supor que as populações S1P e S2P estariam ainda em processo de especiação. De acordo com Futuyma (1992), como a maioria dos modelos existentes para especiação simpátrica é muito controvertida, um modelo “gradual” tem sido proposto na lógica de que as barreiras para o fluxo gênico vão progressivamente se tornando eficientes. Possivelmente, estudos de cruzamentos entre populações e análise dos híbridos (viáveis ou não), seriam ferramentas que associadas às informações disponíveis, poderiam trazer evidências mais consistentes.

Apesar dos inúmeros estudos, a questão que discute a identidade taxonômica de *L. (L.) longipalpis* ainda parece não totalmente esclarecida, uma vez que não se descreveu nenhuma espécie brasileira do complexo “*longipalpis*”.

Considerando os caracteres aqui analisados, através da morfometria, pode-se observar diferenças significativas, compatíveis com polimorfismo inter e intra-populacional nas populações estudadas, o que poderia sugerir, mais uma vez, *L. (L.) longipalpis* como uma espécie polimórfica, indicando que tais diferenças morfológicas seriam co-específicas.

Independente de serem ou não espécies de um complexo, as populações de Teresina e Sobral, bem como a de Jequié, têm se mostrado competentes na transmissão de LVA, uma vez que tais municípios são endêmicos e de transmissão intensa alta, os dois primeiros, e de transmissão intensa moderada, o terceiro.

Referências Bibliográficas

- Abe JM, Papavero N 1991. *Teoria intuitiva dos conjuntos*. Mkron, editora, McGraw-Hill, 266p.
- Amorim, DS 1997. Elementos Básicos de sistemática Filogenética. Ed.: Holos e Sociedade Brasileira de Entomologia, Ribeirão Preto. 276pp.
- Arrivillaga JC, Feliciangeli MD 2001. *Lutzomyia pseudolongipalpis*: the first new species within the *longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) complex from La Rinconada, Curarigua, Lara State, Venezuela. *J Med Entomol* 38: 783-790.
- Arrivillaga JC, Norris DE, Feliciangeli MD, Lanzaro GC 2002. Phylogeography of the neotropical sand fly *Lutzomyia longipalpis* inferred from mitochondrial DNA sequences. *Infect Gene Evol* 2: 83-95.
- Arrivillaga J, Mutebi JP, Piñango H, Norris D, Alexander B, Feliciangeli MD, Lanzaro G 2003. The taxonomic status of genetically divergent populations of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) based on the distribution of mitochondrial and isozyme variation. *J Med Entomol* 40: 615-627.
- Azevedo ACR, Monteiro FA, Cabello PH, Souza NA, Rosa-Freitas MG, Rangel EF 2000. Studies on populations of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phebotominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 305-322.
- Azevedo AC, Lainson R, Souza AA, Fé NF, Feliciangeli DM, Meneses CR, Rangel EF 2002. Comparative studies of populations of *Lutzomyia umbratilis* (Diptera: Psychodidae) in Brazil and Venezuela. *J Med Entomol* 39:587-600.
- Bauzer LGRS, Souza NA, Ward RD, Kyriacou CP, Peixoto AA 2002. The *period* gene and genetic differentiation between three brazilian populations of *Lutzomyia longipalpis*. *Insecta Mol Bio* 11: 315-323.

- Bauzer LG, Souza NA, Maingon RD, Peixoto AA 2007. *Lutzomyia longipalpis* in Brazil: a complex or a single species? A mini-review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102:1-12.
- Bottecchia M, Oliveira SG, Bauzer LGRS, Souza NA, Ward RD, Garner KY, Kyriacou CP, Peixoto AA 2004. Genetic divergence in the *cacophony* IVS6 intron among five brazilian populations of *Lutzomyia longipalpis*. *Jornal Med Evol* 58: 754-761.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde 2006. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 1 ed. – Brasília : Editora do Ministério da Saúde, p.120.
- Castro GMO 1939. Hábitos de alguns flebotomos brasileiros. *Jornal do Comércio*, Rio de Janeiro, p.4.
- De Queiroz Balbino V, Coutinho-Abreu IV, Sonoda IV, Melo MA, De Andrade PP, De Castro JA, Rebelo JM, Carvalho SM, Ramalho-Ortigão M 2006. Genetic structure os natural populations of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) from the Brazilian northeastern region. *Acta Trop* 98: 15-24.
- Deane LM 1956. Leishmaniose visceral no Brasil. Estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará. Rio de Janeiro, *Serviço Nacional de Educação Sanitária*.
- Dedet JP, Torrez M 1992. Lista analítica de las variables y sus modalidades. Boletín Informativo. *Red centro y sud-americana de entomólogos especializados en flebotomos* 10, pp.79.
- Futuyma DJ 1992. Especiação. In: *Biología Evolutiva*, São Paulo, SBG, p. 232-262.
- Galati EAB 1990. Sistemática dos phebotoiminae (Díptera, Psychodidae) das Américas. São Paulo. Tese de Doutorado Faculdade de Saúde Pública – USP.

- Hamilton JGC, Maingon R, Alexander B, Ward R, Brazil RP 2005. Analysis of the sex pheromone extract of individual male *Lutzomyia longipalpis* from Jacobina, Brazil. *J Chem Ecol* 22: 1477-2340.
- Hillis DM, Bull JJ 1993. An empirical test of bootstrapping as a measure of assessing confidence in phylogenetic analysis. *Syst Biol* 42: 182-192.
- Hodgkinson VH, Birungi J, Quintana M, Deitze R, Munstermann LE 2003. Mitochondrial cytochrome B variation in populations of the visceral Leishmaniasis vector *Lutzomyia longipalpis* across eastern Brazil. *Am J Trop Hyg* 69: 386-392.
- Lainson R, Shaw JJ 1998. New World Leishmaniasis—the neotropical *Leishmania* species. In: Topley and Wilson's Collier L, Ballows A & Sussman M. (Eds) *Microbiology and Microbial Infections*. p. 241-266
- Lainson R, Rangel EF 2005. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100: 811-827.
- Lanzaro GC, Ostrovska K, Herrero MV, Lawyer PG, Warburg A 1993. *Lutzomyia longipalpis* is a species complex: genetic divergence and interspecific hybrid sterility among three populations. *Am J Trop Med Hyg* 48: 839-847.
- Lynch M, Milligen BG 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. In: *Molecular Ecology*, 3, p. 91-99.
- Maingon RD, Ward RD, Hamilton JG, Noyes HÁ, Souza N, Kemp SJ, Watts PC 2003. Genetic identification of two sibling species of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) that produce distinct male sex pheromones in Sobral, Ceará State, Brazil. *Mol Ecol* 12: 1879-1894.
- Mangabeira Filho O 1969. Sobre a sistemática e biologia dos *Phlebotomus* do Ceará. *Rev Bras Mal Doenc Trop* 21: 3-26.

- Miller MP 1997. Tools for population genetic analysis (TFPGA) 1.3. A windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data.
- Mutebi JP, Alexander B, Sherlock I, Wellington J, Souza AA, Shaw J, Rangel EF, Lanzaro GC 1999. Breeding structure of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) in Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 61: 149-174.
- Mutebi JP, Tripet F, Alexander JB, Lanzaro GC 2002. Genetic differentiation among populations of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in Central and South America. *Am Entomol* 35: 169-174.
- Mukhopadhyay J, Rangel E, Ghosh K, Munstermam L 1997. Patters of genetic variability in colonized strains of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) and its consequences. *Am J Trop Med Hyg* 57: 216-221.
- Mukhopadhyay J, Ghosh K, Azevedo AC, Rangel EF, Munstermann LE 1998a. Genetic polymorphism of morphological and biochemical characteres in a Natal, Brazil, population of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *J Am Mosq Control Assoc* 14: 277-282.
- Mukhopadhyay J, Ghosh K, Rangel EF, Munstermann LE 1998b. Genetic variability in biochemical characteres of Brazilian field populations of the *Leishmania* vector, *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Am J Trop Med Hyg* 59: 893-901.
- Oliveira SG, Bottecchia M, Bauzer LGSR, Souza NA, Ward RD, Kyriacou CP, Peixoto AA 2001. Courtship song genes and speciation in sand flies. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 403-405.
- Rangel EF, Lainson R, Souza AA, Ready P, Azevedo ACR 1996. Variation between geographical populations of *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) *sensu lato* (Diptera: Psychodidae: Phebotominae) in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 91: 43-50.

- Ribeiro JM, Vacherau A, MOdi GB, Tesh RB 1989. A novel vasodilatory peptide from the salivary glands of the sand fly *Lutzomyia longipalpis*. *Science* 243: 212-214.
- Shannon R 1939. Methods for collecting and feeding mosquitoes in jungle yellow fever studies. *Am J Trop Med Hyg* 19: 131-148.
- Souza NA, Vigoder FM, Araki AS, Ward RD, Kyriacou CP, Peixoto AA 2004. Analysis of the copulatory courtship songs of *Lutzomyia longipalpis* in six populations from Brazil. *J Med Entomol* 41: 906-913.
- Souza NA, Ward RD, Hamilton JG, Kyriacou CP, Peixoto AA 2002. Copulation songs in three siblings of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Trans R Soc Trop Med Hyg* 96: 102-103.
- Sokal PR, Sneath PHA 1963. *Principles of numerical taxonomy*. W H Freeman. San Francisco, pp.547.
- Sudia WA, Chamberlain RW 1962. Battery operated light trap, an improved model. *Mosquito News* 22: 126-129.
- Warburg A, Saraica E, Lanzaro GC, Titus RG, Neva F 1994. Saliva of *Lutzomyia longipalpis* sibling species differs in its composition and capacity to enhance leishmaniasis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 29: 233-230.
- Ward RD, Ribeiro AL, Ready PR, Murtagh A 1983. Reproductive isolation between different forms of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva), (Diptera: Psychodidae), the vector of *Leishmania donovani chagasi* Cunha & Chagas and its significance to kala-azar distribution in South America. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 78: 269-280.
- Ward RD, Ribeiro AL, Ryan L, Falcão AL, Rangel EF 1985. The distribution of two morphological forms of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 80: 145-148.

Ward RD, Phillips A, Burnet B, Marcondes CB 1988. The *Lutzomyia longipalpis* complex: reproduction and distribution. In MW Service, *Biosystematics of Haematophagous Insects*, Psford University Press, Oxford, p. 258-269.

Wright S 1978. In: *Evolution and the Genetics of Populations*. University of Chicago Press, Chicago, 4.

Young DC, Duncan NA 1994. Guide to the identification and geographic distribution os *Lutzomyia* sandflies in México, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Mem An Entomol Institut* 54: 1-881.

CAPÍTULO II

**ESTUDO SOBRE OS HÁBITOS ALIMENTARES DE ALGUMAS POPULAÇÕES
DE *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (LUTZ & NEIVA, 1912), (DIPTERA:
PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE), PROCEDENTES DE ÁREAS
ENDÊMICAS DE LEISHMANIOSE VISCERAL NO NORDESTE DO BRASIL**

Introdução

No Brasil, as leishmanioses são consideradas doenças emergentes em franca expansão territorial, presentes em todas as regiões geográficas fazendo parte da lista de doenças que compõem o Sistema de Informação de Notificação Compulsória (Brasil-SVS/MS 2006, 2007).

A leishmaniose visceral americana (LVA) dada a sua incidência e alta letalidade, particularmente em indivíduos não tratados e em crianças desnutridas, bem como quando associada a outras enfermidades, tais como na co-infecção por HIV, está se tornando uma das doenças mais importantes no país (Brasil-SVS/MS 2006). No Brasil, até o final da década de 80, aproximadamente 90% dos casos notificados de LVA encontravam-se na região Nordeste. Contudo, a partir da década de 90, a doença se expandiu para as demais regiões brasileiras, tais como Centro-Oeste e Sudeste, claramente num processo de urbanização (Brasil-SVS/MS 2006).

Lutzomyia (L.) longipalpis é o mais importante transmissor da LVA no Continente Americano (Lainson & Shaw 1998, Lainson & Rangel 2005); no Brasil é uma espécie que vem se adaptando ao ambiente antrópico, sendo encontrada em diferentes habitats, incluindo o domicílio em áreas urbanas (Brasil-SVS/MS 2006, Lainson & Rangel 2005).

Esta espécie possui ampla distribuição no Brasil, mas ainda é pouco estudada quanto aos aspectos relativos à sua biologia. A avaliação dos hábitos alimentares de *L. (L.) longipalpis* poderá trazer informações importantes, não apenas quanto à sua atração por potenciais reservatórios da *Leishmania (L.) infantum chagasi*, mas também com relação à sua capacidade de ocupar e se estabelecer em novos espaços.

Atualmente a região Nordeste concentra cerca de 52% dos casos humanos de LVA, onde os Municípios de Teresina (PI), Sobral (CE) e Jequié (BA) encontram-se dentre aqueles com maior incidência da doença, no processo de análise de risco epidemiológico realizado pelo Programa Nacional de Leishmaniose, da Secretaria de Vigilância e Saúde (Brasil-SVS/MS 2006).

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi identificar as possíveis fontes alimentares de *L. (L.) longipalpis* coletados em quatro municípios nordestinos: Jequié (BA), Teresina (PI), Sobral e Massapê (CE), com os três primeiros caracterizados como áreas de transmissão intensa de LVA.

Materiais e Métodos

Procedências dos espécimes

Bem como descritos no capítulo I.

Descrição as áreas de coletas

Bem como descritos no capítulo I.

Coletas e processamento

Os flebotomíneos foram capturados com o uso de armadilhas luminosas do tipo CDC (Sudia & Chamberlain 1962), modificada (modelo HP, HP Biomedical, Pugedo et al. 2005), e armadilha de Shannon (Shannon 1939). Nesta os flebotomíneos foram coletados com o auxílio do aspirador manual de Castro (Castro 1939). As armadilhas luminosas foram fixadas no período das 18:00h às 06:00h e as coletas com a armadilha de Shannon ocorreram entre 18:00h e 22:00h. Em cada localidade escolhida, foram selecionados pelo menos três diferentes pontos de coleta, que possuíam no mínimo 300 metros de distância entre si. As coletas foram realizadas no domicílio e no peridomicílio, próximo aos abrigos de animais domésticos, até uma distância máxima de 50m.

Após a captura, os flebotomíneos foram transportados vivos até o laboratório (Núcleo de Entomologia dos Municípios), em gaiolas de náilon presas a armações de ferro, envoltas em sacos plásticos e acondicionadas em caixas térmicas; uma vez contidos no aspirador manual de Castro, foram mortos por congelamento. Os exemplares foram transportados para o Laboratório de Transmissores de Leishmanioses, do Instituto Oswaldo Cruz, em caixa de transporte para embarque congelado 650, categoria B (Imer do Brasil). Os flebotomíneos foram triados em câmara fria (criolizador) e as fêmeas transportadas para microtubos de plástico e armazenadas em freezer a -20⁰C, até o momento da análise.

Os flebotomíneos foram coletados com o apoio técnico e logístico dos Núcleos de Entomologia das Secretarias de Saúde dos Estados da Bahia, Piauí e Ceará.

Descrição da técnica

Para a realização do teste imunoenzimático (ELISA) foram testadas fêmeas de *L. (L.) longipalpis* ingurgitadas ou que apresentavam algum resíduo de alimentação sanguínea. Foram analisados em torno de 100 exemplares de cada população.

A técnica de ELISA foi realizada segundo o protocolo descrito por Burkot et al. (1981), modificado por Duarte (1997). Em microscópio esterioscópico (Carl Zeiss), com o auxílio de pinças, foram separados a cabeça, tórax e abdome de cada fêmea, a cabeça juntamente com os três últimos segmentos abdominais foram diafanizados, com o uso de potássio a 20%. Os espécimes foram identificados com o auxílio de microscópio óptico de luz (Zeiss Germany Axioskop), segundo características diagnósticas morfológicas (cibário e espermatecas) (Young e Duncan 1994).

O abdome de cada fêmea foi dissecado e macerado em solução salina tamponada com fosfatos (PBS) pH7,2; 0,01M. As amostras foram armazenadas em freezer a -20°C até o momento da análise. Em placas de micro diluição de poliestireno de 96 cavidades (NuncC, 442404, maxisorp, Denmark), foram colocados 50 μl das amostras diluídas a 1:20 em tampão carbonato bicarbonato (pH9,6; 0,05M, Sigma). Em seguida, foram incubadas, por um período de 2 horas a 37°C sob condições de umidade. Após esta etapa de sensibilização, as microplacas foram lavadas com tampão de lavagem PBS/Tween 20 – 0,05% (Sigma Chemicals Co-St. Louis, USA) utilizando-se lavadora de microplacas semi-automática (Microplate Washer DNX – 9620, Perlong). Após a lavagem, anti-soros homólogos diluídos em tampão de diluição (PBS/Tween 20 – 0,05%/leite desnatado 1%- Molico-Nestlé, Brasil) foram adicionados as microplacas. Seguiu-se um período de incubação de 30 minutos, em estufa a 37°C em câmara úmida. Cada placa foi, retirada da estufa e lavada com o mesmo procedimento de lavagem anterior.

Em seguida, foram colocados 100 μl de solução contendo conjugado (goat anti-rabbit serum peroxidase conjugate - Sigma Chemical USA) diluído 20.000 vezes em tampão de diluição. Foi realizado novo período de incubação como descrito na etapa anterior. Decorrido o tempo determinado, cada placa foi retirada da estufa, lavada com o mesmo procedimento anterior e em seguida foi acrescentada à solução reveladora, constituída de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 30 volumes (Merck Diagnóstica-RJ,

Brasil) e 10 mg O-Phenylenediamine (OPD, Sigma Immunochemicals Co. USA) diluídos em tampão citrato/fosfato (pH 5,0; 0,05M, Sigma).

Cada placa, permaneceu em câmara escura por 15 minutos a temperatura ambiente. A reação foi bloqueada acrescentando-se 50µL de solução de ácido sulfúrico 1N. Em seguida foi realizada a leitura em absorbância utilizando-se leitora de microplacas (Test Line ELx 800), com filtro de leitura de 490nm e filtro de referência de 630nm.

Em todas as placas foram utilizados controles positivos, para cada reação. Este consiste de soro homólogo total diluído em tampão carbonato bicarbonato (pH 9,6; 0,05M, Sigma) 2000 vezes. Para sua validação foram esperados, para os controles positivos, valores de absorbância acima de 1,0.

Os anti-soros utilizados foram obtidos a partir da imunização de coelhos Nova Zelândia imunizados com antígenos do soro de galinha (*Gallus gallus* Linneous, 1758), cão (*Canis familiaris* Linnaeus, 1758), humano (*Homo sapiens sapiens* Linnaeus, 1758), gambá (*Didelphis Marsupialis* Linnaeus, 1758) e roedor (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769). Os soros imunes foram produzidos no Laboratório de Imunodiagnóstico / Departamento de Ciências Biológicas da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, FIOCRUZ (Protocolo CEUA/FIOCRUZ: 0068/00), onde permanecem aliquotados e armazenados a -20° C.

Para que fosse estimada a positividade das amostras, foi feito o cálculo baseado na média das absorbâncias obtidas a partir das reações observadas com os soros heterólogos somado a dois desvios padrão (*cut off point*). Este procedimento é adotado para excluir dos resultados as possíveis reações cruzadas e aumentar a especificidade do teste, obtendo conseqüentemente resultados mais confiáveis.



Figura 1. Locais de coletas das populações de *Lutzomyia (L.) longipalpis* estudadas.

Resultados

Foram testadas 609 fêmeas, obtendo-se um índice geral de positividade de 40,72%. Do total de amostras, 37,27% reagiram com os anti-soros testados e 62,72% não reagiram (Tabela 1 e 2).

No município de Jequié as amostras revelaram maior positividade para o anti-soro de ave, seguido de humano, cão e de gambá. Foi encontrada dupla fonte alimentar (positividade para cão e humano). Nenhuma fêmea apresentou positividade para o anti-soro de roedor (Tabela 3, Figura 2).

O município de Teresina foi a localidade cujos flebotomíneos analisados revelaram o mais alto índice de positividade, embora reagindo apenas com dois anti-soros. As fêmeas apresentaram maior positividade para o anti-soro de ave, seguido do anti-soro de cão. Foram identificados espécimes positivos, concomitantemente, para o anti-soro de ave e cão (Tabela 3, Figura 3).

Nos flebotomíneos procedentes de Sobral, mais uma vez, o anti-soro de ave revelou maior percentual de positividade, seguido de cão, gambá, além de reatividade para ambos os anti-soros, cão e gambá (Tabela 3, Figura 4).

Nos espécimes provenientes de Massapê foi encontrada a maior diversidade de combinações de fêmeas positivas, sendo esta, a única população que obteve reatividade para todos os anti-soros. Reagiram para anti-soro de ave (maior percentual), cão, gambá, humano, roedor, além de duplicidade para cão/humano, ave/gambá, ave/cão, cão/gambá e, ainda, ave/cão/gambá (Tabela 3, Figura 5).

Tabela 1. Distribuição do número de fêmeas de *Lutzomyia (L.) longipalpis* testadas e reagentes para cada município, pela técnica de ELISA.

Município	Número de fêmeas		
	Ingurgitadas	Reagentes	Não reagentes
		N (%)	N (%)
Jequié (BA)	98	21 (21,43)	77 (78,57)
Teresina (PI)	92	70 (76,09)	22 (23,91)
Sobral (CE)	159	45 (28,30)	114 (71,70)
Massapê (CE)	260	91 (35,00)	169 (65,00)
Total	609	227	382
%		37,27	62,72

Tabela 2. Distribuição do número de fêmeas de *Lutzomyia (L.) longipalpis* testadas e reagentes para cada um dos anti-soros, pela técnica de ELISA.

Fonte Alimentar	N	%
Ave	155	25,45
Cão	37	6,06
Gambá	8	1,31
Humano	6	0,98
Roedor	1	0,16
Ave + Cão	10	1,64
Cão + humano	4	0,66
Ave + gambá	3	0,50
Cão + gambá	2	0,33
Ave + cão + gambá	1	0,16
NR	382	62,73
Total	609	100

NR- não reativo

Tabela 3. Distribuição de número e percentual das fêmeas reagentes pela técnica de ELISA, para identificação de fontes alimentares, nas áreas estudadas.

Reagentes	A	C	G	H	R	C/H	A/G	A/C	C/G	A/C/G
Jequié										
Total	9	4	2	5	NR	1	-	-	-	-
%	42,86	19,05	9,52	23,81	NR	4,76	-	-	-	-
Teresina										
Total	50	13	NR	NR	NR	-	-	7	-	-
%	71,42	18,57	NR	NR	NR	-	-	10,00	-	-
Sobral										
Total	24	17	3	NR	NR	-	-	-	1	-
%	53,33	37,78	6,67	NR	NR	-	-	-	2,22	-
Massapê										
Total	72	3	3	1	1	3	3	3	1	1
%	79,12	3,30	3,30	1,10	1,10	3,30	3,30	3,30	1,10	1,10

A-ave, C-cão, G-gambá, H-humano, R-roedor, C/H-cão/humano, A/G-ave/gambá, A/C-ave/cão, C/G-cão/gambá, A/C/G-ave/cão/gambá, NR-não reativo.

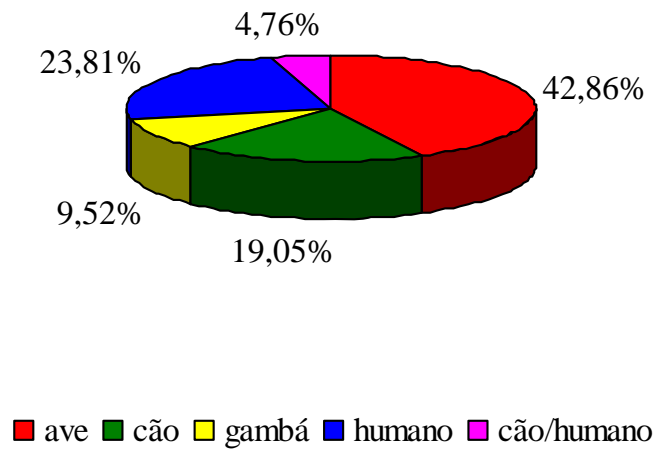


Figura 2. Distribuição do percentual das fontes alimentares observadas nas fêmeas de *Lutzomyia (L.) longipalpis*, analisadas através do teste ELISA, capturadas no Município de Jequié (BA).

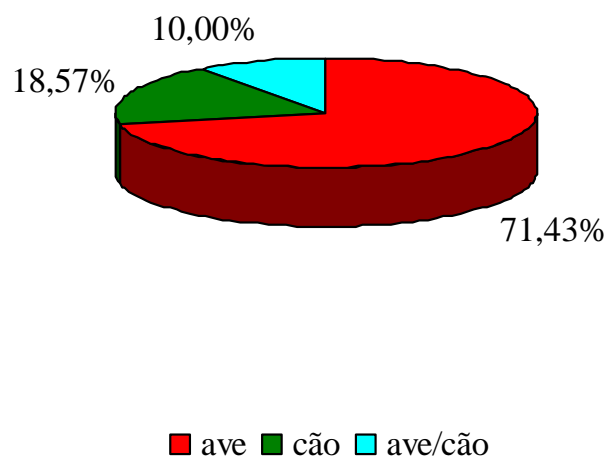


Figura 3. Distribuição do percentual das fontes alimentares observadas nas fêmeas de *Lutzomyia (L.) longipalpis*, analisadas através do teste ELISA, capturadas no Município de Teresina (PI).

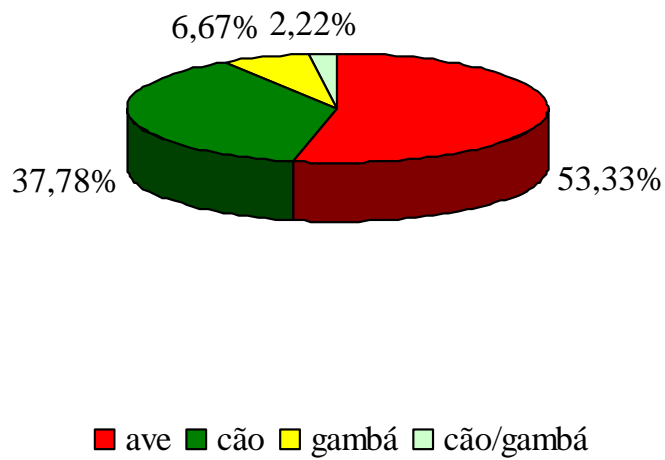


Figura 4. Distribuição do percentual das fontes alimentares observadas nas fêmeas de *Lutzomyia (L.) longipalpis*, analisadas através do teste ELISA, capturadas no Município de Sobral (CE).

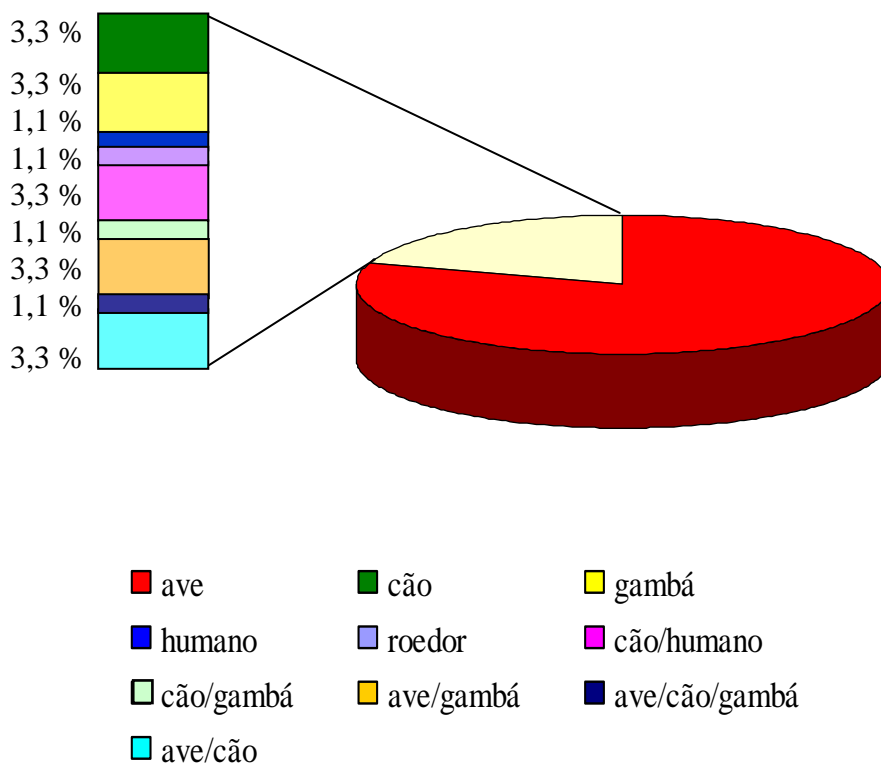


Figura 5. Distribuição do percentual das fontes alimentares observadas nas fêmeas de *Lutzomyia (L.) longipalpis*, analisadas através do teste ELISA, capturadas no Município de Massapê (CE).

Discussão

O teste imunoenzimático (ELISA) vem sendo empregado para identificação do hábito alimentar de mosquitos (Burkot et al. 1981), triatomíneos (Fuente 2007) e flebotomos (Quinell et al. 1992, Colmenares et al. 1995, Oliveira 2006, Marassá et al. 2006). Esta técnica tem se mostrado eficiente, por apresentar elevada especificidade e sensibilidade, quando comparada a outras técnicas de avaliação de conteúdo alimentar (Duarte 1997, Gomes et al. 2001).

A literatura tem registrado, com base em trabalhos de campo, o ecletismo de *L. (L.) longipalpis* para se alimentar em uma variada gama de mamíferos e aves, que incluem cães, porcos, eqüinos, gado e galinhas, (Deane 1956, Rosabal & Trejos 1965, Zeledon et al. 1984, Lainson & Rangel 2005). Aliada às condições ambientais favoráveis, a abundância de fontes alimentares é fator determinante no crescimento populacional deste vetor, especialmente em áreas rurais, o que propicia sua aproximação das habitações humanas.

Os dados do presente estudo revelaram que os exemplares das quatro populações examinadas alimentam-se em aves principalmente, sendo obtidos expressivos percentuais de positividade, em comparação com as demais fontes alimentares. No nordeste, estudos realizados no Maranhão, nos municípios de Raposo (Araújo et al. 2000) e na Ilha de São Luís (Carvalho et al. 2000) mostraram sucesso na utilização de galinhas, como iscas, durante coletas de flebotomíneos. Dos exemplares coletados no município de Raposo, foi determinado, através da técnica de precipitina, que o grupo de animais mais reativo para fêmeas de *L. (L.) longipalpis* foi ave (galinhas), animal doméstico mais comum na região (Dias et al. 2003). É sabido que galinheiros próximos às casas, atuam como atrativos para flebotomíneos, bem como funcionam como criadouros, uma vez que as formas imaturas se desenvolvem no solo rico em matéria orgânica, aumentando o contato entre os vetores e os humanos, associação que possui grande importância epidemiológica, pois facilita a domiciliação do vetor. Alexander et al. (2002) descreveram a atratividade que as aves exercem sobre machos e fêmeas de *L. (L.) longipalpis*. Embora as aves sejam refratárias a *Leishmania*, servem como fonte de alimentação para flebotomíneos e atraem potenciais reservatórios da *L. (L.) infantum chagasi* para próximo das habitações, possibilitando a instalação e manutenção do ciclo de transmissão (Lainson & Rangel 2003). Em investigações epidemiológicas sobre LVA realizadas durante a construção da estrada Iguarapémiri-Tucuruí, no Pará, foi

possível constatar a alta densidade de *L. (L.) longipalpis* nos galinheiros das casas, que eram construídas ao longo da estrada, em apenas 18 meses após o início das obras (Lainson & Rangel 2005).

Com base nos dados aqui obtidos, pode-se identificar reatividade para sangue de cães em flebotomíneos procedentes dos quatro municípios trabalhados, sendo Sobral o que revelou maior positividade. É importante destacar que Sobral, onde a densidade de cães é alta, é considerado como área de transmissão intensa de LVA.

Deane (1956) realizando xenodiagnósticos em cães doentes que infectaram flebotomíneos sugeriu o cão doméstico como importante reservatório da *L. (L.) infantum chagasi* e fonte de infecção para *L. (L.) longipalpis*. Em várias áreas de transmissão de LVA, evidências epidemiológicas incriminam os cães como reservatórios domésticos (Lainson & Rangel 2005). Recentemente, Silva et al. (2007), realizando estudos sobre a competência vetorial de *L. (L.) longipalpis*, na região de Bela Vista, em Teresina, encontraram 1,1% de fêmeas infectadas, relacionando estes dados com a existência de cães com LVA nas imediações. Dados recém divulgados de pesquisas em Araçatuba, São Paulo, sobre as fontes alimentares de *L. (L.) longipalpis*, analisadas através da técnica de precipitina, revelaram que das amostras reagentes, 91,4% reagiram para sangue canino. Tal fato foi correlacionado com a abundância do flebotomíneo e a permanência de cães no peridomicílio. O papel epidemiológico de cães na cadeia de transmissão de LVA em Araçatuba já era levantado, tendo em vista que a enzootia canina precedeu a transmissão para humanos (Camargo-Neves et al. 2007).

Na análise, ainda que revelando baixos índices de positividade, foi possível detectar sangue de gambá, em espécimes de três populações: Sobral, Massapê e Jequié, revelando pela primeira vez, no Brasil, a associação *L. (L.) longipalpis* – gambás. Na Colômbia, Morrison et al. (1993) também obtiveram reatividade baixa para gambás, em exemplares de *L. (L.) longipalpis* analisados pelo teste de precipitina.

Este dado deve ser analisado com atenção, pois o gambá, *Didelphis marsupialis* foi sugerido como possível reservatório de *Leishmania (L.) infantum chagasi*, a partir de isolados obtidos em Jacobina/BA, onde apenas 2 animais, em 84, estavam positivos, fato que para alguns autores seria aparentemente sem maior importância epidemiológica (Sherlock et al. 1984, 1988). Posteriormente, outros estudos relataram a infecção natural de *D. marsupialis*, por *Leishmania* spp., possivelmente *Leishmania (L.) infantum chagasi*, discutindo o papel destes mamíferos como potenciais reservatórios para a LVA (Schallig et al. 2007, Cabrera et al. 2003). Oliveira (2006), em Campo Grande, ao

verificar que apenas 8,9% das fêmeas de *L. (L.) longipalpis* apresentavam sangue ingerido de cães, admite que questionamentos devem ser feitos sobre o papel dos cães na cadeia epidemiológica de LVA em determinadas situações, suscitando a hipótese de outro reservatório na região.

Considerando as evidências da infecção natural em gambás e que estes animais são fontes alimentares para *L. (L.) longipalpis*, deve-se levar em conta a possibilidade deste mamífero sinantrópico participar da cadeia de transmissão de LVA em algumas regiões, especialmente aquelas que estão sofrendo alterações ambientais, o que facilita o contato destes animais com o homem.

Situações relatadas por técnicos do Programa de Leishmanioses de alguns municípios fazem uma correlação do aumento do número de casos humanos de LVA com a invasão de gambás em ambiente peri-urbano e, até mesmo, urbano. Tal fato ocorreu em Barbalho (CE), onde há pouco mais de três anos, após a construção de um parque aquático, houve uma invasão de gambás na zona urbana e, coincidentemente, nos três anos que se seguiram conbabilizou-se um aumento do número de casos humanos (comunicação pessoal, Secretaria Municipal de Saúde de Barbalho).

Conforme observado no presente estudo, em apenas duas populações (Jequié e Massapê) haviam flebotomíneos ingurgitados com sangue humano. A antropofilia de *L. (L.) longipalpis* tem sido assunto de diversos estudos, com base em trabalhos de campo (Deane 1956, Lainson & Rangel 2003), sendo este um dos critérios essenciais para que a espécie seja incriminada como importante vetor. Tal associação já havia sido observada por Deane (1956), que verificou que *L. (L.) longipalpis* picava o homem avidamente. Em Araçatuba, segundo os relatos de Camargo-Neves et al. (2007), a análise de exemplares de *L. (L.) longipalpis* sugeriu baixa antropofilia, o que também foi observado em estudos na Colômbia (Morrison et al. 1993). Contrariamente, investigações realizadas na Ilha de Marajó, no Pará, e em Campo Grande, Mato Grosso revelaram alta antropofilia das populações de *L. (L.) longipalpis* (Quinnel et al. 1992, Oliveira 2006). A ausência de positividade para sangue humano nos flebotomíneos de Teresina e Sobral, bem como o baixo índice verificado naqueles de Massapê não são elementos que permitem contestar a antropofilia destas populações de *L. (L.) longipalpis*, já demonstradas anteriormente. Há que se considerar que a oferta de fontes alimentares (aves e cães) em abundância no peridomicílio, como o observado nos sítios de coletas em Teresina e Sobral, pode ser um fator determinante na escolha da fonte alimentar, devido à proximidade com a fonte de alimento e criadouros de

flebotomíneos, o que nestas circunstâncias tornaria a alimentação em humanos oportunista.

Embora os roedores não representem elos da cadeia de transmissão da LVA, o anti-soro para roedor mostrou-se reativo (1,1%) para os espécimes oriundos de Massapê. Dias et al. (2003), estudando *L. (L.) longipalpis* proveniente de Raposo (MA), encontraram os roedores compondo o grupo de animais sinantrópicos mais procurados pelos flebotomíneos.

A não positividade, no contexto geral deste estudo, possivelmente tem uma relação direta com os anti-soros utilizados. Como este e outros estudos já puderam demonstrar *L. (L.) longipalpis*, assim como outras espécies de flebotomíneos, é eclético e oportunista na busca da fonte alimentar (Lainson & Rangel 2003) e os ensaios foram feitos, apenas, com anti-soros dos animais mais comumente encontrados nas áreas investigadas.

Foi possível a detecção de espécimes alimentados em mais de uma fonte sanguínea, principalmente em Massapê. Tal fato, além de evidenciar o ecletismo de *L. (L.) longipalpis*, ilustra um comportamento observado em flebotomíneos, o de “provar” seus hospedeiros, até que realize o repasto sanguíneo por completo. Este é, sem dúvida, um aspecto relevante no mecanismo de transmissão das leishmanioses.

Claramente, os resultados do presente estudo, com algumas populações nordestinas de *L. (L.) longipalpis*, corroboram com o ecletismo deste flebotomíneo em relação à fonte alimentar, aspecto já observado em espécimes oriundos de diferentes regiões brasileiras (Quinnell et al. 1992, Dias et al. 2003, Oliveira 2006, Camargo-Neves et al. 2007) e até mesmo na Colômbia (Morrison et al. 1993).

Nas ações de vigilância entomológica, as informações obtidas acerca da biologia dos vetores, especialmente na sua interação com os animais reservatórios, em associação com fatores ambientais, são aspectos que podem apontar para as alterações no perfil de transmissão de doenças (Gomes 2002). Nesse contexto, a aptidão para se alimentar frequentemente em animais domésticos, tais como aves e cães e ainda, eventualmente, em mamíferos sinantrópicos (gambás) é um atributo importante que favorece *L. (L.) longipalpis* no processo de adaptação a ambientes modificados, tendendo a domiciliação. Este fato possibilita a manutenção do ciclo de transmissão da LVA no ambiente rural e a expansão da doença para áreas urbanizadas, determinando os dois perfis de transmissão encontrados no Brasil.

Referências Bibliográficas

- Alexander B, Carvalho RL, McCallum H, Pereira MH 2002. Role of the domestic chicken (*Gallus gallus*) in the epidemiology of urban visceral leishmaniasis in Brazil. *Emerg Infect Dis* 8: 1480-1485.
- Araújo JC, Rebêlo JMM, Carvalho ML, Barros VLL 2000. Composição dos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) do Município de Raposo-MA, Brasil. Área endêmica de leishmanioses. *Entomol Vectores* 7: 33-47.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde 2006. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 1 ed. – Brasília : Editora do Ministério da Saúde, p.120.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde 2007. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 2 ed. – Brasília : Editora do Ministério da Saúde, p.182.
- Burkot TR, Goodman WG, Defoliart GR 1981. Identification of mosquito bloods meals by enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Hyg* 30: 1336-1341.
- Cabrera MAA, Paula A, Camacho LAB, Marzochi MC, Xavier S, Silva AVM, Jansen AM 2003. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of risk factors. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 45: 79-83.
- Camargo-Neves VLF, Rodas LAC, Gomes AC 2007. Avaliação do hábito alimentar de *Lutzomyia longipalpis* no Estado de São Paulo. *Boletim Epidemiológico Paulista* 4: 2-7.

- Carvalho ML, Rebêlo JMM, Araújo JC, Barros VLL 2000. Aspectos ecológicos dos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) do Município de São José do Ribamar, MA, Brasil. Área endêmica de leishmanioses. *Entomol Vectores* 7: 19-32.
- Castro GMO 1939. Hábitos de alguns flebotomos brasileiros. *Jornal do Comércio*, Rio de Janeiro, p.4.
- Colmenares M, Portús M, Botet J, Dobaño C, Gállego M, Wolff M, Seguí G 1995. Identification of blood meals of *Phlebotomus perniciosus* (Diptera: Psychodidae) in Spain by a competitive enzyme-linked immunosorbent assay biotin/avidin method. *J Med Entomol* 32: 229-233.
- Deane LM 1956. Leishmaniose visceral no Brasil. Estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará. Rio de Janeiro, Serviço Nacional de Educação Sanitária, 162 pp. Rio de Janeiro.
- Dias FO, Lorosa ES, Rebêlo JM 2003. Blood feeding sources and peridomiciliation of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). *Cad Saúde Pública* 19:1373-1380.
- Duarte R 1997. Ensaio imunoenzimático ELISA para identificação experimental de fontes alimentares em *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) (Hemíptera: Reduviidae), Tese de Mestrado. Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRZ, 103 pp.
- Fuente ALC 2007. Eco-genética compartiva das espécies afins *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964 e *Triatoma wygodzinskyi* Lent, 1951. Doutorado em Biologia Parasitária. Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, 199 pp.
- Gomes AC 2002. *Vigilância Entomológica*. Informe Epidemiológico do SUS. 11:79-80.
- Gomes LAM, Duarte R, Lima DC, Diniz BS, Serrão ML, Labarthe N 2001. Comparison between precipitin and ELISA tests in the bloodmeal detection of *Aedes aegypti*

- (Linnaeus) and *Aedes flaviatilis* (Lutz) mosquitoes experimentally fed on feline, canine and humans hosts. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 693-695.
- Lainson R, Shaw JJ 1998. New Leishmaniasis - The Neotropical *Leishmania* species. In: *Microbiology Infections*. Ed. Topley & Wilson's, 9th Edition, Chapter 13 p. 241-266.
- Lainson R, Rangel EF 2003. *Lutzomyia longipalpis* e a eco-epidemiologia da leishmaniose visceral americana (LVA) no Brasil. In: Rangel EF e Lainson R (edts), *Flebotomíneos do Brasil*, Rio de Janeiro, Fiocruz. p: 311-336.
- Lainson R, Rangel EF 2005. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100: 811-827.
- Marassá AM, Consales CA, Galati EAB, Nunes VLB 2006. Identificação do sangue ingerido por *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) e *Lutzomyia (Lutzomyia) almerioi* (Galati & Nunes, 1999) pela técnica imunoenzimática do ELISA de captura, no sistema avidina-biotina. *Rev Soc Bras Med Trop* 39:183-186.
- Morrison AC, Ferro C, Tesh RB 1993. Host preference of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* at an endemic focus of american visceral leishmaniasis in Colômbia. *Am J Trop Med Hyg* 49: 68-75.
- Oliveira AG 2006. Estudos ecológicos de Phebotominae (Diptera: Psychodidae) na área urbana do Município de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul. Doutorado em Biologia Parasitária. Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, 133 pp.
- Pugedo H, Barata RA, França-Silva JC, Silva JC, Dias ES 2005. HP: an improved model of suction light trap for the capture of small insects. *Rev Soc Bras Med Trop* 38:70-72.
- Quinnell RJ, Dye C, Shaw JJ 1992. Host preference of the phebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Amazonian Brazil. *Med Vet Entom* 6:195-200.

- Rosabal R, Trejos A 1965. *Phebotomus* de El Salvador (Diptera: Psychodidae). II. Observaciones sobre su biología con especial referencia a *P. longipalpis*. *Rev Biol Trop* 13: 219-228.
- Schalling HD, da Silva ES, Van Der Meide WF, Schoone GJ, Gontijo CM 2007. *Didelphis marsupialis* (common opossum): a potential reservoir host for zoonotic leishmaniasis in the metropolitan region of Belo Horizonte (Minas Gerais, Brazil). *Vector Borne Zoonotic Dis* 7: 387-393.
- Shannon R 1939. Methods for collecting and feeding mosquitoes in jungle yellow fever studies. *Am J Trop Med Hyg* 19: 131-148.
- Sherlock IA, Miranda JC, Sadigursky M, Grimaldi Jr G 1984. Natural infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia: Didelphidae) with *Leishmania donovani* in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 7: 511.
- Sherlock IA, Miranda JC, Sadigursky M, Grimaldi Jr G 1988. Experimental infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia Didelphidae) with *Leishmania donovani*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 83:141.
- Silva JGD, Wernwck GL, Cruz MSP, Costa CHN, Mendonça IL 2007. Infecção natural de *Lutzomyia longipalpis* por *Leishmania* sp. em Teresina, Piauí, Brasil. *Cad Saúde Pública* 23: 1715-1720.
- Sudia WA, Chamberlain RW 1962. Battery operated light trap, an improved model. *Mosquito News* 22: 126-129.
- Young DC, Duncan NA 1994. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sandflies in México, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Mem An Entomol Institut* 54: 1-881.

Zeledon R, Murillo J, Guitierrez H 1984. Ecology of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) and possibilities of the existence of visceral leishmaniasis in Costa Rica. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 79: 455-459.

Conclusões gerais

- As populações de *Lutzomyia (L.) longipalpis*, de Jequié, Teresina, Sobral e Massapê, são homogêneas, com base nos caracteres morfológicos considerados no estudo, padrão morfológico das manchas abdominais e fórmula palpal.
- As análises de dados morfométricos, comparando as populações supracitadas entre si, revelam polimorfismo inter e intra-populacional, sugerindo, mais uma vez, *L. (L.) longipalpis* como uma espécie polimórfica, assumindo que tais diferenças seriam co-específicas.
- Considerando o processo de especiação simpátrica, as diferenças significativas encontradas na morfometria, sustentariam a hipótese de que em Sobral existem duas populações de *L. (L.) longipalpis* em processo de especiação.
- Os expressivos percentuais de positividade para o anti-soro de ave, em comparação com as demais fontes alimentares, sugerem o papel importante deste animal no processo de domiciliação de *L. (L.) longipalpis*.
- As análises confirmam a frequência da alimentação de *L. (L.) longipalpis* em cães, reservatórios domésticos na transmissão de LVA.
- A ausência de positividade para anti-soro de humanos e a acentuada atração por animais domésticos, observado em Teresina e Sobral, reforça o comportamento oportunista de *L. (L.) longipalpis*.
- A reatividade para mais de uma fonte sanguínea, encontrada em vários exemplares, confirma o ecletismo da espécie e é sugerida como fator de adaptação de *L. (L.) longipalpis* a diferentes habitats.
- A associação *L. (L.) longipalpis* – gambás, revelada pela primeira vez no Brasil, sugere uma avaliação mais aprofundada do papel deste mamífero sinantrópico na cadeia de transmissão da LVA.