

Fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae) da Reserva Florestal da Cidade Universitária “Armando de Salles Oliveira”, município de São Paulo, SP, Brasil

Phlebotomine fauna (Diptera, Psychodidae) of the Forest Reserve of the “Armando de Salles Oliveira” University City, São Paulo municipality, SP, Brazil

Leonardo Estevam Honorato da Silva^[1]; Flávio Krzyzanowski-Júnior^[2]; Priscila Bassan Sábio^[3]; Vanessa Gusmon da Silva^[1]; Marcia Bicudo de Paula^[1]; Eunice Aparecida Bianchi Galati^[1]

^[1]Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP/USP). São Paulo – Brasil; ^[2]Departamento de Ciências e Matemática do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo (IFSP/SPO). São Paulo – Brasil; ^[3]Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo, Brasil.

RESUMO

As leishmanioses são doenças infecto-parasitárias cujos agentes etiológicos são tripanosomatídeos do gênero *Leishmania*, transmitidos por flebotomíneos (Diptera, Psychodidae). No estado de São Paulo (SP), a doença está em expansão. A Reserva da Cidade Universitária “Armando de Salles Oliveira” (CUASO) é uma mata secundária da área urbana do município de São Paulo, SP, com condições para a ocorrência de flebotomíneos. O estudo buscou investigar essa fauna na reserva. As coletas foram mensais de agosto/2018 a janeiro/2020, com armadilhas tipo CDC e armadilhas de Shannon na cor branca e na cor preta. As fêmeas foram dissecadas para investigação de infecção natural por *Leishmania*. Foram coletados 155 espécimes de seis espécies: *Evandromyia edwardsi*, *Lutzomyia amarali*, *Migonemyia migonei*, *Pintomyia bianchigalatae*, *Pintomyia fischeri* e *Pintomyia monticola*. *Pi. fischeri* predominou absolutamente (96,01%). Nas armadilhas de Shannon foram coletados 125 flebotomíneos e 30 nas armadilhas CDCs. As análises de correlação entre o número de flebotomíneos coletados por mês e a temperatura média, umidade relativa média e o total de chuvas mostraram-se negativas e não significantes. Não houve correlação estatisticamente significativa entre o número de espécimes coletados e a fase da lua. A armadilha de Shannon preta foi 2,4 vezes mais atrativa que a branca ($p < 0.0001$). Embora fêmeas infectadas por *Leishmania* spp. não tenham sido encontradas, *Pintomyia fischeri* apresenta potencial para transmissão de agentes da leishmaniose tegumentar e visceral. Portanto, monitorar flebotomíneos em matas urbanas pode auxiliar na detecção de mudanças na comunidade, provendo alicerce para predição quanto à ocorrência das leishmanioses.

PALAVRAS-CHAVE: Phlebotominae. Reserva da CUASO. Universidade de São Paulo (USP). Leishmanioses.

Fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae) da Reserva Florestal da Cidade Universitária “Armando de Salles Oliveira”, município de São Paulo, SP, Brasil/Silva LEH, Krzyzanowski-Júnior F, Sábio PB, Silva VG, Paula MB, Galati EAB

ABSTRACT

Leishmaniasis are infectious and parasitic diseases whose etiological agents are trypanosomatids of the genus *Leishmania*, transmitted by sand flies (Diptera, Psychodidae). In São Paulo state (SP), leishmaniasis has been expanding. The University City Reserve “Armando de Salles Oliveira” (CUASO) is an urban secondary forest of the São Paulo municipality, SP, with conditions for the occurrence of sand flies. This study sought to investigate this fauna in the reserve. Insects were collected monthly from August/2018 to January/2020, with CDC and white and black Shannon traps. Females were dissected for investigation of natural *Leishmania* infection. A total of 155 specimens of six species were collected: *Evandromyia edwardsi*, *Lutzomyia amarali*, *Migonemyia migonei*, *Pintomyia bianchigalatae*, *Pintomyia fischeri* and *Pintomyia monticola*. *Pi. fischeri* predominated absolutely (96.01%). In the Shannon traps, 125 sand flies and 30 in the CDC traps were collected. The correlation analyzes between the number of insects collected per month and average temperature and humidity, and the total rainfall were negative and not significant. The correlation between the number of specimens and the phase of the moon was not significant. The black Shannon trap was 2.4 times more attractive than the white one ($p < 0.0001$). Although no female infected with *Leishmania* spp. has been found, *Pi. fischeri* has the potential to transmit agents of cutaneous and visceral leishmaniasis. Therefore, monitoring sand flies in urban forests is important to detect changes in the community, providing a foundation for predicting the occurrence of leishmaniasis.

KEYWORDS: Phlebotominae. Reserve - CUASO. University of São Paulo (USP). Leishmaniasis.

INTRODUÇÃO

Os flebotomíneos são insetos de importância médico-veterinária classificados na ordem Diptera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae. Esses insetos vivem preferencialmente ao nível do solo, próximo a raízes expostas, sob folhas ou troncos caídos, em tocas de animais e ao abrigo do vento e do sol. As fêmeas são hematófagas, pois necessitam de sangue para o desenvolvimento dos ovos e é durante o repasto sanguíneo de fêmeas infectadas que parasitos do gênero *Leishmania*, agentes das leishmanioses, são transmitidos aos hospedeiros vertebrados.¹

Fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae) da Reserva Florestal da Cidade Universitária “Armando de Salles Oliveira”, município de São Paulo, SP, Brasil/Silva LEH, Krzyzanowski-Júnior F, Sábio PB, Silva VG, Paula MB, Galati EAB

No estado de São Paulo, de 2010 a 2020, foram registrados 2.315 casos autóctones de leishmaniose tegumentar (LT)² e 1.500 casos de leishmaniose visceral (LV).^{3,4}

Atualmente são conhecidas 1.026 espécies de flebotomíneos, sendo que aproximadamente 260 delas ocorrem no Brasil.^{5,6} Segundo Aguiar e Vieira,⁷ são registradas 77 espécies de flebotomíneos no estado de São Paulo. Castelo et al.,⁸ analisando a fauna flebotomínea dos parques do município de São Paulo, registraram 24 espécies de flebotomíneos na região e Silva⁹ capturou uma fêmea de *Lutzomyia* sp. similar a *Lu. longipalpis*, porém, como espécies próximas a *Lu. longipalpis* são de difícil distinção pelos espécimes fêmeas e machos que permitem a identificação segura não foram coletados na pesquisa, não foi possível a identificação do espécime com certeza. Dentre as espécies registradas no estado, encontram-se vetores de *Leishmania braziliensis*, agente da forma tegumentar da doença, como *Nyssomyia intermedia*, *Ny. neivai* e *Ny. whitmani*, e *Lu. longipalpis*, principal vetor de *Leishmania infantum*, agente da LV.^{8,9} Além destas, assinala-se a presença de *Migonemyia migonei*, *Pintomyia pessoai* e *Pi. fischeri* suspeitas de transmitirem *L. braziliensis*, com a última delas tendo sido encontrada naturalmente infectada por *L. infantum* na Grande São Paulo, onde foram observados casos de Leishmaniose Visceral Canina na ausência de *Lu. longipalpis*.¹⁰

Conhecer a distribuição de flebotomíneos é de extrema importância para a vigilância epidemiológica das leishmanioses e a divulgação da presença de espécies implicadas como vetoras de *Leishmania* em novas áreas de investigação colabora para apontar aquelas com risco de transmissão da doença.¹¹ Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi investigar a fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) da mata da Reserva da Cidade Universitária Armando de Salles Oliveira (CUASO), quanto à diversidade, distribuição mensal e sua correlação com as variáveis climáticas e fase lunar, e infecção natural por *Leishmania*.

METODOLOGIA

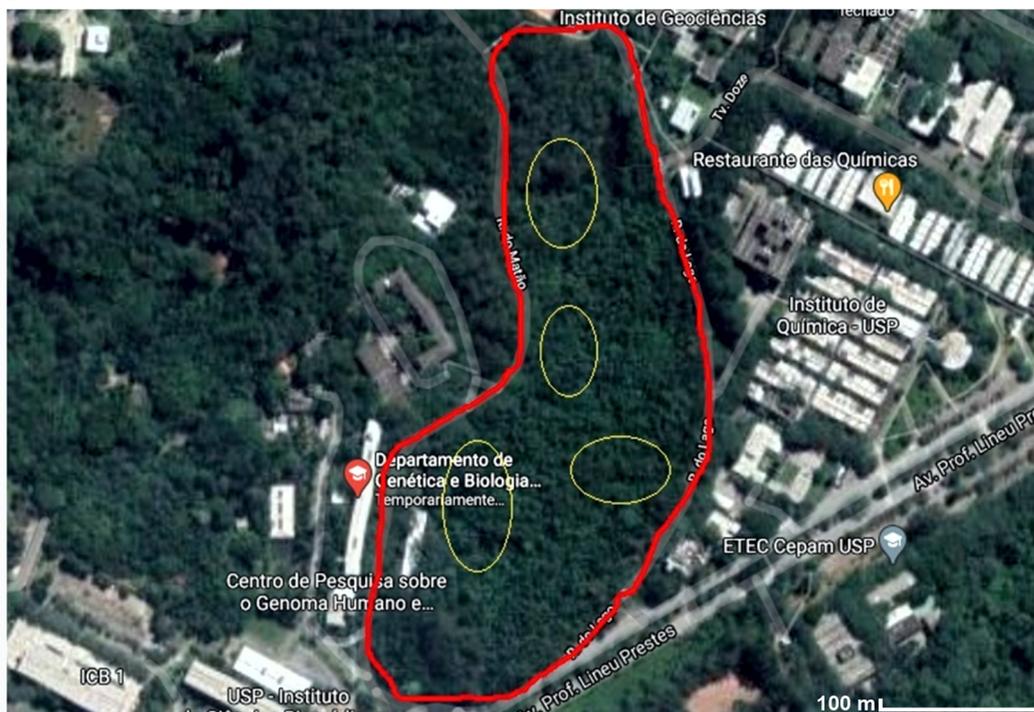
Área de Estudo

A mata da Reserva da Cidade Universitária Armando de Salles Oliveira (CUASO) está localizada no bairro do Butantã, zona oeste da cidade de São Paulo – SP, próxima ao Instituto de Biociências e ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP), entre as coordenadas 23°33'44" e 23°34'02" S e 46°43'38" e 46°43'49" W. A Reserva

Fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae) da Reserva Florestal da Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira", município de São Paulo, SP, Brasil/Silva LEH, Krzyzanowski-Júnior F, Sábio PB, Silva VG, Paula MB, Galati EAB

ocupa 102.100m², com altitudes entre 730m e 775m. É, atualmente, uma das poucas áreas de floresta secundária protegida dentro da cidade de São Paulo,¹² de modo a formar um mosaico composto por áreas em diversos estádios de degradação e regeneração¹³ (Figura 1).

Figura 1. Delimitação da área da Reserva da CUASO (em vermelho). As elipses amarelas representam as áreas onde todas as armadilhas foram instaladas. Fonte: <https://www.google.com.br/maps/preview> (editada)



Coleta, dissecação e montagem de flebotomíneos

As coletas foram aleatórias no interior da Reserva num período de 18 meses, de agosto de 2018 a janeiro de 2020, utilizando-se duas armadilhas do tipo Shannon, uma na cor preta e outra na cor branca¹⁴ e três armadilhas luminosas, tipo CDC (Centers of Disease Control).

As coletas foram mensais, sendo que as armadilhas do tipo Shannon nas cores branca ou preta foram instaladas lado a lado no período das 18h às 22h e as armadilhas CDC permaneceram ligadas das 19h até as 7h do dia seguinte com distância de 50 a 100 metros entre os pontos.

Nas armadilhas de Shannon, os flebotomíneos foram coletados com capturadores de Castro e mantidos vivos em frascos utilizados para o seu transporte. Nas armadilhas tipo CDC, os insetos coletados, na manhã do dia seguinte, foram mantidos nas câmaras

Fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae) da Reserva Florestal da Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira", município de São Paulo, SP, Brasil/Silva LEH, Krzyzanowski-Júnior F, Sábio PB, Silva VG, Paula MB, Galati EAB

coletoras. Os flebotomíneos foram levados ao Laboratório de Entomologia em Saúde Pública/Phlebotominae da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP/USP), onde as fêmeas vivas foram aspiradas com capturadores de Castro e anestesiadas individualmente no freezer a -20°C por 10 a 12 minutos.

As fêmeas anestesiadas foram transferidas para um recipiente contendo solução aquosa de detergente, para eliminar a grande quantidade de cerdas. Em seguida, foram transferidas para uma lâmina estéril em uma gota de solução salina a 0,9% estéril. Ao microscópio estereoscópico, as pernas, asas e a cabeça foram separadas com o auxílio de dois estiletes e, após, foi pressionado o início do abdome com um dos estiletes. Com o outro estilete, tracionou-se a parte final do abdome, entre o 7^o e 8^o tergito, de modo a expor o tubo digestivo do inseto. Então, a amostra foi coberta com uma lamínula e observada em microscópio óptico no aumento de 400 vezes, para a investigação da infecção natural por flagelados. Realizada a observação do tubo digestivo, procedeu-se a identificação do inseto por meio de suas espermatecas, tórax e cabeça.

As fêmeas mortas e os machos foram mantidos sob refrigeração até serem clarificados e corados. Inicialmente, os espécimes foram imersos em solução aquosa de hidróxido de potássio a 10% por aproximadamente 12 horas. Após isso, foram imersos em ácido acético mais uma gota de fucsina ácida, por 30 minutos. Posteriormente a esta etapa, os insetos foram desidratados em concentrações crescentes de soluções de álcool etílico, na ordem: 70%, 80%, 90% e absoluto, por 10 minutos cada. Ao final, os flebotomíneos permaneceram em eugenol por no mínimo 24 horas e, só então, foram montados em meio enecê¹⁵ entre a lâmina e a lamínula.

Após a montagem das lâminas, os insetos foram identificados seguindo a chave de identificação de Galati⁵ e a abreviação genérica proposta por Marcondes.¹⁶ Vouchers dos espécimes estão depositados na coleção do laboratório.

Obtenção dos dados climáticos

Os dados mensais de temperatura média e umidade relativa média, bem como o total de chuvas, foram obtidos da Estação Meteorológica do Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas (IAG-USP), localizada na Av. Miguel Estéfano, 4200, Água Funda, São Paulo-SP, área mais próxima do local de pesquisa.

Fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae) da Reserva Florestal da Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira", município de São Paulo, SP, Brasil/Silva LEH, Krzyzanowski-Júnior F, Sábio PB, Silva VG, Paula MB, Galati EAB

Análises estatísticas

Para verificar se a diferença da atratividade das armadilhas de Shannon nas cores branca e preta foi estatisticamente significativa, foi usado o teste binomial no programa Jamovi versão 1.8©. A correlação entre o número de espécimes coletados e as variáveis climáticas temperatura, umidade e precipitação foi verificada por meio do Coeficiente de Spearman (rs) no programa BioEstat 5.0© e a correlação entre o número de espécimes coletados e as fases da lua foi verificada por meio do teste Kruskal-Wallis no programa Jamovi versão 1.8©. Os dados de acumulação de espécies, curva de rarefação e estimador de Jackknife 1 foram exportados do programa Past versão 2.17c© e analisados no Microsoft Excel 2007.

RESULTADOS

Um total de 155 flebotomíneos foi coletado, considerando todas as armadilhas utilizadas. Os flebotomíneos capturados são de seis espécies e quatro gêneros; 143 fêmeas (92,25%) e apenas 12 (7,75%), machos (Tabela 1).

Tabela 1. Número e porcentagem das espécies, segundo o sexo, coletadas na Reserva da CUASO entre julho de 2018 e janeiro de 2020

Espécie	Macho	Fêmea	Total	Porcentagem
<i>Pintomyia (Pintomyia) fischeri</i>	9	140	149	96,10%
<i>Pintomyia (Pifanomyia) monticola</i>	-	2	2	1,30%
<i>Pintomyia (Pintomyia) bianchigalatae</i>	-	1	1	0,65%
<i>Migonemyia (Migonemyia) migonei</i>	1	-	1	0,65%
<i>Evandromyia (Barrettomyia) edwardsi</i>	1	-	1	0,65%
<i>Lutzomyia (Castromyia) amarali</i>	1	-	1	0,65%
Total	12	143	155	100%

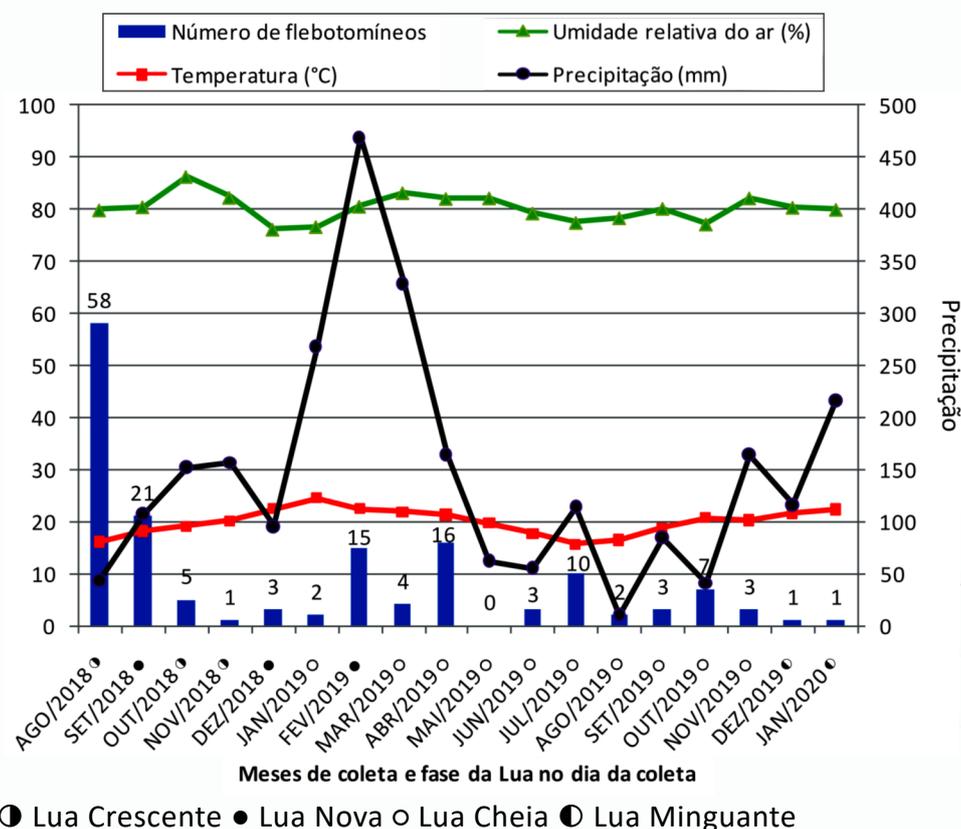
Quanto às duas técnicas empregadas para as coletas, 125 flebotomíneos foram coletados nas armadilhas de Shannon (80,65%) e 30 (19,35%) nas armadilhas CDC. Para as armadilhas de Shannon, 88 (70,4%) insetos foram coletados na preta, e 37 (29,6%) na branca. A razão de atratividade das cores preta e branca foi de 2,4:1,0. Os dados da pesquisa mostraram evidência estatística significativa de que a armadilha preta foi mais atrativa ($p < 0.0001$).

Pintomyia fischeri foi a espécie mais abundante, com 149 espécimes coletados, o que corresponde a 96,1% de toda a amostra (Tabela 1).

A segunda espécie mais abundante foi *Pi. monticola*, com dois espécimes (coletados em agosto de 2019 e abril de 2020). Para as demais espécies, apenas um espécime foi coletado nos seguintes meses: *Mg. migonei*, agosto/2019; *Evandromyia edwardsi*, setembro/2019; *Pi. bianchigalatae*, abril/2019 e *Lu. amarali*, outubro/2019. Não foram coletados espécimes de *Lu. longipalpis*.

No primeiro mês de estudo coletou-se o maior número de flebotomíneos (58), correspondendo a 37,41% de toda a amostra (Figura 2). Ressalta-se que a distribuição praticamente reflete a de *Pi. fischeri*, dado que representou 96,1% dos espécimes.

Figura 2. Número de flebotomíneos coletados na Reserva da CUASO e média mensal das variáveis climáticas entre julho de 2018 e janeiro de 2020 e fase lunar no dia da coleta



Na figura 2 foram plotados dados mensais de temperatura média, umidade relativa média e precipitação total. As duas maiores frequências dos espécimes ocorreram em agosto e setembro de 2018, com baixas precipitação e temperatura, e umidade relativa em torno de 80%. Segue-se um intervalo de quatro meses com frequências bem reduzidas. De janeiro a março de 2019 foi o período mais chuvoso e com temperaturas elevadas, porém,

Fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae) da Reserva Florestal da Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira", município de São Paulo, SP, Brasil/Silva LEH, Krzyzanowski-Júnior F, Sábio PB, Silva VG, Paula MB, Galati EAB

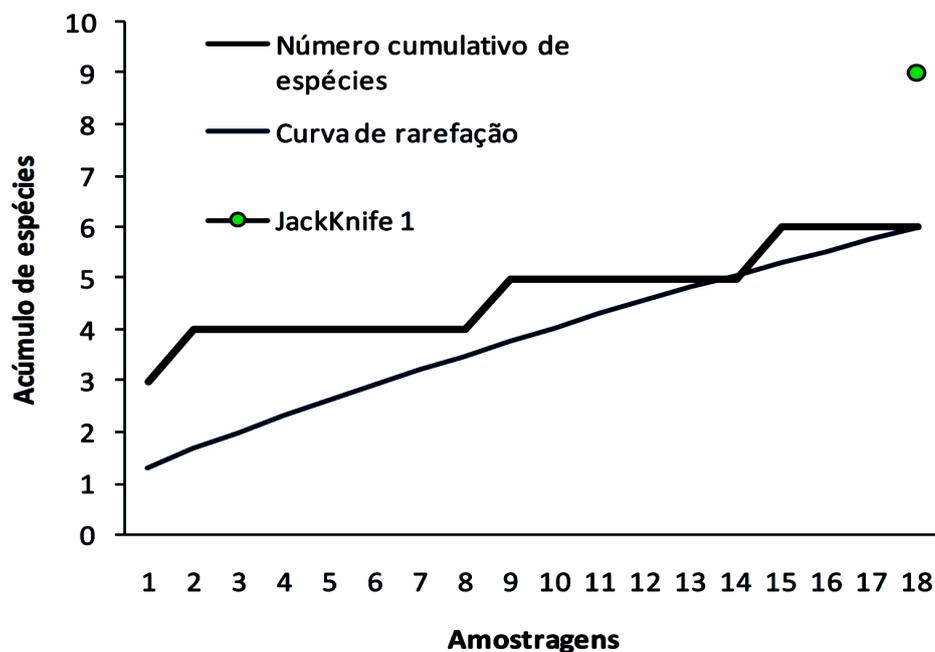
só em fevereiro houve elevação da frequência dos insetos, com a coleta de cerca de 10% dos espécimes. Outro pico desta magnitude ocorreu em abril de 2019. No mês seguinte a frequência foi nula. Seguem pequenos aumentos da frequência alternados com baixas frequências. O mesmo ocorre com as chuvas, mas os picos moderados que ocorreram não são coincidentes com os da frequência dos insetos. A temperatura média e a umidade relativa são relativamente constantes, com queda nos meses de junho a agosto de 2019, mas houve um ligeiro aumento na frequência dos insetos em julho de 2019.

A correlação entre os dados climáticos mensais e o número de flebotomíneos coletados mostrou-se negativa e não significativa ($p > 0,05$) para a temperatura ($r_s = -0,246$; $p = 0,324$), umidade ($r_s = -0,004$; $p = 0,986$) e precipitação ($r_s = -0,010$; $p = 0,967$). Também não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre o número de espécimes coletados e a fase da lua ($p = 0,171$).

O gráfico de acúmulo de espécies não atingiu um platô e o estimador Jackknife aponta a possível ocorrência de nove espécies na área (Figura 3).

Em nenhuma das 143 fêmeas dissecadas foi observada a infecção natural por *Leishmania* spp.

Figura 3. Número cumulativo e curva de rarefação das espécies coletadas na Reserva da CUASO entre julho de 2018 e janeiro de 2020



DISCUSSÃO

Todas as espécies coletadas na área de pesquisa já foram citadas no município de São Paulo. Os trabalhos de Castelo et al.⁸ e Silva⁹ indicam que 25 espécies ocorrem no município. Este estudo mostrou, portanto, que a área da Reserva da CUASO registrou pelo menos 24% das espécies conhecidas para o município, um número expressivo, considerando que a Reserva é uma área de mata secundária relativamente pequena localizada em área urbana da cidade de São Paulo.¹³

Destaca-se, assim como nos trabalhos de Castelo et al.,⁸ Silva⁹ e Moschin et al.,¹⁷ todos no município de São Paulo, o expressivo predomínio de *Pintomyia fischeri*, espécie altamente antropofílica,¹⁸ que apesar de abundante em ambientes domésticos e peridomésticos, mostra-se bem adaptada a ambientes florestais, onde há grande número de criadouros e abrigos naturais. Adultos têm sido coletados ao nível do solo ou no alto das árvores (acrodendrofilia).¹⁹

Pintomyia fischeri mostrou-se suscetível à infecção experimental por *L. braziliensis* com desenvolvimento de formas potencialmente infectantes,²⁰ assim como de *L. infantum*,²¹ e foi encontrada naturalmente infectada por *L. infantum* na região da Grande São Paulo¹⁰ e no estado do Rio Grande do Sul.²² Nos estados do Rio Grande do Sul, Minas Gerais e Espírito Santo, essa espécie já foi encontrada infectada naturalmente por *L. braziliensis*.^{18,23,24} As observações sobre infecção experimental e natural, alta antropofilia,^{17,18} bem como elevadas frequências dessa espécie, são parâmetros que apontam para o seu papel como potencial de vetor desses parasitas.^{10,21}

A espécie *Pi. monticola*, também bastante antropofílica,²⁵ representada neste estudo por dois indivíduos, é encontrada em uma grande variedade de habitats, como mata atlântica (em estratos inferiores, superiores e em bordas florestais), cerrado e em cavernas, bem como em áreas urbanas.^{26,27} Espécimes desse táxon são altamente atraídos por armadilhas de isca luminosa e armadilha de Shannon, e há relatos de coleta utilizando outras armadilhas, tais como armadilhas Malaise e Damasceno. Em relação à densidade entre os sexos, fêmeas de *Pi. monticola* são coletadas em proporção bem maiores que machos²⁶⁻²⁸ durante horários diurnos e noturnos.²⁶ Espécimes foram encontrados naturalmente infectados por *L. braziliensis* em uma área de foco de LT no município de Divinópolis (MG)²³ e, em Campinas (SP), o DNA de *L. infantum* foi identificado em flebotomíneos dessa espécie.²⁹

Outra espécie altamente antropofílica é *Mg. migonei*,³⁰ representada neste estudo por apenas um indivíduo capturado. Apesar da baixa frequência, a sua presença na área

é um dado relevante, pois nos estudos de Azevedo, Rangel e Queiroz³¹ foi encontrada naturalmente infectada por *L. braziliensis*, e em estudo sobre infecção experimental, mostrou formas potencialmente infectantes desse parasita,²⁰ indicando sua possível participação como vetora dessa leishmânia. Tem sido considerada, em diversas regiões endêmicas de LT no Brasil, como vetor secundário.^{19,31} Além disso, foi encontrada naturalmente infectada por *L. infantum* em Pernambuco³² e na Argentina;³³ neste país, vem sendo considerada uma espécie transmissora secundária de agentes da LV.^{34,35} Teodoro et al.¹⁹ destacam a sua forte atratividade por galináceos; Azevedo, Rangel e Queiroz,³¹ em estudo no Ceará, apontam sua adaptação aos ambientes peridomésticos e Falqueto³⁶ relatou a possível ponte que essa espécie faz entre os ambientes silvestres e domiciliar.

Neste estudo, apenas um espécime de *Evandromyia edwardsi* foi capturado. Apesar da baixa frequência, é uma espécie de interesse epidemiológico porque foi encontrada infectada naturalmente por *L. braziliensis* em Cotia, município vizinho da cidade de São Paulo.³⁷ Assim como *Pi. monticola*, essa espécie habita uma grande variedade de habitats: florestas, tocas de animais silvestres e ambientes rochosos.²⁶ *Ev. edwardsi*, apesar de ser atraída por diversos animais, não tem afinidade pelo homem.³⁶

Apenas um indivíduo de *Pi. bianchigalatae* foi capturado neste estudo, espécie também considerada altamente antropofílica.³⁸ *Lutzomyia amarali* foi outra espécie representada por apenas um indivíduo neste estudo. Não há registro na literatura do encontro de *Pi. bianchigalatae* e *Lu. amarali* infectadas por flagelados.

Fatores relacionados à umidade relativa, precipitação, temperatura e fases lunares podem influenciar na dinâmica populacional de flebotomíneos.³⁹ Em relação às variáveis climáticas, embora tenha havido uma correlação negativa entre o número de insetos coletados e essas variáveis, a mesma não foi significativa. Também não foi possível identificar um padrão sazonal no número de insetos coletados (Figura 2). Embora tenha havido predomínio das coletas na fase de lua cheia, nesta e nas demais, não foi possível identificar uma correlação significativa com frequências elevadas de flebotomíneos.

Considerando-se que *Pi. fischeri* respondeu por 96,1% dos insetos coletados, pode-se atribuir a essa espécie o padrão de variação na frequência mensal dos espécimes, como plotado na figura 2. Nesta, pode-se observar claramente o elevado número de espécimes na primeira coleta, acentuada queda na segunda coleta e variações na frequência ao longo do período, mas sempre menores do que na segunda coleta. Esse padrão de variação, muito provavelmente, pode ser atribuído ao impacto que a retirada

dos espécimes causou na dinâmica da população de *Pi. fischeri*, que ainda está num estreito equilíbrio nessa mata secundária sob forte pressão de poluição ambiental, devido à proximidade com vias de trânsito no interior da cidade universitária, bem como da Marginal Pinheiros, com intenso tráfego, inclusive de caminhões. Essa suposição tem como base a informação de um dos autores (EAB GALATI) de que na década de 1970, em coleta realizada com armadilha de Shannon na CUASO, foram obtidos vários espécimes de flebotomíneos de várias espécies, inclusive de *Pi. fischeri*; todavia, em 1990, Galati desenvolveu juntamente com uma aluna várias coletas em meses subsequentes nesse mesmo fragmento de mata, empregando armadilhas semelhantes às utilizadas no presente estudo, sem que qualquer espécime de flebotomíneo tivesse sido atraído às mesmas, o que parece indicativo de que a fauna flebotomínea dessa reserva esteja em um processo relativamente recente de recomposição. Assim, a retirada de espécimes, sobretudo de fêmeas, em grande quantidade nas primeiras coletas, inviabilizou a manutenção da taxa de reprodução da espécie, levando ao desequilíbrio na dinâmica populacional local, uma vez que essas não deixaram descendentes. Portanto, a variação mensal observada, parece mais um desfecho da interferência que as coletas provocaram, do que a dinâmica natural da população local. Entretanto, não se pode negligenciar os diversos outros mecanismos extrínsecos e intrínsecos, em diferentes escalas, que podem gerar padrões de variação de populações em um sistema ecológico, considerando principalmente estudos em espaço-tempo específicos.⁴⁰

O gráfico apresentado na figura 3 indica uma curva crescente sem atingir um platô nas coletas finais, indicando que, se realizada uma amostragem mais longa, outras espécies poderiam ser coletadas. O estimador Jackknife 1, uma técnica estatística de reamostragem, calculou a possibilidade de encontrar nove espécies na área, ou seja, possivelmente há outras três espécies que ocorrem na área e que não foram registradas neste estudo.

CONCLUSÃO

Conhecer a ecologia e a distribuição de flebotomíneos na mata da Reserva da CUASO é relevante para a vigilância epidemiológica das leishmanioses, pois a divulgação do encontro das espécies colabora para determinar o risco de transmissão dessas doenças.

É importante manter o monitoramento da ecologia dos flebotomíneos da área, verificando eventuais mudanças no perfil da comunidade, provendo alicerce para predição quanto à ocorrência das leishmanioses e permitindo intervenções relacionadas à sua profilaxia.

Os achados neste estudo também podem servir de base e incentivo para que novas áreas do município de São Paulo sejam estudadas a fim de observar se o mesmo perfil de espécies encontradas se repete em outras regiões de mata secundária e antropizadas.

Houve redução substancial na quantidade de espécimes de *Pi. fischeri* atraídos às armadilhas, motivada provavelmente pela retirada de fêmeas, resultando em alteração na dinâmica populacional da espécie, que se encontra em estreito equilíbrio em virtude de impactos antrópicos. Adverte-se, portanto, que para estudos a serem desenvolvidos em áreas impactadas, é desejável o emprego de métodos de amostragens que causem pouca redução no tamanho populacional das espécies, no sentido de manter a biodiversidade.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à gerência da Estação Meteorológica do Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas da Universidade de São Paulo pela disponibilização dos dados meteorológicos.

Agradecemos a Alessandra Bergamo Araújo, do Laboratório de Fauna Sinantrópica da Divisão de Vigilância de Zoonoses de São Paulo (LabFauna/DVZ-SP), pelas instruções para as análises estatísticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Forattini OP, organizador. Entomologia Médica, Psychodidae. Phlebotominae. Leishmanioses. Bartonelose. São Paulo: EDUSP; 1973.
2. Centro de Vigilância Epidemiológica [boletim na internet]. Leishmaniose tegumentar americana no Estado de São Paulo – Casos autóctones de Leishmaniose Tegumentar segundo ano de diagnóstico, Estado de São Paulo, 2007 a 2020. [Acesso em 09 abr 2021]. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/zoo/Ita_gve_notres.htm.
3. Centro de Vigilância Epidemiológica [boletim na internet]. Leishmaniose visceral americana no Estado de São Paulo – Casos e óbitos de Leishmaniose Visceral segundo município de infecção e ano de notificação, Estado de São Paulo, 1999 a 2016. [Acesso em 09 abr 2021]. Disponível em: <https://www.saude.sp.gov.br/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica-prof.-alexandre-vranjac/>
4. Centro de Vigilância Epidemiológica [boletim na internet]. Leishmaniose visceral americana no Estado de São Paulo-Casos confirmados de Leishmaniose Visceral segundo LPI e ano de notificação, Estado de São Paulo, 2017 a 2021 [Acesso em 09 abr 2021]. Disponível em: <https://www.saude.sp.gov.br/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica-prof.-alexandre-vranjac/>
5. Galati EAB. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae): classification, morphology and terminology of adults and identification of American taxa. In: Rangel EF, Shaw JJ. (Ed.). Brazilian sand flies: biology, taxonomy, medical importance and control. Switzerland: Springer International Publishing; 2018. p. 9-212.
6. Shimabukuro PHF, Galati EAB. Lista de espécies de Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do Estado de São Paulo, Brasil, com comentários sobre sua distribuição geográfica. Biota Neotrop. 2011; 11(1):1-20.
7. Aguiar GM, Vieira VR. Regional distribution and habitats of Brazilian phlebotomine species: biology, taxonomy, medical importance and control. In: Rangel EF, Shaw JJ. (Ed.). Brazilian sand flies: biology, taxonomy, medical importance and control. Switzerland: Springer International Publishing; 2018. p. 251-98.
8. Castelo NO, Nascimento ACP, Oliveira RC, Marques S, Gonçalves EFB, Galati EAB. Fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae) em parques do município de São Paulo, estado de São Paulo, Brasil. BEPA, Bol. epidemiol. paul. 2015; 12(141): 1-9.
9. Silva AF. Vigilância da leishmaniose visceral americana no município de São Paulo [tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2015.

10. Galvis-Ovallos F, Ueta AE, Marques GO, Sarmento AMC, Araujo G, Sandoval C et al. Detection of *Pintomyia fischeri* (Diptera: Psychodidae) with *Leishmania infantum* (Trypanosomatida: Trypanosomatidae) promastigotes in a focus of visceral leishmaniasis in Brazil. J. Med. Entomol. 2021; 58 (2): 830-6.
11. Cutolo AA, Von Zuben CJ. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) de área de cerrado no município de Corumbataí, centro-leste do Estado de São Paulo, Brasil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 2008; 45-9.
12. Dislich R, Mantovani W. A flora de epífitas vasculares da reserva da cidade universitária “Armando de Salles Oliveira” (São Paulo, Brasil). Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo. 1998; 61-83.
13. Dislich R, Cersósimo L, Mantovani W. Análise da estrutura de fragmentos florestais no Planalto Paulistano-SP. Rev. Bras. Bot. 2001; 24(3): 321-32.
14. Galati EAB, Nunes VLB, Dorval MEC, Cristaldo G, Rocha HC, Gonçalves-Andrade RM et al. Attractiveness of black and white Shannon traps for phlebotomines. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2001; 96: 641-7.
15. Cerqueira NL. Um novo meio para montagem de pequenos insetos em lâmina. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1943; 39(1): 37-41.
16. Marcondes CB. A proposal of generic and subgeneric abbreviations for Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the world. Entomol. News. 2007; 118(4): 351-6.
17. Moschin JC, Galvis-Ovallos F, Sei IA, Galati EAB. Ecological aspects of phlebotomine fauna (Diptera, Psychodidae) of Serra da Cantareira, Greater São Paulo Metropolitan region, state of São Paulo, Brazil. Rev. Bras. Epidemiol. 2013; 16(1): 90-201.
18. Pita-Pereira D, Souza GD, Pereira TA, Zwetsch A, Britto C, Rangel EF. *Lutzomyia* (*Pintomyia*) *fischeri* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), a probable vector of American cutaneous leishmaniasis: detection of natural infection by *Leishmania* (*Viannia*) DNA in specimens from the municipality of Porto Alegre (RS), Brazil, using multiplex PCR assay. Acta Trop. 2011; 120(3): 273-5.
19. Teodoro U, Filho VS, Lima EM, Spinosa RP, Barbosa OC, Ferreira MEMC, Lonardon MVC. Observações sobre o comportamento de flebotomíneos em ecótopos florestais e extraflorestais, em área endêmica de leishmaniose tegumentar americana, no norte do Estado do Paraná, sul do Brasil. Rev. Saúde Pública. 1993; 27(4): 242-9.

20. Diniz MMCSL, Galvis-Ovallos F, Gomes CMC, Lavitschka CO, Galati EAB. Host-biting rate and susceptibility of some suspected vectors to *Leishmania braziliensis*. Parasites & Vectors. 2014; 7(1): 1-11.
21. Galvis-Ovallos F, Silva MD, Bispo GBS, Oliveira AG, Neto JRG, Malafonte RS *et al.* Canine visceral leishmaniasis in the metropolitan área of São Paulo: *Pintomyia fischeri* as potential vector of *Leishmania infantum*. Parasite. 2017; 24: 1-10.
22. Rêgo FD, Souza GD, Dornelles LFP, Andrade-Filho JD. Ecology and molecular detection of *Leishmania infantum* Nicolle, 1908 (Kinetoplastida: Trypanosomatida) in wild-caught sand flies (Psychodidae: Phlebotominae) collected in Porto Alegre, Rio Grande do Sul: a new focus of visceral leishmaniasis in Brazil. J. Med. Entomol. 2019; 56(2): 519-25.
23. Margonari C, Soares RP, Andrade-Filho JD, Xavier DC, Saraiva L, Fonseca, AL *et al.* Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) and *Leishmania* infection in Gafanhoto Park, Divinópolis, Brazil. J. Med. Entomol. 2010; 47(6): 1212-9.
24. Rocha LS, Falqueto A, Santos CB, Ferreira AL, Graça GC, Grimaldi G, Cupolillo E. Survey of natural infection by *Leishmania* in sandfly species collected in southeastern Brazil. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 2010; 104(7): 461-6.
25. Aguiar GM, Vilela ML, Soucasaux T. Aspectos da ecologia dos flebotomos do Parque Nacional da Serra dos Orgãos, Estado do Rio de Janeiro: V. Preferências alimentares (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1986; 81(4): 477-9.
26. Galati EAB, Marassá AM, Gonçalves-Andrade RM, Consales CE, Bueno EFM. Phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in the Ribeira Valley speleological province – 1. Parque Estadual Intervales, state of São Paulo, Brazil. Rev. Bras. Entomol. 2010; 54(2): 311-21.
27. Souza CM, Pessanha JE, Barata RA, Monteiro EM, Costa DC, Dias ES. Study on phlebotomine sandfly (Diptera: Psychodidae) fauna in Belo Horizonte, state of Minas Gerais, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2004; 99(8): 795-803.
28. Nascimento BWL, Saraiva L, Neto RGT, Meira PCLS, Sanguinetta CC, Tonelli GB *et al.* Study of sand flies (Diptera: Psychodidae) in visceral and cutaneous leishmaniasis areas in central western of Minas Gerais state, Brazil. Acta Trop. 2013; 125: 262-8.
29. Silva VG. Aspectos entomológicos e infecção natural dos flebotomíneos por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* em municípios do estado de São Paulo com autoctonia de transmissão de leishmaniose visceral humana e/ou canina [dissertação de mestrado]. São Paulo: Coordenadoria do Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo; 2016.
30. Forattini OP. Algumas observações sobre biologia de flebotomos (Diptera, Psychodidae) em região da bacia do Rio Paraná (Brasil). Arq. Faculdade Hig. Saude Publica Univ. Sao Paulo. 1954; 8(1): 15-136.

Fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae) da Reserva Florestal da Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira", município de São Paulo, SP, Brasil/Silva LEH, Krzyzanowski-Júnior F, Sábio PB, Silva VG, Paula MB, Galati EAB

31. Azevedo ACR, Rangel EF, Queiroz RG. *Lutzomyia migonei* (França, 1920) naturally infected with peripylarian flagellates in Baturité, a focus of leishmaniasis in Ceará State, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1990; 85(4): 479.
 32. Carvalho MR, Valença HF, Silva FJ, Pita-Pereira D, Araújo TP, Britto C et al. Natural *Leishmania infantum* infection in *Migonemyia migonei* (França, 1920) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil. Acta Trop. 2010. 116(1): 108-10.
 33. Moya SL, Giuliani MG, Acosta MM, Salomón OD, Liotta DJ. First description of *Migonemyia migonei* (França) and *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho) (Psychodidae: Phlebotominae) natural infected by *Leishmania infantum* in Argentina. Acta Trop. 2015; 152: 181-4.
 34. Salomón OD, Quintana MG, Bezzi G, Morán ML, Betbeder E, Valdéz DV. *Lutzomyia migonei* as putative vector of visceral leishmaniasis in La Banda, Argentina. Acta Trop. 2010; 113(1): 84-7.
 35. 35- Guimarães VCFV, Pruzinova K, Sadlova J, Volfova V, Myskova J, Brandão-Filho SP et al. *Lutzomyia migonei* is a permissive vector competent for *Leishmania infantum*. Parasites & Vectors. 2016; 9(1): 1-6.
 36. Falqueto A. Especificidade alimentar de flebotomíneos em duas áreas endêmicas de Leishmaniose Tegumentar no Estado de Espírito Santo [tese de doutorado]. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro; 1995.
 37. Superintendência de Controle de Endemias. Encontro de *Lutzomyia edwardsi* infectada na região da Grande de São Paulo. Rev. Saúde Pública. 2005; 39(1): 137-8.
 38. Andrade-Filho JD, Aguiar GM, Dias ES, Falcão AL. Description of *Lutzomyia bianchigalatae* n. sp. a sandfly within the subgenus *Pintomyia* Costa Lima 1932 (Diptera; Psychodidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1999; 94(6): 757-62.
 39. Aguiar GM, Soucasaux T. Aspectos da ecologia dos flebotomos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro. I - Frequência mensal em isca humana (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1984; 79(2): 197-209.
 40. Levin SA. The problem of pattern and scale in ecology: the Robert H. MacArthur award lecture. Ecology. 1992; 73(6): 1943-67.
-