

**FLEBOTOMINEOS (DIPTERA: PSYCHODIAE) INFECTADOS
NATURALMENTE POR TRIPANOSOMÁTÍDEOS (KINETOPLASTIDA:
TRYPANOSOMATIDAE) EM FRAGMENTOS FLORESTAIS URBANOS EM
MANAUS – AMAZONAS (BRASIL)**

**FLEBOTOMINOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE) INFECTADOS NATURALMENTE
POR TRIPANOSOMAS (KINETOPLASTIDA: TRYPANOSOMATIDAE) EM
FRAGMENTOS DE FLORESTAS URBANOS EM MANAOS-AMAZONAS (BRASIL)**

**SANDFLIES (DIPTERA: PSYCHODIDAE) NATURALLY INFECTED
BY TRYPANOSOMA (KINETOPLASTIDA: TRYPANOSOMATIDAE) IN URBAN
FOREST FRAGMENTS IN MANAUS CITY-AMAZONAS (BRAZIL)**

SILVA, T. MARIA DE NAZARÉ ^{1*} Doutora em Entomologia. CASTELLÓN, G.
ELOY ^{2**} Doutor em Entomologia.

^{1*}Bolsista PCI/CNPq/INPA, Manaus, Amazonas, Brasil. ^{2**} Laboratório de
Insetos Sinantrópicos, Coordenação de Pesquisa da Ciência da Saúde
(CPCS), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Alameda André
Araújo, 2936, CEP 69060-001 Petrópolis, Manaus/Amazonas, Brasil.

Correspondência: *nazatavares@bol.com.br **eloyc@inpa.gov.br

Recibido: 15-06-2011; Aceptado: 17-04-2012

Resumo

A transmissão da leishmaniose para o vertebrado ocorre pela picada do vetor flebotomíneo do gênero *Lutzomyia*, infectados com as formas flageladas do parasito. Durante o período de janeiro de 2002 a abril de 2009, foram realizadas coletas de flebotomíneos em base de árvores, nas quais foram utilizadas armadilhas luminosas do tipo “CDC modificada”, que funcionou como aspirador manual (CDC “miniature”-Hausherr Machine Works, New Jersey, USA) no horário das 08:00 às 10:30 horas, nos fragmentos de floresta nos arredores das comunidades: São João, Cidade de Deus e Hiléa e nos fragmentos de florestas da universidade Federal do Amazonas e da reserva da Sokai Gakkai, todos esses fragmentos encontram-se localizados no perímetro urbano no município de Manaus, Amazonas, Brasil. Nessa pesquisa foi capturado um total de 2.612 fêmeas de flebotomíneos, desse total 40% ou 1.202 espécimes foram dissecadas, desse total 26 fêmeas apresentaram infecção natural por tripanosomatídeos. A taxa de infecção registrada nessas áreas foi de 2,02% (5/247) Cidade de Deus; 3,18% (12/377) São João; 1,27% (2/157) Hiléia; 1,85% (7/379) UFAM e na reserva Sokai Gakkai não foi registrado nenhum espécime positiva para flagelados.

Palavras-chaves: infecção natural, Flebotomíneos, Diptera-Psychodidae, Trypanosomatidae, fragmentos florestais.

Resumen

La transmisión de la leishmaniasis para el vertebrado ocurre por la picada del vector flebotomino del género *Lutzomyia*, infectado con las formas flageladas del parásito.

Durante El periodo enero de 2002 a abril de 2009, fueron realizadas colectas de flebotominos, en bases de árboles, en las cuales fueron utilizadas trampas luminosas del tipo CDC modificada que funcionó como aspirador manual (CDC "miniature"- Hausherr Machine Works, New Jersey, EUA), en el horario de 8:00 a las 10:30 horas, en los fragmentos de selva en los alrededores de las comunidades : São João, Cidade de Deus e Hiléia y en los fragmento de selva de la Universidad Federal del Amazonas y de la reserva Sokai Gakkai, todos esos fragmentos se encuentran localizados en el perímetro urbano del municipio de Manaus, Amazonas, Brasil. En esta investigación, fueron capturadas 2.612 hembras de flebotominos; y de ese total, 1.202 especímenes fueron hembras; 26 hembras presentaron infección natural por tripanosomas. La rata de infección registrada en esas áreas fueron: 2,02 % (5/247) en Cidade de Deus; 3,18% (12/377) en São João; 1,27% (2/157) en Hiléia; 1,85% (7/379) en UFAM; en la reserva Sokai Gakkai no fue registrado ningún espécimen con flagelados.

Palabras clave: infección natural, Díptera; Psychodidae; sand flies, Trypanosomatidae, fragmentos de selva.

Abstract

The transmission of leishmaniasis disease, for the host vertebrata is by the bite of the phlebotomine sand flies vectors of the genus *Lutzomyia* (Diptera :Psychodidae) infected with the flagellate forms of the parasite. Sandfly collections were carried out from January 2002 to April 2009, at the tree trunk bases on which light traps of the "CDC modified", type (CDC "miniature"- Hausherr Machine Works, New Jersey, EUA) that functioned as hand aspirators were placed, from 8:00 to 10:30 h, in the Forest patches surrounding the communities: São João, Cidade de Deus and Hiléia and in the Forest patches within of the Federal University of the Amazonas Campus as well as the one at the Sokai Gakkai reserve. All the forementioned forest patches are sited within the Manaus, Amazonas, Brasil. The work carried out in the present research caught a total of 2.612 sandfly (Diptera:Psychodidae) females. Out of these total 40% or 1.202 specimens, were dissected, from that total 26 females presented natural infection by Trypanosomatidae. The infection rate recorded in those áreas shows to be 2.02% (5/247) Cidade de Deus; 3.18% (12/377) São João; 1.27% (2/157) Hiléia; 1.85% (7/379) UFAM and no positive specimen for flagellates was recorder at the Sokai Gakkai reserve. The presence of *Lutzomyia umbratilis* show risk of transmittion of American Tegumentary Leishmaniasis in the

Key words: natural infection, Psychodidae, sand flies, Trypanosomatidae, forest patches.

Introdução

A transmissão da Leishmânia para o vertebrado ocorre pela picada do inseto (gênero *Lutzomyia*) infectados com as formas flageladas da *Leishmania*. Na natureza, as taxas de infecções por flagelados em insetos, podem variar em

determinados ambientes, independente da presença dos hospedeiros vertebrados infectados no local (YOUNG e ARIAS, 1992).

Lainson e Shaw (1987) classificaram as leishmânias de acordo com a localização do parasito no aparelho digestório dos flebotomíneos, utilizando como referência o piloro dos insetos. Logo, parasitos que se aderem à porção anterior e média do intestino, são agrupados no subgênero *Leishmania* ; comportamento suprapilário dos parasitos, no subgênero, acrescenta-se uma fase de divisão de paramastigotas redondas ou ovoides e promastigotas que se aderem às paredes do intestino posterior (piloro e íleo), como desenvolvimento peripilário (LAINSON e SHAW, 1998).

A infecção do flebotomíneo se dá pela ingestão de sangue contendo amastigotas durante o repasto em hospedeiros infectados. NERY *et al.* (2004), confirmaram que a fonte de alimentação preferencial dos flebotomíneos em um fragmento florestal no perímetro urbano de Manaus, Amazonas, ainda são os roedores, mantendo o ciclo do parasita no meio florestal e periflorestal. ARIAS e FREITAS (1978) constataram que mais de 50% das espécies *Lutzomyia umbratilis* e *L. anduzei* capturadas, apresentaram leptomonas, as quais foram identificadas como *Leishmania*. PINHEIRO *et al.* (2008) detectaram infecção natural por tripanosomatídeos em *L. umbratilis*, coletadas em duas áreas localizadas próximo ao município de Manaus, demonstraram que as taxas de infecção variaram de 1,66% e 0,42% respectivamente, nos dois ambientes. SILVA (2005) pesquisou a infecção natural por *Leishmania* em flebotomíneos, em fragmentos florestais urbanos no município de Manaus, encontraram 56/900 fêmeas, 6,22% positivas para as formas flageladas no tubo digestivo. O objetivo deste trabalho foi o de conhecer a fauna local e a taxa de infecção natural em flebotomíneos que se abrigam nos fragmentos florestais urbanos, no município de Manaus.

Material e métodos

Durante o período de janeiro de 2002 a abril de 2009, foram realizadas coletas de flebotomíneos em base de árvores, utilizando-se de armadilha luminosa do tipo “CDC modificada”, que funcionou como aspirador manual (CDC “miniature”- Hausherr Machine Works, New Jersey, EUA), no horário de 8:00 as 10:30 horas, em árvores que apresentavam troncos com três metros de diâmetro e 30 metros de altura nos fragmentos florestais ao redor das comunidades habitacionais São João, Cidade de Deus e Hiléia e nos fragmentos florestais do Campus da Universidade Federal do Amazonas e da reserva da Sokai Gakkai, todos localizados no perímetro urbano no município de Manaus, Amazonas, Brasil.

O fragmento florestal do Campus da Universidade Federal do Amazonas, localizado na região central da cidade de Manaus (03° 04' 34"S e 59° 57' 30" W), com 711 ha, apresenta formações vegetais diferentes, como as áreas de florestas de terra firme sobre platôs, encostas e baixios, campinas e matas secundárias ou capoeiras em diferentes níveis de sucessões. e se destaca como um dos mais extenso fragmento urbano de Manaus, com sua totalidade preservada. Dentro desse fragmento foi escolhida uma área, onde predomina a vegetação de mata primária, ocorrendo pequenas alterações provocadas por efeito de borda e pelas ações antrópicas.

O fragmento florestal da reserva da INFRAERO, (3°02'53" S e 60°02'19" W) com aproximadamente 200 ha, localizado na Zona centro-oeste do município de Manaus, sua vegetação é do tipo secundaria composta por variedades de espécies de vegetais, tipos de terra firme. É o terceiro maior fragmento urbano no município de Manaus, que se destaca pela formação do corredor ecológico em torno da zona oeste.

O fragmento florestal da Reserva Adolpho Ducke, envolta da comunidade Cidade de Deus (03° 00'33" S e 59°56'23" W) localizado na zona norte da cidade de Manaus é caracterizado como uma floresta tropical úmida de terra firme. Foi definido por MAGALHÃES e ALENCAR (1979), como uma floresta tropical úmida de terra firme, com uma área de 10.072 ha, na qual apresenta uma cobertura vegetal formada por uma floresta densa, com grande variedade de árvores.

O fragmento florestal ao redor da Comunidade habitacional São João, localiza-se a oeste do município de Manaus, no início da rodovia BR-174, Km 4, (03° 03'47" S e 57°32'17" W) é caracterizado como um fragmento isolado, composto por uma vegetação secundária, poucas variedades de árvores, chegando a termos dificuldade de encontrar arvores dentro do padrão exigido nessa pesquisa tanto na altura quanto no diâmetro.

O fragmento florestal da reserva Soka Gakkai, encontra-se localizado na zona leste do município de Manaus, (03°03'37" S e 56°37'27" W) é uma reserva ecológica, composta por uma floresta secundaria, isolada que encontra-se em fase de reflorestamento.

Após cada coleta entomológica, os insetos capturados vivos foram levados para o laboratório de Insetos Sinantrópicos - INPA, onde foram separados os machos e fêmeas. Do total das fêmeas coletadas aproximadamente 40% (incluído os espécimes vivos e regurgitadas) foram separadas para a serem dissecadas, com a finalidade de se detectar a presença de flagelados e os outros 60%, mais os machos, foram armazenados em frascos de vidros com álcool a 70%, rotulados com a identificação proveniente das coletas, para

serem utilizados nas etapas seguintes. Na dissecação, a fêmea foi individualmente colocada em uma placa de petri com solução salina e algumas gotas de detergente neutro líquido, para extrair o excesso de cerdas do inseto. Em seguida, agita-se com movimentos circulares para ajudar a liberação das cerdas e transfere-se o inseto para outra placa, para ser retirado o excesso de detergente, a fêmea é transferida para uma outra lâmina, contendo uma gota de solução salina e inicia-se a dissecação, na qual e com ajuda de estiletes entomológicos, é separada a cabeça do tórax e em seguida, segurando o tórax com um dos estiletes, puxa-se o penúltimo segmento abdominal expondo o tubo digestivo, o qual é transferido para outra lâmina contendo uma gota de soro fisiológico e cobre-se com uma lamínula. Após esta etapa, a lâmina contendo o tubo digestivo foi transferida para um microscópio óptico com aumento de 400 x, para observação da presença dos flagelados da família Typanossomatidae (Kinetoplastida) dos gêneros (*Leishmania*, *Endotrypanum*, *Trypanosoma* e/ou *Sauroleishmania*) no tubo digestivo e nos túbulos de Malpighi dos flebotomíneos.

Nos flebotomíneos positivos para flagelados, com as formas clássicas das leptomonas, foi observada a localização dos flagelados no tubo digestivo e nos túbulos de Malpighi, com o intuito de se realizar a estimativa da quantidade de parasitas, segundo os critérios descritos por ARIAS e FREITAS (1978).

As lâminas que apresentaram material contendo formas flageladas passaram por uma aspiração para a retirada da solução salina, ficando somente o tubo digestivo e túbulos de Malpighi, que foram montados em lâminas e fixadas com metanol e coradas com Giemsa. A Taxa de Infecção Natural (TIN) foi obtida de cada área através do percentual da razão entre o número de fêmeas infectadas e o total de fêmeas dissecadas (FREITAS *et al.*, 2002) Todos os espécimes de flebotomíneos que não foram dissecados, passaram pelo método de clarificação para posteriormente serem montados com base na técnica proposta por RYAN (1986) e FORATTINI (1973), as quais foram modificadas e adaptadas pelo Laboratório de Insetos Sinantrópicos, que consistiu em colocar os espécimes em hidróxido de potássio a 10% em frio por 24 horas; Lavar com água destilada durante 10 minutos; colocar em ácido acético a 10% durante cinco minutos e mergulhar no fenol os espécimes durante 5 minutos: A montagem de todos os espécimes clarificados foi feita em lâmina escavada, o qual proporciona mais economia e agilidade no processo de identificação. Depois de identificada a espécie, os espécimes foram depositados em pequenos tubos de vidro contendo álcool 70% e encaminhado para a coleção entomológica de invertebrados do INPA. Todos os espécimes coletados foram identificados seguindo os critérios utilizados nas chaves de identificação de YOUNG e DUNCAN (1994).

Resultados

No fragmento florestal ao redor da comunidade habitacional Cidade de Deus foram capturados 616 fêmeas, destas, 247 foram dissecadas. Dos espécimes dissecados, 197 eram *L. umbratilis*; 27 *L. anduzei*; 13 *L. gomezi* e 10 *L. davisii*. Apenas cinco dos espécimes dissecados ou 2,02% (5/247) encontravam-se positivos para presença de flagelados localizados no intestino médio de espécimes *L. umbratilis* (Tabela 1).

Nas coletas entomológicas realizadas no fragmento florestal ao redor da Comunidade São João de onde se obtiveram 943 fêmeas, destas 377 espécimes foram dissecadas para verificar a presença de flagelados. Desse total de espécimes dissecados 237 foram identificados como *L. umbratilis*; 103 *L. anduzei*; 24 *L. gomezi* e 13 *L. davisii*. Dos espécimes dissecados, apenas 12 (12/377) encontravam-se positivos para presença de flagelados, os quais foram localizados tanto no intestino médio quanto nos túbulos de Malpighi dos espécimes de *L. umbratilis*, isso é equivalente uma taxa de infecção de 3,18% (Tabela 1).

No fragmento florestal ao arredor da Comunidade do Hiléia foram coletadas 537 fêmeas, destas 157 foram dissecadas; 126 identificadas como *L. umbratilis*, 11 *L. dendrophyla*; oito *L. gomezi* e 13 *L. davisii*. Do total dissecado, somente dois (2/157) encontravam-se positivos para presença de flagelados, que se encontravam localizados no intestino médio dos espécimes *L. umbratilis*, representando uma taxa de infecção de 1,27% (Tabela 1).

Tabela 1. Total de fêmeas de flebotomíneos positivas para flagelados, coletado nos fragmentos florestais das Comunidades Hiléia (CH), Cidade de Deus (CCD), Comunidade São João (CSJ), Universidade Federal do Amazonas (UFAM) e Soka Gakkai (SGI), município de Manaus/AM, no período de janeiro de 2002 a abril 2009.

Espécies	CH		CCD		CSJ		UFAM		SGI	
<i>L. umbratilis</i>	02	++	05	++	12	++	07	++	00	
Total:	02		05		12		07		00	

Obs + ou ++ classificação baseada em ARIAS e FREITAS (1978).

Nas coletas realizadas no fragmento florestal do Campus Universitário da UFAM, foram capturadas 947 fêmeas; 379 foram dissecadas para verificar a presença de flagelados. Entre os espécimes dissecados, 231 foram identificados como *L. umbratilis* e 148 *L. anduzei*. Somente sete (7/379) encontravam-se positivos para presença de flagelados localizados no intestino médio de *L. umbratilis*, isso representou uma taxa de infecção de (1,85%) (Tabela 1).

Na reserva florestal Soka Gakai Internacional, foram coletados 137 fêmeas, destas, 42 espécimes pertencentes a espécie *L. umbratilis* foram dissecadas, não sendo registrada a presença de parasitas.

Discussão

A taxa de infecção natural em flebotomíneos obtida por ARIAS e FREITAS (1978), em áreas Peri urbanas de Manaus foi de 50% dos espécimes de *L. umbratilis* coletados, muito superior às taxas de infecção encontradas nos flebotomíneos coletados nos fragmentos florestais urbanos nesta pesquisa, que variaram entre os fragmentos florestais estudados: Comunidade do São João, 12/ 377 (3,18%) espécimes foram positivas. No Hiléia, os espécimes positivos foram 2/157, a taxa foi de (1,27%), seguida da Comunidade Cidade Deus com 5/247 espécimes positivos e taxa de (2,02%). Já PINHEIRO *et al.* (2008) detetaram taxas de 1.66% e 0,42% em áreas urbanas no município de Manaus.

Podemos sugerir que estes fragmentos de mata secundária e com ação antrópica, possam influenciar na baixa diversidade de animais silvestres, e como consequência resultaria na baixa homogeneidade das espécies de flebotomíneos nesses ambientes. No entanto os resultados de ARIAS e FREITAS (1978) corresponderam os flebotomíneos capturados em floresta primária, com baixas interferências antrópica. Nas florestas de mata primária, sem ação antrópica as taxas de infecções podem variar de 20% a 70%, esse comportamento está intimamente ligado com a presença de hospedeiros vertebrados infectados nos locais das coletas, ou pela homogeneidade das espécies (YOUNG e ARIAS,1992). ARIAS e FREITAS (1978) constataram que mais de 50% das espécies *L. umbratilis* e *L. anduzei* apresentaram leptomonas, as quais foram identificadas como leishmânia. Segundo ARIAS *et al.* (1985) e MIRANDA *et al.* (2002), nas áreas em que a LTA apresentou um comportamento de endemismos, as taxas de infecção natural foram baixas, variando em torno de 0 a 3%, isso só é encontrado na Amazônia em áreas de florestas que passaram por fragmentação, como nas áreas deste estudo.

FEITOSA e CASTELLÓN (2004) realizaram coletas em fragmentos florestais urbanos no município de Manaus, com o objetivo de detectar a taxa de infecção natural em fêmeas de flebotomíneos, o que não foi registrado; porém quando foram utilizadas coletas sistematizadas nessas mesmas áreas, foi registrada uma taxa de infecção natural de 0,94%; provavelmente isso pode estar relacionado à reintrodução de animais silvestres como reservatórios, já que os fragmentos encontram-se em fase recuperação da fauna e flora. PINHEIRO *et al.* (2008), demonstraram que *L. umbratilis*, espécie considerada responsável pela transmissão da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) ao norte do rio Amazonas, foi a única espécie que apresentou infecção natural por Trypanosomatídeos. NERY *et al.* (2004) confirmaram que a fonte de

alimentação preferencial de *L. umbratilis* e *L. spathotrichia* em um fragmento florestal no perímetro urbano de Manaus, ainda são os roedores que mantem o ciclo do parasita no meio florestal e periflorestal.

Referencias

ARIAS, J.R.; FREITAS, R.A. 1978. Sobre os vetores de Leishmaniose cutânea na Amazônia Central do Brasil. 2. Incidência de flagelados em flebotomos selváticos. Acta Amazônica 8:387-396.

ARIAS, J.R.; MILES, M.A.; NAIFF, R.D.; PÓVOA, M.M.; FREITAS, R.A.; BIANCARDI, C.B.; CASTELLON, E.G. 1985. Flagellate infection of Brazilian sandflies (Diptera: Psychodidae): Isolation *in vitro* and biochemical identification of *Endotrypanum* and *Leishmania*. Am. J. Trop. Med. Hyg, 34:1098-1108

FEITOSA, M.A.C.; CASTELLÓN, E.G. 2004. Fauna de Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em Fragmentos de Floresta ao redor de Conjuntos Habitacionais na Cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. I. Estratificação Vertical. Acta Amazônica 34:121-127.

FORATTINI, O.P. 1973. *Entomologia Médica*. Edgard Blucher, São Paulo, Brasil.

FREITAS, R.A.; NAIFF, R. D.; BARRETT, T.V. 2002. Species diversity and flagellate infections in the sand flies fauna near Porto Grande, State of Amapá, Brazil (Diptera: Psychodidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 97(1):53-59.

GOMES, L.H.M. 2003. *Variação mensal e infecção em Lutzomyia umbratilis Ward & Fraiha 1977, Lutzomyia anduzei Rozeboom 1942, Lutzomyia flaviscutellata Mangabeira 1942 e Lutzomyia olmeca nociva Young e Arias 1982 (Diptera: Psychodidae) por tripanosomatídeos (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) em áreas de treinamento militar na Amazônia*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia /Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil.

MAGALHÃES, L.M. ; ALENCAR, J.C. 1979. Fenologia do Pau- Rosa (*Aniba duckei* Kostermans) Lauraceae em floresta primária na Amazônia Central. Acta Amazônica 9(2):227-232,

MIRANDA, J.C.; REIS, E.; SCHRIEFER, A.; GONÇALVES, M.; REIS, M.G.; CARVALHO, L.; FERNANDES, O.; BARRAL-NETTO, M.; BARRAL, A. 2002. Frequency of infection of *Lutzomyia* phlebotomines with *Leishmania braziliensis* in a Brazilian endemic area as assessed by pinpoint capture and polymerase chain reaction. Mem Inst. Oswaldo Cruz 97(2):185-188.

NERY, L.C.R.; LOROSA, E.S.; FRANCO, A.M.R. 2004. Feeding preference of the Flies *Lutzomyia umbratilis* and *L. spathotrichia* (Diptera: Psychodidae),

Phlebotominae) in an Urban Forest Patch in the City of Manaus, Amazonas, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 99(6):571-574.

PINHEIRO F.G.; LUZ, S.L.B.; FRANCO, A.M.R. 2008. Infecção natural por tripanosomatídeos (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) em *Lutzomyia umbratilis* (Diptera: Psychodidae) em áreas de leishmaniose tegumentar americana no Amazonas, Brasil Acta Amazônica 38:(1):165-172.

RYAN, L. 1986. *Flebótomos do estado do Pará, Brasil (Díptera:Psychodidae)*. Tech, Doc. No 1, Instituto Evandro Chagas, Belém, Pará, Brasil.

SILVA, M.N.T, 2005. *Flebotomíneos (Díptera:Psychodidae) em fragmentos florestais, áreas domiciliares e peridomiciliares em Manaus, Amazonas, Brasil: Riqueza de espécies, Abundância, Infecção Natural por Trypanosomatidae (Kinetoplastida)*. Tese de doutorado PPG-BTRN-INPA-UA. Manaus, Brasil.

SILVA, M.R.C. 1994. *Estudo sobre abrigos naturais dos Phlebotominae (Díptera: Psychodidae) na Reserva Florestal Adolfo Ducke*. Manaus: dissertação de Mestrado, PPG-BTRN- INPA-UA. Manaus, Brasil.

YOUNG, D.G.; ARIAS, J.R. 1992. *Flebótomos vectores de leishmaniosis en las Américas*. OPAS, cuaderno técnico nº 33.

YOUNG, D.G.; DUNCAN, M.A. 1994. *Guide to identification and geographic distribution of Lutzomyia sandflies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Díptera: Psychodidae)*. Mem. Amer. Entomol. Inst., Gainesville, FL., U.S.A.