

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE CAVERNAS



**Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Instituto Chico Mendes de
Conservação da Biodiversidade- PIBIC/ICMBio**

Relatório Final
Ciclo 2023-2024

**FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE)
EM ECOSSISTEMAS ESPELEOLÓGICOS DE UNIDADES DE
CONSERVAÇÃO E POSSÍVEIS IMPLICAÇÕES NA
ECOEPIDEMIOLOGIA DAS LEISHMANIOSES**

Estudante: Helena Ferreira Machion

Orientador(a): Júlio César Rocha Costa

**Coorientadores: Dra. Patrícia Flávia Quaresma¹
& Dr. Andrey José de Andrade²**

Instituições dos Coorientadores: UFSC¹; UFPR²

Florianópolis/SC

Agosto/2024

RESUMO

As leishmanioses são causadas por protozoários do gênero *Leishmania* e transmitidas por fêmeas de flebotomíneos durante a hematofagia. No Brasil, há registro de 144 espécies de flebotomíneos circulantes em cavernas. Considerando que muitas são abertas à visitação, existe o risco de infecção para o ser humano. Assim, buscou-se conhecer, por revisão bibliográfica, a fauna flebotomínica e os registros de detecção de *Leishmania* spp. nos municípios que integram quatro UCs federais. Também foi realizado o inventário de flebotomíneos de uma UC Estadual, em Rio Branco do Sul, Paraná, entre janeiro e agosto de 2024. Dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) referentes às leishmanioses nos municípios que integram cada UC, registrados de 2019 a 2022, foram consultados. Análises moleculares para detecção de DNA de *Leishmania* spp. em flebotomíneos coletados foram realizadas. Propusemos, de forma inédita, 13 indicadores para a representação espacial dos dados na forma de mapas de risco para as UCs, prevendo subsidiar a gestão destas, sendo que sete deles foram utilizados no estudo. Até o momento, a fauna da UC Estadual está composta por 11 espécies, sendo *Pintomyia fischeri* e *Migonemyia migonei* vetores primários de espécies que causam leishmaniose tegumentar. Ocorreu o primeiro registro de DNA de *Leishmania* spp. em *Psathyromyia lanei* coletada no Paraná. O DNA de *Leishmania* spp. foi registrado em *Sciopemyia sordellii* capturados na Floresta Nacional de Carajás e no Parque Nacional dos Campos Ferruginosos. Assim, podemos afirmar que todas as áreas estudadas oferecem risco para aquisição de leishmanioses, principalmente na sua forma tegumentar.

Palavras-chave: Leishmaniose Tegumentar, Leishmaniose Visceral, Cavernas, Unidades de Conservação.

ABSTRACT

Leishmaniasis is caused by protozoa of the genus *Leishmania* and transmitted by female sandflies during hematophagy. In Brazil, there are records of 144 species of sandflies circulating in caves. Considering that many are open to visitors, there is a risk of infection for humans. Thus, we sought to understand, through bibliographical review, the sandfly fauna and the detection records of *Leishmania* spp. in municipalities that make up four federal UCs. An inventory of sandflies was also carried out in a State UC, in Rio Branco do Sul, Paraná, between January and August 2024. Data from the Notifiable Diseases Information System (SINAN) regarding leishmaniasis in the municipalities that make up each UC, recorded from 2019 to 2022, were consulted. Molecular analysis for detection of *Leishmania* spp. DNA in collected sandflies were carried out. We proposed, in an unprecedented way, 13 indicators for the spatial representation of data in the form of risk maps for UCs, intending to support their management, seven of which were used in the study. To date, the fauna of the State UC is made up of 11 species, with *Pintomyia fischeri* and *Migonemyia migonei* being the primary vectors of species that cause cutaneous leishmaniasis. The first DNA to be recorded of *Leishmania* spp. in *Psathyromyia lanei* collected in Paraná. The DNA of *Leishmania* spp. was recorded in *Sciopemyia sordellii* captured in the Carajás National Forest and Campos Ferruginosos National Park. Thus, we can state that all areas studied offer a risk for acquiring leishmaniasis, especially in its integumentary form.

Keywords: Tegumentary Leishmaniasis, Visceral Leishmaniasis, Caves, Conservation Units.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação do dimorfismo sexual em flebotomíneos: a. Aspecto geral do macho e da fêmea; b. Estrutura reprodutiva da fêmea; c. Estrutura reprodutiva do macho	7
Figura 2. Ciclo de vida do protozoário <i>Leishmania</i> spp.	8
Figura 3. Mapa do Brasil com a localização geográfica das Unidades de Conservação amostradas e seus respectivos limites em detalhes.	14
Figura 4. Armadilha de CDC (A); Armadilha de Shannon (B); Instalação da armadilha CDC (C); Captura noturna em armadilha de Shannon (D); Entrada da Gruta da Lancinha (ressurgência) (E); Fêmeas de <i>Pintomyia fischeri</i> com sangue (esquerda) e sem sangue (direita) capturadas durante o trabalho de campo.	15
Figura 5. Esquema ilustrativo do processo de triagem e identificação dos flebotomíneos. Triagem (1), clarificação (2), montagem (3) e identificação dos flebotomíneos (4).....	16
Figura 6: Etapas de laboratório para triagem (A) e clarificação (B) dos flebotomíneos.	17
Figura 7: Representação espacial dos dados ponderados obtidos para sete indicadores de risco propostos, referentes a infecção humana por <i>Leishmania</i> spp. em cada UC amostrada.....	25
Figura 8: Total de flebotomíneos capturados mensalmente (janeiro a agosto/2024) no Monumento Natural Gruta da Lancinha, município de Rio Branco do Sul, PR, em relação às médias mensais de temperatura, umidade relativa e precipitação.	28
Figura 9: Verificação da presença de <i>Leishmania</i> spp. em amostras coletadas no MONAT Gruta da Lancinha	29
Figura 10: Verificação da presença de <i>Leishmania</i> spp. em amostras coletadas na FLONA de Carajás e PARNA dos Campos Ferruginosos.....	30

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Fauna flebotomínica e espécies potenciais vetoras de <i>Leishmania</i> spp. registradas nos municípios integrantes das UCs amostradas.....	20
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número de visitantes nas Unidades de Conservação e de casos confirmados de leishmanioses humanas no conjunto dos municípios integrantes das UCs, no período de 2019 a 2022.....	21
Tabela 2. Estratificação de risco epidemiológico da Leishmaniose Visceral por município de infecção integrante de cada Unidade de Conservação, a partir de notificações trienais (períodos de 2019 a 2021 e de 2020 a 2022).....	22
Tabela 3. Estratificação de risco epidemiológico da Leishmaniose Tegumentar por município de infecção integrante de cada Unidade de Conservação, a partir de notificações trienais (períodos de 2019 a 2021 e de 2020 a 2022).....	23
Tabela 4. Indicadores e seus respectivos pesos utilizados para avaliação comparativa do potencial de risco à infecção por <i>Leishmania</i> spp. nas Unidades de Conservação abertas ou propostas a visitação pública, selecionadas para o presente estudo.	24
Tabela 5. Número de espécies coletadas no MONAT Gruta da Lancinha e seu percentual de captura.	27

1. INTRODUÇÃO GERAL	7
1.1 Flebotomíneos	7
1.2 <i>Leishmania</i>	8
1.3 Leishmanioses	8
1.4 Relação das leishmanioses com cavernas	9
1.5 Justificativa	10
2. OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo Geral	10
2.2 Objetivos específicos	11
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1. Levantamento bibliográfico, notificações e elaboração dos mapas de potencialidade de risco para as leishmanioses	11
3.2. Levantamento de fauna	13
3.2.1. Aspectos éticos da pesquisa	13
3.2.2. Área de coleta	13
3.2.3 Coleta e acondicionamento dos flebotomíneos	14
3.2.4 Identificação dos flebotomíneos	16
3.2.5 Identificação molecular para <i>Leishmania</i> spp.	17
3.2.6 Análises das variáveis climáticas	18
4. RESULTADOS	18
4.1 Dados obtidos por levantamento bibliográfico	18
4.2 Espécimes coletados no MONAT da Gruta da Lancinha	26
4.3 Dados moleculares obtidos	29
5. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES	30
6. RECOMENDAÇÕES DE MANEJO	33
7. AGRADECIMENTOS	34
8. REFERÊNCIAS	35

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Flebotomíneos

Flebotomíneos (Psychodidae: Phlebotominae) são insetos da ordem Diptera, de pequeno porte (3 a 5 mm) e corpo coberto por cerdas. Como todo díptero, são insetos holometábolos passando pelos estágios de ovo, 4 estádios larvais, pupa e adultos, machos e fêmeas (Monteiro, 2012). Apresentam evidente dimorfismo sexual, onde a genitália do macho é externa e da fêmea é interna (**Figura 1**), as quais são os principais caracteres para identificação das espécies (Galati, 2018). São insetos que apresentam hábito crepuscular e noturno, no qual ambos os sexos se alimentam de fontes de açúcar para manter a homeostase (Azevedo *et al.*, 2011), porém as fêmeas realizam também a hematofagia para maturação de seus ovos. É durante a alimentação sanguínea que poderá haver a ingestão ou a transmissão de diferentes patógenos, como bactérias, vírus e, principalmente, protozoários (Chunhong; Peng; Yu; Wang; Cheng, 2020). Dentre esses patógenos, os flebotomíneos são os comprovados transmissores de espécies de *Leishmania* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae), que são os protozoários causadores das leishmanioses (Rangel; Lainson 2003).

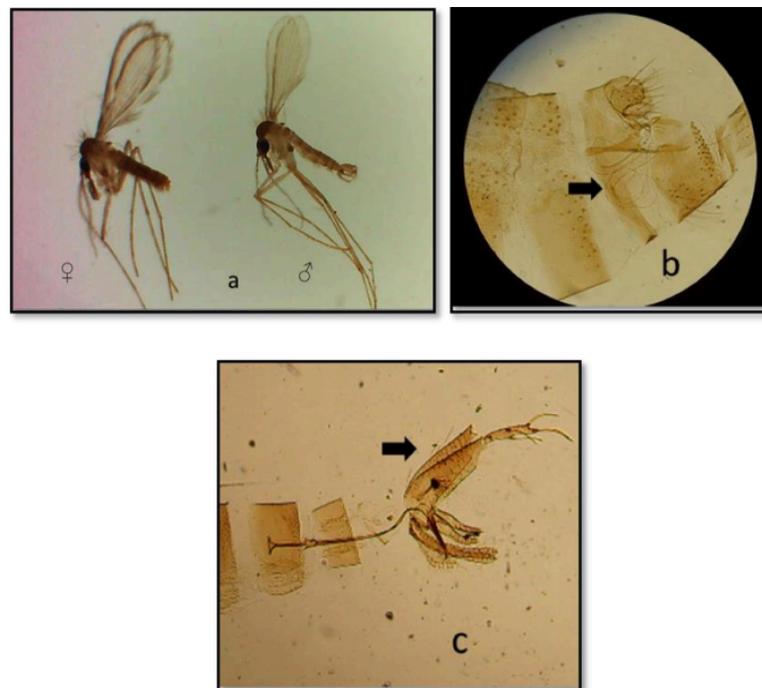


Figura 1: Representação do dimorfismo sexual em flebotomíneos: **a.** Aspecto geral do macho e da fêmea. **b.** Estrutura reprodutiva da fêmea. **c.** Estrutura reprodutiva do macho (Fonte: Mendonça, 2022).

1.2 *Leishmania*

As leishmanias são parasitos heteroxênicos, ou seja, precisam de dois hospedeiros, um vertebrado e um invertebrado, para concluir seu ciclo de vida, sendo que das 30 espécies que infectam mamíferos, 21 delas acometem o ser humano (Blanco, 2017). A disseminação da doença se dá ao momento em que a fêmea se alimenta de um hospedeiro infectado, ingerindo suas formas amastigotas dentro de células de defesa, principalmente macrófagos. Ao chegar ao intestino do invertebrado, transforma-se em promastigota procíclico se multiplicando intensamente (**Figura 2**). Posteriormente, há sua transferência para o aparato faríngeo do flebotomíneo, à medida que, no próximo repasto sanguíneo, as formas infectivas do parasito (promastigotas metacíclicas) serão liberadas e fagocitadas pelos macrófagos do hospedeiro, reiniciando o ciclo. As formas amastigotas são intracelulares obrigatórias, podendo modular a resposta imune do hospedeiro pela diminuição de inflamação e diminuindo a resposta imune adaptativa (Gregory; Olivier, 2005).

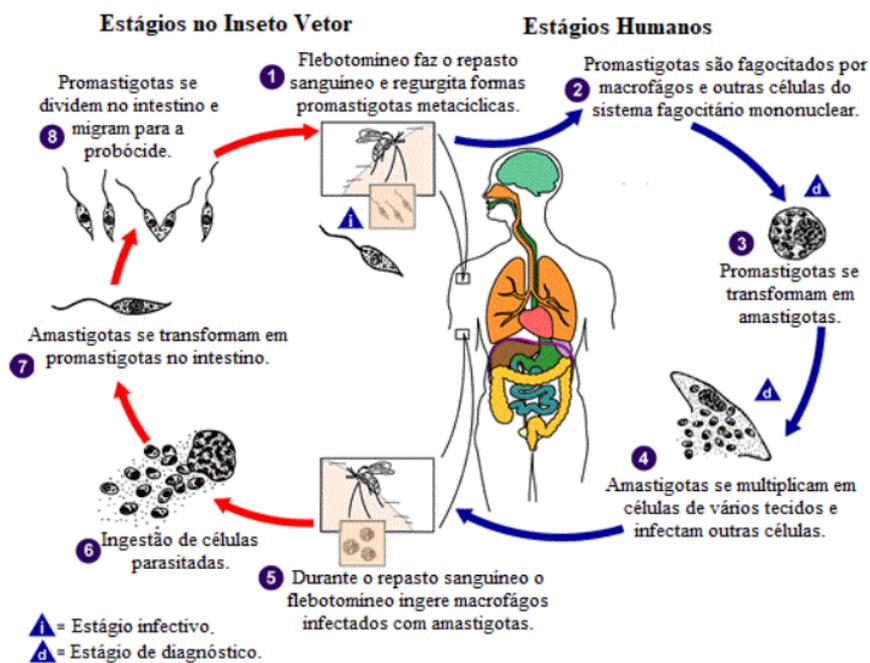


Figura 2: Ciclo de vida do protozoário *Leishmania* spp. (Fonte: Bastiani, 2022).

1.3 Leishmanioses

As leishmanioses são um complexo clínico de doenças que se manifestam de duas formas distintas: leishmaniose tegumentar (LT), que pode ser apresentar em diferentes formas clínicas - leishmaniose cutânea (LC), leishmaniose mucocutânea (LMC) e leishmaniose

difusa (LD); e leishmaniose visceral (LV), considerada a forma mais grave. No Brasil, as formas de LC, que ainda se subdivide em leishmaniose cutânea disseminada e cutânea difusa, estão relacionadas, principalmente, com as espécies *Leishmania braziliensis* e *Leishmania amazonensis*, respectivamente, caracterizando-se como a forma mais branda da doença e apresentando sintomas como feridas na epiderme, podendo resultar em úlceras geralmente indolores. Ademais, a LMC está relacionada com a *L. braziliensis*, onde o hospedeiro infectado pode sofrer com alterações na mucosa da boca, garganta e nariz. E, por fim, a forma mais grave da doença, a LV é causada pela *Leishmania infantum*, onde o indivíduo apresenta febre, cansaço, esplenomegalia (aumento do baço), hepatomegalia (aumento do fígado), podendo levar ao óbito se não tratada (WHO, 2024). As leishmanioses integram a lista de doenças tropicais negligenciadas pela OMS (Organização Mundial da Saúde), levando, anualmente, a 30 mil novos casos de LV e mais de um milhão de casos de LT (WHO, 2024).

1.4 Relação das leishmanioses com cavernas

No Brasil, são registradas mais de 24.500 cavernas segundo Cadastro Nacional de Informações Espeleológicas (CANIE), muitas delas situadas em Unidades de Conservação (UC). O registros de flebotomíneos nessas UCs ou mesmo no interior de cavernas vem sendo alvo de diversos estudos (Andrade *et. al* 2022; Barata *et. al*, 2008; Galati *et. al* 2003; Galati *et. al* 2006; Galati *et. al* 2010; Nunes *et. al* 2010; Rêgo *et al.* 2015; Souza *et. al* 2010; Teodoro *et al.* 2019), onde das 290 espécies de flebotomíneos viventes (Shimabukuro *et al.*, 2015), 144 já foram registradas em ambientes cavernícolas no país (Andrade *et al.*, 2022). Cabe destacar ainda que, das 144, 40 espécies são consideradas potencialmente vetoras de leishmanioses (Rangel; Lainson, 2003). A presença desses insetos nestes ambientes está atrelada aos vertebrados troglóxenos, tais como roedores, mamíferos, anfíbios, entre outros que podem atuar como possíveis reservatórios para *Leishmania* spp. (Barata; Apolinário, 2012). Outro fator que influencia diretamente na dinâmica populacional desses insetos em uma determinada área são os fatores abióticos tais como temperatura, umidade e precipitação (Costa, 2005). A relação da epidemiologia das leishmanioses correlacionado à ambientes cársticos é uma temática que apesar de inúmeros relatos de pesquisadores e espeleólogos, há apenas dois trabalhos evidenciando tal fato (Siller *et al.* 2021; Souza *et al.* 2023).

1.5 Justificativa

Levando em conta as informações acima para avaliar o potencial risco à infecção humana por *Leishmania* spp. em UCs Federais, detentoras de cavernas abertas ou propostas à visitação pública, selecionou-se UCs que contemplassem o maior número possível de regiões do Brasil. Estas deveriam apresentar registros publicados de fauna flebotomínica em seus municípios integrantes e limítrofes, assim como pertencentes a estados com regiões geralmente consideradas endêmicas para as doenças. Em vista disso, foram selecionados: (i) o Parque Nacional Cavernas do Peruaçu, Minas Gerais; (ii) o Parque Nacional da Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul; (iii) o Parque Nacional dos Campos Ferruginosos, Pará e; (iv) a Floresta Nacional de Carajás, Pará. Nesse sentido, a nível estadual foi selecionada, para estudo *in loco*, o Monumento Natural (MONAT) da Gruta da Lancinha, localizada no município de Rio Branco do Sul, na região do Vale do Ribeira, uma área endêmica para leishmaniose tegumentar. As coletas de flebotomíneos no MONAT visou avaliar a possibilidade da transmissão de leishmanioses *in loco*, tendo em vista que não há qualquer tipo de controle ou monitoramento de visitação na UC, pelo fato da mesma ainda não contar com um Plano de Manejo (Böck *et al.*, 2023) e, por falta dele, não ser possível alertar sobre o possível risco de transmissão das doenças. Nesse sentido, os resultados obtidos pretendem subsidiar o plano de manejo espeleológico da Gruta da Lancinha, que já se encontra em processo de elaboração, assim como somados aos indicadores propostos, servir de modelo para avaliação de risco de infecção por *Leishmania* spp. em UCs federais, que apresentam ambientes cársticos abertos ou propostos a visitação.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar dados de fauna flebotomínica e casos de leishmaniose humana em áreas protegidas de uso público e em seus municípios, assim como inventariar os flebotomíneos do MONAT Gruta da Lancinha, no Estado do Paraná, destacando potenciais áreas de risco para infecção humana por *Leishmania* spp.

2.2 Objetivos específicos

- Gerar dados que evidenciem a importância da conservação do patrimônio espeleológico nacional e que contribuam para a revisão ou implementação dos planos de manejo das Unidades de Conservação analisadas;
- Estudar a diversidade de flebotomíneos coletados no Monumento Natural da Gruta da Lancinha;
- Pesquisar a presença de *Leishmania* spp. em fêmeas de flebotomíneos coletadas em cinco Unidades de Conservação de uso público;
- Identificar a fonte alimentar utilizada por fêmeas de flebotomíneos coletadas em cinco Unidades de Conservação de uso público;
- Avaliar a relação da pluviosidade, umidade e temperatura na dinâmica populacional de flebotomíneos da MONAT Gruta da Lancinha;
- Avaliar e comparar, a partir da proposição de indicadores, o potencial risco à infecção humana por *Leishmania* spp. em cinco Unidades de Conservação de uso público ou com propostas vigentes para tal objetivo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Levantamento bibliográfico, notificações e elaboração dos mapas de potencialidade de risco para as leishmanioses

A revisão bibliográfica, referente às ocorrências de flebotomíneos e de *Leishmania* spp. nos municípios integrantes das UCs amostradas (Parque Nacional Cavernas do Peruaçu, Minas Gerais; Parque Nacional da Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul; Parque Nacional dos Campos Ferruginosos, Pará; Floresta Nacional de Carajás, Pará) (**Figura 3**), foi realizada a partir das bases de dados Scopus, Web of Science, Pubmed, Google Academic e Scielo, utilizando-se as seguintes palavras-chave, associadas, escritas em inglês e português: Unidades de Conservação, Cavernas, Phlebotominae, Leishmanioses, *Leishmania*, nome de cada UC amostrada, nome dos municípios integrantes das UCs amostradas e fonte ou dieta alimentar. Os trabalhos foram inicialmente analisados por título ou resumo, sendo que quando esses não detinham informações suficientes ou claras para decidir pela exclusão ou inclusão, realizou-se a leitura completa dos artigos.

Os casos confirmados de leishmanioses, assim como as incidências, índices compostos e estratificações de risco para cada município integrante das UCs foram obtidos

por meio da plataforma Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), vinculada ao Ministério da Saúde, observando os registros de 2019 a 2022. Importante salientar que o índice composto é o produto da padronização e combinação de dois indicadores, incidência e número total de casos das doenças, em uma única métrica. Todos os dados são avaliados por triênios (Brasil, 2021).

Treze indicadores foram inicialmente propostos no presente estudo, considerando o universo amostral, a bibliografia disponível e o conhecimento científico prévio, para a representação espacial dos dados obtidos na forma de mapas de risco para cada UC. São eles: 1) Média anual de visitantes (2019 a 2022) (**Tabela 1**)/ pelo tamanho da UC (ou Densidade demográfica anual média de visitantes/ ha da UC) (peso 2); 2) Somatório da população canina estimada para cada município integrante da UC (15% da população humana municipal) (peso 1) (WHO, 1992; WHO, 2005; Rocha; Neves; Oliveira, 2016); 3) Presença de moradores na UC (peso 2); 4) Número de espécies potenciais vetoras registradas nos municípios integrantes da UC, mas não necessariamente na UC (peso 1); 5) Número de espécies potenciais vetoras registradas na UC (peso 3); 6) Número de espécies potenciais vetoras registradas na UC nos períodos considerados de maior visitação (julho, dezembro, janeiro e fevereiro) (peso 4); 7) Percentual da área total desmatada (Km²) dos municípios/ pela área total do conjunto de municípios integrantes da UC (Km²) (peso 2); 8) Percentual da área total desmatada (ha) na UC/ pela área total da UC (ha) (peso 3); 9) Presença de *Leishmania* spp. circulante nos municípios integrantes da UC, mas não necessariamente na UC (peso 3); 10) Presença de *Leishmania* spp. circulante na UC (peso 4); 11) Percentual de amostras positivas registradas na UC, independente da capacidade vetorial antropofílica comprovada (%) (peso 5); 12) Média geral de estratifica o de risco epidemiológico para LV no conjunto de municípios integrantes da UC (peso 3) (Dados propostos a partir da **Tabela 2**) e 13) Média geral de estratifica o de risco epidemiológico para LT no conjunto de municípios integrantes da UC (Dados calculados a partir da **Tabela 3**). Além da revisão bibliográfica e dos dados obtidos junto ao Ministério da Saúde, também foram consultados dados disponíveis, referentes aos municípios integrantes e das próprias UCs, junto ao IBGE (indicadores 1, 2 e 7), MapBiomas Alerta (indicadores 7 e 8) e Painel dinâmico da Coordena o de Planejamento, Estrutura o da Visita o e do Ecoturismo – COEST/CGEUP do ICMBio (indicador 1).

No Excel foi realizada uma análise ponderada dos indicadores aos quais, conforme já apresentado, foram atribuídos pesos de acordo com sua influência na determina o do risco (1 a 5). Inicialmente, foi necessário normalizar os dados, para garantir que estivessem na

mesma escala e assim pudessem ser comparados. A construção dos mapas foi realizada utilizando o Software QGIS versão 3.34. Contudo, para o presente estudo, somente foi possível a utilização de sete indicadores para fins comparativos, tendo em vista a ausência de dados ou dados não confiáveis para todas as UCs amostradas. Para esses indicadores os pesos variaram apenas de 1 a 3, sendo que pesos maiores foram atribuídos aos indicadores considerados de maior risco de infecção (**Tabela 4**).

3.2. Levantamento de fauna

3.2.1. Aspectos éticos da pesquisa

As coletas realizadas foram autorizadas pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), número 90248-1, e pelo Instituto de Água e Terra do Paraná (IAT), número 50.23, autorizadas em outubro e dezembro, respectivamente. Os espécimes coletados estão depositados na Coleção de Parasitologia do Departamento de Patologia Básica (ColPar/DPAT) da UFPR (<https://collectory.sibbr.gov.br/collectory/public/show/co446>).

3.2.2. Área de coleta

Foram realizadas coletas no município de Rio Branco do Sul, estado do Paraná, inserido na Unidade de Conservação Estadual, Monumento Natural da Gruta da Lancinha (25° 10' 6" S, 49° 17' 14" W) (Böck *et al.*, 2023), a 35 km a norte da capital paranaense (**Figura 3**). A gruta apresenta três acessos principais, denominados: Sumidouro, onde o rio adentra, Ressurgência, local onde o rio sai e Dolina Desabada, área na qual o teto da caverna desmoronou. Ela é dividida em compartimentos úmidos e secos diferenciados pela passagem do Ribeirão da Lança (Ghedin, 2018), somando 2.080 metros de extensão. A gruta está exposta a diversos fatores que causam uma pressão, tais como mineralização em seu entorno, acúmulo de sedimentos às margens do rio, urbanismo e turismo não devidamente registrado (Sessegolo *et al.*, 2001). O número de visitantes pode chegar a 50 por dia (Rehme, 1993), com evidências de utilização do espaço para manifestações religiosas. Contudo, mesmo com sua extensa atividade turística não há ainda um plano de manejo apresentado para a UC.

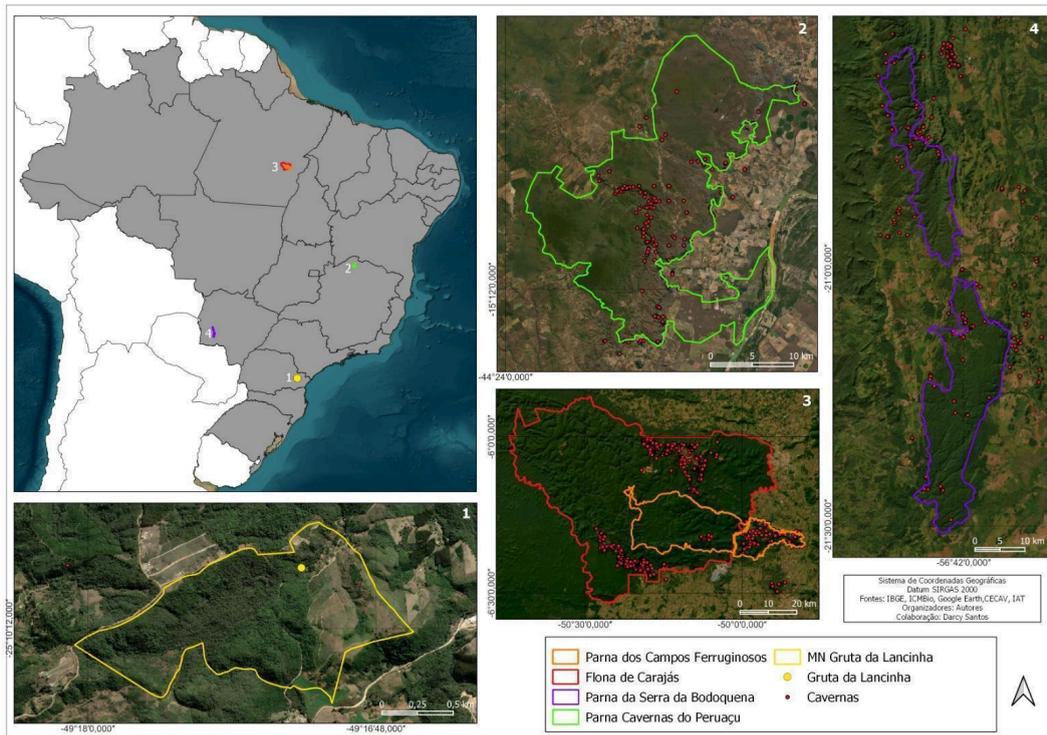


Figura 3: Mapa do Brasil com a localização geográfica das Unidades de Conservação amostradas e seus respectivos limites em detalhes.

3.2.3 Coleta e acondicionamento dos flebotomíneos

A fim de obter o melhor método de amostragem possível, foram realizadas expedições mensais, de janeiro a agosto de 2024. Foram instaladas 13 armadilhas tipo CDC (Sudia; Chamberlain, 1962) juntamente com uma do tipo Shannon (Shannon, 1939) (**Figura 4**), com o objetivo de adquirir a abundância e diversidade de flebotomíneos. As armadilhas CDC foram instaladas a 1,5m do solo com, aproximadamente, 25m entre elas, em locais de trilha que levam às entradas da gruta, totalizando um esforço amostral de 156h e 3h por noite, para a CDC e Shannon, respectivamente. A fim de randomizar as coletas, evitando o viés de amostragem, foi realizado um sorteio, em dezembro de 2023, para as três áreas de captura da Gruta da Lancinha (ressurgência, sumidouro e dolina desabada). Assim, durante os oito meses de captura foram realizadas três coletas da área da ressurgência (janeiro, março, agosto), duas na área do sumidouro (fevereiro, maio) e três na área da dolina (abril, junho, julho).



Figura 4: Armadilha de CDC (A); Armadilha de Shannon (B); Instalação da armadilha CDC (C); Captura noturna em armadilha de Shannon (D); Entrada da Gruta da Lancinha (ressurgência) (E); Fêmeas de *Pintomyia fischeri* com sangue (esquerda) e sem sangue (direita) capturadas durante o trabalho de campo. (Fonte: Acervo pessoal).

3.2.4 Identificação dos flebotomíneos

Os insetos coletados foram triados no Laboratório de Parasitologia Molecular da Universidade Federal do Paraná. Passaram por sexagem seguida do processo de clarificação através do método de Forattini (1973), e os machos montados inteiros em lâminas de microscopia. As fêmeas foram dissecadas, deixando apenas a cabeça e os três últimos segmentos do abdômen clarificados e montados em lâmina para identificação a nível específico, seguindo a proposta de Galati (2018) (**Figuras 5 e 6**). O restante do corpo foi armazenado em álcool 85% agrupados em *pools*, de 1 a 10 espécimes, utilizando-os para identificação da presença ou não de *Leishmania* spp.

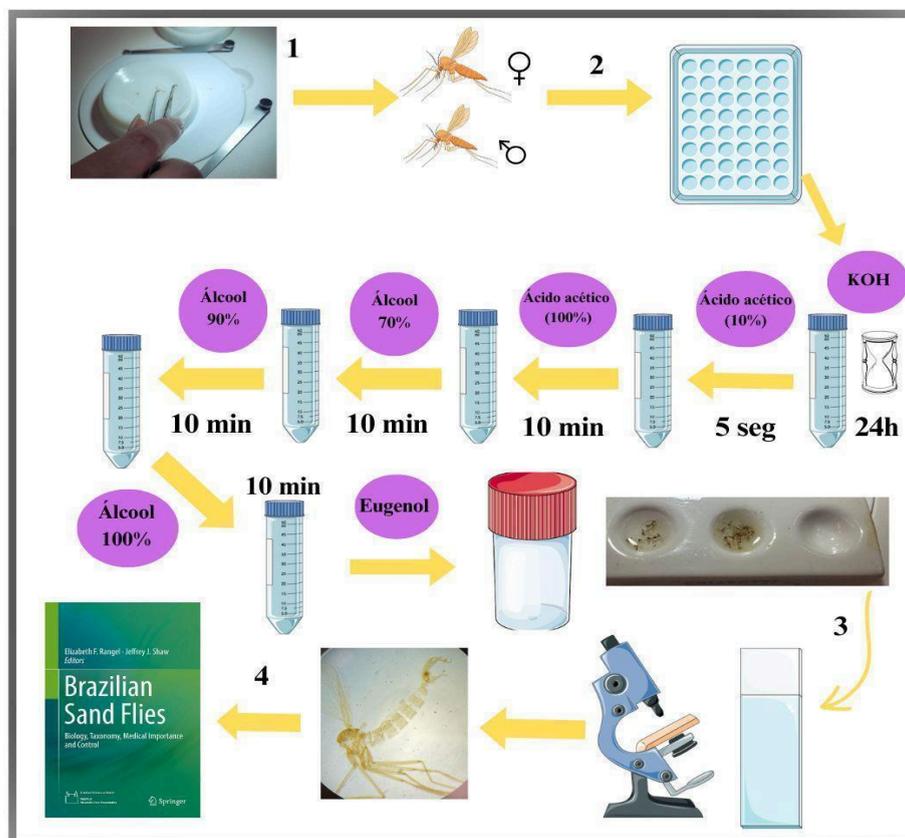


Figura 5: Esquema ilustrativo do processo de triagem e identificação dos flebotomíneos. Triagem (1), clarificação (2), montagem (3) e identificação dos flebotomíneos (4).



Figura 6: Etapas de laboratório para triagem (A) e clarificação (B) dos flebotomíneos.

3.2.5 Identificação molecular para *Leishmania* spp.

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Protozoologia, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da Universidade Federal de Santa Catarina, após a identificação das espécies de flebotomíneos. Para identificação da presença de DNA de *Leishmania* spp. foi utilizado o kit PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen), realizando a extração conforme as instruções do fabricante. Além das fêmeas de flebotomíneos capturadas em campo, foi extraído DNA de flebotomíneo macho (*Lutzomyia longipalpis*) como controle negativo. Após esse processo, foi realizada PCR com o alvo ITS-1 (Schonian *et al.*, 2003) utilizando os iniciadores senso (5' CTG GAT CAT TTT CCG ATG 3') e antisenso (5'TGA TAC CAC TTA TCG CAC TT 3'). Nos experimentos de amplificação da região do ITS-1 utilizamos como controle positivo DNA de *Leishmania infantum*, a fim de obter a confiabilidade dos resultados. A PCR se sucedeu a partir do uso de 1 U da enzima Taq DNA polimerase no tampão do fabricante (Invitrogen), 2 mM de dNTP (Invitrogen) e 10 pmol de cada iniciador. O programa de amplificação indicou uma desnaturação a 94°C por 5 minutos seguidos de 32 ciclos de desnaturação a 95 °C por 20 segundos, hibridização de 53°C por 30 segundos e alongação do DNA a 72°C por 1 minuto.

Por fim, foi realizada uma etapa de alongação da cadeia por 6 minutos a 72°C. O produto da PCR foi visualizado em gel de poliacrilamida 10% e corado com Brometo de Etídio (10 mg/ml), salvando os resultados digitalmente. Ademais, foram feitas extrações de flebotomíneos de fêmeas alimentadas, a fim de identificar a fonte alimentar desses insetos na

região de coleta e amplificar a região do Citocromo B, gene presente em mamíferos e aves que podem ser hospedeiros reservatórios de *Leishmania* spp. Infelizmente, devido à greve na Universidade e ao fato de problemas no sequenciador, o qual encontra-se em manutenção, ou seja indisponível para uso, não foi possível, por enquanto, fazer as análises necessárias para a identificação da fonte alimentar das amostras de fêmeas alimentadas.

3.2.6 Análises das variáveis climáticas

Os dados abióticos, temperatura (mínima e máxima), umidade (mínima e máxima) e precipitação foram obtidos entre os meses de janeiro a agosto de 2024 junto ao Sistema de Tecnologia e Monitoramento Ambiental do Paraná (SIMEPAR). Para análise dessas variáveis sobre a fauna de flebotomíneos, foram calculadas as médias mensais de cada uma das variáveis e elaborados gráficos.

4. RESULTADOS

4.1 Dados obtidos por levantamento bibliográfico

Um total de 10 artigos relacionados as áreas amostradas foram selecionados para revisão, sendo registradas 12 espécies potencialmente vetoras: duas nos municípios que integram o PARNA Cavernas do Peruaçu, quatro nos municípios do PARNA Serra da Bodoquena e oito nos municípios que integram as duas UCs do NGI de Carajás, Floresta Nacional de Carajás e Parque Nacional dos Campos Ferruginosos (**Quadro 1**). A espécie *Lutzomyia longipalpis* foi registrada nas quatro UCs Federais (**Quadro 1**), destacando-se como a mais abundante, especialmente no mês de novembro (Nunes *et. al* 2008; Rêgo *et al.* 2015).

Em geral, foram registrados mais casos de LT do que de LV, o que corrobora com dados da literatura, indicando os maiores números de ocorrências das doenças nos municípios do PARNA dos Campos Ferruginosos, PA (527), FLONA de Carajás, PA (486) e PARNA Cavernas do Peruaçu, MG (433). Já no PARNA da Serra da Bodoquena, MS, houve 47 casos confirmados e em Rio Branco do Sul, único município do MONAT Gruta da Lancinha, ocorreram apenas cinco casos de LT (**Tabela 1**).

Foram evidenciadas como principais áreas de risco para infecção por *Leishmania* spp. os municípios de Januária e São João das Missões, em MG, e Canaã dos Carajás e Parauapebas, no PA, com as maiores médias de incidência de LV sendo registradas para São João das Missões e Canaã dos Carajás, respectivamente, e de LT para São João das Missões e Januária, respectivamente (**Tabelas 2 e 3**). De acordo com dados de visitação do ICMBio (**Tabela 1**), a

FLONA de Carajás e o PARNA Cavernas do Peruaçu receberam em média, no período amostral, 66.861,75 e 5.576,75 visitantes, respectivamente, o que serve de alerta para o real risco de infecção humana associado ao ecoturismo nessas áreas.

Quadro 1: Fauna flebotomínica e espécies potenciais vetoras de *Leishmania* spp. registradas nos municípios integrantes das UCs amostradas.

Unidade de Conservação	Espécies registradas	Espécies potencialmente vetoras	Referências
PARNA Cavernas do Peruaçu	<i>Br. avellari</i> , <i>Lu. cavernicola</i> , <i>Ny. intermedia</i> , <i>Lu. ischnacantha</i> , <i>Ev. lenti</i> , <i>Ev. termitophila</i> , <i>Mi. micropyga</i> , <i>Pi. misionensis</i> , <i>Mi. peresi</i> , <i>Mi. quinquefer</i> , <i>Sc. sordellii</i> , <i>Mi. trinidadensis</i> , <i>Lu. longipalpis</i> , <i>Mi. vilhelai</i> , <i>Ev. bacula</i> , <i>Lu. renei</i> , <i>Lu. ischnacantha</i> , <i>Mi. goiana</i> , <i>Ev. lenti</i> , <i>Mt. minasensis</i> , <i>Mi. peresi</i>	<i>Ny. intermedia</i> , <i>Lu. longipalpis</i> .	[4], [30], [31]
PARNA dos Campos Ferruginosos	<i>Br. avellari</i> , <i>Br. pintoi</i> , <i>Br. travassosi</i> , <i>Pa. aragaoi</i> , <i>Ny. antunesi</i> , <i>Ev. bacula</i> , <i>Ev. begoniae</i> , <i>Tr. brachyphylla</i> , <i>Tr. brachipyga</i> , <i>Pa. campbelli</i> , <i>Ev. carmelinoi</i> , <i>Lu. carvalhoi</i> , <i>Lu. castanheirai</i> , <i>Pr. choti</i> , <i>Ps. complexus</i> , <i>Pi. damascenoi</i> , <i>Th. dasyptodogeton</i> , <i>Pa. dendrophila</i> , <i>Lu. dreisibachi</i> , <i>Pr. equatorialis</i> , <i>Ev. evandroi</i> , <i>Mi. ferreirana</i> , <i>Bi. flaviscutellata</i> , <i>Vi. furcata</i> , <i>Mi. goiana</i> , <i>Lu. gomezi</i> , <i>Pi. gruta</i> , <i>Pa. hermanlenti</i> , <i>Ev. infraspinoza</i> , <i>Ev. lenti</i> , <i>Lu. longipalpis</i> , <i>Mi. longipennis</i> , <i>Mi. longispina</i> , <i>Pa. lutziana</i> , <i>Mi. micropyga</i> , <i>Mg. migonei</i> , <i>Ev. monstruosa</i> , <i>Pi. monticola</i> , <i>Pi. nevesi</i> , <i>Pi. pacae</i> , <i>Mi. peresi</i> , <i>Ev. pinotti</i> , <i>Ny. richardwardi</i> , <i>Mi. rorotaensis</i> , <i>Ev. saulensis</i> , <i>Pa. scaffii</i> , <i>Ev. sericea</i> , <i>Pi. serrana</i> , <i>Pa. shannoni</i> , <i>Ny. shawi</i> , <i>Sc. sordelli</i> , <i>Pa. spathotrichia</i> , <i>Ev. spinosa</i> , <i>Ev. termitophila</i> , <i>Pr. triacantha</i> , <i>Th. trichopyga</i> , <i>Mi. trinidadensis</i> , <i>Ps. trispinosus</i> , <i>Vi. tuberculata</i> , <i>Tr. ubiquitalis</i> , <i>Ny. umbratilis</i> , <i>Ny. whitmani</i> , <i>Ev. whilamsi</i> , <i>Ny. pajoti</i> , <i>Ps. amazonensis</i> , <i>Ps. ayrozai</i> , <i>Ps. bispinosus</i> , <i>Ps. carrerai</i> , <i>Ps. clautrei</i> , <i>Ps. corossoniense</i> , <i>Ps. complexus</i> , <i>Ps. davisii</i> , <i>Ps. geniculatus</i> , <i>Ps. hirsutus</i> , <i>Ps. lainsoni</i> , <i>Ps. paraensis</i> e <i>Ps. wellcomei</i>	<i>Ps. complexus</i> , <i>Lu. longipalpis</i> , <i>Mg. migonei</i> , <i>Tr. ubiquitalis</i> , <i>Ny. antunesi</i> , <i>Ny. whitmani</i> , <i>Ps. davisii</i> , <i>Ps. wellcomei</i> .	[2], [35], [44], [47]
FLONA de Carajás	<i>Br. avellari</i> , <i>Br. pintoi</i> , <i>Br. travassosi</i> , <i>Pa. aragaoi</i> , <i>Ny. antunesi</i> , <i>Ev. bacula</i> , <i>Ev. begoniae</i> , <i>Tr. brachyphylla</i> , <i>Tr. brachipyga</i> , <i>Pa. campbelli</i> , <i>Ev. carmelinoi</i> , <i>Lu. carvalhoi</i> , <i>Lu. castanheirai</i> , <i>Pr. choti</i> , <i>Ps. complexus</i> , <i>Pi. damascenoi</i> , <i>Th. dasyptodogeton</i> , <i>Pa. dendrophila</i> , <i>Lu. dreisibachi</i> , <i>Pr. equatorialis</i> , <i>Ev. evandroi</i> , <i>Mi. ferreirana</i> , <i>Bi. flaviscutellata</i> , <i>Vi. furcata</i> , <i>Mi. goiana</i> , <i>Lu. gomezi</i> , <i>Pi. gruta</i> , <i>Pa. hermanlenti</i> , <i>Ev. infraspinoza</i> , <i>Ev. lenti</i> , <i>Lu. longipalpis</i> , <i>Mi. longipennis</i> , <i>Mi. longispina</i> , <i>Pa. lutziana</i> , <i>Mi. micropyga</i> , <i>Mg. migonei</i> , <i>Ev. monstruosa</i> , <i>Pi. monticola</i> , <i>Pi. nevesi</i> , <i>Pi. pacae</i> , <i>Mi. peresi</i> , <i>Ev. pinotti</i> , <i>Ny. richardwardi</i> , <i>Mi. rorotaensis</i> , <i>Ev. saulensis</i> , <i>Pa. scaffii</i> , <i>Ev. sericea</i> , <i>Pi. serrana</i> , <i>Pa. shannoni</i> , <i>Ny. shawi</i> , <i>Sc. sordelli</i> , <i>Pa. spathotrichia</i> , <i>Ev. spinosa</i> , <i>Ev. termitophila</i> , <i>Pr. triacantha</i> , <i>Th. trichopyga</i> , <i>Mi. trinidadensis</i> , <i>Ps. trispinosus</i> , <i>Vi. tuberculata</i> , <i>Tr. ubiquitalis</i> , <i>Ny. umbratilis</i> , <i>Ny. whitmani</i> , <i>Ev. whilamsi</i> , <i>Ny. pajoti</i> , <i>Ps. amazonensis</i> , <i>Ps. ayrozai</i> , <i>Ps. bispinosus</i> , <i>Ps. carrerai</i> , <i>Ps. clautrei</i> , <i>Ps. corossoniense</i> , <i>Ps. complexus</i> , <i>Ps. davisii</i> , <i>Ps. geniculatus</i> , <i>Ps. hirsutus</i> , <i>Ps. lainsoni</i> , <i>Ps. paraensis</i> e <i>Ps. wellcomei</i>	<i>Ps. complexus</i> , <i>Lu. longipalpis</i> , <i>Mg. migonei</i> , <i>Tr. ubiquitalis</i> , <i>Ny. antunesi</i> , <i>Ny. whitmani</i> , <i>Ps. davisii</i> , <i>Ps. wellcomei</i> .	[2], [35], [44], [47]
PARNA da Serra da Bodoquena	<i>Br. avellari</i> , <i>Br. brumpti</i> , <i>Br. cunhai</i> , <i>Br. galindoi</i> , <i>Sc. sordellii</i> , <i>Bi. flaviscutellata</i> , <i>Ev. corumbaensis</i> , <i>Ev. lenti</i> , <i>Ev. sallesi</i> , <i>Ev. teratodes</i> , <i>Ev. termitophila</i> , <i>Lu. almerioi</i> , <i>Lu. longipalpis</i> , <i>Mt. oliveirai</i> , <i>Mi. acanthopharynx</i> , <i>Mi. peresi</i> , <i>Mi. quinquefer</i> , <i>Mg. bursiformis</i> , <i>Ny. whitmani</i> , <i>Pi. kuscheli</i> , <i>Pa. aragaoi</i> , <i>Pa. campgrandensis</i> , <i>Pa. punctigeniculata</i> , <i>Pa. shannoni</i> e <i>Sc. sordellii</i>	<i>Bi. flaviscutellata</i> , <i>Lu. almerioi</i> , <i>Lu. longipalpis</i> , <i>Ny. whitmani</i> .	[16], [17]
MONAT Gruta da Lancinha	<i>Br. troglodytes</i> , <i>Br. nitzulescui</i> , <i>Ev. edwardsi</i> , <i>Ev. firmatoi</i> , <i>Mi. longipennis</i> , <i>Mg. migonei</i> , <i>Pi. fischeri</i> , <i>Pi. monticola</i> , <i>Pa. lanei</i> , <i>Ps. ayrozai</i> , <i>Sc. microps</i> .	<i>Pi. fischeri</i> , <i>Mg. migonei</i> .	

Legenda: Abreviações dos gêneros: **Br.** = *Brumptomyia*; **Bi.** = *Bichromomyia*; **Ev.** = *Evandromyia*; **Lu.** = *Lutzomyia*; **Mi.** = *Micropygomyia*; **Mt.** = *Martinsmyia*; **Ny.** = *Nyssomyia*; **Pa.** = *Psathyromyia*; **Pi.** = *Pintomyia*; **Ps.** = *Psychodopygus*; **Pr.** = *Pressatia*; **Sc.** = *Sciopemyia*; **Tr.** = *Trichophoromyia*; **Th.** = *Trichopygomyia*; **Vi.** = *Viannamyia*; **Mg.** = *Migonemyia*. Obs: As espécies destacadas em negrito são aquelas que já foram encontradas associadas a ambientes cársticos (Andrade *et al.*, 2022).

Tabela 1. Número de visitantes nas Unidades de Conservação e de casos confirmados de leishmaniose humana no conjunto dos municípios integrantes das UCs, no período de 2019 a 2022.

Unidades de Conservação	Nº de Visitantes (Fonte: MMA/ICMBio)				Nº total de casos confirmados de Leishmaniose Visceral humana nos municípios Integrantes da UC					Nº total de casos confirmados de Leishmaniose Tegumentar humana nos municípios Integrantes da UC				
	2019	2020	2021	2022	2019	2020	2021	2022	Total	2019	2020	2021	2022	Total
PARNA Cavernas do Peruaçu	9.304	1.514	4.056	7.433	5	4	2	5	16	91	110	129	87	417
PARNA dos Campos Ferruginosos	*	*	*	*	77	37	31	26	171	75	103	99	79	356
FLONA de Carajás	150.057	30.065	15.204	72.121	77	39	31	27	174	77	39	107	89	312
PARNA da Serra da Bodoquena	777	171	442	1.079	1	0	1	1	3	13	8	6	17	44
MONAT Gruta da Lancinha	□	□	□	□	0	0	0	0	0	2	2	0	1	5

Legenda: 1) N° - Número; 2) MMA - Ministério do Meio ambiente; 3) ICMBio - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade; 4) UC - Unidade de Conservação; 5) PARNA - Parque Nacional; 6) FLONA - Floresta Nacional; 7) MONAT - Monumento Natural; 8) * - Não se aplica, pois o Parque criado em 2017 nunca esteve aberto à visitação pública; 9) □ - Não há ainda um monitoramento ou controle oficial das visitas no monumento natural.

Tabela 2. Estratificação de risco epidemiológico da Leishmaniose Visceral por município de infecção integrante de cada Unidade de Conservação, a partir de notificações trienais (períodos de 2019 a 2021 e de 2020 a 2022).

Unidades de Conservação	Municípios Integrantes da UC/UF	Leishmaniose Visceral humana (Fonte: Ministério da Saúde)							
		Média de Casos		Média de Incidência		Índice Composto		Estrato	
		2019-2021	2020-2022	2019-2021	2020-2022	2019-2021	2020-2022	2019-2021	2020-2022
PARNA Cavernas do Peruaçu	Itacarambi/MG	1	1,33	5,51	7,75	-0,1192313	0,5827374	Médio	Médio
	Januária/MG	2,67	1,67	3,93	2,49	0,2283907	-0,2436518	Médio	Médio
	São João das Missões/MG	3,67	2,67	27,96	20,27	4,338499	3,398981	Intenso	Intenso
PARNA dos Campos Ferruginosos	Canaã dos Carajás/PA	11	8,33	28,96	18,97	7,110815	5,418496	Intenso	Intenso
	Parauapebas/PA	32,67	19,33	15,46	8,38	12,72917	7,867431	Muito Intenso	Intenso
FLONA de Carajás	Água Azul do Norte/PA	0,33	0,67	1,21	3,05	-1,029276	-0,5404306	Baixo	Baixo
	Canaã dos Carajás/PA	11	8,33	28,96	18,97	7,110815	5,418496	Intenso	Intenso
	Parauapebas/PA	32,67	19,33	15,46	8,38	12,72917	7,867431	Muito Intenso	Intenso
PARNA da Serra da Bodoquena	Bodoquena/MS	0,33	0,33	4,23	3,89	-0,5564514	-0,5199416	Baixo	Baixo
	Bonito/MS	0,33	0	1,52	N.A	-0,9808482	N.A	Baixo	N.A
	Jardim/MS	0,67	0,67	2,53	2,53	-0,7041765	-0,6359221	Baixo	Baixo
	Porto Murтинho/MS	0,33	0,33	1,93	1,93	-0,9167982	-0,878187	Baixo	Baixo
MONAT Gruta da Lancinha	Rio Branco do Sul/PR	0	0	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A

Legenda: 1) N.A - Não se aplica.

Tabela 3. Estratificação de risco epidemiológico da Leishmaniose Tegumentar por município de infecção integrante de cada Unidade de Conservação, a partir de notificações trienais (períodos de 2019 a 2021 e de 2020 a 2022).

Unidades de Conservação	Municípios Integrantes da UC/UF	Leishmaniose Tegumentar (Fonte: Ministério da Saúde)							
		Média de Casos		Média de Incidência		Índice Composto		Estrato	
		2019-2021	2020-2022	2019-2021	2020-2022	2019-2021	2020-2022	2019-2021	2020-2022
PARNA Cavernas do Peruaçu	Itacarambi/MG	4,67	6	25,69	33,74	-0,1989316	0,0624233	Baixo	Médio
	Januária/MG	69	73,67	101,67	109,75	5,088057	5,947347	Intenso	Intenso
	São João das Missões/MG	30	20,67	228,97	157,23	4,404373	3,023478	Alto	Alto
PARNA dos Campos Ferruginosos	Canaã dos Carajás/PA	14,67	12,33	38,51	28,96	0,6376611	0,4258864	Médio	Médio
	Parauapebas/PA	73	78,67	34,08	34,20	4,365054	5,103794	Alto	Intenso
FLONA de Carajás	Água Azul do Norte/PA	10	10,33	36,22	43,72	0,3010021	0,5199131	Médio	Médio
	Canaã dos Carajás/PA	14,67	12,33	38,51	28,96	0,6376611	0,4258864	Médio	Médio
	Parauapebas/PA	73	78,67	34,08	34,20	4,365054	5,103794	Alto	Intenso
PARNA da Serra da Bodoquena	Bodoquena/MS	5,33	7,33	68	89,30	0,4598531	1,029878	Médio	Médio
	Bonito/MS	2,33	1,67	14,18	10,68	-0,5180084	-0,6009753	Baixo	Baixo
	Jardim/MS	0,33	0,33	1,26	1,26	-0,8358269	-0,8416063	Baixo	Baixo
	Porto Murtinho/MS	4	1	23,31	6,45	-0,2768337	-0,7137831	Baixo	Baixo
MONAT Gruta da Lancinha	Rio Branco do Sul/PR	1,67	0,67	5,14	2,05	-0,6928213	-0,806124	Baixo	Baixo

Tabela 4. Indicadores e seus respectivos pesos utilizados para avaliação comparativa do potencial de risco à infecção por *Leishmania* spp. nas Unidades de Conservação abertas ou propostas a visitação pública, selecionadas para o presente estudo.

Unidades de Conservação	População canina estimada por município integrante (15% da população humana municipal*)	DN		P		Presença de moradores na UC	DN		P		Nº de espécies potenciais vetoras registradas nos municípios integrantes da UC, mas não necessariamente na UC	DN		P		Percentual da área total desmatada (km²) nos municípios/pe la área total do conjunto de municípios (km²)(%)	DN		P		Percentual da área total desmatada (ha) na UC/ pelo tamanho da UC (ha) (%)	DN		P		Presença de <i>Leishmania</i> spp. circulante nos municípios integrantes da UC, mas não necessariamente na UC	DN		P		Média geral de estratificação de risco para LT (avaliação trienal)	DN		P	
		DN	P	DN	P		DN	P	DN	P		DN	P	DN	P		DN	P	DN	P		DN	P	DN	P										
PARNA Cavernas do Peruaçu	14.307	0,18	1	1	1	2	2	0	1	0,457	1,00	2	0,000	0	3	1	0	3	2,83	1	3														
PARNA do Campos Ferruginosos	51.737	0,94	1	0	0	2	8□	1	1	0,040	0,09	2	0,004	0,05	3	1	0	3	2,75	0,96	3														
FLONA de Carajás	54.449	1	1	1	1	2	8□	1	1	0,023	0,05	2	0,083	1	3	1	0	3	2,50	0,82	3														
PARNA da Serra da Bodoquena	10.360	0,1	1	0	0	2	4	0,33	1	0,004	0,01	2	0,023	0,28	3	1	0	3	1,25	0,14	3														
MONAT Gruta da Lancinha	5.634	0	1	1	1	2	2	0	1	0,000	0,00	2	0,000	0	3	1	0	3	1,00	0	3														

Legenda: **1)** * - (WHO, 1992; WHO, 2005; Rocha; Neves; Oliveira, 2016); **2)** DN - Dado normalizado; **3)** P - Peso; **4)** Nº - Número; **5)** UC - Unidade de Conservação; **6)** PARNA - Parque Nacional; **7)** FLONA - Floresta Nacional; **8)** MONAT - Monumento Natural; **9)** ha - Hectares; **10)** LT - Leishmaniose Tegumentar; □) - Obs: Os artigos obtidos para o Pará, não trazem informações de registros de espécies por município ou UCs, mas sim, de forma geral, para Serra do Carajás. Nesse sentido, foi considerado no presente estudo o nº total de espécies potenciais vetoras registradas na região.

A partir dos dados dos indicadores apresentados na **Tabela 4** e de seus respectivos pesos foi elaborado um mapa de comparação de potencial de risco à infecção por *Leishmania* spp. entre as UCs (**Figura 7**). O PARNA Cavernas do Peruaçu foi o que obteve a maior média geral de estratificação de risco para LT, seguido, respectivamente, do PARNA dos Campos Ferruginosos e da FLONA de Carajás. O PARNA de Minas Gerais também foi o que apresentou o maior percentual de área total desmatada nos municípios em relação à área total do conjunto de municípios. Entretanto, não foi verificado no período amostral qualquer desmatamento no interior desse PARNA, ocorrendo o oposto para a Flona de Carajás e PARNA da Serra da Bodoquena, que apresentaram os maiores percentuais em relação a todas as outras UCs (**Tabela 4**). Todas as UCs tiveram em pelo menos um dos seus municípios a detecção da circulação de *Leishmania* spp., que, somado, principalmente, a presença de espécies potencialmente vetoras nestes e aos casos confirmados das doenças, sinaliza a possibilidade de infecção em todas as UCs amostradas no presente estudo. Em termos comparativos, as UCs do Pará foram as que apresentaram os maiores riscos, e o PARNA da Serra da Bodoquena e o MONAT da Gruta da Lancinha os menores (**Figura 7**).

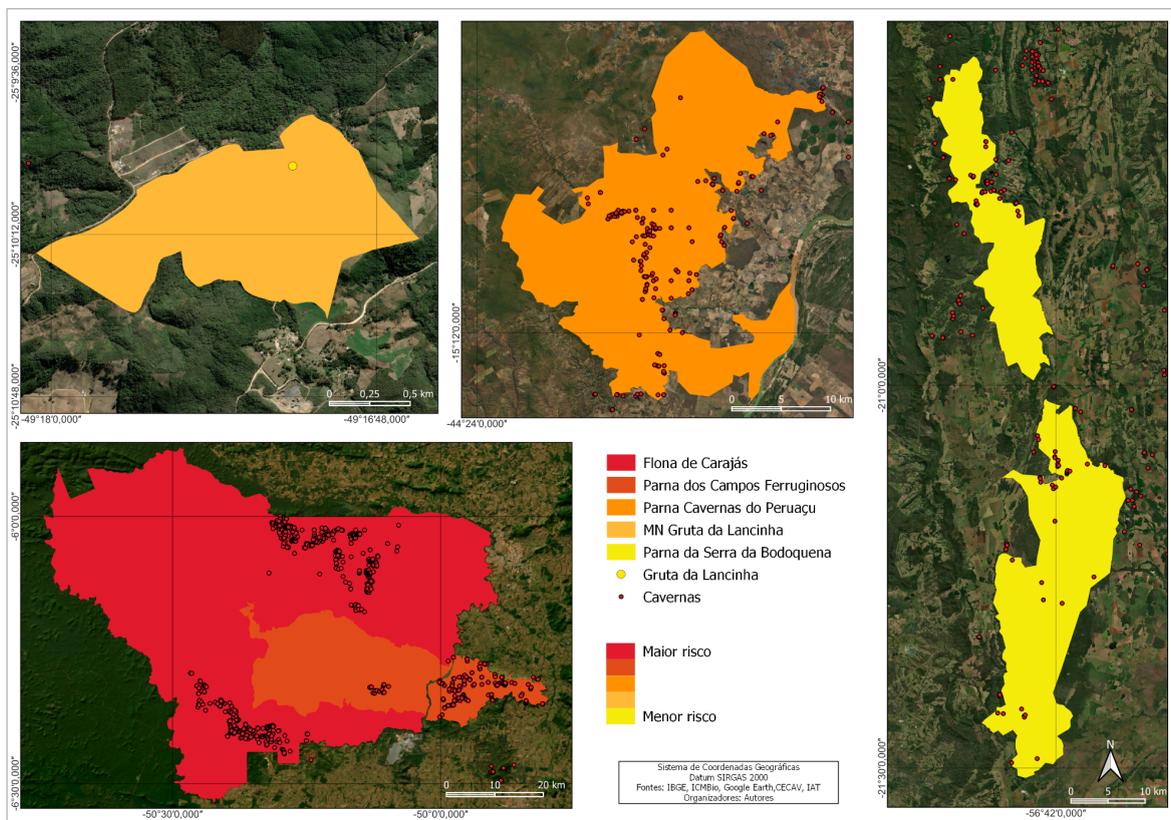


Figura 7: Representação espacial dos dados ponderados obtidos para sete indicadores de risco propostos, referentes a infecção humana por *Leishmania* spp. em cada UC amostrada.

4.2 Espécimes coletados no MONAT da Gruta da Lancinha

As oito coletas de flebotomíneos realizadas de janeiro/2024 a Agosto/2024 possibilitou o registro de 171 espécimes (141F e 30M) (Relação sexual M/F: 0,2/1), dos quais 166 puderam ser identificados a nível específico, totalizando 11 espécies, sendo elas: *Psathyromyia lanei* (54%), *Pintomyia fischeri* (26%), *Evandromyia edwardsi* (6%), *Pintomyia monticola* (5%), *Migonemyia migonei* (4%), *Brumptomyia nitzulescui* (1%), *Brumptomyia troglodytes* (1%), *Evandromyia firmatoi* (1%), *Psychodopygus ayrozai* (1%), *Micropygomyia longipennis* (1%) e *Sciopemyia microps* (1%) (**Tabela 5**). Foi possível observar uma maior densidade de flebotomíneos coletados no mês de março e agosto, correspondendo a 44% e 42% do total de espécimes, respectivamente. Em ambos os meses também foi observada a maior diversidade de espécies (n= 7). Algumas espécies foram capturadas somente na armadilhas CDC (*Mg. migonei*, *Mi. longipennis*, *Ps. ayrozai*, *Br. troglodytes*, *Ev. firmatoi*) e *Sc. microps* foi somente capturada na Shannon, mostrando a importância da utilização de diferentes métodos de captura para estudo da fauna de flebotomíneos. As demais espécies ocorreram em ambas as armadilhas durante o estudo. Dos espécimes identificados, 35 foram capturados na armadilha de Shannon (21%) e 131 em CDC (73%).

Quando observada a frequência de flebotomíneos (número total/mês) em relação às variáveis climáticas, nota-se que a medida que diminui a temperatura e a precipitação e aumenta-se a umidade, a fauna vai se tornando mais escassa (**Figura 8**). Em julho é possível notar que o aumento da umidade e precipitação associada a uma queda da temperatura os flebotomíneos não foram capturados. No entanto, com o ambiente pouco úmido e sem volume considerável de chuva, associado a um leve aumento da temperatura, os flebotomíneos voltam a aparecer em grande quantidade, como observado no mês de agosto. Observando os gráficos individualmente, a fauna flebotomínica parece ser mais abundante durante os meses úmidos e chuvosos, desde que haja um aumento da temperatura (**Figura 8**).

Porém, essas observações ainda são preliminares devendo ser também considerada a área de instalação das armadilhas. Nos meses de agosto e março estas foram instaladas na trilha que leva a ressurgência da gruta, ou seja, a área de coleta deve influenciar a frequência dos espécimes e a diversidade de espécies. Nota-se também que nas três áreas de coleta há presença de flebotomíneos.

Tabela 5. Número de espécies de flebotomíneos coletadas no MONAT Gruta da Lancinha, Rio Branco do Sul, PR, entre janeiro e agosto de 2024, utilizando armadilhas de Shannon e CDC.

ESPÉCIES	Machos	Fêmeas	TOTAL	%
<i>Psathyromyia lanei</i>	21	69	90	54
<i>Pintomyia fischeri</i>	2	41	43	26
<i>Evandromyia edwardsi</i>	2	8	10	6
<i>Pintomyia monticola</i>	0	8	8	5
<i>Migonemyia migonei</i>	4	2	6	4
<i>Psychodopygus ayrozai</i>	0	2	2	1
<i>Brumptomyia troglodytes</i>	0	2	2	1
<i>Brumptomyia nitzulescui</i>	1	1	2	1
<i>Micropygomyia longipennis</i>	0	1	1	1
<i>Sciopemyia microps</i>	0	1	1	1
<i>Evandromyia firmatoi</i>	0	1	1	1
TOTAL	19	88	166	100

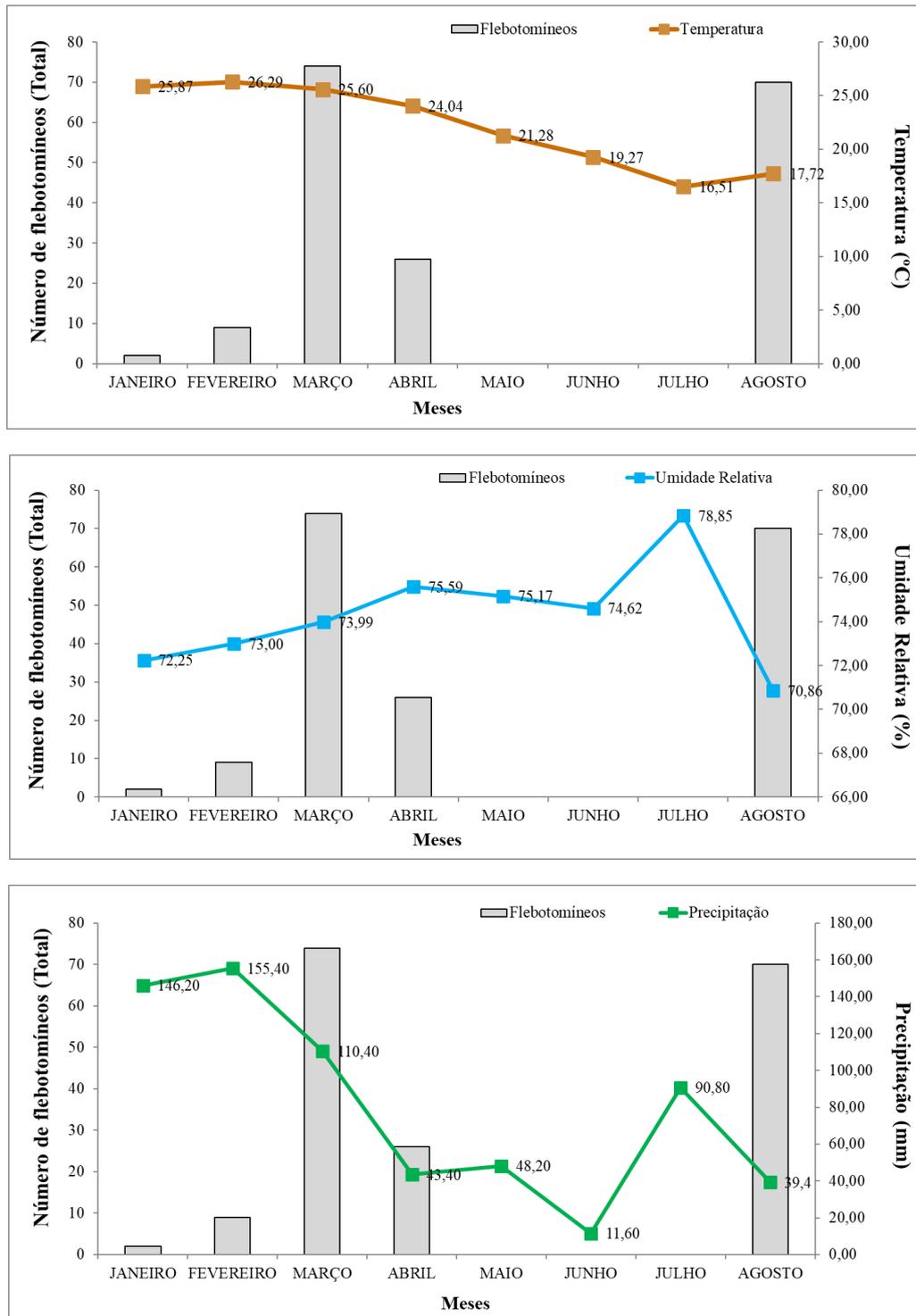


Figura 8: Total de flebotomíneos capturados mensalmente (janeiro a agosto/2024) no Monumento Natural Gruta da Lancinha, município de Rio Branco do Sul, PR, em relação às médias mensais de temperatura, umidade relativa e precipitação. (Fonte: SIMEPAR, 2024).

4.3 Dados moleculares obtidos

Com o objetivo de pesquisar a presença de *Leishmania* spp. em fêmeas de flebotomíneos coletadas nas UCs estudadas nesse projeto, 65 espécimes foram utilizados para extração de DNA e realização de PCR para amplificação de material genético de *Leishmania* spp. Além disso, também foram feitas extrações e identificação molecular de 3 *pools* de amostras previamente coletadas no estado do Pará, sendo uma na FLONA dos Carajás e duas no PARNA dos Campos Ferruginosos, a fim de complementar o levantamento bibliográfico realizado. Com isso, foi possível verificar a presença de quatro *pools* positivos para *Leishmania* spp., dois correspondentes a coleta de março no MONAT Gruta da Lancinha (**Figura 9**), somados a outros dois previamente coletados no PARNA dos Campos Ferruginosos e na FLONA dos Carajás em outubro e novembro de 2021, respectivamente (**Figura 10**). As espécies de flebotomíneos positivas foram *Psathyromyia lanei* no Paraná e *Sciopemyia sordellii* no Pará. Posteriormente, esses resultados serão encaminhados para a etapa de sequenciamento de DNA para identificação da espécie do parasito encontrada nos *pools* positivos de flebotomíneos.

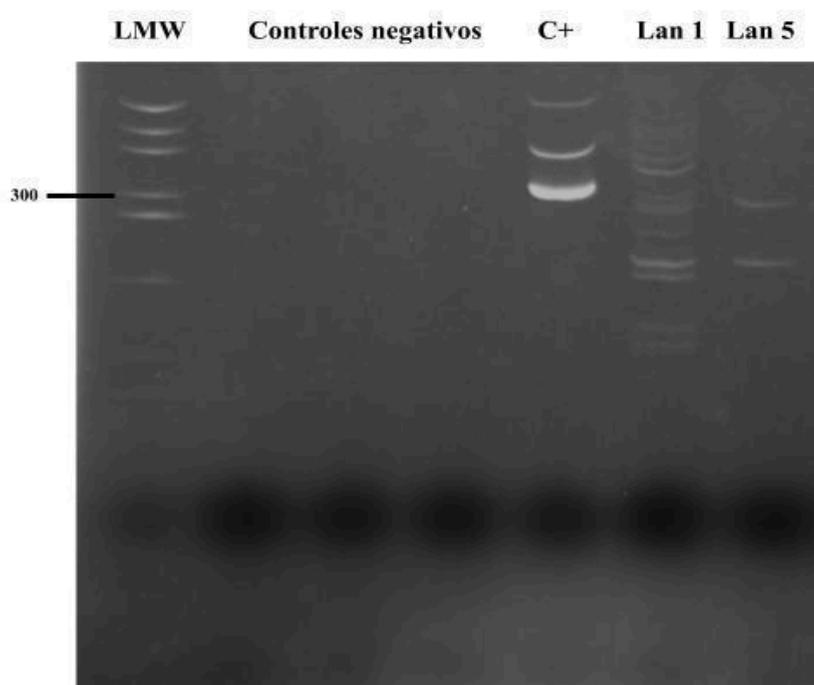


Figura 9: Verificação da presença de *Leishmania* spp. em amostras coletadas no MONAT Gruta da Lancinha. Legenda: Gel poliacrilamida 10% corado com Brometo de etídio das amostras Gruta da Lancinha. LMW= Low molecular weight (pUC18 digerido com Hae III); C+ = Controle positivo (*Leishmania infantum*); Controles negativos = Controles de extração e reação da PCR; Lan 1 e Lan 5= Amostra MONAT Gruta da Lancinha.

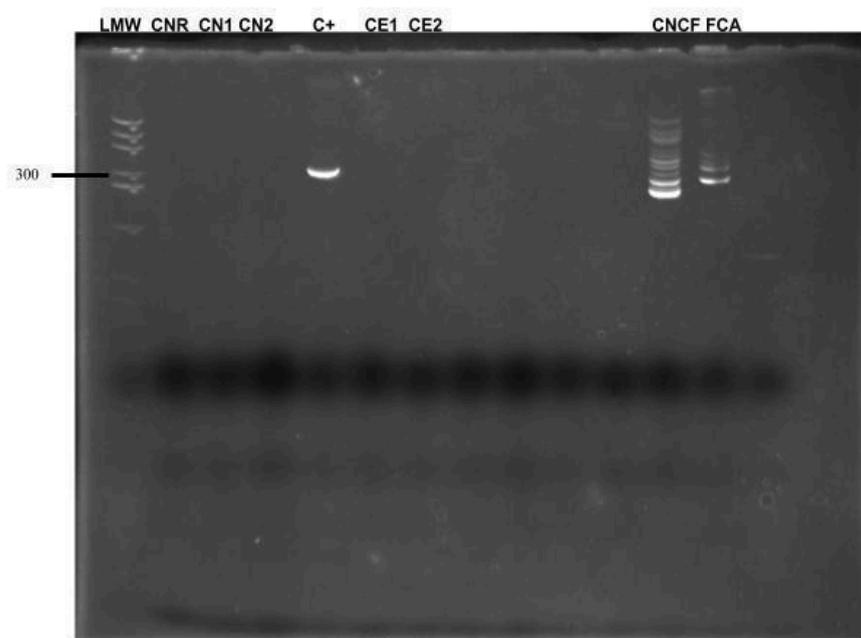


Figura 10: Verificação da presença de *Leishmania* spp. em amostras coletadas na FLONA de Carajás e PARNA dos Campos Ferruginosos. Legenda: Gel poliacrilamida 10% corado com Brometo de etídio das amostras Campos Ferruginosos e Carajás. LMW= Low molecular weight (pUC18 digerido com Hae III); CNR = Controle negativo reação; CN1= Controle negativo 1 (macho de *Lutzomyia longipalpis*); CN2= Controle negativo 2 (macho de *Lutzomyia longipalpis*); C+ = Controle Positivo (*Leishmania infantum*); CE1= Controle de extração 1; CE2= Controle de extração 2; CNCF= Amostra Campos Ferruginosos; FCA= Amostra Carajás.

5. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A revisão bibliográfica de fauna de flebotomíneos em ecossistemas espeleológicos de UCs permite entender a diversidade de espécies que potencialmente atuam como transmissoras de espécies de *Leishmania* em cavernas, e o possível impacto que esse grupo de doenças causa à Saúde Única. Isso reforça estudos anteriores que indicam a presença desses insetos em ambientes cavernícolas como um componente crucial na manutenção do ciclo de transmissão desses protozoários (Capucci, 2021). A presença das espécies *Ny. intermedia*, *Lu. longipalpis*, *Ny. whitmani* e *Ny. umbratilis* na Gruta do Caboclo, Serra dos Carajás e Serra da Bodoquena (Araújo, 2021; Barata *et al.*, 2008; Galati *et al.*, 2003; Galati *et al.*, 2006; Ryan *et al.*, 1987; Souza *et al.*, 2010) é especialmente significativa, considerando sua associação com a transmissão das leishmanioses tegumentar e visceral, destacando a importância dessas áreas como potenciais zonas de risco para essas doenças. A fauna silvestre está diretamente relacionada com a epidemiologia da doença, especialmente em locais em processo de urbanização. Surtos de leishmaniose cutânea já foram evidenciados em locais impactados por

mudanças nos aspectos climáticos (Paiz, et al. 2015), reforçando que as estratégias de controle da doença devem levar em consideração a presença de animais silvestres como possíveis reservatórios tanto em ambientes de transição como periurbanos.

A detecção de DNA de *Leishmania* spp. nas espécies *Ps. davisii*, *Ps. h. hirsutus*, *Ny. umbratilis*, *Ny. ubiquitalis* e *Mg. migonei* (Souza *et al.*, 2010) reforça a relevância desses insetos na manutenção do ciclo de transmissão dos protozoários nos ambientes estudados. Além disso, a presença dessa diversa fauna flebotomínica nos municípios integrantes de todas as UCs amostradas evidencia a urgência de medidas preventivas para minimizar o risco de transmissão das leishmanioses aos visitantes, bem como maiores estudos a fim de compreender a biologia e a capacidade vetorial dessas espécies. O estudo aponta para uma maior diversidade de espécies no Parque Nacional dos Campos Ferruginosos, o que se correlaciona com o maior número de casos confirmados de leishmanioses tegumentar e visceral. Além disso, a detecção de *Leishmania* spp. observada nas análises moleculares provenientes do Parque Nacional dos Campos Ferruginosos e da FLONA de Carajás serve como mais um indicativo da potencialidade de risco às leishmanioses nesses locais se não possuírem medidas preventivas ou um plano de manejo elaborado também com esse foco.

A coleta das espécies *Ev. edwardsii*, *Ev. firmatoi*, *Pi. fischeri*, *Pi. monticola*, *Br. nitizulescui*, *Br. troglodytes*, *Mg. migonei*, *Mi. longipennis*, *Ps. ayrozai*, *Pa. lanei* e *Sc. microps* nas proximidades e entradas da Gruta da Lancinha reforça a importância de estudos de inventário da fauna desses insetos, que também podem estar envolvidos na transmissão primária ou secundária de protozoários do gênero *Leishmania* (Dutra-Rêgo *et al.*, 2022). Além disso, a evidência molecular de *Psathyromyia lanei* com a presença de DNA de *Leishmania* spp. demonstra a importância da realização de um plano de manejo adequado para minimizar os riscos à infecção humana. As espécies, *Ev. edwardsii*, *Pi. fischeri*, *Pi. monticola* e *Pa. lanei* registradas no MONAT, já foram encontradas associadas a cavernas (Galati *et al.*, 2010), embora não tenham uma relação obrigatória aos ambientes cársticos (Dutra-Rêgo *et al.*, 2022). Há evidências de comportamento antropofílico em *Pintomyia fischeri*, que pode ser considerada um vetor secundário de *Leishmania braziliensis* devido à sua presença em áreas com transmissão da doença tegumentar (Galati *et al.*, 2010). Flebotomíneos da espécie *Pintomyia monticola* são considerados potenciais vetores de leishmaniose tegumentar, com a detecção de DNA de *Leishmania braziliensis* em fêmeas da espécie e sua ocorrência em áreas endêmicas da doença (Galati *et al.*, 1996).

Ademais, a ecologia dos flebotomíneos está atrelada às variações climáticas do ambiente, no qual sua flutuação associa-se diretamente a sua distribuição em quase todas as regiões do mundo, especialmente Neotropicais (Sherlock, 2003). Há espécies com uma gama de tolerância de temperatura que varia de 16 °C a 44 °C, também podendo estar em altitudes entre o nível do mar até a altitudes de 1.100 metros (Colacicco-Mayhugh *et al.*, 2010). Essa diversidade configura uma alta complexidade do táxon, bem como o entendimento de sua ecologia e variabilidade.

A partir dessas informações, é possível verificar a importância dessas UCs para a manutenção do ciclo biológico dos flebotomíneos, bem como o possível risco que esses ambientes podem vir a causar para visitantes desses locais se não devidamente instruídos. Ademais, é de suma importância maiores estudos, sobretudo envolvendo monitoramento, para compreender o papel dessas espécies em meio a transmissão silvestre, fundamental para garantir o equilíbrio ambiental e o bem-estar de comunidades locais, componentes essenciais ao se conceituar saúde única.

6. RECOMENDAÇÕES DE MANEJO

A partir dos resultados obtidos, recomendamos aos gestores das UCs amostradas, estimularem a busca, junto a pesquisadores especialistas, pelo monitoramento da fauna flebotômica, especialmente durante os períodos conhecidos de maior visitação nas respectivas UCs, a fim de registrar as frequências de ocorrência das espécies potencialmente vetoradas, bem como mapear possíveis setores de maiores riscos epidemiológicos abertos ou propostos a visitação pública, incluindo ambientes cársticos. Recomenda-se que associado ao monitoramento da fauna também sejam realizadas análises moleculares nos espécimes coletados para verificar a presença do protozoário *in loco*, dando maior ênfase às espécies potencialmente vetoradas. O estabelecimento de parcerias, com as secretarias municipais de saúde dos municípios que apresentam atualmente os maiores riscos à doença, considerando tanto humanos quanto animais, também é recomendado. Somado a esses esforços, o adequado monitoramento anual do número, origem e locais preferenciais dos visitantes em cada UC analisada poderá também auxiliar nas avaliações de risco, ao subsidiar alguns dos indicadores propostos neste estudo.

Os dados da Gruta da Lancinha apontam uma urgência no desenvolvimento do seu plano de manejo. O MONAT encontra-se em uma região na qual há habitantes inseridos na área. O município de Rio Branco do Sul é endêmico para LT, assim como outros que integram a Região do Vale do Ribeira, no estado do Paraná. Os resultados oferecem um indicativo de circulação enzoótica de *Leishmania* spp. no local, confirmada pelas análises moleculares. Além disso, apontam para uma fauna com vetores primários de *Leishmania braziliensis* e, embora a espécie não tenha sido sequenciada no presente estudo, essa é a única espécie circulante na área. Embora sejam dados preliminares, a área pode oferecer risco para visitantes e a continuidade do estudo será necessária para entender a dinâmica populacional das espécies, principalmente aquelas sabidamente vetoradas, levando em conta suas sazonalidades. Cabe ressaltar a necessidade de fomentos para pesquisas com flebotômicos em cavernas, para que eles possam ser empregados em pesquisas de longo prazo e formação de recursos humanos.

Ao considerarmos que o MONAT e as cavernas com vistas a uso público presentes nas UCs do Pará ainda não possuem plano de manejo espeleológico, embora estejam em processo de elaboração, os resultados poderão subsidiar tais propostas, atendendo ao item 5.2.2.1 (b) das diretrizes e orientações técnicas para elaboração dos planos de Manejo Espeleológicos do Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas (CECAV).

7. AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, especificamente ao Centro Nacional de Pesquisa de Conservação de Cavernas, pela oportunidade de realização do trabalho, ao CNPq pela concessão da bolsa de Iniciação Científica e ao SISBIO e Instituto de Água e Terra do Paraná pela autorização das atividades de coleta. Às Secretarias do Meio Ambiente e da Educação do município de Rio Branco do Sul pela autorização para realização das coletas. Ao Laboratório de Protozoologia, na Universidade Federal de Santa Catarina e ao Laboratório de Parasitologia Molecular, na Universidade Federal do Paraná, pela infraestrutura e apoio disponibilizados.

8. REFERÊNCIAS

- [1] ANDRADE, A. J. ; CORDEIRO, D. P. ; COSTA, J. C. R. ; GALATI, E. A. B. . Capítulo 13. Diptera: Psychodidae. In: Robson de Almeida Zampaulo; Xavier Prous. (Org.). **Fauna Cavernícola do Brasil**. 1 ed. Belo Horizonte: Editora Rupestre, 2022, v. 1, p. 284-303.
- [2] ARAÚJO, L. K. S. A leishmaniose no município minerador de Canaã dos Carajás, estado do Pará. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - **Instituto de Saúde e Produção Animal**. Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, 2021.
- [3] AZEVEDO, P. C. B.; LOPES G. N.; FONTELES R. S.; VASCONCELOS G. C.; MORAES J. L. P.; REBÊLO J. M. M. The effect of fragmentation on phlebotomine communities (Diptera: Psychodidae) in areas of ombrophilous forest in São Luís, state of Maranhão, Brazil. **Neotropical Entomology, Londrina**, v. 40, n. 2, p. 271-277, 2011.
- [4] BARATA, R. A.; ANTONINI, Y.; GONÇALVES, C. M.; COSTA, D. C.; DIAS, E. S. Flebotomíneos do Parque Nacional Cavernas do Peruaçu, MG. **Neotropical Entomology**, v. 37(2), p. 226-228, 2008.
- [5] BASSOTO, Dayane. Perfil epidemiológico da leishmaniose no estado do Paraná – 2001 A 2017. 2021. 1 f. **Dissertação (Mestrado)** - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Oeste do Paraná, Cascavel, 2021.
- [6] BASTIANI, Ana Paula da Silva. Expressão heteróloga de uma proteína quimérica pan-tripanosomatídeos em *Leishmania tarentolae* e *Trypanosoma rangeli*. 2022. 33 f. **TCC (Graduação)** - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2022.
- [7] BLANCO, Vinicius; NASCIMENTO Júnior,. Leishmaniose: Aspectos Gerais Relacionados com a Doença, o Ciclo do Parasita, Fármacos Disponíveis, **Novos Protótipos e Vacinas**. 2017.

- [8] BÖCK, M. C.; PAZ, O. L. S.; PAULA, E. V. Visitação desordenada e impactos ambientais em ambiente cavernícola: um estudo sobre o uso público da Gruta da Lancinha – Rio Branco do Sul/PR. **Ateliê Geográfico**, v. 17(1), p. 274-304, 2023.
- [9] CAPUCCI, D. C. Investigação da comunidade de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em diferentes ambientes ecológicos visando o monitoramento e controle das leishmanioses. **Dissertação (Mestrado em Ciências)** - Instituto René Rachou, Belo Horizonte, 2021.
- [10] Colacicco-Mayhugh, M.G., Masuoka, P.M. & Grieco, J.P. Ecological niche model of *Phlebotomus alexandri* and *P. papatasi* (Diptera: Psychodidae) in the Middle East. *Int J Health Geogr* 9, 2 (2010).
- [11] COSTA, J. M. L. Epidemiologia das Leishmanioses no Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 75(1), p. 3-17, 2005
- [12] FONSECA, Monica; LAMAS, Ivana; KASECKER, Thais. O Papel das Unidades de Conservação. **Scientific American**, 2010.
- [13] FORATTINI, O. P. **Entomologia Médica**. 4ª ed. Editora Edgard Blucher, São Paulo, p.658, 1973.
- [14] GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L. B.; DORVAL, M. E. C.; OSHIRO, E. T.; CRISTALDO, G.; ESPÍNDOLA, M. A.; ROCHA, H. C.; GARCIA, W. B. Estudo dos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae), em área de leishmaniose tegumentar, no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 30(2), p. 115-28, 1996.
- [15] GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L. B.; BOGGIANI, P. C.; DORVAL, M. E. C.; CRISTALDO, G.; ROCHA, H. C.; OSHIRO, E. T.; GONÇALVES-DE-ANDRADE, R. M.; NAUFEL, G. Phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in caves of the Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 47(2), p. 283-296, 2003.
- [16] GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L. B.; BOGGIANI, P. C.; DORVAL, M. E. C.; CRISTALDO, G.; ROCHA, H. C.; OSHIRO, E. T.; DAMASCENO-JÚNIOR, G. A.

Phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in forested areas of the Serra da Bodoquena, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101(2), p. 175-193, 2006.

[17] GALATI, E. A. B.; MARASSÁ, A. M.; GONÇALVES-ANDRADE, R. M.; CONSALES, C. A.; BUENO, E. F. M. Phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in the Ribeira Valley Speleological Province – 1. Parque Estadual Intervales, state of São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54(2), p. 311–321, 2010.

[18] GALATI, E. A. B. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae): Classification, Morphology and Terminology of Adults and Identification of American Taxa. In: RANGEL, E. F.; SHAW, J. J. **Brazilian Sand Flies**. Springer International Publishing, 2018.

[19] GREGORY, D. J., and OLIVIER, M. (2005). Subversion of host cell signalling by the protozoan parasite Leishmania. **Parasitology** 130, S27–S35.

[20] GHEDIN, G.; OLIVEIRA, E. Composição faunística de invertebrados e estado de conservação da Gruta da Lancinha, Rio Branco do Sul, Paraná. **Monografia** (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Positivo, Paraná, 2018.

[21] IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/>. Acesso em: 10 de julho de 2024.

[22] MapBiomas Alerta. Disponível em: <https://plataforma.alerta.mapbiomas.org/>. Acesso em: 15 jul. 2024.

[23] MENDONÇA, Elaine Santana. Levantamento da fauna e infecção por Leishmania spp em flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) na localidade de Catimbau Grande município de Rio Bonito estado do Rio de Janeiro. 2022. 71 f. **Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2022.**

[24] MONTEIRO, C. C.; O papel da microbiota intestinal na competência vetorial do Lutzomyia longipalpis para a Leishmania (Leishmania) infantum chagasi e a transmissão do parasito ao vertebrado pela da picada. 2012. 71f. **Dissertação (Mestrado em Ciências da**

Saúde) – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Pesquisa René Rachou, Belo Horizonte.

[25] NUNES, Vânia Lúcia Brandão; GALATI, Eunice Aparecida Bianchi; CARDOZO, Carla; ROCCA, Maria Elizabeth Ghizzi; ANDRADE, Ana Rachel Oliveira de; SANTOS, Mirella Ferreira da Cunha; AQUINO, Ricardo Braga; ROSA, David da. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em área urbana do município de Bonito, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 52, n. 3, p. 446-451, set. 2008.

[26] Painel dinâmico da Coordenação de Planejamento, Estruturação da Visitação e do Ecoturismo – COEST/CGEUP. Disponível em: <https://app.powerbi.com/>. Acesso em: 2 ago. 2024

[27] PAIZ, Laís Moraes; DONALISIO, Maria Rita; RICHINI-PEREIRA, Virgínia Bodelão; MOTOIE, Gabriela; CASTAGNA, Claudio Luiz; TOLEZANO, José Eduardo. Infection by *Leishmania* spp. in Free-Ranging Opossums (*Didelphis albiventris*) in an Environmentally Protected Area Inhabited by Humans in Southeastern Brazil. **Vector-Borne And Zoonotic Diseases**, Campinas, v. 16, n. 11, p. 728-730, nov. 2016. Mary Ann Liebert Inc.

[28] PEREIRA-FILHO, A. A.; FONTELES, R. S.; BANDEIRA, M. C. A.; MORAES, J. L. P.; REBÊLO, J. M. M.; MELO, M. N. Molecular identification of *Leishmania* spp. in Sand Flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the Lençóis Maranhenses National Park, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 55, p. 989-994, 2018.

[29] RANGEL, E.; LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil**. 1ª ed. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 337-342, 2003.

[30] RÊGO, Felipe Dutra; RUGANI, Jeronimo Marteleto Nunes; SHIMABUKURO, Paloma Helena Fernandes; TONELLI, Gabriel Barbosa; QUARESMA, Patrícia Flávia; GONTIJO, Célia Maria Ferreira. Molecular Detection of *Leishmania* in Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae) from a Cutaneous Leishmaniasis Focus at Xakriabá Indigenous Reserve, Brazil. **PLOS ONE**. 2015.

[31] RÊGO, Felipe Dutra; SHIMABUKURO, Paloma Helena Fernandes; QUARESMA, Patrícia Flávia; COELHO, Igor Rismo; TONELLI, Gabriel Barbosa; SILVA, Kelly Medrado Scofield; BARATA, Ricardo Andrade; DIAS, Edelberto Santos; GONTIJO, Célia Maria

Ferreira. Ecological aspects of the Phlebotominae fauna (Diptera: Psychodidae) in the Xakriabá Indigenous Reserve, Brazil. **Parasites & vectors**. 2015.

[32] REHME, F. C. Gruta da Lancinha: impactos ambientais e uma proposta de unidade de conservação. Curitiba, 1993. **Monografia (Especialização em Geografia Ambiental)** - Setor de Ciências Tecnológicas, Universidade Federal do Paraná.

[33] ROCHA, D. A. Caracterização da susceptibilidade de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) ao inseticida alfacipermetrina. **Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical)** - Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

[34] ROCHA, S. M.; NEVES, B. M. C.; OLIVEIRA, V. S. Estimativa populacional canina em campanhas antirrábicas. **Saúde (Santa Maria)**, v. suplementar, p. 81-90, jul. 2016.

[35] RYAN, L.; LAINSON, R.; SHAW, J. J. Leishmaniasis in Brazil. XXIV. Natural flagellate infections of sandflies (Diptera: Psychodidae) in Pará State, with particular reference to the role of *Psychodopygus wellcomei* as the vector of *Leishmania braziliensis braziliensis* in the Serra dos Carajás. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 81, p. 353-359, 1987.

[36] SCHÖNIAN, Gabriele; NASEREDDIN, Abdelmajeed; DINSE, Nicole; SCHWEYNOCH, Carola; SCHALLIG, Henk D.F.H; PRESBER, Wolfgang; JAFFE, Charles L. PCR diagnosis and characterization of Leishmania in local and imported clinical samples. **Diagnostic Microbiology And Infectious Disease**, [S.L.], v. 47, n. 1, p. 349-358, 3 set. 2003. Elsevier BV.

[37] SESSEGOLO, G.C.; THEULEN, V.; SILVA-DA-ROCHA, L.F. PINTO DA ROCHA, R. Conservação e Manejo da Gruta da Lancinha, Rio Branco do Sul/Pr. In: SESSEGOLO, G.C.; ROCHA-DA-SILVA, L.F.; OLIVEIRA, K. L. (Orgs). **Conservando cavernas: Quinze anos de Espeleologia**. Curitiba: GEEP-Açungui, 2001.

[38] SHANNON, R.C. (1939) Methods for Collecting and Feeding Mosquitoes in Jungle Yellow Fever Studies. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 19, 131-140.

[39] SHANNON, R.C. (1939) Methods for Collecting and Feeding Mosquitoes in Jungle Yellow Fever Studies. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 19, 131-140.

[40] SHERLOCK, Ítalo Rodrigues de Araújo. Importância Médico-Veterinária. A Importância dos Flebotomíneos. In: RANGEL, Elizabeth F.; LAINSON, Ralph (Org.). **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2003. p.15-22.

[41] SILLER JUNIOR, Alfredo; A GARCIA, Benjamin; KIPP, Evan J; LEE, Michael; TYRING, Stephen. Cutaneous Leishmaniasis in a Recreational Cave Diver After Travel to México. *Cureus*, México, p. 1-6, 4 ago. **Springer Science and Business Media LLC**. 2021.

[42] SIMEPAR - Sistema de Tecnologia e Monitoramento Ambiental do Paraná. Disponível em: <http://simepar.br/>.

[43] SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Disponível em: <https://portalsinan.saude.gov.br/>. Acesso em 13 out. 2023.

[44] SOUZA, A. A. A.; SILVEIRA, F. T.; LAINSON, R.; BARATA, I. R.; SILVA, M. G. S.; LIMA, J. A. N.; PINHEIRO, M. S. B.; SILVA, F. M. M.; VASCONCELOS, L. S.; CAMPOS, M. B.; ISHIKAWA, E. A. Y. Fauna flebotomínica da Serra dos Carajás, Estado do Pará, Brasil, e sua possível implicação na transmissão da leishmaniose tegumentar americana. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1(1), p. 45-51, 2010.

[45] SOUZA, Marcos Vilela de; CHEREM, José; SANTOS JÚNIOR, Gilson Argolo dos; CÉSAR, Antônia Amanda da Silva; NARCISO, Thiago Pasqua; ALVARENGA, Ingrid Marciano; BARÇANTE, Thales Augusto; BARÇANTE, Joziana Muniz de Paiva. Intralesional administration of meglumine antimoniate (MA) as an alternative treatment for cutaneous leishmaniasis: a case report. **Brazilian Journal Of Health Review**, Curitiba, n. 6, p. 3323-3328, 3 out. 2023.

[46] SUDIA WD, Chamberlain RW. Battery-operated light trap, an improved model. By W. D. Sudia and R. W. Chamberlain, 1962. **J Am Mosq Control Assoc**. 1988 Dec;4(4):536-8. PMID: 3066845.

[47] TEODORO, L. M.; CERQUEIRA, R. F. V.; SILVA, M. S.; FERREIRA, R. L.; BARATA, R. A. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em cavernas ferruginosas no estado do Pará, Brasil. **ANAIS do 35º Congresso Brasileiro de Espeleologia**, 2019.

[48] YIN, Chunhong; SUN, Peng; YU, XI; WANG, Penghua; CHENG, Gong. Roles of Symbiotic Microorganisms in Arboviral Infection of Arthropod Vectors. **Trends In Parasitology**, [S.L.], v. 36, n. 7, p. 607-615, jul. 2020. Elsevier BV.

[49] (WHO) World Health Organization. Guidelines for dog rabies control. Geneva: World Health Organization, 1992.

[50] (WHO) World Health Organization. WHO expert consultation on rabies. First report. Geneva: World Health Organization; 2005.

[51] (WHO) WORLD HEALTH ORGANIZATION. Disponível em: <https://www.who.int/>. Acesso em: 19 ago. 2024