

## ESTABELECIMENTO DE COLÔNIA, EM LABORATÓRIO, DE *LUTZOMYIA INTERMEDIA* LUTZ & NEIVA, 1912 (DIPTERA, PSYCHODIDAE), PHLEBOTOMINAE)

ELIZABETH F. RANGEL, NATALY A. DE SOUZA,  
EDUARDO D. WERMELINGER & ANDRÉ F. BARBOSA

*Para a utilização em infecções experimentais e xenodiagnósticos de infecções naturais por leishmânias dermatrópicas do Rio de Janeiro, estabelecemos, em laboratório, uma colônia de Lutzomyia intermedia apresentando aqui a metodologia seguida, juntamente com dados relativos ao rendimento e duração de cada fase evolutiva nas quatro primeiras gerações.*

A ocorrência de numerosos casos de leishmaniose tegumentar na cidade do Rio de Janeiro nos levou a implantar, no laboratório, uma colônia de *Lutzomyia intermedia*, espécie à qual se atribui a transmissão local da moléstia.

Aragão (1922) incriminou esse flebótomo como vetor de *Leishmania braziliensis*, estudando um foco de leishmaniose em Águas Férreas, no Rio de Janeiro. Posteriormente, no Paraná, Forattini & Santos (1952) e em S. Paulo, Forattini et al. (1972) confirmaram o papel de *L. intermedia* na transmissão de *L. braziliensis*. Em 1974, por motivo de um surto epidêmico de leishmaniose tegumentar ocorrido no bairro de Jacarepaguá, na cidade do Rio de Janeiro, um inquérito flebotômico realizado revelou uma taxa de 92,7% de *L. intermedia* sobre o total das espécies (FIOCRUZ, 1974). Em 1979, Araujo Filho estudando um surto da doença na Ilha Grande, Estado do Rio de Janeiro, verificou que *L. intermedia* constituiu 59,47% dos flebôtomos identificados, sendo 74,7% capturados no domicílio.

Em 1984, Rangel et al. realizando investigações sobre a transmissão da leishmaniose tegumentar no bairro de Jacarepaguá, Estado do Rio de Janeiro, encontraram um exemplar de *L. intermedia* naturalmente infectado por leishmânia do complexo "braziliensis", achado que veio ratificar a incriminação de *L. intermedia* como vetor local da doença.

Com relação à criação e ao estudo de *L. intermedia* em condições experimentais, alguns trabalhos já foram realizados abordando aspectos do seu comportamento: Bayma (1923, 1936) foi no Brasil, o pioneiro na criação de flebôtomos estudando o ciclo completo de *L. intermedia*, o que também foi realizado por Castro (1937, 1939); Chagas (1940) criou *L. intermedia* até a 3ª geração; Barretto (1940) estudou o ciclo biológico, descreveu a técnica de criação discutindo a influência de fatores ambientais e em 1942 estudou o ciclo evolutivo das principais espécies de flebôtomos no Estado de São Paulo, com referência principal ao comportamento de *L. intermedia* em condições experimentais.

Com a colonização de *L. intermedia* em laboratório, pretendemos ampliar o conhecimento da biologia desta espécie além de obter exemplares em número suficiente para experiências de infecção e transmissão e realizar xenodiagnósticos em pacientes e cães com leishmaniose para verificar seu possível papel como reservatórios.

### MATERIAL E MÉTODOS

Para obtenção de exemplares de *L. intermedia* que possibilitassem estabelecer uma colônia, efetuamos capturas em uma área de leishmaniose tegumentar — município de Mangaratiba, Rio de Janeiro, em julho de 1983. As coletas foram realizadas entre 18 e 24 horas, no peridomicílio em isca humana e em galinheiro, com capturador de Castro. A técnica de criação de flebôtomos foi baseada principalmente na metodologia de Killick-Kendrick, Leaney & Ready (1973) e Ward (1974), com algumas modificações.

O transporte dos flebôtomos para o laboratório é feito em gaiolas de náilon com armações de ferro (Fig. 1), envolvidas por um saco plástico (Fig. 2), contendo um chumaço de algodão umedecido para manter a umidade necessária à sobrevivência dos flebôtomos, que receberam como alimento, durante a noite, uma solução açucarada.

No laboratório, as fêmeas alimentadas são separadas individualmente para desova em tubos de polietileno (Fig. 3), que possuem no fundo uma rodela e sobre esta uma sanfona, ambas de papel de filtro, que funcionam como substrato; na porção superior são fechados por pedaços de tecido de náilon presos por uma tampa de plástico, com um orifício central, no qual colocamos uma bolinha de algodão embebida em

Trabalho realizado com auxílio da FINEP e CNPq.

Instituto Oswaldo Cruz, Departamento de Entomologia, Caixa Postal 926, 20000 Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Parte de Tese de Mestrado (E.F. Rangel).

Recebido para publicação em 19 de setembro e aceito em 18 de dezembro de 1984.

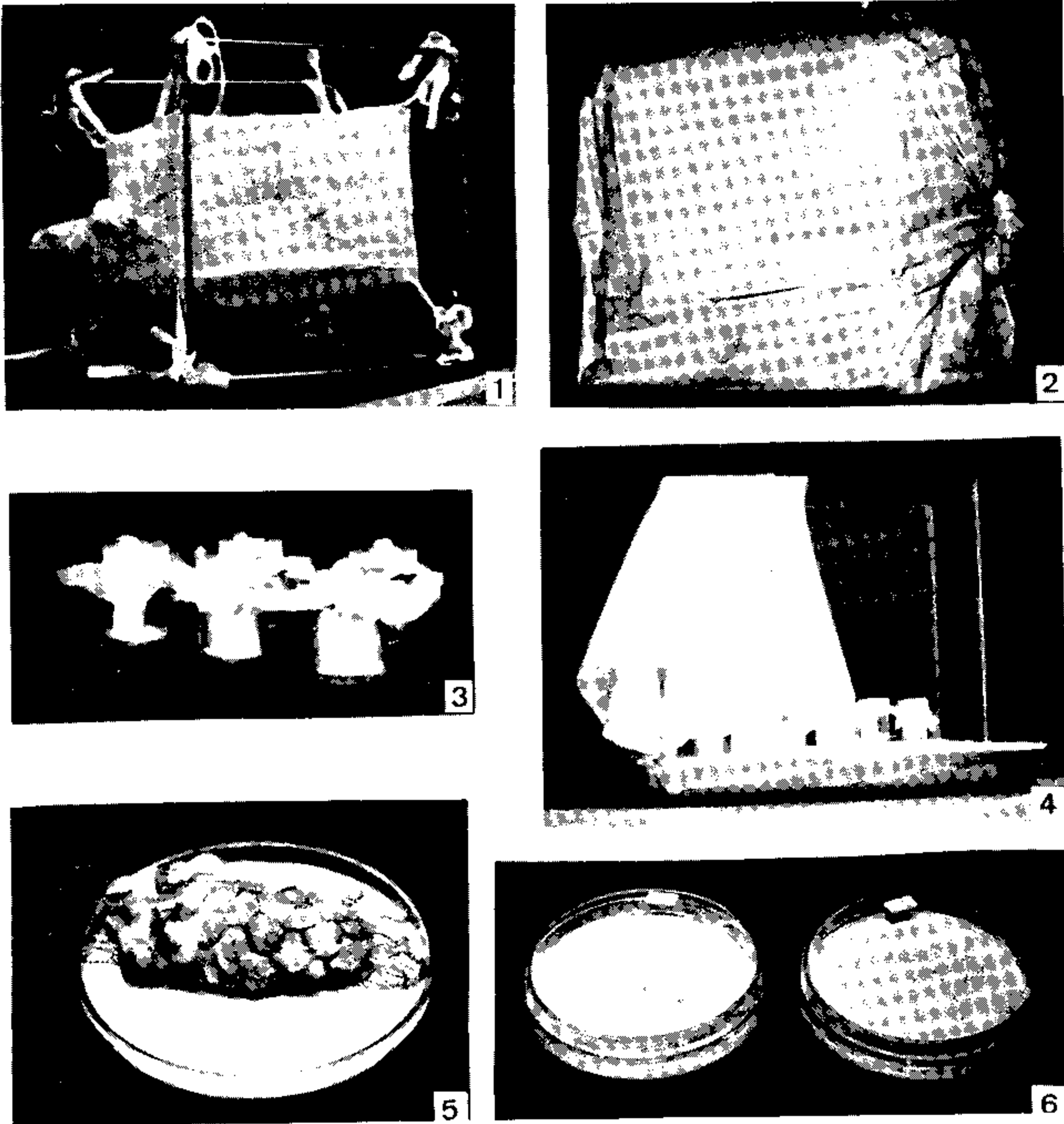


Fig. 1: gaiola para flebótomos. Fig. 2: gaiola envolvida por saco plástico. Fig. 3: tubos para isolar fêmeas alimentadas. Fig. 4: caixa de vidro com tubos para oviposição. Fig. 5: hamster anestesiado e imobilizado. Fig. 6: placas para desenvolvimento das formas imaturas.

solução açucarada (açúcar refinado + água destilada até alcançar a consistência de xarope), preparada semanalmente, para alimentar as fêmeas. Para obtenção de umidade adequada dentro do tubo, fator importante para a desova, injetamos com uma seringa algumas gotas de água destilada sobre a rodela e a sanfona de papel de filtro. Os tubos são, então, transportados para uma caixa de vidro (30 cm de comprimento x 20 cm de largura x 30 cm de altura) (Fig. 4), envolvida por um pedaço de flanela umedecida; este conjunto é colocado em uma bacia de alumínio (62 cm de comprimento x 29 cm de largura x 4 cm de altura) com água, ficando as pontas da flanela permanentemente em contato direto com a água, para manter constante a umidade dentro das caixas com os tubos, que são conservados no escuro.

As fêmeas não alimentadas, trazidas do campo, permanecem nas gaiolas, onde para alimentá-las colocamos um hamster de cerca de 50 g anestesiado com "Thionembutal" diluído em solução salina (0,85% NaCl); para cada frasco de 1 g usamos 50 ml de solução salina e inoculamos 0,25 ml de anestésico; anestesiado o hamster, depilamos o seu ventre e o imobilizamos em um envelope de tela de arame (Fig. 5). As fêmeas alimentadas recebem o tratamento já citado.

Diariamente os tubos com as fêmeas são observados para controle de umidade, proliferação de fungos, troca de solução açucarada e presença de ovos.

Os ovos são isolados individualmente com um pincel e transportados do papel de filtro ou da parede do tubo para uma placa de Petri invertida, cuja tampa forrada de gesso funciona como fundo, e o fundo real serve de tampa (Fig. 6). Após o transporte dos ovos o gesso é umedecido. Transferimos aproximadamente 300 ovos por placa (10 cm de diâmetro x 2 cm de altura). No quinto dia após o isolamento dos ovos, colocamos a ração alimentar para as larvas que deverão eclodir.

Após a eclosão das larvas do 1º estágio, as placas são observadas diariamente para controle de umidade e fungos, além da alimentação das larvas que é feita em todos os estágios à base de ração comercializada para peixes de aquário, composta de uma mistura de farinha de carne, farinha de peixes, farinha de

algas, farinha de rosca, farinha de crustáceo, germen de trigo e farinha de sangue. Com o aparecimento de pupas a ração é oferecida com menor frequência e quando nas placas não mais existem larvas, todos os detritos (restos de ração e fezes) são raspados com uma lâmina de bisturi.

Os flebótomos adultos nascidos são transportados para gaiolas montadas como descrevemos anteriormente e, recebem como alimento nos três primeiros dias a solução açucarada embebida em algodão. No quarto dia oferecemos às fêmeas um hamster para o seu repasto sangüíneo; em algumas ocasiões utilizamos uma ave (pinto de dois dias) ou nos oferecemos como fonte de alimento.

A rotina de trabalho exige uma observação diária das gaiolas com flebótomos, dos tubos com fêmeas e das placas com ovos, larvas e pupas.

Todo o material utilizado na manutenção da colônia é autoclavado: placas de Petri com gesso, tubos de Borrel, papel de filtro, algodão, pinças, pincéis, tesouras, lâminas de bisturi, gaiolas, flanelas, seringas, agulhas, água destilada e ração para as larvas.

Dentro do insetário a temperatura é mantida permanentemente a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , a custa de dois aparelhos de ar refrigerado, que funcionam alternadamente, um durante o dia e outro durante a noite.

Nos tubos com as fêmeas e nas placas com ovos, larvas e pupas, a umidade é mantida próxima do ponto de saturação; nas gaiolas e nas caixas de vidro com tubos para a desova, a cerca de 86% e 79% respectivamente.

Todas as fases da colônia são conservadas no escuro, exceto por ocasião da manipulação.

## RESULTADOS

A colônia foi estabelecida a partir de 195 fêmeas capturadas na natureza, 61 em isca humana e 134 num galinheiro.

Atualmente esta colônia está na 7ª geração, mas aqui apresentaremos os nossos resultados correspondentes às quatro primeiras gerações.

**Período entre o repasto sangüíneo e a primeira postura:** a observação diária revelou (Tabela I) que, de 411 fêmeas que desovaram, 36,3% e 21,2% o fizeram no quinto ou sexto dias após terem se alimentado com sangue, tendo sido verificado que o período mínimo para a desova foi de três dias e o máximo de nove dias. Em todas as gerações o pico foi no quinto dia.

**Proporção de fêmeas com postura:** no total das quatro gerações, 58,9% das fêmeas alimentadas desovaram. Nas 1ª e 4ª gerações as percentagens — 75,4% e 59,6%, respectivamente — foram maiores que nas 2ª e 3ª — 46,9% e 49,5% (Tabela II).

**Número de ovos por fêmea:** a média de ovos postos por fêmea nas quatro gerações, foi de 32,2 na 2ª a 40,2 na 1ª (Tabela II). O número máximo de ovos foi 106 e o mínimo 4. Reunindo as fêmeas conforme o número de ovos postos, verificamos em cada geração que a maioria pôs entre 31 e 40 ovos por desova (Tabela III).

**Proporção de ovos viáveis:** comparando o número de larvas de 1º estágio eclodidas com o total de ovos postos, obtivemos, respectivamente, 64,1%, 73,8%, 65,2% e 45,4% de ovos viáveis em cada uma das quatro gerações (Tabela II).

**Proporção de pupas formadas:** na 1ª geração 61,4% das larvas puparam, tendo essa média caído na 2ª geração — 35,2% — e alcançando o índice mais alto da colônia na 3ª geração com 82%. Na 4ª geração a proporção foi de 52%. Em relação ao número de ovos postos, formaram-se 33,8% de pupas, sendo 39,4%, 26,0%, 53,5% e 23,6% em cada geração, respectivamente (Tabela II).

**Proporção de adultos formados:** a proporção de adultos nascidos, no total e por geração, a partir do número de pupas, número de larvas de 1º estágio e número de ovos, é apresentada na Tabela II.

Em relação ao número de pupas a proporção de adultos nascidos foi 84,3% variando entre 74,6% e 97,5% nas quatro gerações, sendo a última obtida na 2ª geração. Em relação ao número de larvas eclodidas formaram-se 46,6% de adultos, oscilando de 34,4% na 2ª geração a 61,2% na 3ª. E em comparação com o número de ovos postos nasceram 28,5% de adultos, com os limites de 25,4% na 2ª geração e 39,9% na 3ª.

**Proporção de machos e fêmeas:** o número de machos nascidos em cada geração foi superior ao das fêmeas, exceto na 4ª, com 47,4% de machos; nas três primeiras gerações as proporções foram 54,9%, 60,7% e 57,4% (Tabela IV).

**Duração de cada fase:** acompanhamos o ciclo evolutivo a partir dos ovos até a eclosão dos flebótomos adultos e verificamos que a evolução total variou entre 26 e 56 dias. Para cada geração os valores mínimos e máximos figuram na Tabela V.

O período de incubação dos ovos variou entre 6 e 14 dias, tendo sido o tempo médio da 3ª geração o mais prolongado: 13 dias (Tabela VI).

A duração da fase larval, foi no mínimo de 13 e no máximo de 32 dias; a duração média, nas quatro gerações, foi de 21,5 dias, variando de 18 na 4ª a 24 na 1ª (Tabela V).

TABELA I

Criação de *Lutzomyia intermedia* em laboratório: período entre o primeiro repasto sanguíneo e a primeira desova

Dias após o repasto	Fêmeas que desovaram, por geração									
	1ª		2ª		3ª		4ª		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
3	13	8,8	4	4,1	—	—	5	4,1	22	5,4
4	23	15,6	23	23,7	6	13,0	17	14,0	69	16,8
5	56	38,1	35	36,1	18	39,1	40	33,1	149	36,3
6	26	17,7	19	19,6	14	30,4	28	23,1	87	21,2
7	19	12,9	9	9,3	8	17,4	15	12,4	51	12,4
8	7	4,8	5	5,2	—	—	12	9,9	24	5,8
9	3	2,0	2	2,1	—	—	4	3,3	9	2,2
Total	147	100,0	97	100,0	46	100,0	121	100,0	411	100,0

TABELA II

Criação de *Lutzomyia intermedia* em laboratório: rendimento de cada fase evolutiva em cada geração e no total das quatro primeiras gerações

Tipo de dado	Gerações				
	1ª	2ª	3ª	4ª	Total
Número de fêmeas alimentadas	195	207	93	203	698
Número de fêmeas que desovaram	147	97	46	121	411
% de fêmeas que desovaram	75,4	46,9	49,5	59,6	58,9
Total de ovos postos	5.911	3.119	1.634	3.994	14.658
Média de ovos por fêmea	40,2	32,2	35,5	33,0	35,7
Número de larvas eclodidas	3.789	2.301	1.066	1.815	8.971
% sobre o número de ovos	64,1	73,8	65,2	45,5	61,2
Número de pupas formadas	2.327	811	874	943	4.955
% sobre o número de larvas	61,4	35,2	82	52	55,2
% sobre o número de ovos	39,4	26,0	53,5	23,6	33,8
Número de adultos nascidos	2.031	791	652	705	4.179
% sobre o número de pupas	87,3	97,5	74,6	74,8	84,3
% sobre o número de larvas	53,6	34,4	61,2	38,8	46,6
% sobre o número de ovos	34,4	25,4	39,9	17,7	28,5

TABELA III

Criação de *Lutzomyia intermedia* em laboratório: número de ovos postos por fêmea

Número de ovos por desova	Fêmeas que desovaram							
	1ª geração		2ª geração		3ª geração		4ª geração	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
1 – 10	8	5,4	2	2,1	5	10,9	5	4,1
11 – 20	12	8,2	10	10,3	4	8,7	9	7,4
21 – 30	24	16,3	22	22,7	7	15,2	23	19,0
31 – 40	63	42,9	34	35,1	21	45,7	58	47,9
41 – 50	30	20,4	15	15,5	6	13,0	26	21,5
51 – 60	6	4,1	12	12,4	—	—	—	—
61 – 70	4	2,7	1	1,0	—	—	—	—
71 – 80	—	—	1	1,0	1	2,2	—	—
81 – 90	—	—	—	—	1	2,2	—	—
91 – 100	—	—	—	—	—	—	—	—
101 – 110	—	—	—	—	1	2,2	—	—
Total	147	100,0	97	100,0	46	100,0	121	100,0

TABELA IV

Criação de *Lutzomyia intermedia* em laboratório: proporção e duração da evolução de machos e fêmeas

Tipo de dado		1ª geração	2ª geração	3ª geração	4ª geração
<b>Machos:</b>					
Número		1.115	480	374	334
% na soma dos dois sexos		54,9	60,7	57,4	47,4
% sobre os ovos postos		18,9	15,4	22,9	8,4
Duração ovo/macho, dias:	máxima	48	49	43	40
	mínima	29	30	27	26
	média	32	34	39	31
<b>Fêmeas:</b>					
Número		916	311	278	371
% sobre os ovos postos		15,5	10	17,0	9,3
Duração ovo/fêmea, dias:	máxima	49	49	48	44
	mínima	30	29	30	28
	média	37	38	43	33

TABELA V

Criação de *Lutzomyia intermedia* em laboratório: duração (em dias) de cada fase evolutiva em cada geração e no total das quatro primeiras gerações

Tipo de dado		Gerações				Nas quatro gerações
		1ª	2ª	3ª	4ª	
Incubação dos ovos:	máxima	9	9	14	10	14
	mínima	6	6	7	7	6
	média	7	8	13	8	9
Duração da fase larval:	máxima	32	30	31	25	32
	mínima	17	16	15	13	13
	média	24	22	22	18	21,5
Duração da fase pupal:	máxima	8	10	11	9	11
	mínima	6	7	6	6	6
	média	6	8	8	7	7,2
Duração do ciclo completo:	máxima	49	49	56	44	56
	mínima	29	29	28	26	26
	média	37	38	43	33	37,8

TABELA VI

Criação de *Lutzomyia intermedia* em laboratório: período de incubação dos ovos por geração

Tempo de incubação em dias	Número e percentual de ovos									
	1ª		2ª		3ª		4ª		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
6	509	13,4	307	13,3	—	—	—	—	816	9,1
7	1.523	40,1	391	17	74	6,9	107	5,9	2.095	23,4
8	876	23,1	992	43,1	97	9,0	1.010	55,6	2.975	33,2
9	881	23,2	611	26,6	107	10,0	582	32,1	2.181	24,3
10	—	—	—	—	93	8,7	116	6,4	209	2,3
11	—	—	—	—	149	14	—	—	149	1,7
12	—	—	—	—	102	9,6	—	—	102	1,1
13	—	—	—	—	415	38,9	—	—	415	4,6
14	—	—	—	—	29	2,7	—	—	29	0,3
Total	3.789	100,0	2.301	100,0	1.066	100,0	1.815	100,0	8.971	100,0

TABELA VII

Criação de *Lutzomyia intermedia* em laboratório: duração da fase pupal, por geração, em dias

Tempo de Duração da fase pupal	Número e percentual de pupas									
	1ª		2ª		3ª		4ª		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
6	638	31,4	—	—	99	15,2	102	14,5	839	20,1
7	1.213	59,7	178	22,5	137	21,0	294	41,7	1.822	43,6
8	180	8,9	319	40,3	206	31,6	178	25,2	883	21,1
9	—	—	192	24,3	96	14,7	131	18,6	419	10,0
10	—	—	102	12,9	73	11,2	—	—	175	4,2
11	—	—	—	—	41	6,3	—	—	41	1
Total	2.031	100,0	791	100,0	652	100,0	705	100,0	4.179	100,0

A fase de pupa durou, em média, 7,2 dias, variando entre seis e onze dias (Tabela VII).

O ciclo ovo/adulto para os machos teve uma duração, em média, um pouco menor — dois a cinco dias — que para as fêmeas (Tabela IV).

## DISCUSSÃO

Estabelecemos a colônia de *L. intermedia* seguindo uma combinação das metodologias propostas por Ward (1974) e Killick-Kendrick, Leaney & Ready (1973) com algumas alterações.

Tal como Barretto (1942), não obtivemos sucesso com o uso de placa de Petri forrada com papel de filtro úmido, pois além de propiciar a proliferação de fungos, as larvas de 3ª e 4ª estádios se alimentavam do papel. Tentamos, então, usar o gesso, que já havia sido empregado por Killick-Kendrick, Leaney & Ready (1977). Isso permitiu o desenvolvimento completo de ovo a adulto sem exigir o transporte das larvas para uma nova placa, pois o crescimento de fungos reduziu-se consideravelmente.

Inicialmente, para a alimentação das larvas utilizamos *Daphnia* seca (Ready & Croset, 1977), com excelentes resultados. Porém sendo a *Daphnia* um produto importado e sem similar de fabricação nacional, tivemos que lançar mão de outro alimento. Testamos a ração comercializada para peixes de aquário, cuja composição já mencionamos, de fácil aquisição local e baixo custo; foi bem aceita pelas larvas e o crescimento de fungos nas placas foi tão pequeno quanto o que ocorria quando usamos *Daphnia*.

O primeiro pesquisador a acompanhar o ciclo evolutivo de *L. intermedia* em laboratório foi Bayma, (1936), que trabalhando na temperatura de 23 a 26°C obteve a evolução completa, em média, em 45 dias, sendo: incubação, 15 dias; período larval, 27 dias e período pupal, 8 dias.

Posteriormente, Castro (1937), operando em temperatura ambiente no Rio de Janeiro, observou a duração do ciclo desta espécie em 52 dias e em 1939, nas mesmas condições ambientais, em 36 dias.

Em 1940, Barretto fez um estudo mais detalhado sobre a biologia de *L. intermedia* em laboratório. Verificou que trabalhando com temperatura de estufa entre 26 e 27°C obteve um rendimento de 73,52% de adultos a partir dos ovos e o ciclo completo em 36 dias. Com níveis de temperatura mais baixos — 19,1 a 22,8°C — o desenvolvimento de ovo a adulto completou-se em 52 dias. Em 1942 o mesmo autor relata um estudo sobre a biologia de flebotomos em condições experimentais, com destaque para observações feitas sobre o comportamento de *L. intermedia* e *L. whitmani*. Trabalhando com temperatura variando entre 20,1 e 26,7°C, verificou que a ideal para o desenvolvimento dos flebotomos está em torno de 20°C. Além disto constatou que esses insetos requerem um nível elevado de umidade para viver e que a semi-obscuridade ou a ausência total de luz são condições favoráveis para o seu desenvolvimento em cativeiro, embora a última não seja indispensável.

Observou a duração das fases evolutivas de *L. intermedia* variando entre os seguintes períodos: incubação mínimo, 7 a 14 dias; larval mínimo, 15 a 33 dias; pupal mínimo, 6 a 14 dias e total, 21 a 61 dias.

Trabalhando com nível de temperatura de 25 ± 1°C, semelhante ao de Barretto (1940) e com teor de umidade elevado, na total ou semi-obscuridade como operou Barretto (1942), obtivemos o desenvolvimento do ciclo completo e das diferentes fases evolutivas, aproximadamente semelhante ao referido por esse autor, isto é, em médias: incubação dos ovos, 9 dias; período larval, 21,5 dias; período pupal, 7,2 dias e ciclo completo, 37,8 dias.

O estabelecimento de colônia de *L. intermedia* foi tentado, também, por W. Chagas (1940) que, em ambiente de ar condicionado, com temperatura de 22 a 24°C e umidade superior a 80%, conseguiu criar esse flebotomíneo, com dificuldade, até a 3ª geração, pois os ovos postos pelas fêmeas desta geração e a maioria dos ovos da 2ª geração não eclodiu. Em média obteve o ciclo de ovo a adulto em 43 dias; o período de incubação entre 7 e 9 dias; o larval entre 27 e 28 dias e o pupal, entre 7 e 9 dias. Em vista do número reduzido de flebotomos criados no laboratório, a autora sugeriu que a temperatura (22-24°C) ainda permanecia alta.

Em nosso laboratório estamos colonizando *L. intermedia* por sete gerações e a caminho da 8ª, já com larvas de 19º estágio.

A partir de 411 fêmeas que desovaram, no desenvolvimento das quatro primeiras gerações, a criação resultou em 4.179 flebotomos, correspondendo à média de 10,2 flebotomos para cada fêmea. Nas 2ª e 3ª gerações este rendimento apresentou níveis mais elevados — 8,6 e 14,1 flebotomos para cada fêmea, respectivamente.

No total das quatro gerações obtivemos 28,5% de flebotomos adultos a partir de 14.658 ovos postos, tendo a 3ª geração o melhor rendimento, com 39,9% de adultos nascidos.

A média mais alta em relação ao número de ovos postos por cada fêmea ocorreu na 1ª geração, embora nas seguintes mesmo sendo um pouco menor, a média manteve-se estável: 32,2, 35,5 e 33,0.

Do total de ovos postos, obtivemos 8.971 larvas significando 61,2% de ovos viáveis, com uma queda para 45,4% na 4ª geração.

O transporte dos ovos dos tubos de postura para as placas com gesso torna-se às vezes traumatizante, possivelmente contribuindo para baixar o índice de viabilidade.

A proporção de larvas que puparam foi de mais de 50% no total das gerações, porém variou de 35,2% na 2ª a 82% na 3ª, mostrando que não houve um decréscimo com o decorrer das gerações.

Dois fatores contribuem para as perdas da colônia: a proliferação de fungos durante o período larval, que é mais acentuada nos dois primeiros estádios evolutivos, e o canibalismo que pudemos observar nos quatro estádios larvais.

Analisando o rendimento da colônia em cada geração, separadamente, verificamos que as perdas foram maiores nas fases de larva e de ovo. O rendimento no período pupal foi bem mais elevado alcançando 97,5% na 2ª geração.

Com relação à época em que a maior parte das fêmeas ovipõem, nossas observações assemelham-se às de Barretto (1940): enquanto este cita a oviposição com mais frequência entre os quarto e quinto dias, em nosso estudo 57,5% das fêmeas realizam postura entre os quinto e sexto dias.

Enquanto Barretto (1940, 1942) apresenta 2 a 69 como limites para o número de ovos postos por fêmea, em nossa colônia esses valores oscilaram entre 4 e 106, com a média de 35,7.

## SUMMARY

A laboratory colony of the sandfly *Lutzomyia intermedia* was established (at present in its seventh generation) in order to provide specimens for experimental infection and for experimental xenodiagnosis of natural infections due to cutaneous leishmanias in Rio de Janeiro. Data are presented on the methodology and on the yield and duration of each stage of development, during the first four generations.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. Leonidas M. Deane (Departamento de Entomologia, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro) pela orientação e incentivo constantes e também pela leitura crítica e revisão do manuscrito; e ao Dr. Ralph Lainson (Wellcome Parasitology Unit, Instituto Evandro Chagas, Pará) pela orientação durante nosso estágio de treinamento em criação de flebotomíneos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAGÃO, H.B., 1922. Transmissão de leishmaniose no Brasil pelo *Phlebotomus intermedius*. *Brasil. Med.*, 36 :129-130.
- ARAÚJO-FILHO, N.A., 1979. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar na Ilha Grande. Tese de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 144 pp.
- BARRETTO, M.P., 1940. Observações sobre a biologia do *Phlebotomus intermedius* Lutz & Neiva, 1912 (Diptera, Psychodidae) em condições experimentais. *An. Fac. Med. Univ. S. Paulo*, 16 :143-157.
- BARRETTO, M.P., 1942. Contribuição para o estudo da biologia dos flebotomos em condições experimentais (Diptera, Psychodidae). Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina da Universidade de S. Paulo, 162 pp.
- BAYMA, T., 1923. Biologia de *Phlebotomus papatasi*. *Ann. Paulist. Med. Cir.*, 14 :67-69.
- BAYMA, T., 1936. Biologia de *Phlebotomus intermedius*. *Ann. Paulist. Med. Cir.*, 32 :213-216.
- CASTRO, G.O., 1937. Sobre um processo de cultura de flebotomos. Nota prévia. Soc. Biol. Rio de Janeiro. Sessão de 8 de outubro de 1937.
- CASTRO, G.O., 1939. Hábitos de alguns flebotomos brasileiros. Com. à Acad. Bras. Ciên., Sessão de 31 de março de 1939.
- CHAGAS, A.W., 1940. Criação de flebotomos e transmissão experimental de leishmaniose visceral americana. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 35 :327-333.
- FORATTINI, O.P.; PATOLLI, D.B.G.; RABELLO, E.X. & FERREIRA, O.A., 1972. Infecção natural de flebotomíneos em foco enzoótico de leishmaniose tegumentar no Estado de S. Paulo, Brasil. *Rev. Saúd. Públ. S. Paulo*, 6 :431-433.
- FORATTINI, O.P. & SANTOS, M.R. dos, 1952. Nota sobre infecção natural de *Phlebotomus intermedius* Lutz & Neiva, 1912 por formas em leptomonas em um foco de leishmaniose tegumentar americana. *Arq. Hig. S. Paulo*, 17 :171-174.

- FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (FIOCRUZ), 1974. Relatório do grupo de trabalho coordenador das atividades de estudo e controle da leishmaniose tegumentar americana na área de atuação do posto Samuel Libânio (Jacarepaguá, Rio de Janeiro), 25 pp.
- KILLICK-KENDRICK, R.; LEANEY, A.J. & READY, P.D., 1973. A laboratory culture of *Lutzomyia longipalpis*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 63 :434.
- KILLICK-KENDRICK, R.; LEANEY, A.J. & READY, P.D., 1977. The establishment maintenance and productivity of a laboratory colony of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae). *J. Med. Ent.*, 13 (4-5) :429-440.
- RANGEL, E.F.; SOUZA, N.A. de; WERMELINGER, E.D. & BARBOSA, A.F., 1984. Infecção natural de *Lutzomyia intermedia* Lutz & Neiva, 1912 em área endêmica de leishmaniose tegumentar no Estado do Rio de Janeiro. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 79 (3) :395-396.
- READY, P.D. & CROSET, H., 1977. Rearing methods for two sandfly species (Diptera, Phlebotomidae) from the "Midi" France. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 71 :384.
- WARD, R.D., 1974. Studies on the adult and immature stages of some phlebotomid sandflies (Diptera, Psychodidae) in Northern Brazil. Ph.D. thesis, University of London, 327 pp.