



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO

**AVALIAÇÃO DE CAIROMÔNIOS EM SINERGISMO COM
DIODOS EMISSORES DE LUZ (LEDS) NA ATRATIVIDADE
DE FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE)**

APOLIANA ARAÚJO DA SILVA

São Luís
2019



APOLIANA ARAÚJO DA SILVA



ii

AVALIAÇÃO DE CAIROMÔNIOS EM SINERGISMO COM DIODOS EMISSORES DE LUZ (LEDS) NA ATRATIVIDADE DE FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Dr. Francinaldo Soares Silva

Coorientador: Dr. José Manuel Macário
Rebêlo

São Luís
2019

da Silva, Apoliana Araújo.

AVALIAÇÃO DE CAIROMÔNIOS EM SINERGISMO COM DIODOS
EMISSORES DE LUZ LEDS NA ATRATIVIDADE DE FLEBOTOMÍNEOS
DIPTERA: PSYCHODIDAE / Apoliana Araújo da Silva. - 2019.
47 f.

Coorientador(a): José Manoel Macário Rebêlo.

Orientador(a): Francinaldo Soares Silva.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,
São Luís-MA, 2019.

1. Armadilha luminosa. 2. Compostos químicos. 3.
Phlebotominae. I. Rebêlo, José Manoel Macário. II.
Silva, Francinaldo Soares. III. Título.

APOLIANA ARAÚJO DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE CAIROMÔNIOS EM SINERGISMO COM
DIODOS EMISSORES DE LUZ (LEDS) NA ATRATIVIDADE
DE FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como pré-requisito para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

Data: 18/03/2019

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Dr. Francinaldo Soares Silva
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Coorientador: Dr. José Manuel Macário Rebêlo
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Dra. Patricia Maia de Albuquerque
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Dra. Hivana Patrícia Melo Barbosa
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Dra. Mara Cristina Pinto
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho- UNESP

“Alguns homens vêem as coisas como são, e dizem “Por quê?” Eu sonho com as coisas que nunca foram e digo “Por que não?”

(George Bernard Shaw)

A Deus acima de tudo.
Aos meus pais e meus irmãos pelo carinho, amor e incentivo
dado a mim.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela minha existência, saúde, força e fé para superar todas as dificuldades da vida. GRATIDÃO!

Ao meu querido orientador, Dr. Francinaldo Soares Silva, pelas oportunidades, pela parceria, pelos ensinamentos e prestatividade em todas as etapas de realização desse trabalho. Obrigada por sempre me incentivar a crescer como pessoa e como profissional e por sempre acreditar no meu potencial. Obrigada pelos conselhos em meio aos momentos difíceis que surgiram nessa trajetória. Te admiro e sou muito grata pela sua orientação que vai além da vida acadêmica. Sou imensamente grata!

Ao meu Coorientador Dr. José Manuel Macário Rebêlo pelo incentivo, somado aos ensinamentos para o melhoramento do trabalho.

À equipe do Laboratório de Entomologia Médica (LEME), Eudimara Carvalho, Gildene Brito, João Reis, Gustavo Cardoso, Cláudio Fernando, pelas vivências em laboratório, amizade, companheirismo, pelos momentos de trocas de conhecimento durante as reuniões científicas. Agradeço também aos outros integrantes do LEME, Mayara Almeida, Bruna Carneiro, Maria Patrícia Castro, Islana Ponte e João Vitor não só pela amizade, mas pela ajuda imensurável e contribuições durante as coletas e identificação das espécies, uma verdadeira família. OBRIGADA!

Aos doutorandos e amigos Maria Benedita Costa-Neta e Jefferson Mesquita Brito pela parceria, sempre estiveram a minha disposição, me auxiliando e contribuindo no que diz respeito ao andamento deste trabalho com dicas e sugestões. Além do companheirismo durante toda a minha permanência no laboratório e em situações externas à pesquisa. Obrigada amigos!

Aos meus pais (Maria do Amparo e Antonio Rodrigues) pelo grande apoio e suporte nesta fase da minha vida, pelas palavras de motivação, por todo amor, cuidado e educação dado a mim. Devo tudo a eles, pois, foram e são o meu alicerce, principalmente no início de tudo. GRATIDÃO!

Aos meus irmãos, Sérgio, Márcio, Andréa, Adriana, Anderson e Andrelina pelos momentos compartilhados em família além do apoio, carinho e incentivo. Irmãos Araújo, Amo-os!

Ao meu namorado Cleysom, por sempre estar ao meu lado, pela compreensão, pela preocupação, pelos cuidados e incentivos nos momentos de dificuldades. Muito Obrigada!

As minhas amigas de graduação, Daiana Paulino, Leidiane Guimarães, Jucilene Cardozo e Thalia Cardozo pela força que me deram, além dos momentos de descontração em nossas conversas e pela sincera amizade, na qual posso contar em qualquer momento. Obrigada meninas, “Bioamigas”!

A minha prima Alcioneide Maria pela amizade, irmandade e momentos partilhados durante minha estadia em São Luís. Além do seu apoio, obrigada prima!

A Dona Antonia e família, pela concessão da sua propriedade para realização das coletas. Agradeço em especial a D. Antonia que aos seus 93 anos nos contagia com sua vitalidade, além de ser um exemplo de força e fé. Sempre me recebeu com alegria e prestatividade, por suas orações, por me abençoar todos os dias no retorno do interior até a cidade e pelas conversas trocadas. Sou muito grata!

Aos professores Rafael Cardoso, Ana Lúcia Abreu e Naylene Carvalho por todas as contribuições, dicas, sugestões e correções durante os seminários I e II, na qual contribuiu para o avanço estrutural e operacional do presente estudo.

Às professoras que constituíram a banca de qualificação, Lucilene Amorim e Patrícia Albuquerque, pelas importantes contribuições na melhoria do trabalho. Obrigada!

À turma 2017.1 pelas vivências em sala de aula, especialmente Yanke Magalhães, Pauliana Conceição, Andressa de Souza e Paula Sibely na qual tive a oportunidade

de me relacionar e trocar experiências e conhecimento. Obrigada, todas me ajudaram em algum momento, me dando sugestões, direcionamentos e conselhos. Lembrarei sempre de vocês, espero revê-las!

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, são exemplos a serem seguidos, grandes “MESTRES”!

À coordenação do Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde pelo acolhimento, em especial a Professora Dra. Flávia Nascimento e a secretária Ana Lúcia.

Ao programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde pela oportunidade concedida a mim em cursar o mestrado em um programa renomado e de qualidade.

À instituição de fomento Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvido Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pela bolsa concedida para a realização do projeto.

E a todos que direto ou indiretamente contribuíram para a conclusão de mais uma etapa da minha formação.

Meus sinceros agradecimentos!

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1 Biologia geral dos Flebotomíneos	18
2.2 Ecologia química de Flebotomíneos: Ácido láctico e octenol.....	20
2.3 Monitoramento de flebotomíneos: LED (Light-Emitting Diode/Diodo Emissor de Luz)	22
3 OBJETIVOS	27
3.1 Geral	27
3.2 Específicos.....	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1 Área de estudo	28
4.2 Delineamento experimental.....	29
4.3 Amostragem	29
4.4 Identificação das espécies de flebotomíneos.....	30
4.5 Análises Estatísticas	31
5 RESULTADOS	32
6 DISCUSSÃO	38
7 CONCLUSÃO	40
REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

LISTA DE ABREVIACOES

A.L	Ácido Láctico
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CO ₂	Dióxido de Carbono
CONT+A.L	Controle+Ácido láctico
CONT+OCT	Controle+octenol
HP	Hoover Pugedo
LED+A.L	Diodo Emissor de Luz+Ácido láctico
LED+OCT	Diodo Emissor de Luz+Octenol
LEDs	Diodos Emissores de Luz
LT	Leishmaniose Tegumentar
LV	Leishmaniose Visceral
OCT	Octenol
UV	Ultravioleta
VE	Vigilância Entomológica

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Dimorfismo sexual de flebotomíneos com característica diferencial nos últimos segmentos (setas) de macho (A) e fêmea (B).....18
- Figura 2.** Representação do ciclo biológico dos flebotomíneos; o ovo, as quatro fases larvares, pupa, e a forma adulta.....19
- Figura 3.** Métodos de captura de flebotomíneos: **A)** Cartão adesivo; **B)** Armadilha luminosa HP; **C)** New Jersey; **D)** Falcão; **E)** Disney; **F)** Shannon; **G)** Tubo de sucção tipo castro.....24
- Figura 4.** Mapa de localização da área de estudo na cidade de Chapadinha-MA: Centro da cidade de Chapadinha, laboratório de entomologia médica do centro de ciências agrárias e ambientais (LEME/CCAA-UFMA) e em destaque o local de coleta povoado Malvas..... 28
- Figura 5.** Processos de identificação dos flebotomíneos: **A)** sacrificados por congelamento; **B)** Retirada dos insetos do recipiente de filó; **C)** triagem com auxílio do microscópio estereoscópio. Fonte: Google maps..... 31
- Figura 6.** Média (\pm SEM) de machos e fêmeas capturadas em armadilha luminosa do tipo HP usando todos os tratamentos de ambos os experimentos. Letras “a” e “b” indicam $p < 0,05$ 33
- Figura 7.** Média (\pm SEM) de macho e fêmea da espécie *L. longipalpis* coletada em todas as configurações de armadilhas de ambos os experimentos na utilização dos atrativos octenol e ácido láctico. Letras “a” e “b” indicam $p < 0,05$ 36
- Figura 8.** Média (\pm SEM) do número de indivíduos capturados nas armadilhas no experimento com uso do atrativo octenol. O * indica o nível de significância: Média (\pm SEM) do número de indivíduos capturados nas armadilhas no experimento com uso do atrativo octenol. Octenol (OCT), Luz incandescente (CONTROLE), Luz incandescente + octenol (CONT+OCT), Diodo emissor de luz (LED) e Diodo emissor de luz + octenol (LED+OCT) 36
- Figura 9.** Média (\pm SEM) do número de indivíduos capturados nas armadilhas no experimento com uso do atrativo ácido láctico. O * indica o nível de significância: Média (\pm SEM) do número de indivíduos capturados nas armadilhas no experimento com uso do atrativo ácido láctico. Ácido láctico (A.L), Luz incandescente (CONTROLE), Luz incandescente + ácido láctico (CONT+A.L), Diodo emissor de luz (LED) e Diodo emissor de luz + ácido láctico (LED+A.L). Letras “a”, “b”, “c” e “d” indicam $p < 0,05$ 37

RESUMO

Os flebotomíneos são insetos transmissores do protozoário do gênero *Leishmania* causador das leishmanioses, doença negligenciada que se apresenta como um importante problema de saúde pública no mundo. Armadilhas luminosas com a utilização de LEDs (light emitting diodes) são utilizadas como estratégias de monitoramento vetorial. Compostos químicos são considerados importantes na orientação de insetos, e são utilizados como atraentes em diversos tipos de armadilhas. O objetivo desse estudo foi avaliar a atratividade da armadilha luminosa do tipo CDC (Centers for Disease Control and Prevention) contendo cairomônios (octenol, ácido láctico) em sinergismo com LEDs e luz incandescente. Os seguintes tratamentos foram avaliados: LED, LED + cairomônio, luz incandescente, luz incandescente + cairomônio e cairomônios em luz. Os experimentos foram realizados entre agosto de 2017 e agosto de 2018, das 18:00 às 06:00 hs, seguindo o delineamento quadrado latino 5X5. Foram capturados 6.536 flebotomíneos, distribuídos em 16 espécies. As espécies mais coletadas foram: *Lutzomyia longipalpis* ($10,38 \pm 0,90/43,21\%$), *Micropygomyia goiana* ($4,11 \pm 0,45/17,12\%$), *Evandromyia lenti* ($3,82 \pm 0,34/15,90\%$), *Evandromyia evandroi* ($2,97 \pm 0,28/12,36\%$), *Nyssomyia whitmani* ($0,97 \pm 0,28/4,07\%$). Em relação ao experimento com o cairomônio octenol, as armadilhas com LED+octenol capturaram uma média $37,23 \pm 5,61$ por noite de coleta, seguido do LED ($35,77 \pm 5,69$), luz incandescente+octenol ($18,63 \pm 3,28$), luz incandescente ($14,67 \pm 2,86$) e octenol ($1,80 \pm 0,65$). No segundo experimento, a armadilha com LED + ácido láctico apresentou uma média de $36,83 \pm 4,74$ seguido do LED ($34,87 \pm 4,61$), luz incandescente + ácido láctico ($22,80 \pm 3,19$), controle ($12,67 \pm 2,03$) e ácido láctico ($0,46 \pm 0,13$). As capturas foram superiores nas armadilhas com LED independente do uso dos cairomônios, reforçando o potencial dessa fonte luminosa como uma ferramenta padrão a ser utilizada no monitoramento de flebotomíneos.

Palavras-chaves: Phlebotominae; Compostos químicos; Armadilha luminosa

ABSTRACT

Sand flies are exclusive vectors of the protozoan parasites of the genus *Leishmania*. These parasites cause leishmaniasis, a group of neglected diseases characterized by different epidemiological and clinical patterns worldwide. LED (light-emitting diode)-based light traps are used as tools for vector monitoring. Some chemical compounds are important insect attractants and are used in a diversity of traps. The main objective of this study was to evaluate the synergistic effect of Light-Emitting Diodes/LEDs (physical attractants) and kairomones (chemical attractants) on the attraction of sand flies to light traps. To test the synergistic effect, five light traps with the respective combination of attractants [incandescent lamp, incandescent lamp+chemical attractant, green LED, green LED+chemical attractant and chemical attractant alone (without light)] were set between 18:00 and 06:00 following a Latin square design (5X5). The experiments were performed between August 2017 and August 2018. A total of 6,536 sand flies and 16 species were collected. The most frequent species were: *Lutzomyia longipalpis* (10.38±0.90/43.21%), *Micropygomyia goiana* (4.11±0.45/17.12%), *Evandromyia lenti* (3.82±0.34/15.90%), *Evandromyia evandroi* (2.97±0.28/12.36%), *Nyssomyia whitmani* (0.97±0.28/4.07%). In the experiments using octenol, LED+octenol attracted 37.23±5.61 per night, followed by LED alone (35.77±5.69), incandescent lamp+ octenol (18.63±3.28), incandescent lamp alone (14.67±2.86) and octenol alone (1.80±0.65). In the experiments using lactic acid, LED + lactic acid attracted 36.83 ± 4.74 followed by LED alone (34.87 ± 4.61), incandescent lamp + lactic acid (22.80 ± 3.19), incandescent lamp alone (12.67 ± 2.03) and lactic acid (0.46 ± 0.13). The use of LEDs, with or without octenol and lactic acid, was superior to the incandescent lamp with or without such chemicals, showing that LEDs are suitable and efficient light sources for monitoring phlebotomine sand flies.

Keywords: Phlebotominae; Chemical compounds; Light Trap

1 INTRODUÇÃO

Os flebotomíneos são dípteros pertencentes à família Psychodidae e subfamília Phlebotominae. Estes insetos possuem ampla distribuição geográfica, indo desde regiões tropicais a regiões temperadas do planeta (SHARMA; SHING, 2008; BRAZIL et al., 2015). Eles se desenvolvem em locais com grande quantidade de matéria orgânica, alta umidade e temperatura (SHARMA; SHING, 2008; READY, 2013).

Os gêneros de interesse médico são *Phlebotomus* encontrado na Europa, Ásia e África e *Lutzomyia* nas Américas, pois, possuem espécies transmissoras das leishmanioses (MAROLI et al., 2013). Galati (2003) reclassificou o gênero *Lutzomyia*, em 22 gêneros, com destaque para *Migonemyia*, *Pintomyia*, *Bichronomyia*, *Psychodopygus*, *Nyssomyia*, *Trichophoromyia* e *Lutzomyia*. No Brasil as principais espécies vetores são *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912), *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) e *Bichromomyia flaviscutellata* (Mangabeira, 1942).

As leishmanioses são doenças negligenciadas e têm se apresentado como um importante problema de saúde pública no mundo. O Brasil é um dos países que detém grande parcela do número de casos da doença. Apresentando entre os anos de 1990 a 2017, 684 mil casos de leishmaniose tegumentar (LT) diagnosticados e mais de 94 mil casos de leishmaniose visceral (LV). O país responde por 90% dos casos relatados nas Américas e é o terceiro maior foco global de LV.

No Maranhão, no mesmo período foram notificados 84 mil casos de LT e mais de 12 mil casos de LV, destacando-se em primeiro lugar no número de casos reportados de LV no Brasil (BRASIL, 2019). Na cidade de Chapadinha, em 2016 foram registrados 16 casos de LV e 19 de LT, no primeiro semestre de 2017 registrou-se 14 casos LV e 13 casos de LT. Além disso, apenas no primeiro semestre de 2017 foram notificados 244 casos positivos de leishmaniose visceral canina (SINAN / SEMUS, 2017).

A LV ou calazar é uma doença infecciosa grave, que acomete o homem e alguns animais, especialmente cães. A doença afeta principalmente o baço, fígado, linfonodos, medula óssea e pele. Os cães são apontados como o principal reservatório doméstico, podendo apresentar ou não sinais clínicos da doença, que

se caracterizam como sistêmicos e crônicos (VILAS et al., 2014; READY, 2014; MIGNOGNA et al., 2015). A LT é uma zoonose que se caracteriza pela presença de úlceras ou nódulos únicos ou múltiplos na pele, às vezes com envolvimento da mucosa com lento desenvolvimento (BAILEY; LOCKWOOD, 2007).

O controle das leishmanioses consiste no tratamento humano, eutanásia de cães e monitoramento vetorial. Como estratégias de monitoramento, são realizados inquéritos entomológicos no intuito de identificar e rastrear possíveis focos de transmissão da doença. Um método bastante utilizado e eficaz na captura de insetos hematófagos é a utilização de armadilhas luminosas do tipo CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (SUDIA; CHAMBERLAIN, 1962; FAIMAN et al., 2009; VENTER et al., 2011).

As armadilhas luminosas vêm sendo modificadas para a melhoria das práticas de captura dos insetos. Uma das alterações significativas foi à utilização de Diodos Emissores de Luz (Light-Emitting Diodes - LEDs) em substituição às lâmpadas incandescentes por apresentarem inúmeras vantagens (COHNSTAEDT et al., 2008) na coleta de insetos vetores (SILVA et al., 2015ab; SILVA et al., 2016; COSTA-NETA et al., 2017; LIMA-NETO et al., 2017).

No Brasil, estudos mostraram a superioridade dos LEDs em relação às luzes incandescentes utilizadas nas armadilhas convencionais (SILVA et al., 2016; COSTA-NETA et al., 2017). Pesquisas voltadas à avaliação da intensidade do LED (verde e azul) indicam sucesso das capturas de insetos quando utilizadas intensidades maiores (LIMA-NETO et al., 2017; COSTA-NETA et al., 2018).

A atratividade das armadilhas também se deve a outros fatores, como iscas químicas utilizadas nas capturas. Alguns compostos químicos denominados cairomônios, são considerados importantes na orientação de insetos, bem como dos flebotomíneos na localização dos hospedeiros alimentares e locais de ovipostura (HAMILTON, 2007). Dessa forma, a utilização de compostos sintéticos como ácido láctico, acetona, amônia, octenol (1-octen-3-ol) e o gás carbônico (CO₂) tem contribuído na melhoria das capturas de mosquitos, de algumas espécies de Ceratopogonidae e Psychodidae (MACHADO et al., 2015; ISBERG et al., 2017; DHANIQUE et al., 2017).

Neste contexto, é necessário compreender a influência dos cairomônios na atratividade de flebotomíneos para o aprimoramento das armadilhas. Diante da falta de estudos visando à avaliação de cairomônios em associação com LEDs, propõe-se investigar o uso de cairomônios em sinergismo com a tecnologia LED nas armadilhas luminosas como estratégia de monitoramento vetorial.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Biologia geral dos Flebotomíneos

Os flebotomíneos são pequenos insetos pertencentes à ordem Diptera, família Psychodidae e subfamília Phlebotominae. São hospedeiros naturais de protozoário do gênero *Leishmania*, agente causador das leishmanioses. Estes insetos também carregam e transmitem outros patógenos zoonóticos, como *Bartonella bacilliformis*, agente causador da bartonelose humana e arbovírus causando problemas de saúde ao homem e outras espécies de animais (READY, 2013; MAROLI et al., 2013).

Os insetos adultos exibem corpo piloso, pernas longas e delicadas, asas eretas sobre o corpo quando em repouso, voo saltitante e silencioso em forma de “zig zag”, e podem chegar a 3,5 milímetros de comprimento. Apresentam dimorfismo sexual tendo como principal característica diferencial os últimos segmentos abdominais, que no macho constituem-se de apêndices bem desenvolvidos e com genitália externa, enquanto na fêmea o último segmento tem formato arredondado e genitália interna (Figura1) (SHIMABUKURO; GALATI, 2011).

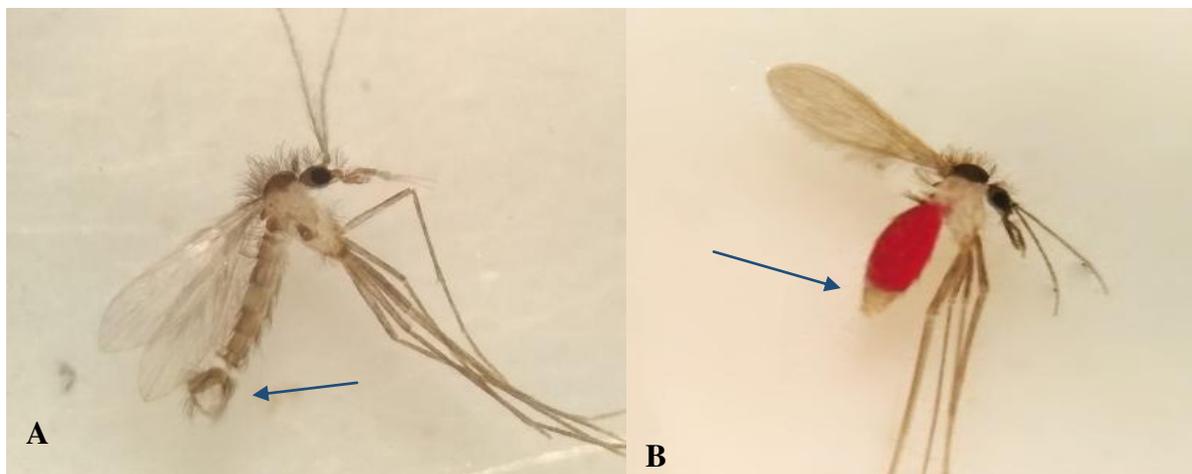


Figura 1. Dimorfismo sexual de flebotomíneos com característica diferencial nos últimos segmentos (setas) de macho (A) e fêmea (B). Fonte: Imagem obtida no Laboratório de Entomologia Médica (LEME / UFMA)

Estes dípteros são encontrados em todas as regiões intertropicais e temperadas do mundo, conhecidos popularmente no Brasil como “mosquito palha”, “tatuquira”, “birigui”, entre outros, dependendo da sua distribuição geográfica. No Maranhão, por exemplo, são conhecidos como “furrupa” e “arrupado” na ilha de São

Luís, “péla-égua” na região do Baixo Parnaíba e “tatuquira” na região Amazônica (REBÊLO et al., 1999).

Os flebotomíneos são holometábolos, cujo desenvolvimento tem quatro fases biológicas: ovo, larva (quatro estádios), pupa e adulto (Figura 2). Os estágios imaturos não necessitam de água parada para completar seu desenvolvimento (MAROLI et al., 2013). As larvas alimentam-se da matéria orgânica depositada no chão e os adultos alimentam-se de derivados de açúcares, retirando-os do néctar de flores e frutos, seivas de plantas e secreções de afídeos (BRAZIL et al., 2015)

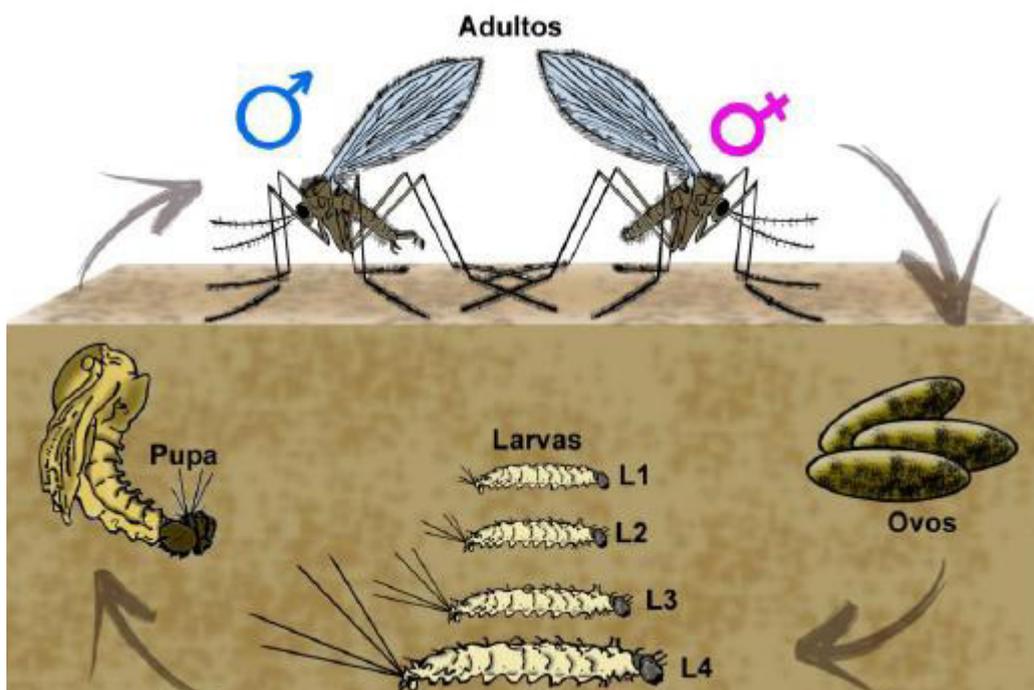


Figura 2. Representação do ciclo biológico dos flebotomíneos; o ovo, as quatro fases larvares, pupa, e a forma adulta. Fonte: Souza, 2018.

Além da dieta rica em carboidratos, as fêmeas praticam a hematofagia, pois necessitam de sangue para a produção e maturação dos ovos. Ao realizar essa atividade, quando infectadas transmite o patógeno aos hospedeiros (SHARMA; SINGH, 2008). A alimentação ocorre predominantemente durante o período crepuscular e noturno, e, em geral, estes insetos durante o dia se mantêm em repouso, protegidos do vento, de insolação e de predadores em abrigos úmidos, tais como: casa, cavernas, fissura em paredes, em rochas, no solo, buracos em árvores e galinheiros (READY et al., 2013).

Vivem em torno de habitações humanas, em locais de microclima favorável para a reprodução e desenvolvimento. As fêmeas realizam a oviposição em substratos ricos em matéria orgânica, alta umidade e temperatura, fornecendo as larvas abrigo, recurso alimentar e proteção (MAROLI et al., 2013).

A fauna flebotomínica é amplamente distribuída, no mundo há aproximadamente 1000 espécies descritas. Destas 530 foram identificadas nas Américas com mais de 20 espécies considerados vetores comprovados de leishmanioses. No Brasil já foram registradas 277 espécies em todas as regiões geográficas (SHIMABUKURU et al., 2017; ALMEIDA et al., 2015).

No estado do Maranhão, Rebêlo et al. (2010) notificaram 91 espécies de flebotomíneos do nordeste até o extremo sudoeste do estado do Maranhão. Silva et al. (2016) identificaram 14 espécies de flebotomíneos na cidade de Chapadinha, situada a Leste do estado, onde encontraram vetores das leishmanioses: *Ny. whitmani*, *Lu. longipalpis*, *Bi. flaviscutellata* (Mangabeira, 1942).

Das espécies de flebotomíneos encontradas nas Américas duas recebem uma atenção especial por transmitirem a leishmaniose visceral, *Lu. longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*, esta última incriminada como vetor da LV (SANTOS et al., 1998). Enquanto que as principais espécies de flebotomíneos envolvidas na transmissão da LT no Brasil, são: *Ny. whitmani*, *Bi. flaviscutellata*, *Nyssomyia neivai*, *Psychodopygus wellcomei*, *Migonemyia migonei*, *Lutzomyia complexa*, *Nyssomyia umbratilis*, *Nyssomyia intermedia*, *Nyssomyia shawi* e *Psychodopygus ayrozai* (BRAZIL et al., 2015).

2.2 Ecologia química de Flebotomíneos: Ácido láctico e octenol

A comunicação dos flebotomíneos com o ambiente e os organismos presentes nele ocorre por meio de sinais visuais e químicos. As substâncias químicas que mediam essa comunicação são denominadas semioquímicos, termo proveniente da palavra grega *semeon* que significa “sinal químico” (VILELA; DELLA, 2001).

Os semioquímicos podem ser subdivididos em aleloquímicos e feromônios, dependendo da ação que provocam e o tipo de interação. Os aleloquímicos são substâncias de ação interespecífica, enquanto que os feromônios são de ação

intraespecífica. Os aleloquímicos são classificados em: alomônios, que na grande maioria são caracterizados como substâncias de defesa contra predadores beneficiando a espécie emissora; sinomônios, que são produzidos por uma espécie e recebidos por outra, sendo que ambas as espécies são favorecidas e cairomônios onde a espécie receptora do estímulo é beneficiada, por exemplo, na localização de recurso alimentar (EIRAS, 2001).

Os flebotomíneos e outros artrópodes hematófagos são capazes de detectar, através de suas antenas e palpos, substâncias metabólicas voláteis produzidas por hospedeiros (DOUGHERTY et al., 1999). Esse processo fisiológico desencadeia uma sequência de comportamentos durante os estágios do ciclo de vida dos insetos como a busca por recurso alimentar, oviposição, acasalamento, agregação, dispersão entre outros (LOGAN; BIRKETT, 2007). Na procura por sangue, os compostos emitidos pela respiração e transpiração de hospedeiros realizam um papel importante na orientação dos insetos hematófagos, visto que as plumas de odores derivadas dos hospedeiros são utilizadas como pistas químicas (ANDRADE et al., 2008).

O dióxido de carbono, por exemplo, é um componente natural eliminado durante o processo de respiração de vertebrados e exerce grande influência nos insetos. Quando produzido em grande quantidade é interpretado como a presença de hospedeiro (COOPER et al., 2004). Em pesquisas de monitoramento de mosquitos este composto é comumente utilizado na forma gasosa em associação com armadilhas (DE SÁ et al., 2013; DHANIQUE et al., 2017). Dessa forma a participação do CO₂ na atratividade de mosquitos tem sido aprimorada, como feito por Mcphatter e Gerry (2017) que investigaram a variação das taxas de concentração do CO₂ relacionando com as taxas de capturas de mosquitos. Nesse estudo utilizaram armadilhas luminosas do tipo CDC em associação com o CO₂ em seis diferentes taxas de liberação que variavam de 0 a 1.495 ml / min dos cilindros de gás. Estes autores descobriram que quanto maior a taxa de liberação mais mosquitos foram coletados.

Pinto et al. (2001) utilizando dióxido de carbono (CO₂) na atratividade de flebotomíneos, verificaram que as armadilhas iscadas com o CO₂ em taxas maiores que a taxa emitidas por humanos, capturaram significativamente mais espécimes

com relação as armadilhas com o atrativo humano. Em contrapartida, há um fator limitando a utilização do CO₂ pela falta de especificidade, visto que a grande maioria dos insetos hematófagos é atraída por este atrativo.

Porém, existem outros estímulos olfativos utilizados na atratividade de insetos, assim como dos flebotomíneos. O ácido láctico, por exemplo, está presente em todos os vertebrados e é o principal componente do suor humano, provenientes de todas as partes do corpo (CORK; PARK, 1996). Braks et al. (2001) em um estudo olfatométrico observaram que o ácido láctico atraiu fêmeas de mosquitos, principalmente da espécie *Anopheles gambiae*. Estudos de campo conduzidos para avaliar os compostos sintéticos do suor humano na atratividade de *Lu. longipalpis* verificaram que as armadilhas luminosas que continham o ácido láctico apresentaram mais espécimens comparados as armadilhas sem o atrativo (ANDRADE et al., 2008).

O 1-octen-3-ol (octenol) é um composto proveniente a partir de substâncias voláteis emanadas pela expiração bovina (HALL et al., 1984). É relatado como importante cairomônio na localização de hospedeiro por espécies das famílias Culicidae (VEZENEGHO et al., 2014). Para as espécies de flebotomíneos o primeiro relato foi realizado por Sant'ana et al. (2002), onde mostraram que *Lu. longipalpis* detectou a presença do octenol em correntes de ar.

A eficácia do octenol na coleta de flebotomíneos do gênero *Plebotomus* foi avaliada por Beavers et al. (2004). Neste estudo as capturas não foram eficientes quando utilizados o octenol sozinho, não apresentando atratividade para o gênero estudado. No sudeste do Brasil, Pinto et al. (2011) utilizando armadilha luminosa CDC juntamente como octenol confirmaram a atratividade do mesmo para espécie *Ny. neivai*, vetor da leishmaniose tegumentar.

2.3 Monitoramento de flebotomíneos: LED (Light-Emitting Diode/Diodo Emissor de Luz)

As pesquisas entomológicas são realizadas pelos programas de vigilância entomológicas (VE). Estas pesquisas fornecem subsídios em estudos de monitoramento de espécies vetores auxiliando na caracterização da fauna flebotomínica constituinte de um determinado ecossistema. Os programas de VE em

flebotomíneos trabalham no monitoramento de formas adultas, através da utilização de armadilhas, uma vez que os criadouros e as formas imaturas são de difíceis localizações (CASANOVA et al., 2013).

As armadilhas entomológicas ainda são ferramentas eficazes nas atividades de vigilância de insetos vetores em vários países (FAIMAN et al., 2009; VENTER et al., 2011). O monitoramento vetorial apresenta-se como uma das técnicas mais utilizadas no intuito de realizar o rastreamento e identificação de possíveis focos de transmissão da doença (REBÊLO et al., 2007). O fornecimento de informações sobre a distribuição e o número de espécies presentes em cada localidade, possibilita o controle de entrada e saída de espécies nos territórios monitorados (WILLIAMS et al., 2012).

A utilização dos métodos de captura depende do tipo de estudo a ser realizado e seus objetivos. Partindo desse pressuposto as armadilhas geralmente mais utilizadas se distribuem em alguns tipos. O Cartão adesivo, por exemplo, consiste em um papel impregnado com uma substância pegajosa na qual o inseto fica aderido no momento do pouso (Figura 3A). A posição e localização do cartão ficam a critério do coletor e da proposta do estudo (ZEROUAL et al., 2016). As armadilhas automáticas luminosas [armadilhas do tipo HP (Figura 3B), New Jersey (Figura 3C) e Falcão (Figura 3D)] utilizam a luz como fonte de atração para flebotomíneos e coletam os insetos com auxílio de uma ventoinha que realiza a sucção dos mesmos onde são direcionados ao saco coletor (SUDIA; CHAMBERLAIN, 1962; VILELA et al., 2003). A armadilha Disney utiliza como atrativo um animal que fica exposto no centro da armadilha (Figura 3E). Ao realizar a hematofagia no animal as fêmeas de flebotomíneos pousam na superfície de alumínio (untado com óleo vegetal) onde são retirados com auxílio de um pincel. A armadilha Shannon consiste em uma tenda branca, suspensa a 20 centímetros do solo, iluminada por um lampião utilizado como atrativo para os insetos, onde são capturados por um coletor utilizando um aspirador manual (Figura 3F) (ALEXANDER, 2000).

Na utilização do tubo de sucção tipo castro, os flebotomíneos são aspirados por uma pessoa (Figura 3G). É um método simples e os locais de coleta podem ser em troncos de árvores, paredes de domicílios em abrigos de animais domésticos ou

até mesmo em humanos. Tem como desvantagens o baixo número de espécimes coletados podendo haver a inalação de poeira ou microorganismos (VILELA et al., 2003).



Figura 3. Métodos de captura de flebotomíneo: **A)** Cartão adesivo; **B)** Armadilha luminosa HP; **C)** New Jersey; **D)** Falcão; **E)** Disney; **F)** Shannon; **G)** Tubo de sucção tipo castro. Fonte: Andrade et al., 2010; Da Silva et al, 2018.

Os flebotomíneos podem ser capturados utilizando nas armadilhas, diferentes atrativos físicos e químicos, como animais, CO₂, luz e caïromônios (ALEXANDER, 2000). A busca por novos atrativos é desejável, considerando o fototropismo que pode variar entre as espécies. Uma das vantagens da utilização de armadilhas luminosas na coleta de flebotomíneos é proporcionar a mínima exposição humana no momento da captura desses insetos (COHNSTAEDT et al., 2008). Nessas armadilhas os insetos adultos são atraídos por meio de fontes de luz artificial, sendo as mais atuantes as armadilhas do tipo CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (FAIMAN et al., 2009).

Nas armadilhas CDC originalmente se utilizam lâmpadas incandescentes, que converte corrente elétrica em luz não visível para a maioria dos insetos além de emitir uma maior quantidade de calor (COHNSTAEDT et al., 2008). Dessa forma as armadilhas vêm passando por modificações, como a utilização de outras fontes artificiais de luz como os LEDs (Light-Emitting Diodes/Diodos Emissores de Luz). O comprimento de onda dos diodos emissores de luz pode variar de UV (350 nm) até infravermelhos (700 nm) dependendo da sua composição química. O LED converte energia elétrica em luz gerando menos calor em comparação a lâmpada incandescente. Além disso, os LEDs apresentam baixo custo, economias de energia, praticidade na utilização, dificilmente necessitam ser substituídos, podem ser selecionados para emitir uma cor específica, pois, produzem uma luz monocromática (COHNSTAEDT et al., 2008).

No Brasil foram realizados alguns estudos referentes ao uso de LEDs em armadilhas luminosas para o monitoramento de insetos de importância médica (SILVA et al., 2015a; SILVA et al., 2016; LIMA-NETO et al., 2017; COSTA-NETA et al., 2018). O trabalho pioneiro relacionado à tecnologia LED foi realizado por Silva et al. (2015b) no nordeste do país, onde utilizaram armadilhas luminosas do tipo CDC modificadas com LEDs [verde 15.000mcd (millicandela) e azul 6.000 mcd] para capturar espécies do gênero *Culicoides*. Posteriormente fizeram-se investigações para flebotomíneos, que também apresentaram resposta tendenciosa as armadilhas com LEDs verde e azul (15.000mcd e 6.000mcd respectivamente) (Silva et al., 2015a). Entretanto, outras pesquisas utilizando as mesmas cores e intensidades dos LEDs comprovaram a eficiência da cor verde em comparação a luz incandescente

nas capturas de insetos hematófagos (SILVA et al., 2016; COSTA-NETA et al., 2017)

Pesquisas de campo foram realizadas por Lima-Neto et al. (2017) e Costa-Neta et al. (2018) na avaliação do efeito da intensidade do LED [verde (520 nm - 10,000, 15,000, 20,000 mcd) e azul (470 nm - 4,000, 12,000 e 15,000 mcd)], nas capturas de flebotomíneos e anofelinos. Observaram que a abundância dos grupos de insetos estudados depende diretamente da intensidade utilizada, quanto maior a intensidade do LED mais indivíduos são coletados (LIMA-NETO et al., 2017; COSTA-NETA et al., 2018).

Estudos sobre o sinergismo de luz e cairomônios já foram explorados sinergicamente para melhorar o desempenho de armadilhas (ANDRADE et al., 2008; PINTO et al., 2001), mas pesquisas com o uso de LEDs em combinação com cairomônios ainda é escasso. Até o momento, há apenas um estudo realizado na Flórida, por Mann et al. (2009), que avaliaram o efeito sinérgico de misturas de atrativos e LEDs na atração de flebotomíneos. Nesse estudo, foram utilizadas armadilhas Mosquito-Magnet-X, e LED na cor vermelha. Em um estudo piloto realizado no Brasil, a cor vermelha foi o comprimento de onda menos atrativo para os flebotomíneos (Silva, comunicação pessoal).

Nessa perspectiva, estudos com a utilização da fonte luminosa LED em associação com cairomônios visam o aprimoramento das técnicas de coletas. Visto que, em meio à diversidade de métodos de capturas existentes no mercado, desenvolver uma técnica eficiente e viável é de extrema importância para os trabalhos de monitoramento vetorial.

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a atratividade da armadilha luminosa com LED e luz incandescente em sinergismo com octenol e ácido láctico.

3.2 Objetivos específicos

- ✓ Verificar se há existência de sinergismo entre luz e cairomônios para a captura de flebotomíneos;
- ✓ Identificar qual tratamento é mais eficiente na captura de flebotomíneos;
- ✓ Verificar as espécies presentes nas armadilhas somadas ao cairomônios utilizados e nas armadilhas no uso dos LEDs;
- ✓ Avaliar eficiência da captura no uso de cairomônios nas armadilhas associados aos LEDs.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Área de Estudo

O estudo foi realizado no município de Chapadinha – MA, localizado a 3°44'17" Sul e 43°20'29" Oeste, no nordeste do Brasil. Chapadinha pertence a Mesorregião Leste Maranhense, situado nos limites da região do Baixo Parnaíba e faz parte da microrregião do Médio Munin, distando 252 km da capital São Luís (COSTA, 2011). A cidade possui 78.965 habitantes, com uma extensão territorial de 3.248 km² (IBGE, 2010). A área de realização do estudo situa-se no povoado Malvas a 9 km de distância do centro de Chapadinha (Figura 4).

A localidade Malvas é constituída de duas residências, distantes aproximadamente 100 metros. As casas possuem quintal, com algumas criações de animais como galinhas, gados e cachorros. A área de estudo caracteriza-se como floresta estacional decidual, com vegetação típica do cerrado, exibindo fragmentos de mata acompanhada de palmeiras da espécie *Attalea speciosa* Mart. Os pontos amostrais das coletas foram estabelecidos através de testes pilotos realizados na área de mata.



Figura 4. Mapa de localização da área de estudo na cidade de Chapadinha-MA: Centro da cidade de Chapadinha, laboratório de entomologia médica do centro de ciências agrárias e ambientais (LEME/CCAA-UFMA) e a direita da figura o local de coleta, povoado Malvas. Fonte: Google mapas.

A região possui clima quente sub-úmido característico do nordeste do estado. A temperatura média varia de 28°C a 30°C, com índices pluviométricos que variam de 1600 mm a 2000 mm. A região experimenta uma estação seca, de julho a dezembro, e uma chuvosa, de janeiro a junho (NOGUEIRA et al., 2012). O município situa-se numa região predominantemente de cerrado com uma composição florística diversificada, apresentando uma vegetação do tipo Floresta estacional decidual (COSTA, 2011).

4.2 Delineamento experimental

Para a análise do sinergismo entre luz e cairomônios, foram utilizadas armadilhas luminosas do tipo HP (PUGEDO et al., 2005) convencionais e modificadas com LEDs, segundo Silva et al. (2016), com e sem cairomônios. As armadilhas HP têm como fonte luminosa convencional a lâmpada incandescente (150 mA, 3 V) utilizada como controle. As armadilhas foram modificadas sendo utilizadas como fonte luminosa o LED na cor verde (5 mm, 520 nm, 20.000 mcd) (LIMA-NETO et al., 2017).

Os cairomônios avaliados nos experimentos foram: Octenol (1-octen-3-ol/OCT) e ácido láctico (A.L). O octenol é dispensado através de cartuchos de polietileno microporoso, disponível comercialmente disponível, que liberaram 1,66 g ao longo de três semanas, 3,3 mg por hora (79 mg / dia) (Mosquito Magnet® via www.mosquitomagnet.com), segundo descrito por Hoel et al.(2007). O ácido láctico (Solução aquosa a 85%, extra puro; Isofar, REF: 116,14 116,15) foi liberado através de rolos de algodão embebido em 10 ml de ácido láctico contido em copo plástico (50 ml). Os cairomônios foram dispostos lateralmente na armadilha, próximo à entrada(ANDRADE et al., 2008).

Os atrativos avaliados são indicados na literatura como possíveis ferramentas na eficiência das armadilhas luminosas (ANDRADE et al., 2008; PINTO et al., 2011; MACHADO et al., 2015).

4.3 Amostragem

O trabalho consistiu em dois experimentos, para cada experimento utilizou-se um atrativo (octenol ou ácido láctico). As coletas foram realizadas na estação

seca, nos meses de agosto, setembro, outubro, novembro e dezembro de 2017 e julho e agosto de 2018. Os experimentos foram realizados alternadamente, conduzidos durante três semanas para o octenol e três semanas para o ácido láctico, e assim sucessivamente. Os testes foram conduzidos com a utilização de cinco armadilhas, nas seguintes configurações: luz incandescente e cairomônio, luz incandescente (controle), LED e cairomônio, LED apenas, e cairomônio sem fonte luminosa. Os tratamentos foram testados por 5 noites consecutivas, utilizando-se 5 armadilhas por noite de coleta, durante 12 semanas. As armadilhas foram colocadas das 18:00 às 06:00 horas, montadas a 1,5 m do solo e espaçadas 20 metros (SUDIA; CHAMBERLAIN, 1962).

Os tratamentos seguiram o delineamento quadrado latino 5X5, com 6 repetições para cada tipo de cairomônio testado. O posicionamento das 5 armadilhas foi alternado para que cada uma ocupasse todos os pontos no término de cada amostragem. A seleção das armadilhas nos pontos de coleta foi estabelecida por sorteio na primeira noite, nas noites subsequentes foram rotacionadas para evitar efeitos posicionais, perfazendo um total de 60 noites de trabalho.

4.4 Identificação das espécies de flebotomíneos

Após as coletas, os insetos foram transportados para o Laboratório de Entomologia Médica-UFMA (LEME), e sacrificados por congelamento (-20°C) (Figura 5A), em seguida retirados dos recipientes de filó (Figura 5B), triados com o uso de microscópio estereoscópio e o auxílio de pinças (Figura 5C), contados e transferidos para frascos de vidro contendo álcool (70%) e devidamente etiquetados.

Ao término desses procedimentos realizou-se a diafanização, que consiste em clarear o exoesqueleto dos insetos tornando as partes anatômicas de fácil visualização. A técnica consiste em deixar os exemplares mergulhados no hidróxido de potássio (KOH – 10%) por duas horas para amolecimento da quitina, do exoesqueleto e após esse período deixá-los 24 horas no lactofenol, deixando-os com as partes visíveis.

Posteriormente as espécies foram identificadas através da observação de caracteres morfológicos internos e externos, machos (terminália) e fêmeas (cibário e

espermatecas), de acordo com Galati (2003). Para os exemplares que apresentaram estruturas danificadas (genitálias) não foi possível identificar em nível de espécie. Os espécimes de flebotomíneos identificados encontram-se na coleção entomológica do LEME, Centro de Ciências Agrárias e Ambientais (CCAA), Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Chapadinha - MA.



Figura 5. Processos de identificação dos flebotomíneos: **A)** sacrificados por congelamento; **B)** Retirada dos insetos do recipiente de filó; **C)** triagem com auxílio do microscópio estereoscópio. Fonte: Imagem obtida no Laboratório de Entomologia Médica (LEME / UFMA)

4.5 Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas usando o software GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.®). O teste Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para verificar a normalidade dos dados entre os grupos. Quando a distribuição foi normal utilizou-se o teste t-Student e análise de variância (ANOVA), quando o critério de normalidade não foi atendido os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney foram realizados. Os resultados foram considerados significantes quando, $p \leq 0,05$.

5 RESULTADOS

Um total de 6.536 espécimes de flebotomíneos foi coletado, no qual 2,71% dos indivíduos apresentaram-se danificados, impossibilitando assim a identificação dos mesmos (Tabela 1). Comparando-se a média total de fêmeas ($15,41 \pm 0,97$) e machos ($9,35 \pm 0,65$), o número de fêmeas foi significativamente maior do que os machos ($U=26022$; $P < 0,0001$) (Figura 6).

Tabela 1. Espécies de flebotomíneos capturados na armadilha luminosa em área rural do município de Chapadinha-MA, Brasil, com a utilização dos atrativos ácido láctico e octenol.

ESPÉCIES	N	F	M	%
<i>Lutzomyia longipalpis</i> (Lutz & Neiva, 1912)	2824	2015	809	43,21
<i>Micropygomyia goiana</i> (Martins, Falcão & Silva, 1962)	1119	685	434	17,12
<i>Evandromyia lenti</i> (Mangabeira, 1928)	1039	219	820	15,90
<i>Evandromyia evandroi</i> (Costa Lima & Antunes, 1936)	808	698	110	12,36
<i>Nyssomyia whitmani</i> (Antunes & Coutinho, 1939)	266	66	200	4,07
<i>Evandromyia termitophila</i> (Martins, Falcão & Silva, 1964)	146	122	24	2,23
<i>Sciopemyia sordellii</i> (Shannon & Del Ponte, 1927)	74	59	15	1,13
<i>Micropygomyia quinquefer</i> (Dyar, 1929)	31	18	13	0,47
<i>Brumptomyia</i> sp. (França & Parrot, 1921)	28	20	8	0,43
<i>Psathyromyia shannoni</i> (Dyar, 1929)	9	7	2	0,14
<i>Sciopemyia servulolimai</i> (Damasceno & Causey, 1945)	4	3	1	0,06
<i>Psychodopygus chagasi</i> (Costa Lima, 1941)	3	3	0	0,05
<i>Evandromyia teratodes</i> (Martins, Falcão & Silva, 1964)	2	1	1	0,03
<i>Evandromyia monstruosa</i> (Floch e Abonnenc, 1944)	2	2	-	0,03
<i>Psychodopygus wellcomei</i> (Fraiha, Shaw & Lainson, 1971)	2	1	1	0,03
<i>Bichromomyia flaviscutellata</i> (Mangabeira, 1942)	2	2	-	0,03
Danificados	177	112	65	2,71
TOTAL	6536	4033	2503	(100)
%	100	63,40	36,60	

As espécies foram capturadas em cinco configurações de armadilhas para cada experimento realizado com os dois atrativos (octenol e ácido láctico). Número total (**N**), fêmeas (**F**), Machos (**M**), Porcentagem (%).

Os espécimes capturados estão distribuídos em 16 espécies: *Lu. longipalpis*, *Evandromyia evandroi*, *Micropygomyia goiana*, *Ny. whitmani*, *Sciopemyia sordellii*, *Barrettomyia teratodes*, *Psathyromyia shannoni*, *Psychodopygus chagasi*, *Bi.*

flaviscutellata, *Psychodopygus wellcomei*, *Evandromyia termitophila*, *Evandromyia lenti*, *Micropigomyia quinquefer*, *Sciopemyia servulolimai*, *Evandromyia monstruosa* e *Brumptomyia sp.* As espécies mais abundantes foram *Lu. longipalpis* (43,21%), *Mi. goiana* (17,12%), *Ev. lenti* (15,90%), *Ev. evandroi* (12,36%), *Ny. whitmani* (4,07%), *Ev. termitophila* (2,23%), *Sc. sordellii* (1,13%) e as demais representaram 1,27% do total de espécimes coletadas (Tabela 1).

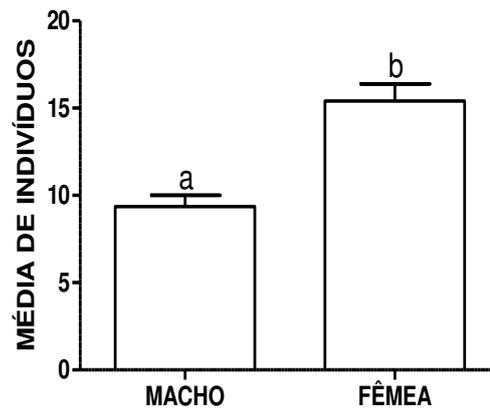


Figura 6. Média (\pm SEM) de machos e fêmeas capturadas em armadilha luminosa do tipo HP usando todos os tratamentos de ambos os experimentos. Letras “a” e “b” indicam $p < 0,05$.

A ordem de distribuição das espécies mais frequentes no experimento com o atrativo octenol foi: *Lu. longipalpis* (39,13%), *Mi. goiana* (23,68), *Ev. lenti* (14,15%), *Ny. whitmani* (7,41%), *Ev. evandroi* (6,89%), *Ev. termitophila* (1,87%). Nas armadilhas que utilizaram o atrativo ácido láctico a distribuição das espécies foi: *Lu. longipalpis* (47,38%), *Ev. evandroi* (17,96%), *Ev. lenti* (17,68%), *Mi. goiana* (10,41%), *Ev. termitophila* (2,94%) e *Ny. whitmani* (0,65%) (Tabelas 2 e 3).

A espécie *Lu. longipalpis* compôs praticamente metade do número total de flebotomíneos capturados no presente estudo, representado 43,21% (Tabela 1). Em geral, as fêmeas se sobressaíram em relação aos machos, apresentando diferença estatística ($U=14181$; $P < 0,0001$) (Figura 7). Esta espécie foi capturada em todos os tratamentos avaliados de ambos os experimentos. No experimento com o uso do octenol *Lu. longipalpis* representou 39,13% dos indivíduos coletados e no uso do ácido láctico representou 47,38% (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2. Espécies de flebotomíneos capturados em área rural do município de Chapadinha-MA, Brasil, em todas as configurações das armadilhas no uso do octenol.

Espécies/tratamentos	LED+OCT		LED		CONT+OCT		CONTROLE		OCT		TOTAL
	N	F:M	N	F:M	N	F:M	N	F:M	N	F:M	N (%)
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	472	2,5:1	408	3,2:1	216	2,1:1	194	3,6:1	4	2:2	1294 (39,13)
<i>Micropygomyia goiana</i>	283	1,2:1	271	2,2:1	107	2,4:1	92	2,1:1	30	1:2,7	783 (23,68)
<i>Evandromyia lenti</i>	150	1:2,1	202	1:2,7	60	1:2,3	51	1:3,6	5	1:1,5	468 (14,15)
<i>Nyssomyia whitmani</i>	38	1,2:1	68	1:2,2	100	1:7,3	30	5:1	9	1:2	245 (7,41)
<i>Evandromyia evandroi</i>	81	3,7:1	85	3,2:1	27	8:1	31	9,3:1	4	3:1	228 (6,89)
<i>Sciopemyia sordellii</i>	23	22:1	26	1,8:1	7	2,5:1	6	5:1	-	-	62(1,87)
<i>Evandromyia termitophila</i>	17	1:2,4	16	7:1	9	2,5:1	9	3,5:1	-	-	51 (1,54)
<i>Micropygomyia quinquefer</i>	6	2:2	11	1:1,2	6	2:1	3	2:1	-	-	26(0,79)
<i>Brumptomyia</i> sp	3	2:1	5	5:0	3	2:2	5	1,5:1	-	-	16 (0,48)
<i>Psathyromyia shannoni</i>	5	1,5:1	-	-	-	-	1	1:0	-	-	6 (0,18)
<i>Sciopemyia servulolimai</i>	3	2:1	-	-	1	1:0	-	-	-	-	4 (0,12)
<i>Psychodopygus chagasi</i>	1	1:0	-	-	2	1:1	-	-	-	-	3(0,09)
<i>Evandromyia teratodes</i>	-	-	-	-	2	1:1	-	-	-	-	2 (0,06)
<i>Psychodopygus wellcomei</i>	1	0:1	1	1:0	-	-	-	-	-	-	2 (0,06)
<i>Bichromomyia flaviscutellata</i>	-	-	-	-	-	-	2	2:0	-	-	2 (0,06)
Danificados	34	2,1:1	44	1,3:1	19	1,3;1	16	1,2:1	2	0:2	115 (3,48)
Total de indivíduos	1117	1,6:1	1137	1,6:1	559	1,2:1	440	1,9:1	54	1:2	3307
Total de espécies	13		10		12		11		5		
%	33,71		34,38		16,90		13,31		1,63		100

Octenol (OCT), Luz incandescente (CONTROLE), Luz incandescente + octenol (CONT+OCT), Diodo emissor de luz (LED) e Diodo emissor de luz + octenol (LED+OCT). Número total (**N**), Razão sexual de fêmeas e machos (**F:M**).

Tabela 3. Espécies de flebotomíneos capturados em área rural do município de Chapadinha-MA, Brasil, em todas as configurações das armadilhas no uso do ácido láctico.

Espécies/tratamentos	LED+A.L		LED		CONT+A.L		CONTROLE		A.L		TOTAL
	N	F:M	N	F:M	N	F:M	N	F:M	N	F:M	N %
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	502	2,2:1	459	2,4:1	388	2,1:1	175	2,3:1	6	5:1	1530 (47,38)
<i>Evandromyia evandroi</i>	186	9,3:1	227	6,8:1	107	7,2:1	58	8,6:1	2	2:0	580(17,96)
<i>Evandromyia lenti</i>	217	1:5,3	191	1:6,6	85	1:6,7	76	1:4,4	2	1:1	571(17,68)
<i>Micropygomyia goiana</i>	127	3,3:1	110	3,3:1	60	1:1,7	37	1,1:1	2	1:1	336 (10,41)
<i>Evandromyia termitophila</i>	39	12:1	27	1,1:1	10	9:1	18	3,5:1	1	1:0	95 (2,94)
<i>Nyssomyia whitmani</i>	8	1:7	9	1:8	3	1:2	1	0:1	-	-	21(0,65)
<i>Sciopemyia sordellii</i>	3	3:0	3	3:0	6	2:2	-	-	-	-	12 (0,37)
<i>Brumptomyia sp</i>	2	2:2	4	2:2	4	4:0	2	2:0	-	-	12(0,37)
<i>Micropygomyia quinquefer</i>	2	2:0	1	1:0	2	2:0	-	-	-	-	5 (0,15)
<i>Psathyromyia shannoni</i>	1	1:0	-	-	2	2:0	-	-	-	-	3 (0,09)
<i>Evandromyia monstrosa</i>	1	1:0	-	-	-	-	1	1:0	-	-	2 (0,06)
Danificados	17	2,4:1	15	2,7:1	17	4,6:1	12	1:3	1	0:1	62 (1,92)
Total de indivíduos	1105	1,5:1	1046	1,6:1	684	1,8;1	380	1,4:1	14	2,5:1	3229
Total de espécies	11		9		10		8		5		
%	34,22		32,39		21,18		11,77		0,43		100

Ácido láctico (A.L), Luz incandescente (CONTROLE), Luz incandescente + ácido láctico (CONT+A.L), Diodo emissor de luz (LED) e Diodo emissor de luz + ácido láctico (LED+A.L). Número total (N), Razão sexual de fêmeas e machos (F:M).

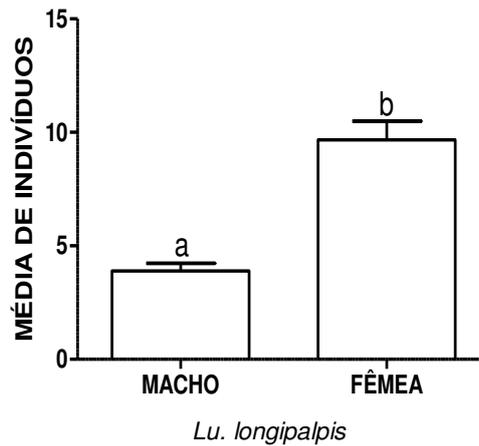


Figura 7. Média (\pm SEM) de machos e fêmeas da espécie *Lu. longipalpis* capturados em todas as configurações de armadilhas de ambos os experimentos com a utilização dos atrativos octenol e ácido láctico. Letras “a” e “b” indicam $p < 0,05$.

Em relação ao experimento no uso do octenol, foi coletado um total de 3.307 flebotomíneos, distribuído em 15 espécies (Tabela 02). As armadilhas com LED+octenol capturaram maior número de flebotomíneos ($37,23 \pm 5,61$ /média \pm SEM), seguido do LED ($35,77 \pm 5,69$ /média \pm SEM), luz incandescente+octenol ($18,63 \pm 3,28$ /média \pm SEM), controle ($14,67 \pm 2,86$ /média \pm SEM) e octenol ($1,80 \pm 0,65$ /média \pm SEM). Houve diferença estatística entre quase todos os tratamentos ($P \leq 0,05$), com exceção das armadilhas controle em relação à luz incandescente+octenol (bxb) ($P = 0,3742$) e LED versus LED+octenol (cxc) ($P = 0,7393$) (Figura 8).

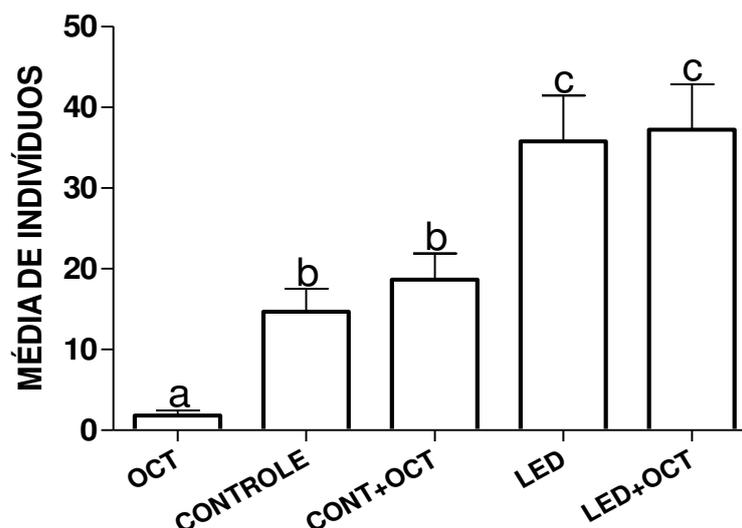


Figura 8. Média (\pm SEM) do número de indivíduos capturados nas armadilhas no experimento com uso do atrativo octenol. Octenol (OCT), Luz incandescente (CONTROLE), Luz incandescente + octenol (CONT+OCT), Diodo emissor de luz (LED) e Diodo emissor de luz + octenol (LED+OCT). Letras “a”, “b” e “c” indicam $p < 0,05$.

Considerando o número de flebotomíneos coletados no segundo experimento (atrativo: ácido láctico), 3.229 indivíduos foram coletados (Tabela 3). A armadilha com LED + ácido láctico apresentou maior número de indivíduos coletados ($36,83 \pm 4,74$ /média \pm SEM), seguido do LED ($34,87 \pm 4,61$ /média \pm SEM), luz incandescente + ácido láctico ($22,80 \pm 3,19$ /média \pm SEM), controle ($12,67 \pm 2,03$ /média \pm SEM) e ácido láctico ($0,46 \pm 0,13$ /média \pm SEM) (Figura 4). Nenhuma diferença estatística foi observada quando comparado LED versus LED + ácido láctico (dx) ($P=0,7844$) (Figura 9).

A distribuição das espécies foi semelhante em praticamente todas as configurações de armadilhas para cada experimento, exceto as espécies de menor

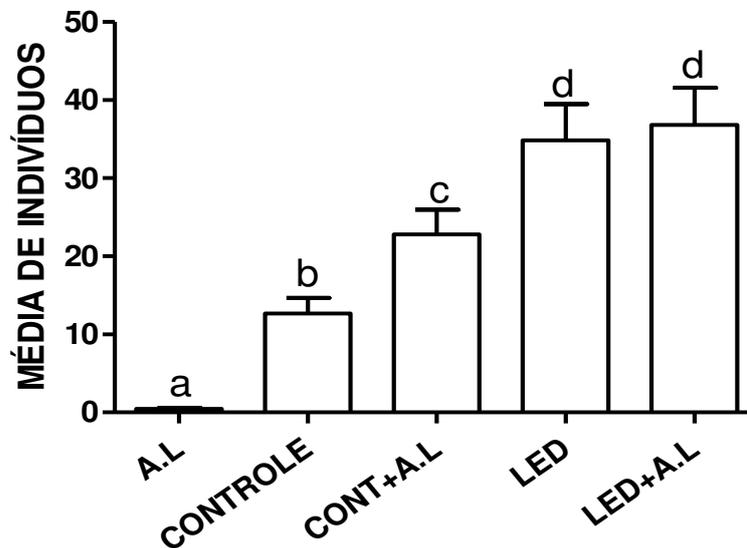


Figura 9. Média (\pm SEM) do número de indivíduos capturados nas armadilhas no experimento com uso do atrativo ácido láctico. Ácido láctico (A.L), Luz incandescente (CONTROLE), Luz incandescente + ácido láctico (CONT+A.L), Diodo emissor de luz (LED) e Diodo emissor de luz + ácido láctico (LED+A.L). Letras “a”, “b”, “c” e “d” indicam $p < 0,05$.

ocorrência que apresentou especificidade para algumas armadilhas como *Pa. shannoni*, *Sc. servulolimai*, *Ps. chagasi*, *Ev. teratodes*, *Ps. wellcomei*, *Ny. flaviscutellata*, *Mi. quinquefer*, *Ev. monstruosa*, *Sc. sordellii*. No experimento com octenol a armadilha LED+octenol coletou 13 espécies, a armadilha com LED 10 espécies, controle+octenol 12 espécies, controle 11 e octenol 5. No segundo experimento, as armadilhas LED+ácido láctico capturaram 11 espécies, armadilhas com LED coletou 9 espécies, controle+octenol 10 espécies, controle 8 e ácido láctico sozinho capturou 5 espécies.

6 DISCUSSÃO

As espécies de flebotomíneos registradas neste trabalho já foram relatadas para o estado do Maranhão (REBÊLO et al., 2010, SILVA et al., 2016; LIMA-NETO et al., 2017). Dentre as espécies encontradas no presente estudo, três são considerados vetores das leishmanioses em várias regiões do Brasil (MARZOCHI, 2016; LARA-SILVA et al., 2015; VIANNA et al., 2016; GONÇALVES et al., 2016). A espécie *Lu. longipalpis* é responsável pela transmissão da leishmaniose visceral e *Ny. whitmani* e *Bi. flaviscutellata* transmissora da forma tegumentar (BRAZIL et al., 2015, MAROLI et al., 2013).

Lutzomyia longipalpis foi a espécie de maior ocorrência neste trabalho bem como em outra pesquisa realizada na mesma região de estudo (LIMA NETO et al., 2017). A dominância de *Lu. longipalpis* pode ser explicada por se tratar de uma espécie que ocorre o ano inteiro com predomínio na estação seca, período de realização do presente estudo, além de ser adaptada aos vários ambientes, seja urbano, periurbano ou rural (SILVA et al., 2015c; SANTINI et al., 2015).

No presente estudo, as armadilhas com LEDs (com ou sem cairomônio) capturaram significativamente mais indivíduos do que as lâmpadas incandescentes convencionais. A eficiência do LED em relação à fonte luminosa padrão já tem sido demonstrada na atratividade de flebotomíneos e anofelinos (SILVA et al., 2016; COSTA-NETA et al., 2017). A combinação entre as fontes luminosas e cairomônios não apresentou resposta sinérgica. Salvo as armadilhas com luz incandescente+ácido láctico que apresentaram um pequeno aumento no número de indivíduos coletados quando adicionado o atrativo.

O raio de atração das armadilhas luminosas convencionais é em torno de 2 metros (KILLICK-KENDRICK et al., 1985; VALENTA et al., 1995). Esta mesma faixa de atração é compartilhada pelos compostos químicos (ALEXANDER, 2000). A faixa de atração dos LEDs é desconhecida, mas, pelos nossos resultados, é bem mais ampla do que as lâmpadas incandescentes com ou sem cairomônios. A adição de cairomônios aos LEDs não produziu efeito sinérgico o que reforça a eficiência desta fonte luminosa de forma isolada nas capturas dos flebotomíneos.

Alguns estudos têm relatado uma baixa atratividade do octenol sozinho nas capturas de mosquitos (VEZENEGHO et al., 2014; DHANIQUE et al., 2017). Em um estudo realizado por Vezenegho et al. (2014) na Guiana Francesa, avaliando armadilhas Mosquito Magnet na utilização de cartuchos de octenol, confirmaram que

as armadilhas com o atraente não foram eficientes na coleta de Culicídeos. Para a captura de flebotomíneos da espécie *Ny. intermedia*, Andrade et al. (2008) encontraram uma resposta dose-dependente ao octenol (5 - 25 mg / h). No estudo de Pinto et al. (2011), o octenol (27 - 43 mg / h) atuou sinergicamente com a luz incandescente, aumentando significativamente o número de flebotomíneos da espécie *Ny. neivai*, atraída para armadilhas luminosas do tipo CDC iscadas com octenol, esse aumento também foi observado de forma dose-dependente. No presente estudo, foi utilizado apenas um cartucho de octenol por armadilha, que representa 3,3 mg/h (79 mg / dia). Essa taxa é baixa em comparação com os estudos mencionados acima, o que pode ter influenciado significativamente os resultados.

Em um estudo realizado por Pinto et al. (2012), em túnel de vento, foi demonstrado que o ácido láctico provocou uma fraca atratividade para a espécie *Ny. neivai* em comparação com o octenol, atuando mais como um ativador do que como um atrativo, apresentando respostas fracas de atratividade. No presente estudo, o ácido láctico foi usado sozinho, sem qualquer combinação de outros atrativos, e tal combinação aumentaria significativamente a atração de flebotomíneos visto que ele apresenta baixa atratividade. No entanto, mais investigações são necessárias para uma melhor compreensão.

A diversidade de espécies para os experimentos foi similar, não havendo nenhuma particularidade significativa de espécie em relação às configurações das armadilhas. As armadilhas somadas aos atrativos coletaram mais espécies, entretanto, esse aumento resultou de espécies de baixo predomínio na área de estudo, que ocorrem eventualmente em uma ou outra armadilha, não podendo ser levado em consideração nesta pesquisa.

Dessa forma, os dados desta pesquisa salientam a relevância de estudos com insetos de importância médica. Uma vez que, foram encontrados vetores das leishmanioses e pesquisas envolvendo métodos de captura de flebotomíneos ajudam a fornecer elementos que possam subsidiar ações de vigilância e monitoramento destes vetores.

7 CONCLUSÃO

O presente estudo mostra que o padrão de atratividade e de espécies foi semelhante para os experimentos com os dois atrativos. O número de flebotomíneos capturados foi superior nas armadilhas com LEDs, independente do uso dos cairomônios. Os resultados demonstraram que a adição dos cairomônios nas taxas de liberação utilizadas nesta pesquisa não foram prósperos equiparados a tecnologia LED, além de serem produtos de difícil aquisição e de elevado custo. Contudo, conclui-se que a utilização do LED de forma isolada ainda é uma ferramenta eficiente nas capturas de flebotomíneos em estudos de monitoramento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER B. Sampling methods for phlebotomine sandflies. **Medical and Veterinary Entomology**, 14:109-122; 2000.

ALMEIDA OS, ANDRADE AJ, SCIAMARELLI A, RAIZER J, MENEGATTI JÁ, HERMES SCNM, CARVALHO MSL, GONÇALVES RG. Geographic distribution of phlebotomine sandfly species (Diptera: Psychodidae) in Central-West Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 110: 551-559; 2015.

ANDRADE AJ, ANDRADE MR, DIAS ES, PINTO MC, EIRAS AEE. Light traps baited with kairomones effective in the capture of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia intermedia*? An evaluation of synthetic human odor as an attractant for phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 103: 337-343; 2008.

BAILEY MS, LOCKWOOD DN. Cutaneous leishmaniasis. **Clinics in Dermatology**, 25: 203 -211; 2007.

BEAVERS GM, HANAFI HA, DYKSTRA EA. Evaluation of 1-octen-3-ol and carbon dioxide as attractants for *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) in Southern Egypt. **Journal of the American Mosquito Control Association**, 20: 130-133; 2004.

BRAKS MAH, MEIJERINK J, TALKEN W. The response of the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, to two components of human sweat, ammonia and L-lactic acid, in an olfactometer. **Physiological Entomology**, 26: 142-148;2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Leishmaniose Visceral. Disponível em <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/svs/leishmaniose-visceral-lv> (Acessado em 15 de fevereiro de 2019).

BRAZIL RP, RODRIGUES AAF, ANDRADE-FILHO JD. Sand fly vectors of Leishmania in the Americas – a mini review. **Entomology Ornithology Herpetology**, 4: 2-4;2015.

CASANOVA C, ANDRIGHETTI MTM, SAMPAIO SMP, MARCORIS MLG, COLLA-JACQUES FR, PRADO AP. Larval Breeding Sites of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in Visceral Leishmaniasis Endemic Urban Areas in Southeastern Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, 7: 21-23;2013.

COHNSTAEDT L, GILLEN JI, MUNSTERMANN ELE. Light-Emitting diode technology improves insect trapping. **Journal of the American Mosquito Control Association**, 24:331–334; 2008.

COOPER RD, FRANCES SP, POPAT S, WATERSON DGE. The effectiveness of light, 1-octen-3-ol and carbon dioxide as attractants for *Anopheline* mosquitoes in Madang Province, Papua New Guinea. **Journal of the American Mosquito Control association**, 20:239-242; 2004.

CORK A, PARK KC. Identification of electrophysiologically-active compounds for the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, in human sweat extract. **Medical Veterinary Entomology, Oxford**, 10:269-276; 1996.

COSTA RNM. Cobertura vegetal e evolução do uso agrícola do solo da região de chapadinha – MA. **Revista ACTA Tecnológica**,6:46-61; 2011.

COSTA-NETA BM, DA SILVA AA, BRITO JM, MORAES JLP, REBÊLO JMM, SILVA FS. Light-Emitting Diode (LED) Traps Improve the Light-Trapping of *Anopheles* Mosquitoes. **Journal of Medical Entomology**,1–5;2017.

COSTA-NETA BM, LIMA-NETO AR, DA SILVA AA, BRITO JM, AGUIAR JVC, PONTE IS, SILVA FS. Centers for Disease Control-type light traps equipped with high-intensity light-emitting diodes as light sources for monitoring *Anopheles* mosquitoes. **Acta Tropica**, 183:61–63;2018.

DE SÁ ILR, SALLUM MAM. Comparison of automatic traps to capture mosquitoes (Diptera: Culicidae) in rural areas in the tropical Atlantic rainforest. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 108:1014-1020; 2013.

DHANIQUE CTJ, MOHAMMED T, MOHAMMED A. East-generated CO₂: A convenient source of carbon dioxide for mosquito trapping using the BG-Sentinel® traps. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, 7: 896–900; 2017.

DOUGHERTY MJ, GUERIN PM, WARD RD, HAMILTON JGC. Behavioural and electrophysiological responses of the phlebotominae when exposed to canid host odour kairomones. **Physiological Entomology Oxford**, 24:251-262;1999.

EIRAS GA. Cairomônios e Aprendizagem em Paratísóides. In: Vilela, E.F; Della Lucia T (Ed.), **Feromônio Insetos Biol. química e emprego no manejo pragas, Holos**, p. 2006, 2001.

FAIMAN R, CUNO R, WARBURG A. Comparative efficacy of three suction traps for collecting phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in open habitats. **Journal of Vector Ecology**, 34:114-118; 2009.

GALATI EAB. Morfologia e taxonomia. Morfologia, terminologia de adultos e identificação dos táxons da América. In **E. F. Rangel and R. Lainson (eds.), Flebotomíneos do Brasil. FIOCRUZ**, Rio de Janeiro, Brasil, 53- 175; 2003.

GONÇALVES R, SOARES DC, GUIMARÃES RJPS, SANTOS WS, SOUSA GCR1, CHAGAS AP, GARCEZ LM. Diversidade e ecologia de flebotomíneos (Psychodidae: Phlebotominae): focos de leishmaniose cutânea na Amazônia, Brasil. **Revista Pan-Amazonica de Saúde**, 7:133-142; 2016.

HALL DR, BEEVOR PS, CORK A, NESBITT BF, VALE GA. A potent olfactory stimulant and attractant for tsetse isolated from cattle odours. **Insect Sci. appl., Elmsford**, 5: 335-339; 1984.

HAMILTON JGC, BRAY DP. Host Odor Synergizes Attraction of Virgin Female *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **Journal of Medical Entomology**; 44:779-787; 2007

HOEL DF, KLINE DL, ALLAN SA, GRANT A. Evaluation of carbon dioxide, 1-octen-3-ol, and lactic acid as baits in mosquito magnet pro traps for *Aedes albopictus* in north central Florida. **Journal of the American Mosquito Control Association**, 23:11–17; 2007.

IBGE. Atlas do Maranhão. Rio de Janeiro, Governo do Estado do Maranhão. 104p. 1984. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico 2010. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/> Acesso em 03 de março de 2017.

ISBERG E, BRAY DP, HILLBURI Y, IGNEEL R. Evaluation of Host-Derived Volatiles for Trapping *Culicoides* Biting Midges (Diptera: Ceratopogonidae). **Journal of Chemical Ecology**, 43:662-669; 2017.

KILLICK-KENDRICK R, WILKES TJ, ALEXANDER J, BRAY RS, RIOUX JA, BAILLY M. the distance of attraction of CDC light traps to phlebotomine sand flies. **Annales de Parasitologie et Humaine Comparée**, 60: 763-767;1985.

LARA-SILVA FO, MICHALSKY ÉM, FORTES-DIAS CL, FIUZA VDOP, PESSANHA JEM, REGINA-SILVA S. Epidemiological aspects of vector, parasite, and domestic reservoir in areas of recent transmission and no reported human cases of visceral leishmaniasis in Brazil. **Acta Tropica**, 148:128-36; 2015.

LIMA-NETO AR, COSTA-NETA BM, DA SILVA AA, BRITO JM, SILVA FS, PONTE IS, AGUIAR JVC. The effect of luminous intensity on the attraction of phlebotomine sand flies to light traps. **Journal of Medical Entomology**, 1–4; 2017.

LOGAN JG, BIRKETT MA. Semiochemicals for biting fly control: their identification and exploitation. **Pest Management Science**, 63:647-57; 2007.

MACHADO VE, CORRÊA AG, GOULART TM, SILVA FB, ORTIZ DGS, PINTO MC. Attraction of the sand fly *Nyssomyia neivai* (Diptera: Psychodidae) to chemical compounds in a wind tunnel. **Parasites & Vectors**, 8:147; 2015.

MANN RS, KAUMAN PE, BUTLER JF. *Lutzomyia* spp. (Diptera, Psychodidae) response to olfactory attractant- and light emitting diode modified mosquito Magnet X (MM-X) traps. **Journal of Medical Entomology**, 46: 1052-1061; 2009.

MAROLI M, FELICIANGELI MD, BICHAUD L, CHARREL RN, GRADONI L. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. **Medical and Veterinary Entomology**, 27:123-147; 2013.

MARZOCHI MCA, Visceral leishmaniasis in Southern Rio de Janeiro State and the risk of propagation to São Paulo State, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 49:147-149; 2016.

MCPATTHER L, GERRY AC. Effect of CO₂ concentration on mosquito collection rate using odor-baited suction traps. **Journal of Vector Ecology**, 42: 44-50;2017.

MIGNOGNA MD, CELENTANO A, LEUCI S, CASCONI S, ADAMO S, RUOPPO E, FAVIA G. Mucosa leishmaniasis with primary oral involvement: a case series and a review of the literature. **Oral Disease**, 21:70–78; 2015.

NOGUEIRA VFB, CORREIA MF, NOGUEIRA VS. Impacto do Plantio de Soja e do Oceano Pacífico Equatorial na Precipitação e Temperatura na Cidade de Chapadinha-MA. **Revista Brasileira de Geografia Física**, 3:708- 724; 2012.

PINTO MC, CAMPBELL-LENDRUM DH, LOZOVEI AL, TEODORO U, DAVIES CR. Phlebotomine sandfly responses to carbon dioxide and human odour in the field. **Medical and Veterinary Entomology**,15:132-139; 2001.

PINTO M, BARBIERI K, SILVA M, GRAMINHA M, CASANOVA C, ANDRADE A, EIRAS AEE. Octenol as attractant to *Nyssomyia neivai* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the field. **Journal of Medical Entomology**, 48:39–44; 2011.

PUGEDO H, BARATA RA, FRANÇA-SILVA JC, SILVA JC, DIAS ES. HP: um modelo aprimorado de armadilha luminosa de sucção para a captura de pequenos insetos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**; 38:70-72; 2005.

READY P. Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. **Annual Review of Entomology**, 58:227-250; 2013.

READY P. Epidemiology of visceral leishmaniasis. *Clinical Epidemiology* 2014, 6:47-154.

REBÊLO JMM, ARAÚJO JAN, CARVALHO ML, BARROS VLL, SILVA FS, OLIVEIRA ST. Flebótomos (Diptera, Phlebotominae) da Ilha de São Luís, zona do Golfão Maranhense, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 32: 247-253;1999.

REBÊLO JMM, MORAES JLP, ALVES GA, LEONARDO FS, DA ROCHA RV, MENDES WA, COSTA E, CÂMARA LEMB, SILVA MJA, PEREIRA YNO, MENDONÇA JAC. Distribuição das espécies do gênero *Anopheles* (Diptera, 337 Culicidae) no Estado do Maranhão, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, 23: 2959-2971; 2007.

REBÊLO JMM, ROCHA RVDA, MORAES JLP, SILVA CRM, LEONARDO FS, ALVES GA. The fauna of Phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in different phytogeography regions of the state of Maranhão, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, 54:494-500; 2010.

SANT'ANA AL, EIRAS AE, CALVACANTE RR. Electroantennographic responses of the *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae) to 1-octen-3-ol. **Neotropical Entomology**, 31:13-17; 2002.

SANTINI MS, UTGÉS ME, BERROZPE P, ACOSTA MM, CASAS N, HEUER P, SALOMÓN OD. *Lutzomyia longipalpis* Presence and Abundance Distribution at Different Microspatial Scales in an Urban Scenario. **PLOS Neglected Tropical Diseases**,9; 2015.

SANTOS SO, ARIAS J, RIBEIRO AA, HOFFMANN MP, FREITAS RA, MALACCO MAF. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American Visceral Leishmaniasis. **Medical and Veterinary Entomology**,12:315-317;1998.

SHARMA U, SINGH S. Insect vectors of Leishmania: distribution, physiology and their control. **Journal Vector Borne diseases**, 45:255-272; 2008.

SHIMABUKURO PHF, ANDRADE AJ, GALATI EAB. Checklist of American sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): genera, species, and their distribution. **ZooKeys**, 660: 67-106; 2017.

SHIMABUKURO PHF, GALATI EAB. Checklist dos Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do estado de São Paulo, Brasil, com comentários sobre sua distribuição geográfica. **Biota Neotropica**,11:685-704; 2011.

SILVA FS, BRITO JM, COSTA-NETA BM, LOBO SEPD. Evaluation of light emitting diodes as attractant for sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in northeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 110:801–803; 2015a.

SILVA FS, BRITO JM, COSTA-NETA BM. Field evaluation of light-emitting diode as attractant for blood-sucking midges of the genus *Culicoides* Latreille (Culicomorpha, Ceratopogonidae) in the Brazilian savanna. **Entomological News**, 125:1-6; 2015b.

SILVA FS, SILVA AA, REBÊLO JMM. An evaluation of light-emitting (LED) traps at capturing Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in a livestock área in Brazil. **Journal of Medical Entomology**,53:634-638; 2016.

SILVA LB, AQUINO DMC, LEONARDO FS, GUIMARÃES E SILVA AS, MELO MN, REBELO JMM, PINHEIRO VCS. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em focos urbanos de leishmaniose visceral no estado do maranhão, Brasil. **Revista Patológica Tropical**, 44:181-193; 2015c.

SINAN SEMUS. Sistema de Informação de Agravos de Notificação/ Ministério da Saúde. Disponível em: <http://portalweb04.saude.gov.br/>; 2017.

SUDIA WD, CHAMBERLAIN RW. Battery-Operated Light Trap, an Improved Model. **Mosquitos News**, 22:126-9; 1962.

VALENTA, DT, TANG Y, ANEZ N. A new method to determine the distance at which phlebotomine sandflies are attracted to light under field conditions. **Boletim de direção da Malariologia e Saneamento Ambiental**, 35:353–358; 1995.

VENTER GJ, LABUSCHAGNE K, BOIKANYO SNB, MAJATLADI DM, MOREY L. The effect of 1-octen-3-ol and 4-methylphenol on *Culicoides* midge numbers collected with suction light traps in South Africa. **Veterinary Parasitology**, 175:182-186; 2011.

VEZENEGHO SB, ADDE A, GABORIT P, CARINCI R, ISSALY J, DE SANTI VP, DUSFOUR I, BRIOLANT S, GIROD R. Mosquito magnet® liberty plus trap baited with octenol confirmed best candidate for *Anopheles* surveillance and proved promising in predicting risk of malaria transmission in French Guiana. **Malaria Journal**, 13:384; 2014.

VIANNA EN, MORAIS MHF, ALMEIDA AS, SABROZA PC, REIS IA, DIAS ES, CARNEIRO M. Abundance of *Lutzomyia longipalpis* in urban households as risk factor of transmission of visceral leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 111:302-310; 2016.

VILAS VJDR, MAIA-ELKHOURY ANS, YADON ZE, COSIVI O, SANCHEZ-VAZQUE MJ. Visceral leishmaniasis: a One Health approach. **Veterinary Record**, 175:42-44; 2014.

VILELA EF, DELLA LMC. Introdução aos semioquímicos terminologia (Feromônios de insetos: biologia, química e emprego de manejos de praga) Ribeirão Preto: **Editora Holos**, Cap. 1: 9-12; 2001.

VILELA ML, RANGEL EF, LAINSON R. Métodos de coleta e preservação de flebotomíneos. In Rangel EF, LAINSON R. (Ed.) Flebotomíneos do Brasil. **Editora Fiocruz**, Cap. 8, 353-367; 2003.

WILLIAMS CR, BADER CA, WILLIAMS SR, WHELAN PI. Adult mosquito trap sensitivity for detecting exotic mosquito incursions and eradication: a study using EVS traps and the Australian southern saltmarsh mosquito, *Aedes camptorhynchus*. **Journal of Vector Ecology**, 37:110-6; 2012.

ZEROUAL S, GAOUAQUI R, BOUDJELIDA H. Diversity and occurrence of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the area of Biskra (Middle Eastern of Algeria). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, 4: 890-895; 2016.