



LEANDRO MATA DA ROCHA MELO

**ESTUDO DOS FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA:
PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE), EM CAVERNAS
CALCÁRIAS, PAINS, MINAS GERAIS.**

**LAVRAS-MG
2021**

LEANDRO MATA DA ROCHA MELO

**ESTUDO DOS FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE:
PHLEBOTOMINAE), EM CAVERNAS CALCÁRIAS, PAINS, MINAS GERAIS.**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde, para obtenção
do título de Mestre.

Orientadora:
Dra. Joziana Muniz de Paiva Barçante
Coorientador:
Dr. Fredy Galvis Ovallos

**LAVRAS-MG
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Melo, Leandro Rocha.

Estudo dos flebotomíneos (Diptera:Psychodidae:
Phlebotominae), em cavernascalcárias, Pains, Minas Gerais /
Leandro Rocha Melo. - 2021.

72 p. : il.

Orientador(a): Joziana Paiva Muniz.

Coorientador(a): Fredy Galvis Galvis.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Leishmaniose. 2. Diversidade. 3. Ecologia. I. Muniz, Joziana
Paiva. II. Galvis, Fredy Galvis. III. Título.

LEANDRO MATA DA ROCHA MELO

**ESTUDO DOS FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE:
PHLEBOTOMINAE), EM CAVERNAS CALCÁRIAS**

**STUDY OF SAND FLIES (DIPTERA:PSYCHODIDAE:PHLEBOTOMINAE), IN
LIMESTONE CAVES**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde, para obtenção
do título de Mestre.

Aprovada em 27 de Abril de 2021

Dra. Joziana Muniz de Paiva Barçante UFLA

Dr. Fredy Galvis Ovallos FSP/USP

Dr. Andrey José de Andrade UFPR

Dr. Sidney de Almeida Ferreira UFLA

Prfa. Dra. Joziana Muniz de Paiva Barçante

Orientadora

Prof. Dr. Fredy Galvis Ovallos

Coorientador

Lavras-MG

2021

Aos meus pais por tudo que fizeram para que meus
sonhos se tornassem possíveis, me motivando e
apoiando em todos os momentos.
Aos meus irmãos por sempre caminharem ao meu lado.
A minha namorada, Ana Claudia, que torna todos
momentos da minha vida mais leves e felizes.
Dedico.

AGRADECIMENTOS

A toda minha família, pais, irmãos, tios, primos, sobrinhos e namorada por todo o amor e carinho. Em especial ao meu cunhado Carlos, por toda a ajuda durante os períodos de coletas.

A minha orientadora, a prof^a Dra. Joziana Muniz de Paiva Barçante, com quem tive a honra de crescer durante minha graduação e Pós-graduação, um exemplo de professora e pessoa. Minha gratidão e admiração é mais do que palavras podem expressar.

Ao Dr. Fredy Galvis Ovallos pelos conhecimentos partilhados e contribuições no aperfeiçoamento deste trabalho.

Ao Dr. Felipe Dutra Rêgo, pela contribuição na identificação dos flebotomíneos, sendo uma pessoa extremamente atenciosa, com valiosas dicas e conselhos e por toda a ajuda no desenvolvimento deste trabalho. Meus agradecimentos e admiração.

A Ma. Ingrid Alvarenga pela ajuda na montagem e identificação dos flebotomíneos.

Ao Dr. Thales Augusto Barçante por estar presente durante toda a minha formação acadêmica, sempre auxiliando todos os projetos e trabalhos em que participei.

Ao Dr. Luís Cláudio Paterno pelo fornecimento de reagentes essenciais para a realização deste trabalho.

A Aline por toda a disponibilidade e ajuda em laboratório, me fornecendo grande parte do material necessário para a realização do trabalho.

Ao núcleo de estudos em parasitologia, que fez parte da minha vida acadêmica, onde tive a honra de trabalhar em diversos projetos, fazer grandes amizades e aprender a importância de se trabalhar em grupo.

Aos moradores do município de Pains, pela contribuição e apoio para a realização das coletas dos flebotomíneos.

Ao Dunga pela disponibilidade em nos guiar até todas as cavernas em que foram realizadas as coletas.

A Universidade Federal de Lavras e o Programa de pós-graduação em Ciências da Saúde pela formação profissional.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio na realização deste trabalho.

Ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, por terem aceitado a realização desta pesquisa.

“ Suba o primeiro degrau com fé. Não é necessário que você veja toda a escada. Apenas dê o primeiro passo”.

Martin Luther king

RESUMO

Os flebotomíneos são insetos presentes em uma grande variedade de ambientes sendo frequentemente associados a cavernas, onde podem ser encontrados em alta diversidade e abundância, além de ser um local que propicia a descoberta de novas espécies devido às características ambientais únicas presentes em cavidades. Em relação a cidade de Pains, esta apresenta mais de 1549 cavernas cadastradas, representando com o município de Arcos e Doresópolis a maior concentração de cavernas calcárias da América latina. O município apresenta como principal atividade econômica a calcinação, sendo conhecida como a capital mundial do calcário. Atividades como esta, colocam diversas cavernas em constantes riscos em relação a sua preservação e consequentemente de toda a fauna de organismos presentes nesse ecossistema. Sendo as fêmeas de cerca de 10% das espécies de flebotomíneos conhecidas, de importância em saúde pública, por realizarem a hematofagia e durante o repasto sanguíneo podendo se infectar e posteriormente transmitir o vírus (flebovírus e vesiculovírus), bactérias (*Bartonella bacilliformis*) e parasitos, como os protozoários do gênero *Leishmania*. Este estudo tem como objetivo estudar a fauna de flebotomíneos em quatro cavernas calcárias da região de Pains. Para isto foi realizadas coletas mensais em 4 cavernas, com 3 pontos de coleta em cada gruta, em diferentes áreas fóticas, sendo no interior da gruta em zona afótica, em sua entrada e próxima a entrada da cavidade mais fora dela, em um total de 12 pontos de captura, entre os meses de outubro de 2020 a março de 2021, utilizando armadilhas luminosas HP, por 3 dias consecutivos. Foram coletados um total de 1402 flebotomíneos, 963 fêmeas (68,7%) e 439 machos (31,3%), foram identificados até nível de espécie 1146 espécimes (81,7%), seguindo o sistema de classificação proposto por Galati (2003). As espécies mais abundantes foram *Ev.edwardsi* (64,6%), *Mi. quinquefer* (10,9%) e *Ev. cortelezii* (6,6%), em um total de 22 espécies coletadas de 8 diferentes gêneros. O estudo da fauna de flebotomíneos e suas características ecológicas podem contribuir para um melhor conhecimento sobre as diferentes espécies e sua relação com o ambiente cavernícola.

Palavras-chave: Leishmaniose. Diversidade. Ecologia.

ABSTRACT

Phlebotomines are insects present in a wide variety of environments and are often associated with caves, where they can be found in high diversity and abundance, in addition to being a place that allows the discovery of new species due to the unique environmental characteristics present in cavities. In relation to the city of Pains, it has more than 1549 registered caves, representing with the municipality of Arcos and Doresópolis the largest concentration of limestone caves in Latin America. The municipality has calcination as its main economic activity, being known as a limestone capital of the world. Activities like this put several caves at constant risk in relation to their preservation and, consequently, of all the fauna of organisms present in this ecosystem. Being as promised of about 10% of the species of sandflies, of importance in public health, for performing the hematophagy and during the blood meal being able to become infected and later transmit the virus (phlebovirus and vesiculovirus), bacteria (*Bartonella bacilliformis*) and parasites, like the protozoa of the *Leishmania* genus. This study aims to study sandfly fauna in four limestone caves in the Pains. For this, monthly collections were carried out in 4 caves, with 3 collection points in each cave, in different photic areas, with no interior of the cave in an aphotic zone, at its entrance and close to the entrance of the cavity outside it, in a total of 12 capture points, from October 2020 to March 2021, using HP light traps, for 3 consecutive days. A total of 1402 sandflies, 963 females (68.7%) and 439 males (31.3%) were collected, up to the species level 1146 specimens (81.7%), following the classification system proposed by Galati (2003). The most abundant were *Ev.edwardsi* (64.6%), *Mi. quinquefer* (10.9%) and *Ev. cortelezii* (6.6%), in a total of 22 species collected from 8 different genera. The study of sandfly fauna and its ecological characteristics can contribute to a better understanding of the different species and their relationship with the cave environment.

keywords: Leishmaniasis. Diversity. Ecology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Genitálias flebotomíneos.....	17
Figura 2: Distribuição de espécies de flebotomíneos vetores de leishmaniose tegumentar no Brasil.....	20
Figura 3: Mapa do Brasil com ênfase em Minas Gerais e destaque para o município de Pains.....	27
Figura 4: Índices pluviométricos e médias de temperatura do município de Pains.....	28
Figura 5: Delineamento do estudo	29
Figura 6: Localização aproximada das grutas do bairro Alvorada.....	31
Figura 7: Localização aproximada das grutas Isaias e Sorvetão.....	32
Figura 8: Localização aproximada das grutas do Albano e gruta da Mina	33
Figura 9: Cavernas estudadas no município de Pains.....	34
Figura 10: Distribuição de flebotomíneos fêmeas e machos coletados em cavernas e nos seus arredores em Pains, MG... ..	41
Figura 11: Distribuição de flebotomíneos coletados nos arredores, entrada e zona afótica de cavernas no município de Pains, MG... ..	42
Figura 12: Variação das médias de temperatura máxima e mínima, no período de outubro de 2020 a março de 2021... ..	43
Figura 13: Variação das médias de umidade máxima e mínima, no período de outubro de 2020 a março de 2021.....	44
Figura 14: Distribuição de espécies flebotomíneos nos ambientes de coleta.....	51
Figura 15: Diversidade de Simpson nos três ambientes de coleta... ..	54
Figura 16: Distribuição de espécies de flebotomíneos nas áreas rurais e urbanas.....	55
Figura 17: Índice de diversidade de Simpson das cavernas da zona rural e urbana de Pains, MG... ..	56
Figura 18: Curva do coletor.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Espécies de flebotomíneos capturadas em 4 cavernas no município de Pains, MG, durante o período de outubro e novembro de 2019.....	39
Tabela 2: Espécies de flebotomíneos identificadas.....	39
Tabela 3: Espécies de flebotomíneos identificadas, por sexo e local de coleta.....	45
Tabela 4: Flebotomíneos coletados e identificados na gruta Isaias.....	47
Tabela 5: Flebotomíneos coletados e identificados na gruta Sorvetão... ..	48
Tabela 6: Flebotomíneos coletados e identificados na gruta da Mina... ..	50
Tabela 7: Flebotomíneos coletados e identificados na gruta do Albano.....	50
Tabela 8: Índice de constância de flebotomíneos em zonas afóticas.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CECAV- Centro nacional de pesquisa e conservação de cavernas

Ds- Diversidade de Simpson

IBGE- Instituto brasileiro de geografia e estatística

LTA- Leishmaniose tegumentar americana

LV- Leishmaniose visceral

OMS- Organização mundial da saúde

OMT- Organização mundial do turismo

Sobs- Riqueza observada

SVS/MS- Secretaria de vigilância em saúde/ Ministério da saúde

UFLA- Universidade federal de Lavras

SUMÁRIO

1. Introdução	14
2. Referencial teórico	15
2.1 Aspectos gerais dos flebotomíneos	15
2.2 Importância vetorial.....	18
2.3 O parasito	20
2.5 Leishmanioses.....	21
2.5.1 Leishmaniose Visceral (LV)	21
2.5.2 Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA).....	22
2.6 Ecoturismo	23
2.7 Ambiente Cavernícola	24
3. OBJETIVOS	26
3.1 Objetivo Geral.....	26
3.2 Objetivos Específicos	26
4. Material e Métodos	27
4.1 Área de Estudo.....	27
4.2 Delineamento do estudo	29
4.2.1 Coletas não sistematizadas	30
4.2.2 Coletas sistematizadas.....	35
4.3 Identificação Morfológica dos Flebotomíneos	36
4.5 Caracterização da área de estudo.	36
4.6 Aspectos éticos	36
4.7 Análise dos resultados.....	37
5. Resultados e Discussão	38
5.1 Coletas não sistematizadas	38
5.2 Coletas sistematizadas.....	40
5.2.1 Fauna de flebotomíneos.....	44
6. Conclusão	60
Referências:	61

1. Introdução

Minas Gerais é o estado com maior número de cavernas no Brasil, com 8.854 cavidades naturais cadastradas, segundo o Cadastro Nacional de Cavernas (CECAV, 2019). Tais ambientes atraem um grande número de turistas e pesquisadores, sendo também o ambiente natural de diversas espécies de flebotomíneos envolvidas na epidemiologia das leishmanioses (CARVALHO *et al.*, 2013).

Cavernas calcárias são ambientes úmidos e com grande estabilidade ambiental, que mantêm médias de temperatura e de umidade constantes por todo o ano, principalmente nas regiões afastadas da entrada (POULSON & WHITE, 1969), proporcionando um habitat favorável à manutenção de populações de flebotomíneos, insetos sensíveis a mudanças ambientais bruscas. A presença frequente de mamíferos como morcegos e de outros animais que buscam refúgio e abrigo em ambientes cavernícolas contribui para o aumento da disponibilidade de alimento para insetos hematófagos (CARVALHO, *et al.*, 2013). Considerando a importância destes insetos no ciclo de vários agentes infecciosos, tem-se que a degradação de ambientes naturais, incluindo as cavernas, também está relacionada com a expansão da ocorrência de doenças infecto parasitárias.

Em pelo menos quatro continentes, os flebotomíneos apresentam importância em saúde pública, uma vez que podem atuar como vetores de parasitos do gênero *Leishmania*, vírus (phlebovirus e vesiculovirus), e bactérias (*Bartonella bacilliformis*) (KRUGER, 2017). Cerca de 1.000 espécies de flebotomíneos já foram descritas, mas apenas cerca de 10% dessas espécies são identificadas como vetores ou prováveis transmissoras de parasitos causadores de leishmanioses, uma das mais importantes doenças infecciosas das américas (SHIMABUKURO, *et al.*, 2017).

Uma grande riqueza de espécies de flebotomíneos são comumente encontrados em cavernas do estado de Minas Gerais, assim como espécies de importância médica como *Lutzomyia longipalpis* e *Nyssomyia whitmani*. Paralelamente, o estado de Minas Gerais possui elevado número de casos

notificados de Leishmaniose Visceral (LV) e Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA). (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017; SHIMABUKURO, *et al.*, 2017).

Na cidade de Pains, os registros históricos do município mostraram que, do ano de 2002 ao ano de 2019, foram registrados oito casos de LV e 24 casos de LTA. Estudos anteriores demonstram que cavernas calcárias presentes no município abrigam uma grande riqueza de flebotomíneos (CAMPOS, *et al.*, 2016) entretanto neste estudo foram realizadas apenas duas coletas em cinco cavernas. Sabendo-se que Pains apresenta mais de 1500 cavernas cadastradas, tendo como principais atividades econômicas a mineração, agricultura e calcinação, o que gera impactos ao meio ambiente, podendo alterar sistemas ecológicos, assim como a sua fauna, o presente estudo tem como objetivo avaliar as mudanças na fauna de flebotomíneos na gruta Isaias e identificar a fauna desses insetos em outras três cavernas onde não foram realizados estudos anteriores.

2. Referencial teórico

2.1 Aspectos gerais dos flebotomíneos

Os flebotomíneos pertencem a ordem Diptera, subordem Nematocera, família Psychodidae e subfamília Phlebotominae. A sistemática de Psychodidae, na qual os flebotomíneos pertencem, já foi discutida por diversos autores (FAIRCHILD, 1995; BARRETO 1961; HENNIG 1966; DUCKHOUSE 1973; LEWIS, *et al.*, 1977). Sendo em 1976 sugerido por ABONNENC e LÉGER que Phlebotominae deveria ser elevado à categoria de família. Lewis e colaboradores (1977) após uma revisão taxonômica concluíram que Psychodidae teria prioridade por ter sido proposto por Newman em 1834. A taxonomia da subfamília Phlebotominae tem sido baseado em caracteres morfológicos, sendo a primeira proposta de divisão de espécies baseadas em cerdas presentes no abdômen (NEWSTEAD, 1911), estudos posteriores utilizaram as genitálias e índices morfométricos para proposição de subgêneros (FRANÇA 1919; FRANÇA & PARROT, 1920; LARROUSSE, 1920; FRANÇA & PARROT, 1921; THEODOR, 1926). Até o ano de 1948 os flebotomíneos eram classificados em único gênero *Phlebotomus* (THEODOR,

1948), posteriormente outros gêneros foram propostos. A classificação de LEWIS e colaboradores (1977) propôs 3 gêneros de flebotomíneos para o novo mundo *Brumptomyia*, *Lutzomyia* e *Warileya*. YOUNG & DUNCAN (1994) seguiram a classificação proposta por LEWIS, que é utilizado por estudiosos do grupo, todavia é considerada prematura por muitos especialistas.

Uma nova classificação proposta por GALATI (1995) revisou a taxonomia dos flebotomíneos em uma abordagem filogenética, separando-os em duas tribos: Hertiginii e Phlebotomini sendo a primeira dividida em duas subtribos Hertigiina presente na América e Idiophlebotomina no velho mundo e Austrália e a segunda em seis subtribos: Phlebotomina, Australophlebotomina, Brumptomyiina, Sergentomyiina, Lutzomyiina e Psychodopygina. Este sistema reconhece 523 espécies de flebotomíneos neotropicais, agrupados em 23 gêneros, 20 subgêneros e três grupos de espécies. No ano de 2018, o número de flebotomíneos identificados atingiu o quantitativo de 996 espécies conhecidas, destas 279 são descritas no Brasil (AGUIAR & VIEIRA, 2018).

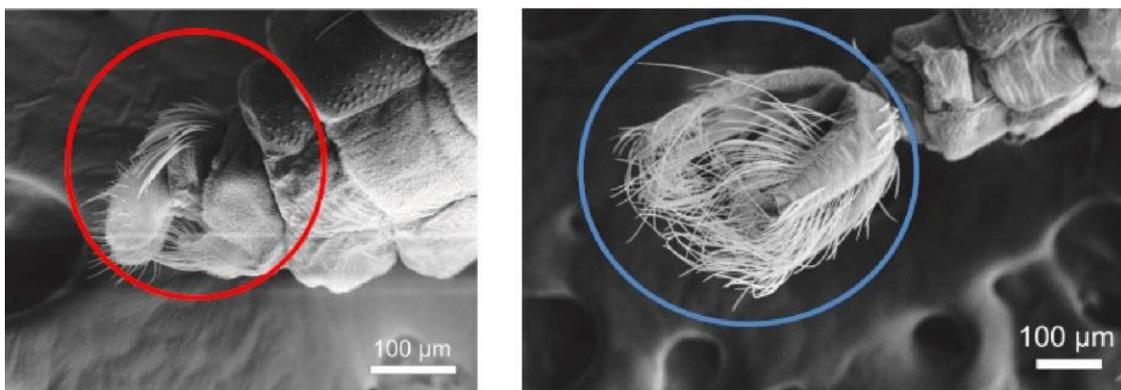
Estudos conservadores consideram a subfamília Phlebotominae com seis gêneros, sendo eles: *Phlebotomus*, *Sergentomyia* e *Chinius* encontrados no Velho Mundo e *Lutzomyia*, *Brumptomyia* e *Warileya* encontrados no Novo Mundo (AKHOUNDI *et al.*, 2016).

Flebotomíneos são insetos de importância médica, de pequeno porte, medindo de 1 a 3 mm, dificilmente atingindo os 5mm. Possuem pernas longas e o corpo com aspecto densamente piloso. Geralmente são de cor parda, o que confere o nome popular de “mosquito palha”. A locomoção caracteriza-se pelo voo saltitante e, ao contrário de muitos dípteros, mantém suas asas eretas quando estão em repouso (FORATTINI, 1973; CARRERA, 1991; YOUNG & DUNCAN, 1994). Os flebotomíneos alimentam-se de frutos, sucos vegetais, néctar de flores, soluções açucaradas e de sangue sendo este de exclusividade da fêmea, já que estas necessitam do sangue para a maturação dos folículos ovarianos. Os carboidratos são utilizados como fonte de energia para o organismo do inseto, servindo para atividades de voo, corte, cópula e dispersão (SHERLOCK, 2003).

Possuem ciclo holometábolo com fase de ovo, quatro estádios larvais, pupa e adulto, sendo que as formas imaturas se desenvolvem em matéria orgânica (GALATI, 2003). Os adultos são alados e indivíduos de uma mesma

espécie apresentam dimorfismo sexual, as principais diferenças estão no último segmento abdominal (FIG. 1), que são modificados para constituir a genitália e nas probóscide, em que a fêmea possui adaptação para picar e sugar (BRAZIL & BRAZIL, 2003). A hematofagia confere às fêmeas grande importância em saúde pública, uma vez que durante o repasto sanguíneo podem se infectar e posteriormente transmitir vírus (phlebovirus e vesiculovirus), bactérias (*Bartonella bacilliformis*) e parasitos protozoários *Leishmania* spp. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), (RANGEL & LAINSON, 2003).

Figura 1. Microfotografia da parte terminal do abdômen de flebotomíneos.



Legenda: Vermelho: Fêmea. Azul: Macho. Genitálias flebotomíneos. Em vermelho genitália da fêmea e azul do macho.

Fonte: Gomes, 2017.

Podem ser encontrados em ambientes rurais, urbanos, silvestres, incluindo as cavernas (GALATI *et al.*, 2003; ALVES *et al.*, 2008, ALVES *et al.*, 2011, CAMPOS *et al.*, 2013). Apresentam atividade crepuscular e noturna, se escondendo durante o dia em rachaduras de rochas, paredes ou madeiras (ALEXANDER, 2000).

A densidade populacional é passível de grande interferência pela variação das estações do ano (OLIVEIRA *et al.*, 2003; ANDRADE, 2010). Períodos chuvosos são relatados em vários estudos como o período de maior reprodução dos flebotomíneos, pela alta umidade que é um fator favorável para o inseto e sua proliferação (SALOMON *et al.*, 2002; BARATA *et al.*, 2004; XIMENES *et al.*, 2006). Por outro lado, outros estudos mostraram redução na frequência de flebotomíneos concomitantemente com altos índices

pluviométricos, mostrando que estes insetos se beneficiam de índices pluviométricos moderados (SOUZA *et al.*, 2004; DIAS *et al.*, 2007). Portanto índices pluviométricos intermediários podem contribuir para a reprodução desses insetos.

2.2 Importância vetorial

As principais espécies envolvidas na transmissão do agente etiológico causador da LV no Brasil são *Lu. longipalpis* e *Lu. cruzi*, sendo que *Lu. longipalpis* possui ampla distribuição pelo país e *Lu. cruzi* está restrito a região centro-oeste do país (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; FALCÃO, *et al.*, 2017).

A espécie *Lu. longipalpis* possui ampla distribuição, tendo maior ocorrência nas regiões nordeste e sudeste do país, sendo encontrada em pelo menos 229 municípios brasileiros, em áreas urbanas de diferentes regiões do país e são raros ou ausentes em regiões frias e úmidas (FILHO, *et al.*, 2017). A mudança brusca de áreas de mata é seguida, por um aumento da densidade desses insetos dentro e ao redor de habitações humanas, aumentando consequentemente os registros de casos de LV humana, evidenciando a capacidade de adaptação deste vetor a ambientes urbanos (DEANE & DEANE, 1954; LAISON & RANGEL, 2005).

No Mato Grosso do Sul, nas cidades de Corumbá e Ladário, evidências ecológicas e epidemiológicas sugeriram *Lu. cruzi* como a espécie responsável pela transmissão de *L. infantum*, e a ausência de *Lu. longipalpis* na região reforçava a hipótese, o que foi posteriormente confirmado (FALCÃO, *et al.*, 2017).

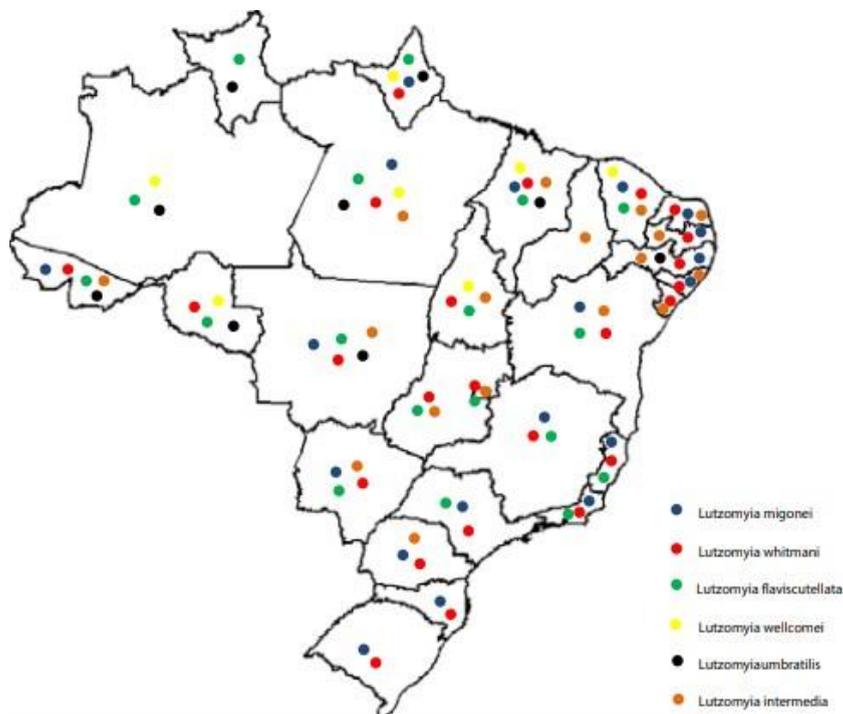
Em outras regiões do país com focos de LV humana, outras espécies têm sido incriminadas na transmissão de *L. infantum*, no estado do Pernambuco foi atribuído a *Mg. migonei* (CARVALHO, *et al.*, 2010; GUIMARÃES, *et al.*, 2016). No estado do Rio Grande do Sul, em regiões com ocorrência de casos de LV humana sem a presença de *Lu. longipalpis*, foram detectado DNA de *L. infantum* em espécimes de *Pintomyia fischeri* (Rêgo, *et al.*, 2020), da mesma forma estudos desenvolvidos na região metropolitana de São Paulo reforçam a hipótese que esta espécie é um vetor de *L. infantum*, principalmente em áreas com ausência de *Lu. longipalpis* (GALVIS-OVALLOS, *et al.*, 2017).

Leishmania infantum já foi identificada em outras espécies de flebotomíneos, como por exemplo em *Ev. cortelezzii*, contudo a capacidade vetorial ainda não foi estabelecida (MARGONARI, *et al.*, 2014).

No Brasil, a LTA é causada por espécies de *Leishmania* que possuem como vetores *Mg. migonei*, *Ny. whitmani*, *Lu. umbratilis*, *Ny. intermedia*, *L. flaviscutellata* e *L. wellcomei*. Estas espécies estão distribuídas em todos os estados do Brasil (FIG. 2). *Lutzomyia flaviscutellata* é o principal vetor de *L. amazonensis* tendo ampla distribuição geográfica, sendo encontradas nos estados do Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins, Bahia, Ceará, Maranhão, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, Espírito Santo, Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro, ocorrendo principalmente em áreas de matas úmidas.

Lutzomyia umbratilis é o principal vetor de *L.(V.) guyanensis*, presentes em copas de árvores e em seus troncos. Esta espécie está restrita à região norte do país. *Leishmania (V.) braziliensis* já foi isolada de *Lu. complexa* e *Lu. wellcomei* no estado do Pará, esta última também é conhecida como o principal vetor no estado do Ceará. Outros estados como Bahia, Mato Grosso do Sul e Paraná o parasito foi isolado da espécie *Ny. whitmani*. Nos estados do Ceará, Pernambuco e Rio de Janeiro, *Mg. migonei* foi identificado como vetor. Na região sul do país *Ny. neivai* é sugerida como vetor e nos estados de Minas Gerais e São Paulo *Ny. intermedia* é a espécie incriminada, sendo encontrada tanto em ambientes de vegetação preservada, como áreas rurais e urbanas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

Figura 2: Distribuição das espécies de flebotomíneos vetores de leishmaniose tegumentar no Brasil.



Fonte: Ministério da Saúde, 2017

2.3 O parasito

Atualmente usa-se classificar as leishmanias que possuem capacidade de infectar o humanos em complexos fenotípicos, em três subgêneros, (LAINSON & SHAW, 1987; ESPINOSA et al, 2018): subgênero *Viannia* que inclui o complexo *braziliensis*, *guyanensis*, *lainsoni*, *naiffi*, tendo o seu desenvolvimento no flebotomíneo em uma região distinta em comparação com o outro subgênero, sendo no intestino posterior do flebotomíneo, aderidos à parede, na região do piloro; subgênero *Leishmania* que engloba o complexo *mexicana*, *mexicana*, *infantum*, *amazonensis*, *hertigi*, se desenvolvem no intestino médio e anterior do flebotomíneo e recentemente descrito o subgênero *Mundinia* por ESPINOSA et al., (2018).

No Brasil já foram identificadas 7 espécies responsáveis por causar LTA, sendo seis do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania*. As três principais espécies são: *L. (V.) braziliensis*, *L.(V.) guyanensis* e *L.(L.) amazonensis* e, recentemente, as espécies *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.)*

lindenberg e *L. (V.) shawi* foram identificadas em estados das regiões Norte e Nordeste (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). No Brasil, o agente etiológico da LV é *L. infantum*, que pode acometer mamíferos domésticos e silvestres, os quais são considerados reservatórios potenciais da doença (BRASIL, 2006).

2.5 Leishmanioses

A transmissão do parasito para os vertebrados ocorre por meio da picada de fêmeas de flebotomíneos pertencentes a diversos gêneros da subfamília Phlebotominae infectadas com o parasito. As leishmanioses estão entre as principais doenças negligenciadas transmitidas por vetores, que podem ocasionar lesões cutâneas, mucocutâneas, além de manifestações viscerais que se não tratadas podem ser fatais. Globalmente 700 mil a 1,200 milhões de novos casos de LTA ocorrem a cada ano, enquanto que para a LV 200.000 a 400.000 mil novos casos e mais de 20.000 mortes são relatadas por ano, sendo que 95% de todos os casos fatais são relatos em apenas seis países, são eles: Índia, Bangladesh, Sudão, Nepal, Etiópia e Brasil (OMS, 2018).

2.5.1 Leishmaniose Visceral (LV)

A LV está em segundo lugar em mortalidade e quarto em morbidade entre as doenças negligenciadas, a maioria dos casos, cerca de 90% é relatado em três focos endêmicos: Índia, África Ocidental e Brasil (BURZA, *et al.*, 2018). Iniciativas já foram tomadas nestes países para a eliminação da doença, como o controle dos vetores e o tratamento quimioterápico dos doentes, porém não obtiveram sucesso, devido principalmente ao papel de animais infectados na forma assintomática e seu papel como reservatório, são levantados como a principal causa para o atraso no controle da doença (SINGH, *et al.*, 2016). Em países como a África que apresenta altos índices de coinfeção com HIV, o tratamento para LV torna-se um grande desafio (AKUFFO, *et al.*, 2018).

A LV, também conhecida como calazar, é causada pela *Leishmania infantum* nas Américas. É considerada endêmica no nordeste do Brasil, mas apresenta ampla distribuição geográfica pelo país. Os sintomas clássicos da doença surgem após um período de incubação de dois a seis meses, são eles;

febre, astenia, perda de peso, hepatoesplenomegalia, e pancitopenia e sem tratamento pode evoluir ao óbito (ALOUPOGIANNIS, *et al.*, 2017).

A doença geralmente afeta principalmente crianças, idosos, indivíduos imunossuprimidos e pessoas com HIV (SPYR, *et al.*, 2016). A LV tem mostrado descobertas clínicas e epidemiológicas inesperadas com reservatórios incomuns, como uma lebre na região do mediterrâneo. Do ponto de vista clínico, estudos têm mostrado a capacidade de *Leishmania* infectar quase qualquer órgão, incluindo pele, mucosa gastrointestinal e oral, e também pulmão, pericárdio, pleura e linfonodos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

2.5.2 Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA)

Segundo o Ministério da Saúde (2017) a LTA ocorre em todos os estados do Brasil, sendo mais comuns nas regiões norte e nordeste. As lesões ocorrem em áreas expostas do corpo no local da picada, sendo mais comuns no pescoço, face e membros. As lesões são de difícil tratamento, representando um sério agravo na saúde dos infectados (BARRAL *et al.*, 1991).

A LTA não é considerada uma doença fatal, porém pode apresentar um amplo espectro clínico de lesões cutâneas localizadas, únicas ou múltiplas, além de lesões difusas e mucosas graves. A LTA pode levar a morbidades que estão associadas com deformações físicas graves e efeitos psicológicos. O difícil tratamento da doença está relacionado com a toxicidade das drogas existentes usadas. Ainda não se tem um medicamento ideal para o tratamento de LTA, apesar de diversos estudos estarem buscando um consenso para melhorias no tratamento (REVEIZ, *et al.*, 2013).

No Brasil a LTA apresenta uma alta prevalência e uma grande expansão territorial. Em Minas Gerais os casos estão distribuídos principalmente entre os municípios localizados no norte do estado e na região metropolitana de Belo Horizonte. Nos 853 municípios do estado, se tem registro de LTA em 672 (78,7%), com algumas regiões tendo maior concentração de casos, enquanto outras apresentam casos isolados (SECRETARIA DO ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS, 2013).

A LTA tem uma forte relação com o ambiente silvestre, os casos estão relacionados principalmente ao sexo masculino que realizam atividades profissionais nestas áreas, como a atividade de pesquisa em florestas tropicais,

extração de madeira, práticas agrícolas, entre outras (PÉREZ, *et al.*,2015). Porém também pode ser observada em regiões com condições socioeconômicas precárias (ALENCAR, *et al.*, 2019).

2.6 Ecoturismo

O turismo pertence às atividades econômicas mais importantes na atualidade, segundo a Organização Mundial do Turismo (OMT), está entre os três principais setores de movimentação financeira no mundo(OMT,2020). Um importante segmento do turismo que vem se expandindo muito rapidamente nos últimos anos é a visitação de áreas naturais. Este tipo de turismo exige infraestrutura e, sem um preparo ambientalmente e socialmente responsável, ambientes como rios, cachoeiras e cavernas podem sofrer impactos irreversíveis (PEREIRA, 1999). A visitação a cavernas, do ponto de vista da atividade eco turística, torna-se um interessante e peculiar tipo de paisagem a ser visitada. Fato esse que tem levado ao aumento significativo de procura por esta modalidade de ecoturismo (FIGUEIREDO, 1998).

O ecoturismo é o segmento que apresenta maior taxa de crescimento segundo a organização mundial de turismo, enquanto o turismo cresce 7,5% ao ano, o ecoturismo cresce por volta de 20%, sendo estimado que 10% de todo o turismo mundial tenha como demanda o turismo ecológico, portanto tendo um aumento contínuo de procura por esses destinos (OMT,2020).

É necessária a existência de um projeto antes de se iniciar o turismo em uma determinada região, para que os profissionais possam ordenar as ações do homem sobre o território e a implantação do uso racional daquele espaço, tendo sempre em vista o conhecimento detalhado das particularidades do quadro natural, e da potencialidade dos recursos naturais, objetivando melhor qualidade de vida para a população local, estabelecendo por outro lado limites, à expansão do turismo (SILVA, 1995).

Em países tropicais como o Brasil o ecoturismo é uma indústria emergente com potencialidades econômicas. Tal prática aumenta o número e atividades de pessoas em ambiente selvagem, em busca de atrações como cachoeiras e cavernas, sendo assim torna-se necessário a realização de mais estudos sobre o impacto dessas visitas em áreas onde os vetores estão presentes, tanto no que se refere ao impacto ambiental quanto ao impacto à

saúde dos visitantes (ANDRADE *et al.*, 2009). Neste sentido, as práticas de visitação em cavernas devem ser relacionadas a programas de educação ambiental, transmitindo conhecimento sobre o meio espeleológico e cativando os turistas para a conservação da mesma, ao mesmo tempo que deve orientar sobre os riscos à saúde e as formas de prevenção (OLIVEIRA, 2007). Para tal, o uso de cartilhas e folhetos impressos são úteis para o caráter informativo, principalmente para as crianças, uma vez que reforçam mensagens que foram aprendidas em outros meios, como na escola, na mídia e outros veículos de comunicação, podendo assim utilizar as cavernas também como um trabalho de ensino-aprendizado (SILVA, 2014).

2.7 Ambiente Cavernícola

As cavernas são consideradas ambientes estáveis quando comparadas com o ambiente externo. Apresentam ausência de luz nas áreas mais internas e pouca variação de umidade e temperatura, apresentando também condições oligotróficas, sendo habitats únicos, habitados por uma biota única e singular (POULSON & WHITE 1969, TRAJANO e GNASPINI-NETTO 1991).

Os organismos cavernícolas são classificados em três categorias: Troglóbios que são aqueles organismos restritos às cavernas, portanto não conseguem manter populações viáveis fora deste ambiente e por isso apresentam diversas modificações morfológicas, fisiológicas e comportamentais; Troglófilos são organismos adaptados às cavernas, mas podem ser considerados cavernícolas facultativos, já que conseguem realizar todo o seu ciclo de vida dentro da caverna, como fora dela e os troglóxenos que são aqueles organismos que utilizam a caverna como abrigo, refúgio, local de alimentação ou reprodução, mas que necessariamente precisa sair do ambiente cavernícola para completar seu ciclo de vida (HOLSINGER & CULVER 1988).

Estudos realizados dentro de cavernas têm mostrado resultados interessantes, tais como, registros de novas espécies de flebotomíneos (Galati *et al.*, 2003, ALVES *et al.*, 2008, CARVALHO *et al.*, 2013). Estudos envolvendo a fauna flebotomínica em cavidades no Brasil, sejam elas calcárias, areníticas e principalmente as quartzíticas são bastante raros (TEODORO *et al.*, 2021).

Flebotomíneos com hábitos cavernícolas apresentam alterações em seu ciclo circadiano, apresentando atividade durante o período diurno, provavelmente para aumentar suas chances de se alimentarem no período em que há maior disponibilidade de alimento neste ambiente, já que a presença de mamíferos em cavernas é maior durante este período, principalmente pelas populações numerosas de morcegos que se abrigam em cavernas (CAMPOS, *et al.*, 2016).

O estudo de flebotomíneos em cavernas têm demonstrado alta densidade desses insetos, sendo iguais ou maiores do que as encontradas em áreas florestais e uma composição de espécies distintas entre caverna e seu entorno (GALATI, *et al.*, 2003; ALVES, *et al.*, 2008; CARVALHO, *et al.*, 2013). Acredita-se que algumas espécies utilizam esse ambiente como abrigo temporário ou para procriação, no entanto outras podem ser exclusivas deste ambiente (OGAWA, *et al.*, 2016). Mais de 280 espécies de flebotomíneos são registradas no Brasil (GALATI, 2018) e destas 84 já foram encontradas em cavernas, sendo uma delas considerada troglóbio, com adaptações que permitem viver exclusivamente neste ambiente (CARVALHO, *et al.*, 2013; ALVES, *et al.*, 2011).

Espécies como *Lu. longipalpis*, *Lu. renei*, *Lu. cavernicola*, são comumente encontradas em cavernas. No estado de Minas Gerais foram encontradas, em alta densidade, em grutas no município de Pains (CAMPOS, *et al.*, 2016). A maioria das espécies são consideradas troglófilos, porém outras espécies como *Ev. spelunca*, descrita recentemente, encontrada em uma gruta no município de Lassance, apresenta características que lhe permitem viver exclusivamente no meio subterrâneo. A maior e mais diversificada fauna de flebotomíneos em cavernas é encontrada na região ecotonal de cavernas, relacionado à maior disponibilidade de alimento (hospedeiros vertebrados e vegetação) (CARVALHO, *et al.*, 2013).

Espécies incriminadas na transmissão de *Leishmania*, como *Lu. longipalpis*, *Ny. intermedia*, *Ny. neivai*, *Ny. whitmani*, *Mg. migonei*, merecem destaque por serem encontradas em ambientes cavernícolas, circulando nas regiões de entrada e nos arredores das cavidades. Em períodos secos já foi observado uma maior captura no número de espécimes dentro da cavidade e nos períodos de maior umidade o inverso acontece (CARVALHO, *et al.*, 2013).

Algumas espécies são capturadas apenas no período diurno, outras apenas no período noturno e outras em ambos os períodos dentro da cavidade. Coletas realizadas em zonas afóticas não demonstraram diferenças significativas entre período diurno e noturno (ALVES, *et al.*, 2011).

Muitas cavernas antes mesmo de serem estudadas, estão abertas à visitação e atividades econômicas, além disso, não contam com nenhum tipo de monitoramento científico, podendo acarretar em grande perda da informação biológica e ecológica (CAJAIBA, 2014). Considerando a expansão do ecoturismo, o monitoramento de áreas das cavernas usadas por turistas é fundamental para facilitar o manejo preventivo da transmissão das leishmanioses (BARATA & APOLINÁRIO 2012).

Estudos para explorar, mapear e catalogar cavernas são importantes para a preservação, proteção e detecção de impactos sofridos por esse ambiente em decorrência de atividades antrópicas (SENNA, *et al.*, 2013).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Investigar a fauna de flebotomíneos em cavernas calcárias, no município de Pains, MG.

3.2 Objetivos Específicos

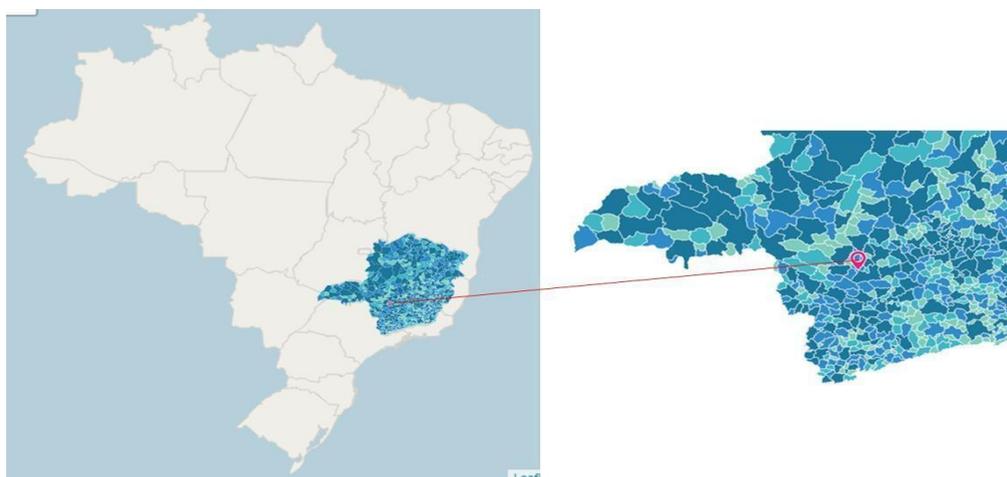
- Caracterizar a diversidade e abundância de espécies de flebotomíneos nas cavernas e arredores.
- Comparar a fauna de flebotomíneos em cavernas próximas a área urbana e em cavidades na zona rural do município de Pains, MG.
- Investigar a distribuição de flebotomíneos em diferentes regiões fóticas.

4. Material e Métodos

4.1 Área de Estudo

Pains está situado no centro-oeste do estado de Minas Gerais, a 230 km de Belo Horizonte, com uma população estimada de 8.296 habitantes. Possui uma área geográfica de 421.862 km², com uma densidade demográfica de 19 habitantes por km² (FIG. 3), (IBGE, 2021). O município apresenta 1.549 cavernas cadastradas e está situado na região cárstica de Arcos, Pains e Doresópolis, inserido no principal grupo carbonático brasileiro, o Grupo Bambuí. A vegetação se enquadra nos biomas de floresta estacional decidual e do cerrado (TEIXEIRA, *et al.*, 2003), tendo a maior parte de sua floresta estacional decidual preservada, graças a morfologia do relevo desfavorável para o uso agrícola, enquanto o cerrado se apresenta em manchas esparsas devido ao grande avanço das atividades econômicas. Apresenta belas paisagens, com um grande número de cavidades naturais em seu território, com grande potencial espeleológico e turístico. A área sofre com impactos antrópicos, principalmente pela calcinação, mineração e agricultura, gerando uma alteração no ecossistema local, podendo resultar em uma maior expansão das leishmanioses, uma vez que estas atividades geram degradação ambiental e consequente aproximação do vetor a áreas urbanas.

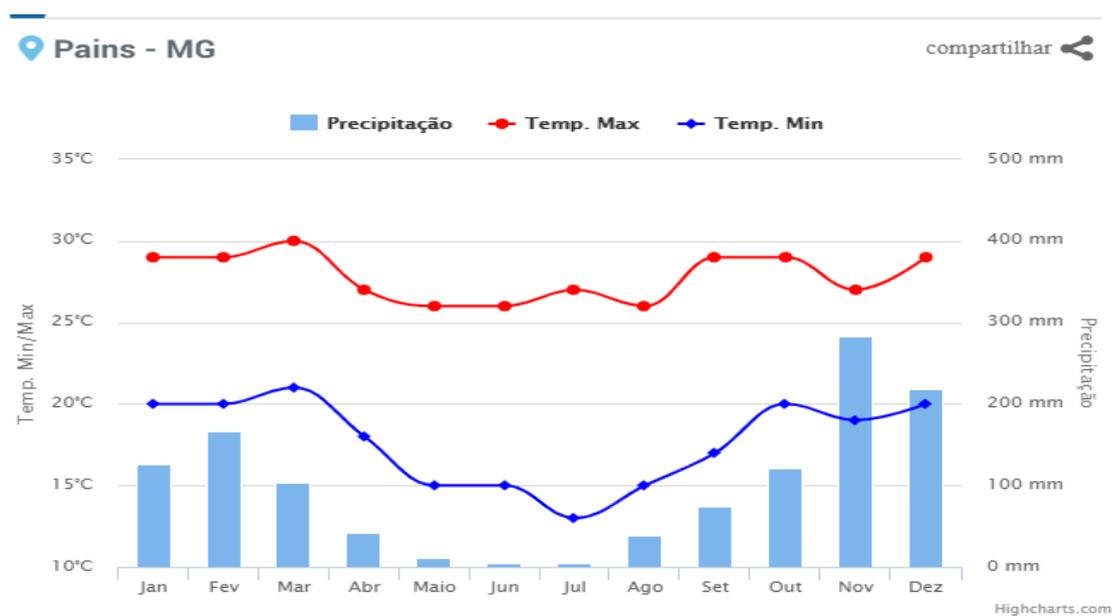
Figura 3: Mapa do Brasil com ênfase para o estado de Minas Gerais com destaque no município de Pains.



Fonte: IBGE, 2021

Pains apresenta clima quente e temperado com maiores índices pluviométricos no verão, assim como temperaturas mais elevadas. Os meses de maio a setembro apresentam temperaturas mais baixas, assim como índices pluviométricos inferiores, apresentando duas estações bem definidas (FIG. 4).

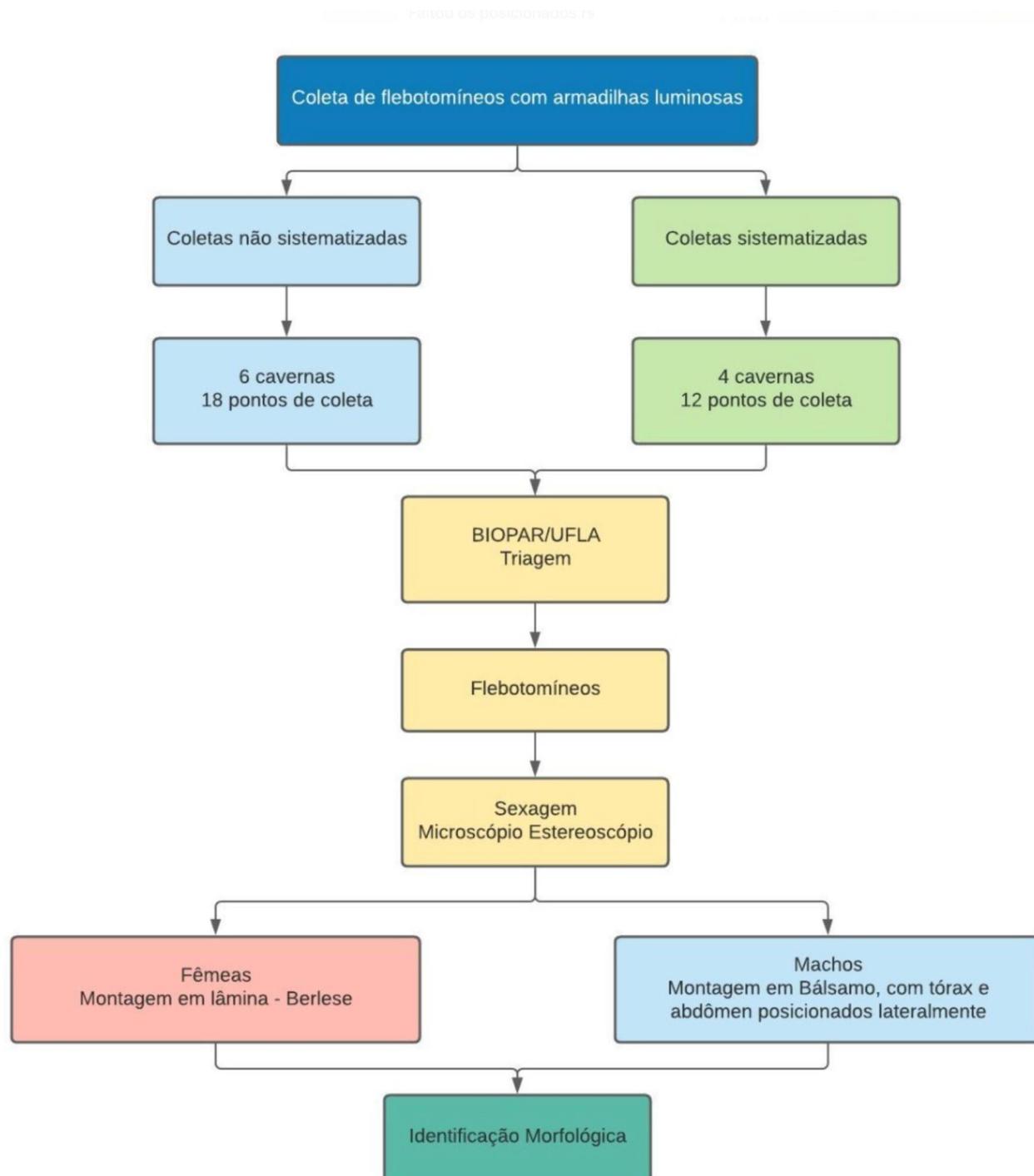
Figura 4: Média dos índices pluviométricos e de temperatura dos últimos 30 anos no município de Pains, MG, Brasil.



Fonte: Climatempo, 2020

4.2 Delineamento do estudo

Figura 5: Delineamento do estudo.

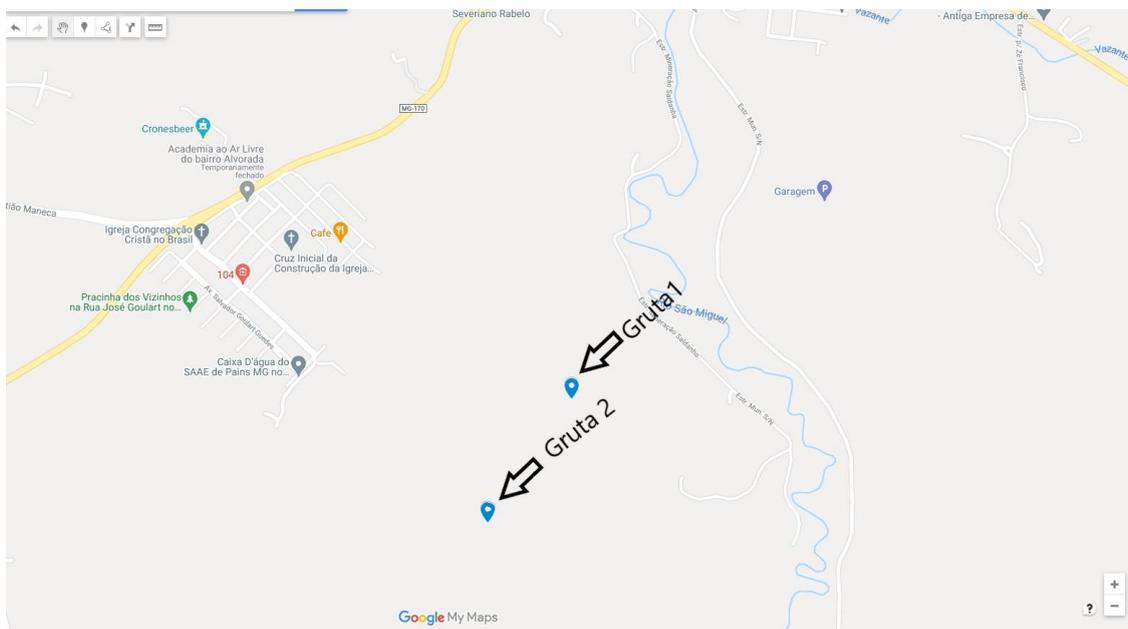


4.2.1 Coletas não sistematizadas

Duas coletas pilotos foram realizadas nos meses de outubro e novembro de 2019, em seis cavernas calcárias no município de Pains, MG, utilizando 12 armadilhas luminosas do tipo HP em cada mês, o que resultou 18 pontos diferentes de coleta, em um esforço amostral de 1.296 horas durante este período, as perdas pelo mal funcionamento das armadilhas foram considerados. As armadilhas operaram por três dias consecutivos, sendo colocadas em regiões afóticas no interior da cavidade, na sua entrada e na área de vegetação próxima as cavernas, todas colocadas a aproximadamente um metro do chão, em locais protegidos da chuva e a uma distância de 15 a 20 metros entre os pontos de coleta em uma única caverna.

No mês de outubro de 2019, as coletas foram realizadas em quatro cavernas próximas a área urbana de Pains, na Gruta do Isaias, gruta Sorvetão e duas delas, localizadas no bairro Alvorada, a uma distância aproximada de 150 metros do bairro, são cavernas não nomeadas, com apenas uma entrada ampla, com presença de morcegos e grande quantidade de guano nas regiões de entrada e interior das cavidades. A gruta 1 possui região afótica a 20 metros de sua entrada, enquanto a gruta 2 possui a presença de uma claraboia, a 15 metros de sua entrada, o que impede que a caverna possua uma região afótica.

Figura 6: Localização aproximada das grutas localizadas no Bairro Alvorada, no município de Pains, MG, Brasil.



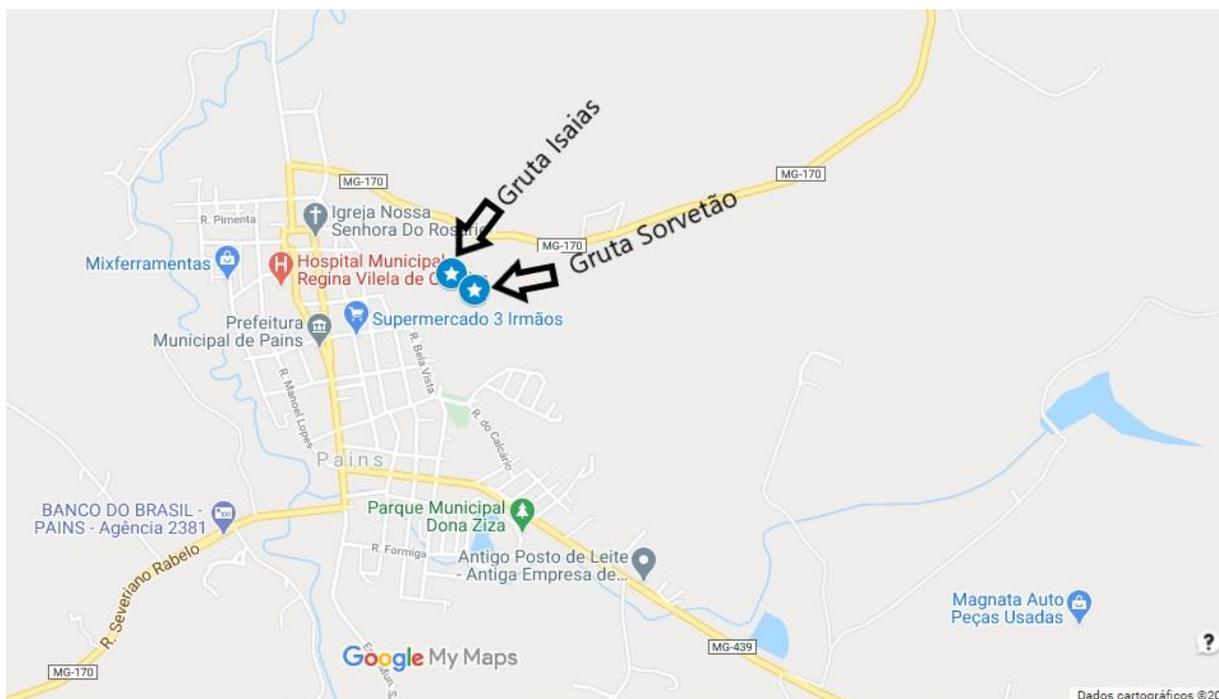
Fonte: Google Maps, 2020.

A Gruta do Isaias e a Gruta Sorvetão estão a 250 metros do centro do município, em uma área de vegetação densa.

A Gruta do Isaias possui duas entradas, sendo uma entrada ampla, com zona afótica a 20 metros de sua entrada, apresenta formações de espeleotemas, principalmente de estalactites e estalagmites.

A Gruta Sorvetão está localizada em meio a fendas rochosas, possui uma entrada ampla, zona afótica a 15 metros de sua entrada, e um desnível abrupto a 20 metros de sua entrada.

Figura 7: Localização das grutas do Isaias e Sorvetão, no município de Pains, MG, Brasil



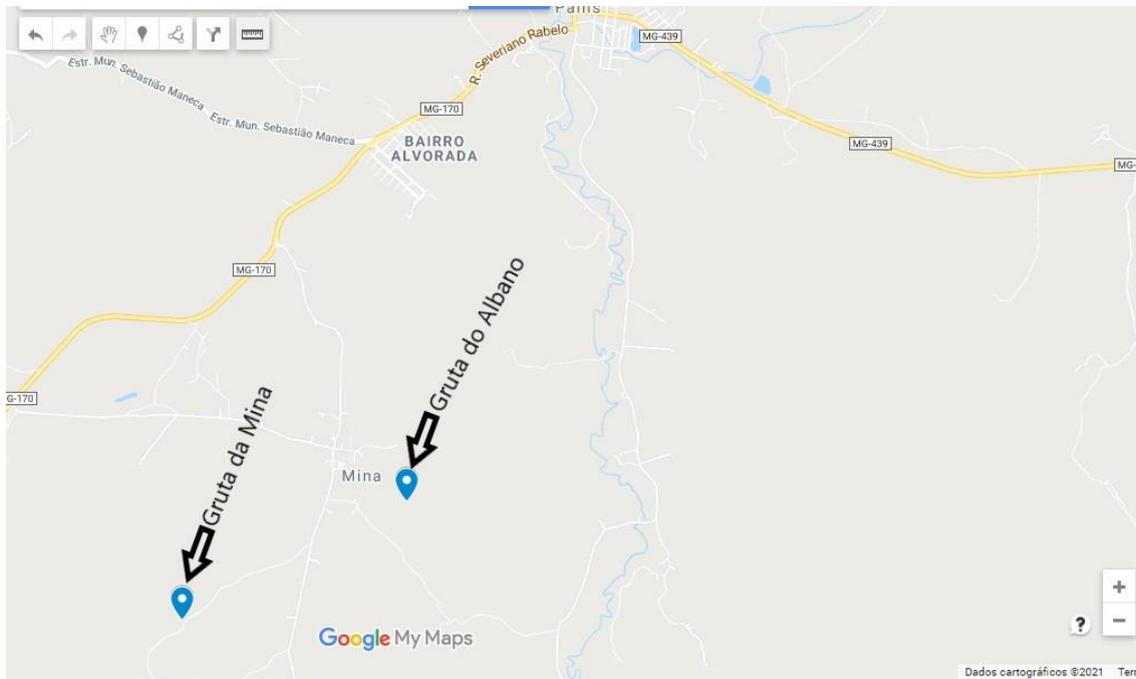
Fonte: Google Maps, 2021.

No mês de novembro de 2019 as coletas foram realizadas na Gruta do Isaias, Gruta sorvetão, Gruta do Albano e Gruta da Mina, as duas últimas localizadas próximas a zona rural da mina do município de Pains (FIG. 8).

A gruta do Albano se encontra em propriedade rural, em um pequeno fragmento de mata preservado, é uma caverna de mais de 300 metros de extensão, com uma entrada, zona afótica a 15 metros de sua entrada e com um grande número de espeleotemas, com inúmeras represas de travertinos, estalactites e estalagmites.

A gruta da Mina também se encontra em propriedade rural, possui 2 entradas, sendo uma entrada estreita e uma entrada ampla, com zona afótica a 20 metros de sua entrada, abriga uma grande população de morcegos, e belas formações de espeleotemas.

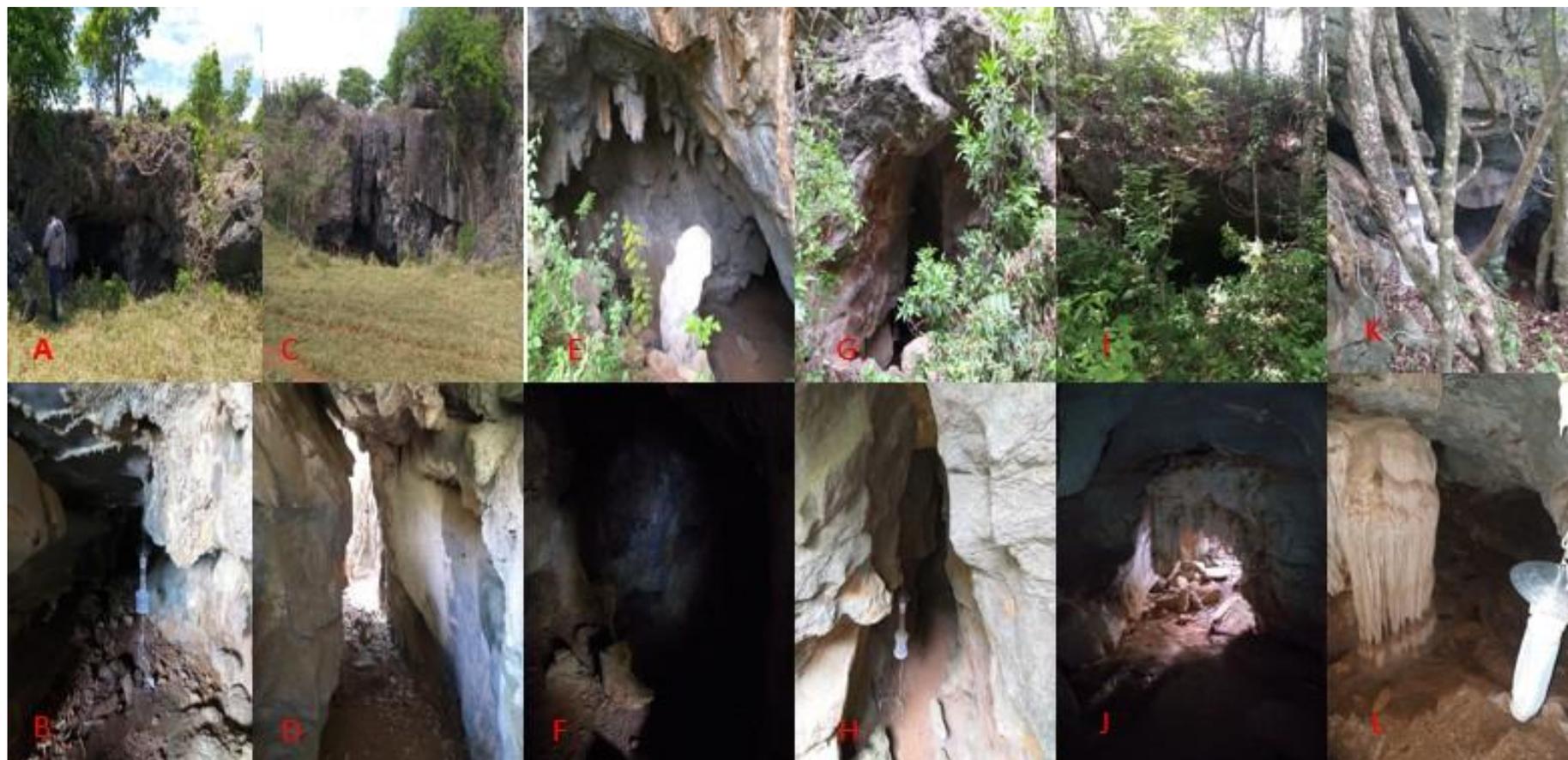
Figura 8: Localização das grutas do Albano e gruta Mina, no município de Pains, MG, Brasil.



Legenda: Esquerda: Gruta da Mina; Direita: Gruta do Albano

Fonte: Google Maps, 2021.

Figura 9: Cavernas estudadas no município de Pains, MG.



Legenda: A e B, entrada e interior gruta 1; C e D, entrada e interior gruta 2; E e F, entrada e interior gruta Isaias; G e H, entrada e interior gruta Sorvetão; I e J, entrada e interior gruta da Mina; K e L, entrada e interior gruta do Albano. Fonte: Do autor, 2019

4.2.2 Coletas sistematizadas

Para realização das coletas sistematizadas foi estabelecido que as coletas fossem realizadas mensalmente entre os meses de outubro de 2020 a março de 2021, período em que os dados históricos de temperatura e precipitação apresentam maiores índices (FIG. 5), sendo portanto esperado coletar uma maior densidade de flebotomíneos devido às condições climáticas presentes no município de Pains, MG durante estes seis meses. Foram selecionadas quatro grutas: Gruta do Isaias, Gruta sorvetão, Gruta da Mina e Gruta do Albano, sendo duas delas próximas ao centro urbano de Pains, ameaçadas pelo crescente aumento de áreas de loteamento no local, diminuindo o fragmento de mata onde estão presentes. As duas últimas cavernas estão na zona rural do município, em propriedades privadas rurais, a 4km do centro de Pains.

Para as capturas foram utilizadas 12 armadilhas luminosas do tipo HP, sendo três armadilhas por caverna, em um esforço amostral de 5040 horas, considerando perdas por mau funcionamento das armadilhas. Estas foram dispostas a aproximadamente um metro do chão, protegidas da chuva, e operaram por três dias consecutivos. Em cada caverna as armadilhas serão instaladas em locais com características distintas: (a) dentro da caverna em regiões afóticas; (b) uma na região fótica na entrada da caverna e (c) uma nos arredores da caverna a aproximadamente 15 metros de sua entrada.

Após captura o material entomológico foi encaminhado para o Laboratório de Biologia Parasitária da Universidade Federal de Lavras (BIOPAR/UFLA). Os insetos foram eutanasiados em freezer a uma temperatura de -4°C e realizada a triagem para separação dos flebotomíneos dos demais insetos capturados, utilizando pincel e microscópio estereoscópio. As fêmeas foram transferidas para microtubos e armazenadas em freezer a -20°C até o momento da dissecação, e montagem. Os machos foram armazenados em tubo contendo álcool 70% até o momento da preparação e montagem.

4.3 Identificação Morfológica dos Flebotomíneos

Os espécimes foram preparados e montados de acordo com técnicas de rotina validadas para a identificação de espécies de flebotomíneos. Os espécimes machos foram imersos em solução de hidróxido de potássio 10% por 12 horas a 24 horas. Na sequência foi realizada uma passagem por ácido acético 100% e posteriormente ácido acético 10% por 15 minutos; três séries de 10 minutos cada, em álcool 70%, 90%, 95% e absoluto; finalizando com a imersão em Eugenol por 24h e montados em lâminas com bálsamo de Canadá (SARAIVA, 2008), com a cabeça voltada para a direita, com a face dorsal voltada para cima, o tórax e o abdômen montados lateralmente, com as pernas e asas distendidas.

As fêmeas foram montadas em berlese e a identificação específica das espécies foi realizada pelo exame do cibário e espermatecas, situadas no último segmento abdominal. No momento da dissecação a parte ventral da cabeça é colocada voltada para cima a fim de permitir a visualização de características taxonômicas presentes no cibário e o abdômen montado em posição ventral. A identificação específica dos espécimes foi realizada de acordo com o proposto por GALATI (2003).

4.5 Caracterização da área de estudo.

Para a aferição das temperaturas e umidade relativa foi utilizado um termo-higrômetro digital por caverna durante o período em que foram colocadas as armadilhas. Foram consideradas três zonas ambientais distintas: zona de entrada, onde os ambientes epígeos e subterrâneos encontram; zona de penumbra, onde a luz diminui progressivamente e zona afótica.

4.6 Aspectos éticos

O presente estudo foi submetido e aprovado pelo SISBIO - Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade sob o número: 66920/1.

4.7 Análise dos resultados

Os dados foram organizados em planilhas e as análises descritivas foram registradas no programa Microsoft® Excel Office 2016 e as análises estáticas foram realizadas no programa DivEs® e Excel.

Para a análise das temperaturas e umidade relativa nas cavernas durante a montagem das armadilhas, foi feita a média da umidade e temperatura medida por um termohigrômetro digital dentro das cavernas durante os meses de outubro de 2020 a março de 2021 e calculado o desvio padrão.

A análise faunística foi baseada em Silveira Neto *et al.* (1976). Sendo estimados os seguintes parâmetros:

Frequência: Proporção de flebotomíneos de uma espécie em zonas afóticas em relação ao total de indivíduos da espécie em todos os pontos amostrados: $p = n/N$, onde n é o número de indivíduos da espécie que ocorreram em zonas afóticas e N total de indivíduos da espécie em todas as áreas amostradas.

Constância: Porcentagem de amostras em zonas afóticas em que uma determinada espécie esteve presente. $c = p.100/N$, onde p : número de amostras em zonas afóticas com a espécie e N : número total de amostras em zonas afóticas.

Classificação das espécies quanto a constância:

Espécie constante: presente em mais de 50% das amostras.

Espécie acessória: presente em 25-50% das amostras.

Espécie acidental: presente em menos de 25% das amostras.

Riqueza (S) número total de espécies observados na comunidade.

Abundância: Número total de indivíduos e cada espécie em relação ao total.

A razão macho/fêmea foi obtida considerando cada espécie, pela proporção entre o total de espécimes de cada sexo, no total de exemplares de ambos os sexos de uma determinada espécie.

Para a verificação da riqueza de espécies relacionadas ao esforço de coleta, os dados foram interpretados com a curva do coletor através do software EstimateS.

O cálculo do índice de diversidade foi feito utilizando o índice de Simpson (Ds) para cada ponto de coleta. O valor estimado varia de 0 a 1, sendo que valores próximos a 1, se considera a diversidade maior. Para tanto, foi utilizado o programa DivEs® – Diversidade de Espécies, versão 4.1. A diversidade de Simpson é estimada através da seguinte equação:

$$D_s = 1 - \frac{\sum n(n-1)}{N(N-1)}$$

Onde:

n= número de indivíduos na espécie

N= total do número de indivíduos.

5. Resultados e Discussão

5.1 Coletas não sistematizadas

Durante os meses de outubro e novembro de 2019, foi capturado um total de 42 flebotomíneos, em quatro cavernas, sendo 22 machos e 21 fêmeas. No mês de outubro foram capturados 20 espécimes e no mês de novembro 22. A gruta do Isaias apresentou a maior densidade de flebotomíneos com 18 espécimes e a localidade com maior taxa de captura foi nos arredores das cavernas com 23 insetos coletados (Tabela 1).

Tabela 1: Espécies de flebotomíneos capturadas em 4 cavernas, no município de Pains, MG, durante o período de outubro e novembro de 2019.

Cavernas	Arredor	Entrada	Zona afótica	Total
<i>Isaias</i>	18	0	0	18
<i>Sorvetão</i>	3	2	0	5
<i>Mina</i>	0	0	4	4
<i>Gruta 2</i>	2	8	5	15
Total	23	10	9	42

Fonte: Do autor (2020).

De 42 espécimes de flebotomíneos coletados, 27 foram identificadas até nível de espécie, sendo 17 machos e 10 fêmeas identificadas, pertencentes a 6 diferentes espécies (Tabela 2).

Tabela 2: Espécies de flebotomíneos identificadas

Espécie	Macho	Fêmea	Total
<i>Brumptomyia brumpti</i>	5	0	5
<i>Expapillata firmatoi</i>	0	2	2
<i>Lutzomyia cavernicola</i>	2	2	4
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	7	4	11
<i>Micropygomyia quinquefer</i>	1	1	2
<i>Sciopemyia sordellii</i>	2	1	3
Total	17	10	27

Fonte: Do autor (2020).

A espécie *Lutzomyia longipalpis* é a principal espécie incriminada na transmissão de LV (YOUNG & DUNCAN, 1994) e foi a única espécie, coletada

em mais de uma caverna, sendo encontrada na gruta do Isaias e Gruta 2 localizada no bairro alvorada, sendo que ambas as cavernas estão próximas a área urbana de Pains. Na gruta da Mina foi coletado um flebotomíneo da espécie *Sciopemyia sordellii*, enquanto na gruta do sorvetão foram encontradas as espécies *Brumptomyia brumpti* e *Expapillata firmatoi*. Espécimes de *Lutzomyia cavernicola* e de *Micropygomyia quinquefer* foram coletados na gruta localizada no bairro alvorada.

A espécie *Ex. firmatoi* é uma espécie silvestre altamente antropofílica (GALATI, *et al.*, 2010), sendo sugerido sua participação na transmissão de *L. infantum* e *L. braziliensis* no estado do Rio de Janeiro (SOUZA, *et al.*, 2003). Espécimes de *Br. brumpti* foram coletadas nos arredores e entrada das cavernas, essa é uma espécie frequentemente encontrada em ambientes urbanos e rurais, até o momento nenhuma espécie do gênero representa preocupação epidemiológica na transmissão de protozoários do gênero *Leishmania* (BARRIOS, *et al.*, 2019).

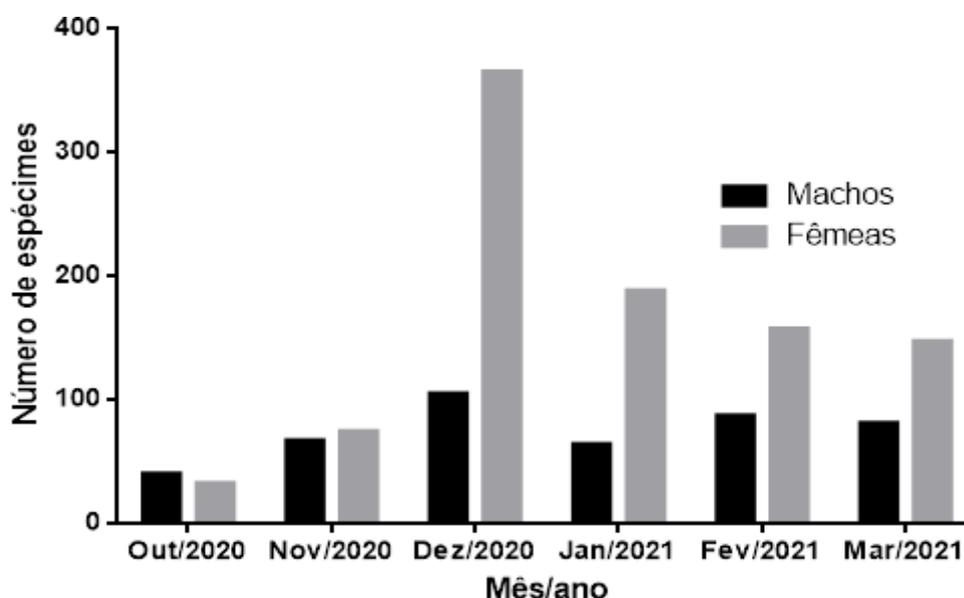
Das espécies coletadas apenas o *Lu. longipalpis* é uma espécie comprovada para a transmissão de espécie de *Leishmania*. As demais espécies coletadas neste estudo não apresentam importância médica para a transmissão de *Leishmania*, mas são espécies comumente encontradas em ambiente cavernícola (CAMPOS, *et al.*, 2016).

5.2 Coletas sistematizadas

Nos seis meses de coleta, entre outubro de 2020 a março de 2021 foi coletado um total de 1402 flebotomíneos, sendo 963 (68,7%) fêmeas e 439 (31,3%) machos (FIG. 10) apresentando uma razão sexual macho/fêmea 0,45:1. O elevado número de fêmeas coletadas merece atenção, devido ao fato de que somente estas são hematófagas, o que sugere a proximidade de fonte alimentar nos ambientes coletados. Ademais, há que se ressaltar que em função da hematofagia, as fêmeas possuem uma importância adicional, relacionada à possibilidade de transmissão de patógenos. Estudos recentes, sobretudo no que tange ao Sars-Cov-2, têm discutido a importância do "spillover", ou seja, transbordamento de patógenos, que conseguem se adaptar em um hospedeiro diferente (ZHOU & SHI, 2021). Contudo, esta adaptabilidade é descrita para outros patógenos, como *Leishmania*. Os

cenários de aptidão do patógeno mudam quando os ciclos de transmissão se estabelecem em ambientes não nativos ou se espalham para novos vetores e hospedeiros (BOITÉ, *et al.*, 2019). Assim, a elevada incidência de fêmeas em locais ricos em mamíferos, pode contribuir para o transbordamento de espécies de *Leishmania*. De forma semelhante, outros estudos realizados em cavernas verificaram maior incidência de fêmea, mesmo quando se utiliza apenas armadilhas luminosas (ALVES, *et al.*, 2011; CARVALHO, *et al.*, 2013; CAMPOS, *et al.*, 2016).

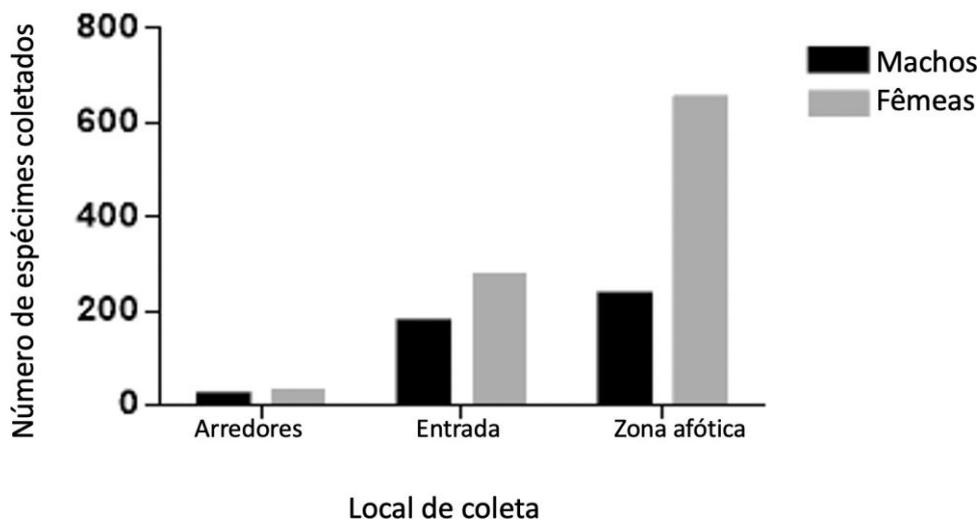
Figura 10: Distribuição de flebotomíneos fêmeas e machos coletados em cavernas e nos seus arredores em Pains, MG.



Fonte: Do autor (2021).

O maior número de espécimes foi coletado em zona afótica, com um total de 891 (63,5%) flebotomíneos, seguido das regiões de entrada com 456 (32,5%) flebotomíneos e em menor número nos arredores das cavernas 55 (4%) (FIG. 11).

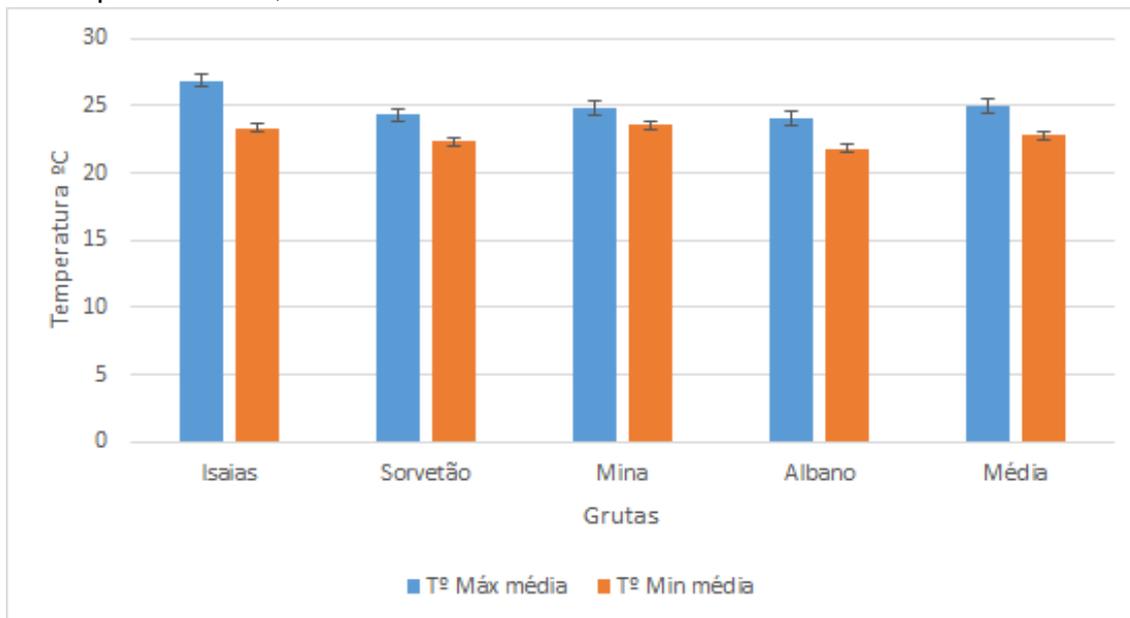
Figura 11: Distribuição de flebotomíneos coletados nos arredores, entrada e zona afótica de cavernas no município de Pains, MG.



Fonte: Do autor (2021)

A média de temperatura de todas as cavidades foi de 23,89°C (FIG. 12), sendo a mínima de 21,82°C e a máxima de 26,88°C. Estudos laboratoriais demonstraram que temperaturas próximas a 25°C são consideradas ótimas para o desenvolvimento de flebotomíneos (CASANOVA, 2001; BRAZIL & BRAZIL 2003; GALATI *et al.*, 2008). À análise do ambiente externo às cavernas verificou-se temperaturas máximas de até 35°C e mínimas de 21°C, essa menor estabilidade ambiental com grande variação de temperatura, já foi registrada em outro estudo alterando negativamente a dinâmica de populações de flebotomíneos (DIAS, *et al.*, 2007)

Figura 12: Variação das médias de temperatura máxima e mínima, no período de outubro de 2020 a março de 2021, em 4 cavernas calcárias localizadas no município de Pains, MG.



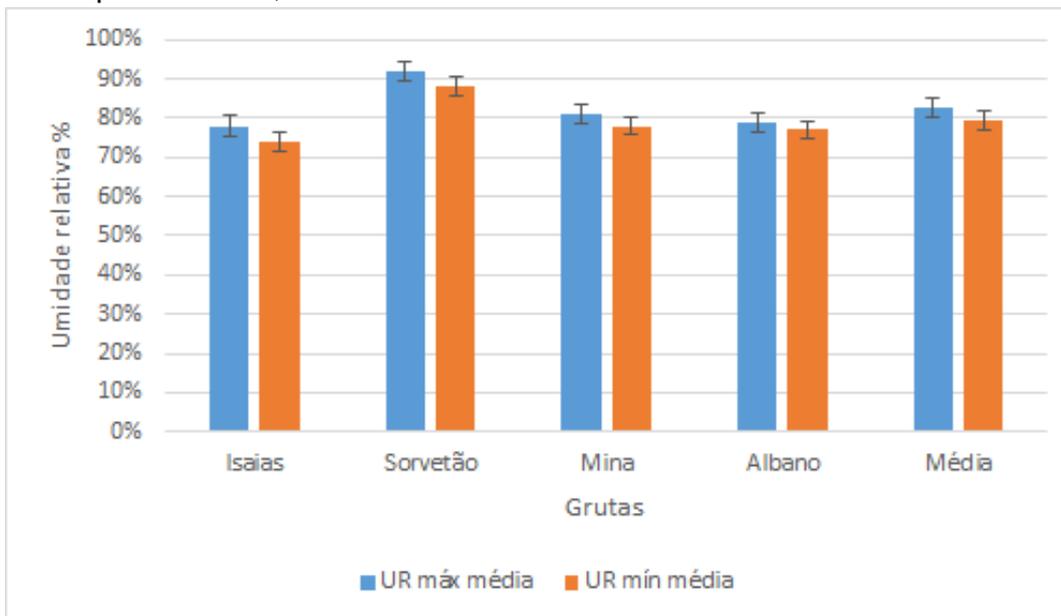
T° Máx média = temperatura máxima média

T° Min média = temperatura mínima média

Apenas no mês de março de 2021 não foi coletado um maior número de flebotomíneos nas zonas afóticas das cavernas, quando as regiões de entrada apresentaram a maior abundância. Mês em que as temperaturas dentro das cavidades atingiram o maior valor durante o período de coleta chegando a uma média de 29°C, nos quatro pontos amostrados. Em todos os outros meses de coleta a zona afótica foi responsável pela maior abundância de espécimes.

As altas taxas de umidade relativa nas quatro cavernas (FIG. 13) pode ser um fator determinante para a manutenção de flebotomíneos neste ambiente e a média desses valores não ultrapassaram os 90% de UR, o que poderia gerar um abandono pelo excesso de umidade (AGUIAR & MEDEIROS,2003). As características das cavernas e o alto número de flebotomíneos coletados nas regiões de entrada e zona afótica quando comparado com os arredores, demonstram que cavernas são ambientes favoráveis a flebotomíneos, pela estabilidade climática, disponibilidade de alimento geralmente relacionado a morcegos e uma importante fonte de abrigo para diversas espécies.

Figura 13: Variação das médias de umidade relativa máxima e mínima, no período de outubro de 2020 a março de 2021 em 4 cavernas calcárias no município de Pains, MG.



UR máx média = Umidade relativa máxima média

UR mín média = Umidade mínima média

5.2.1 Fauna de flebotomíneos

Dos 1402 flebotomíneos coletados foi possível a identificação de 1146 (81,7%) até o nível de espécie, sendo *Evandromyia edwardsi* a espécie dominante (64,6%), seguida de *Micropygomyia quinquefer* (10,9%) e *E. cortelezii* (6,6%). Outras espécies do gênero *Evandromyia*, *Brumptomyia*, *Expapillata*, *Lutzomyia*, *Pintomyia*, *Psathyromyia*, *Sciopemyia*, *Nyssomyia* e *Migonemyia* também foram capturadas e identificadas, todas essas espécies, representam 17,9% do total do material identificado, resultando em um total de nove gêneros e 22 espécies coletadas. O número de flebotomíneos coletados por espécie e sexo é apresentado na Tabela 3.

Tabela 3: Espécies de flebotomíneos identificadas, por sexo e local de coleta.

Espécies	Arredor ♀	Arredor ♂	Entrada ♀	Entrada ♂	Afótica ♀	Afótica ♂	M/F	Total
<i>Brumptomyia brumpti</i>	-	4	-	4	-	1	8:1	9
<i>Brumptomyia sp.</i>	-	2	3	-	3	-	0,3:1	8
<i>Evandromyia bacula</i>	-	-	6	-	5	1	0,09:1	12
<i>Evandromyia cortelezzi</i>	1	-	2	2	76	9	0,13:1	90
<i>Evandromyia edwardsi</i>	15	10	146	108	274	188	0,75:1	741
<i>Evandromyia evandroi</i>	-	-	-	-	1	-	-	1
<i>Evandromyia lenti</i>	-	1	-	2	6	-	0,5:1	9
<i>Evandromyia spelunca</i>	-	-	2	-	4	-	-	6
<i>Expapillata firmatoi</i>	-	-	-	1	4	1	0,5:1	6
<i>Lutzomyia cavernicola</i>	-	-	-	1	1	-	1:1	2
<i>Lutzomyia dispar</i>	-	-	-	-	4	-	-	4
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	1	2	-	9	2	10	7:1	24
<i>Migonemyia migonei</i>	-	-	5	3	2	3	0,8:1	13
<i>Lutzomyia renei</i>	1	-	5	8	31	5	0,35:1	50
<i>Micropygomyia quinquefer</i>	2	2	25	34	52	10	0,58:1	125
<i>Nyssomyia whitmani</i>	1	-	1	-	-	-	-	2
<i>Pintomyia christenseni</i>	1	-	-	-	-	-	-	1
<i>Pintomyia monticola</i>	-	-	-	-	6	-	-	6
<i>Pintomyia pessoai</i>	-	-	1	1	1	-	0,5:1	3
<i>Psathyromyia lutziana</i>	-	-	-	-	4	-	-	4
<i>Sciopemyia microps</i>	-	-	-	1	3	-	0,3:1	4
<i>Sciopemyia sordellii</i>	-	3	-	3	15	5	0,73:1	26
Total de espécimes por sexo	22	24	196	177	494	233	0,6:1	1146
Total de espécies	7	6	10	13	19	10	-	22

A maior riqueza de espécies e maior abundância de flebotomíneos foram coletados na gruta Isaias (Tabela 4). A espécie *Ev. edwardsi* foi coletada em grande número, sendo a espécie predominante nos ambientes cavernícolas amostrados. Estudo realizado em cavernas no quadrilátero ferrífero no estado de Minas Gerais, foi sugerido que *Ev. edwardsi* se trate de um organismo troglófilo, devido ao alto número de espécimes coletados em cavernas durante todos os meses do estudo (CAMPOS, *et al.*, 2020). O alto número de espécimes coletados nas zonas afólicas e entrada da gruta Isaias, reforça sua classificação como um organismo troglófilo.

As grutas Isaias e Sorvetão, presentes próximas a área urbana de Pains, apresentaram a maior abundância de flebotomíneos sendo responsáveis por 88,4% de todo o material coletado, sendo 791 espécimes coletados na gruta Isaias e 448 na gruta Sorvetão. As espécies *Lu. longipalpis* e *Mg.migonei* vetores de *L. infantum*, foram encontradas nos três locais de coleta na gruta Isaias, enquanto na gruta Sorvetão apenas *Mg.migonei* foi coletada na entrada da caverna. Entretanto a densidade desses vetores de *L. infantum* e *L.braziliensis* foi baixa em ambas as cavernas, sendo 21 espécimes de *Lu. longipalpis* na gruta Isaias, com apenas uma fêmea coletada e 5 espécimes de *Mg.migonei*, destas todas fêmeas.

Outro estudo, de Campos e colaboradores (2016), demonstrou que na Gruta Isaias, em coletas realizadas nos meses de novembro e abril de 2016, foi encontrado um total de 210 indivíduos de *Lu. longipalpis* e 125 indivíduos de *E.edwardsi*. Ao comparar esses resultados com os do presente estudo pode-se observar uma diminuição na abundância de *Lu. longipalpis*, enquanto *Ev. edwardsi* se tornou a espécie predominante.

As grutas Isaias e Sorvetão estão presentes em um pequeno fragmento florestal, ameaçado por recentes áreas de loteamento e atividades pecuárias. Populações de *Lu. longipalpis* tendem a diminuir em áreas silvestres, por distúrbios antrópicos, seguido de um aumento em áreas urbanas (THOMAZ-SOCCOL *et al.*, 2018). Estudo realizado no rio Tocantins demonstrava que 90% da população de *Lu. longipalpis* era encontrada na orla da floresta e após a construção de uma hidrelétrica a abundância no ambiente urbanizado passou a ser 4,8 vezes maior que no ambiente silvestre

(OLIVEIRA, *et al.*, 2013). Uma vez estabelecida uma população de *Lu. longipalpis* essa atua como uma infestação urbana e só diminui à medida que áreas circunvizinhas se tornam mais favoráveis ao vetor (ALMEIDA, *et al.*, 2010). Portanto, cavernas e seus arredores podem ser importantes habitats na manutenção de espécies de flebotomíneos, evitando que estas invadam o meio urbano.

Tabela 4: Flebotomíneos coletados e identificados na gruta Isaias durante os meses de outubro de 2020 a março de 2021.

Gruta Isaias	Arredor	Entrada	Zona afótica	Total
<i>Ev. edwardsi</i>	1	86	293	380
<i>Mi. quinquefer</i>	0	20	27	47
<i>Ev. cortelezii</i>	0	1	79	80
<i>Lu. renei</i>	0	10	35	45
<i>Br. brumpti</i>	4	4	1	9
<i>Br. sp</i>	4	2	0	6
<i>Ev. bacula</i>	0	2	8	10
<i>Ev. evandroi</i>	0	0	1	1
<i>Ev. lenti</i>	1	2	6	9
<i>Ev. spelunca</i>	0	1	4	5
<i>Ex. firmatoi</i>	0	1	4	5
<i>Lu. cavernicola</i>	0	1	0	1
<i>Lu. dispar</i>	0	0	4	4
<i>Lu. longipalpis</i>	2	8	11	21
<i>Ps. lutziana</i>	0	0	4	4
<i>Sc. microps</i>	0	1	3	4
<i>Sc. sordellii</i>	1	0	11	12
<i>Pi. monticola</i>	0	0	6	6
<i>Mg. migonei</i>	0	2	3	5
Total	13	141	500	654

A segunda maior abundância de flebotomíneos foi coletada na gruta Sorvetão (Tabela 5), onde foi identificado um total de sete espécies. A visitação humana nessas cavernas podem ser observadas devido ao alto nível de degradação de seus espeleotemas e ao grande acúmulo de lixo presente nessas cavernas. Atividades antrópicas nesses ambientes podem modificar uma série de fatores ambientais importantes em sistemas cársticos, como a temperatura, umidade, disponibilidade de alimento e condição de ausência de luz (FERREIRA, *et al.*, 2008). Podendo influenciar diretamente nas populações de flebotomíneos em cavernas.

Tabela 5: Flebotomíneos coletados e identificados na gruta Sorvetão durante os meses de outubro de 2020 a março de 2021.

Gruta Sorvetão	Arredor	Entrada	Zona afótica	Total
<i>Ev. edwardsi</i>	11	143	141	295
<i>Mi. quinquefer</i>	3	24	30	57
<i>Ev. cortelezzii</i>	0	3	3	6
<i>Lu. renei</i>	0	3	1	4
<i>Ev. bacula</i>	0	2	0	2
<i>Sc. sordellii</i>	0	1	2	3
<i>Mg. migonei</i>	0	2	0	2
Total	14	178	177	369

As cavernas Gruta da Mina e do Albano estão localizadas na comunidade da mina, em área rural do município de Pains. Foram encontrados uma menor densidade de flebotomíneos em ambas as cavernas, quando comparada com as cavernas próximas a área urbana. 122 espécimes (8,7%) foram capturados na gruta da Mina (Tabela 6) e 41 espécimes (2,9%) na gruta do Albano (Tabela 7) . A espécie mais abundante na gruta da Mina foi *Ev. edwardsi*, enquanto, na gruta do Albano *Mi. quinquefer* foi a espécie mais abundante.

Ambas as cavernas apresentam entradas amplas, um fator importante para a presença de flebotomíneos, já que permite um maior número de animais transitarem entre as cavidades, podendo assim disponibilizar uma maior fonte de alimento para insetos hematofagos. A presença de guano, morcegos e o alto número de fêmeas pode indicar que algumas dessas espécies estão usando essas cavernas para se alimentarem.

Apesar de apresentar condições favoráveis para populações de flebotomíneos essas cavidades apresentaram uma menor abundância quando comparadas com as cavernas próximas às áreas urbanas. As condições presentes nessas cavernas como entradas amplas e uma baixa variação de temperatura e umidade são fatores importantes, já que outros estudos demonstram que cavernas com entradas estreitas têm apresentado uma menor abundância de flebotomíneos (GALATI, *et al.*, 2003; CAMPOS, *et al.*, 2020).

O pequeno fragmento de floresta remanescente onde as cavernas estão localizadas podem estar influenciando diretamente a fauna cavernícola. Impactos ambientais como o desmatamento em torno de cavernas fazem com que espécies do ambiente tenham suas populações reduzidas e/ou extintas (AULER, *et al.*, 2006).

Tabela 6: Flebotomíneos coletados e identificados na gruta da Mina durante os meses de outubro de 2020 a março de 2021.

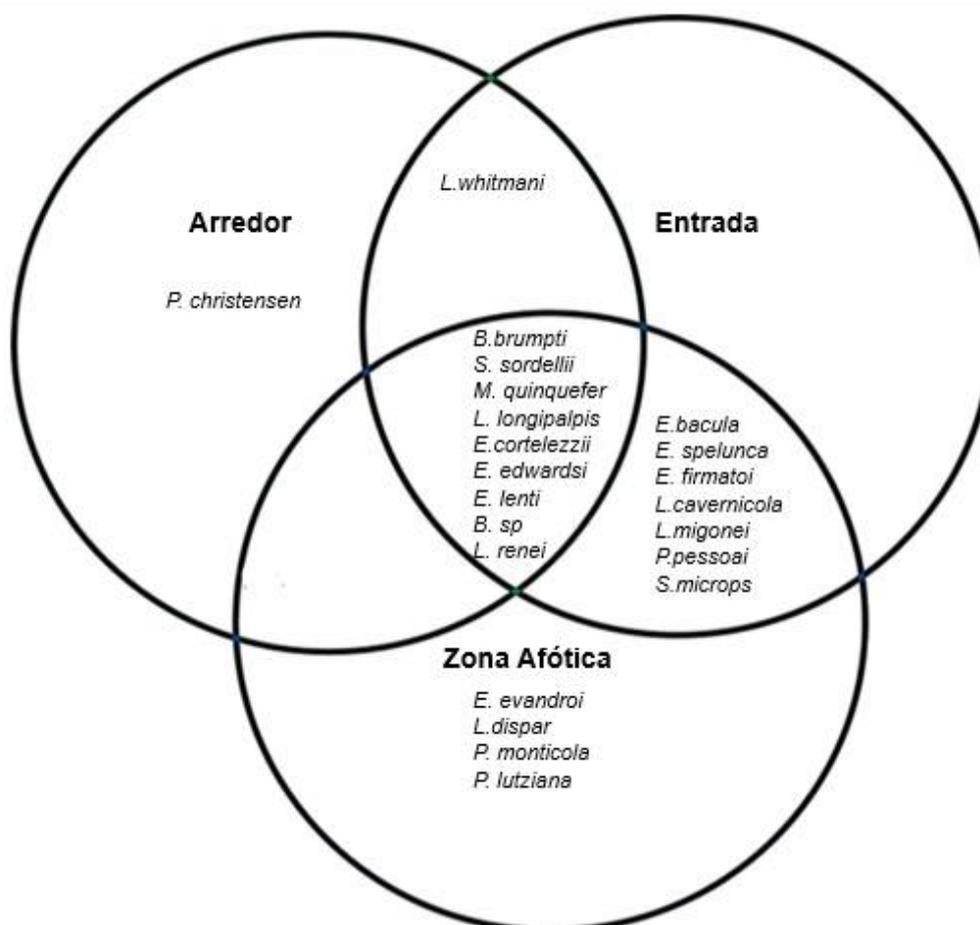
Gruta da Mina	Arredor	Entrada	Zona afótica	Total
<i>Ev. edwardsi</i>	7	16	41	64
<i>Mi. quinquefer</i>	0	0	2	2
<i>Ev. cortelezii</i>	1	0	3	4
<i>Br. Sp</i>	0	0	2	2
<i>Ev. spelunca</i>	1	0	0	1
<i>Ex. firmatoi</i>	0	0	1	1
<i>Lu. cavernicola</i>	0	0	1	1
<i>Lu. longipalpis</i>	1	0	1	2
<i>Ny. whitmani</i>	1	1	0	2
<i>Sc. sordellii</i>	2	1	6	9
<i>Mg. migonei</i>	0	4	2	6
Total	13	22	59	94

Tabela 7: Flebotomíneos coletados e identificados na gruta do Albano durante os meses de outubro de 2020 a março de 2021.

Gruta do Albano	Arredor	Entrada	Zona afótica	Total
<i>Ev. edwardsi</i>	1	0	1	2
<i>Mi. quinquefer</i>	1	15	3	19
<i>Lu. renei</i>	1	0	0	1
<i>Lu. longipalpis</i>	0	1	0	1
<i>Pi. chistenseni</i>	1	0	0	1
<i>Pi. pessoai</i>	0	3	0	3
<i>Sc. sordellii</i>	0	1	1	2
Total	4	20	5	29

Das 22 espécies coletadas, nove foram comuns para todos os ambientes, sete apenas nas regiões de entrada e zona afótica das cavernas, quatro espécies foram coletadas somente em zonas afóticas, uma espécie nas regiões de entrada e arredores das cavidades, e uma apenas nos arredores (FIG. 14).

Figura 14: Distribuição de espécies flebotomíneos em três áreas (arredor, entrada e zona afótica).



Fonte: Do autor, 2021

A espécie mais abundante nos três ambientes de coleta foi *Ev. edwardsi*, com maior ocorrência nas regiões afóticas das cavidades, representando 63,5% dos espécimes coletados em zonas afóticas. Esta é uma espécie comumente encontrada dentro e/ou fora de cavernas, nos estados do Maranhão, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Paraná e Santa

Catarina, sem importância médica-veterinária relatada (SILVA, *et al.*, 2016; CAMPOS, *et al.*, 2020).

A espécie *Mi. quinquefer* ocorreu com maior frequência em zonas afóticas e menor nos arredores das cavidades, sendo encontrada espécimes nas quatro cavidades investigadas. Espécies desse gênero não possuem importância epidemiológica uma vez que possuem uma labroepifaringe curta, se alimentando provavelmente de animais ectotérmicos (GALATI, 1997), sendo frequentemente encontradas em cavernas (BARATA, *et al.*, 2012; CARVALHO, *et al.*, 2013).

Espécies do gênero *Brumptomyia* também foram encontrados nas três regiões fóticas, sendo 9 espécimes de *Br. brumpti* e 8 exemplares de *Brumptomyia.sp.*, não identificados até nível de espécie, devido às semelhanças morfológicas presentes nas fêmeas desse grupo e a perda de caracteres morfológicas nos machos.

O gênero *Evandromyia* compreendeu o maior número de espécies e espécimes neste estudo, sendo elas: *Ev. bacula*, *Ev. cortelezii*, *Ev.edwardsi*, *Ev. evandroi*, *Ev. lenti* e *Ev. spelunca*, espécie descrita por CARVALHO, *et al.*, (2011) em cavernas no município de Lassance, MG, apresentando características que lhes permitem viver exclusivamente em ambientes subterrâneos. O gênero tem grande representatividade em cavernas do estado de Minas Gerais e é considerado o gênero dominante em cavernas no estado do Pará (DANTAS-TORRES, *et al.*, 2010; CARVALHO, *et al.*, 2013; TEODORO, *et al.*, 2021).

Quatro espécies do gênero *Lutzomyia* foram identificadas, entre elas o principal vetor de *L.infantum* , *Lu. longipalpis*. Além de outras espécies de importância médica como *Ny. whitmani* e *Mg. migonei*. Apesar de ocorrerem em baixas abundâncias nas cavernas estudadas, são espécies importantes para a manutenção do ciclo de protozoários do gênero *Leishmania* em ambientes silvestres (TEODORO, *et al.*, 2021).

A espécie *Lu. cavernícola* foi encontrada em baixa abundância neste estudo, entretanto é uma espécie adaptada a ambientes cavernícolas ocorrendo em grande densidade em áreas de entrada e afóticas de cavernas (CARVALHO, *et al.*, 2013), sendo importante mais estudos em relação a esta espécie devido sua importante relação com ambientes cavernícolas.

Dentre as espécies do gênero *Lutzomyia* destaca-se o encontro de quatro espécimes de *Lu. dispar* em regiões afóticas das cavidades, sendo o primeiro relato dessa espécie em cavernas do estado de Minas Gerais, contribuindo para a informação da biodiversidade de flebotomíneos em cavernas do estado. Em cavernas no município de Alcinópolis, Mato Grosso do sul, *Lu. dispar* foi a espécie de maior abundância do estudo, coletada principalmente em regiões de entrada e afótica da gruta do Pitoco (ALMEIDA, *et al.*, 2019), outros estudos têm associado essa espécie a ambientes rochosos (INFRAN, *et al.*, 2017).

Lu. dispar é considerado uma espécie eclética e antropofílica quanto a sua alimentação por sangue, podendo gerar desconforto a turistas e pesquisadores que visitam cavernas (WILLIAMS & CARVALHO, 1979), entretanto apesar se alimentar de diferentes hospedeiros de *Leishmania*, um comportamento que poderia classificar como um potencial vetor deste protozoário, não a relatos na literatura de sua infecção por qualquer espécie desse gênero de parasito.

As espécies *Pintomyia christenseni*, *Pi. monticola*, *Pi. pessoai* e *Psathyromyia lutziana*, foram encontradas em baixa densidade, sendo o único espécime de *Pi. christenseni* coletado nos arredores das cavidades. A espécie *Pi. pessoai* foi coletada na entrada e zona afótica, enquanto *Pi. monticola* e *Ps. lutziana* só foram coletado nas áreas afóticas, mostrando que apesar do baixo número de espécimes encontrados, diferentes zonas fóticas podem contribuir para uma melhor compreensão da biologia dessas espécies e biodiversidade de flebotomíneos em cavernas.

A espécie *Pi. monticola* é encontrada em diversos ambientes, em regiões da Mata atlântica e cerrado brasileiro, sendo uma espécie antropofílica (CUTOLO, *et al.*, 2013), com possível importância epidemiológica, encontrada infectada naturalmente por *L. braziliensis* em áreas de foco de transmissão de LTA no município de Divinópolis, MG (MARGONARI, *et al.*, 2010).

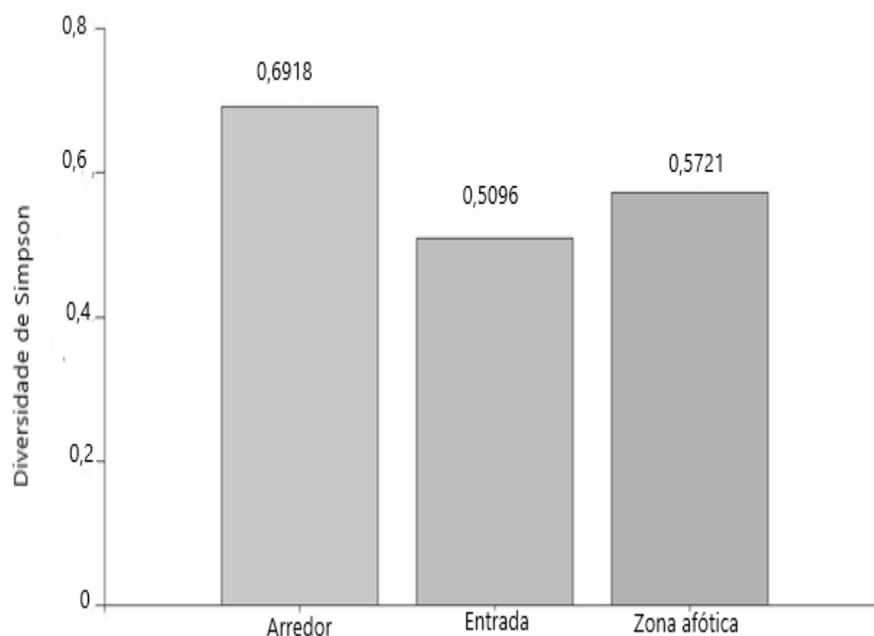
A espécie *Sciopemyia microps* é relatada na literatura apresentando estreita relação com o ambiente cavernícola, sendo encontrado em regiões de cavernas principalmente em áreas cársticas do estado do Mato Grosso do Sul e Minas Gerais (GALATI *et al.*, 2010; CARVALHO *et al.*, 2013), onde foram relatados se alimentando de anuros em cavernas localizadas no Quadrilátero

ferrífero (COSTA *et al.*, 2021). Neste estudo foram encontrados 4 espécimes nas entradas e zonas afólicas das cavernas localizadas na zona rural do município de Pains, MG.

Dos 26 espécimes de *Sciopemyia sordellii* coletados, 20 (77%) foram coletados em zonas afólicas, o que evidencia a provável adaptação destes insetos a ambientes cavernícolas. Apesar de não ser considerada uma espécie vetora na transmissão de leishmanias, já foi relatado o encontra de DNA deste parasito em fêmeas da espécie (GUIMARÃES *et al.*, 2014), necessitando-se assim de mais estudos para elucidar a participação desta espécie nos ciclos dos protozoários causadores de leishmanioses, principalmente em ambientes de cavernas onde são frequentemente encontradas (CARVALHO *et al.*, 2013; TEODORO *et al.*, 2018).

Considerando o índice de diversidade de Simpson, os arredores das cavernas apresentaram a maior diversidade, seguido da zona afótica e entrada (FIG 15).

Figura 15: Diversidade de Simpson nos três ambientes de coleta.

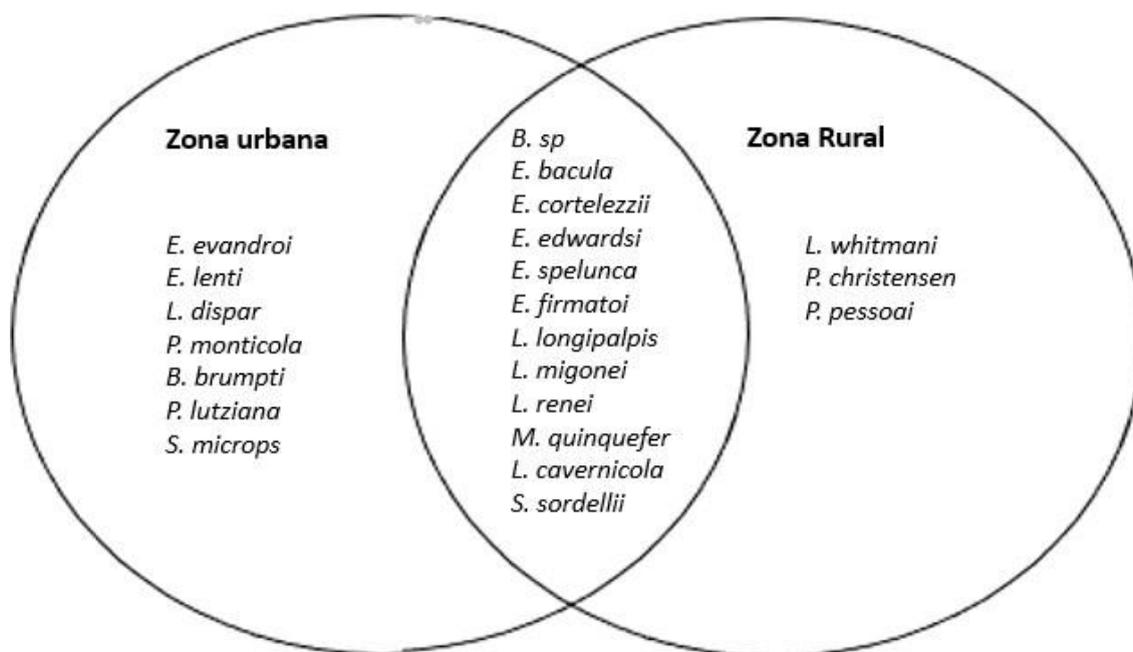


A maior riqueza de espécies foi encontrada nas regiões afólicas das cavidades, na qual 20 espécies foram identificadas, entretanto com uma alta predominância e a maioria das espécies contribuindo com uma baixa

abundância de espécimes, influenciando no valor da diversidade desse ambiente. Nas regiões de entrada foram identificadas 14 espécies, local onde *Ev. edwardsi* também foi predominante e nos arredores foi encontrada a menor riqueza de espécies, sendo 11 identificadas, porém todas com um número baixo de indivíduos sem a dominância de espécies encontradas nos demais ambientes, o que contribuiu para o seu maior valor de diversidade (FIG. 14).

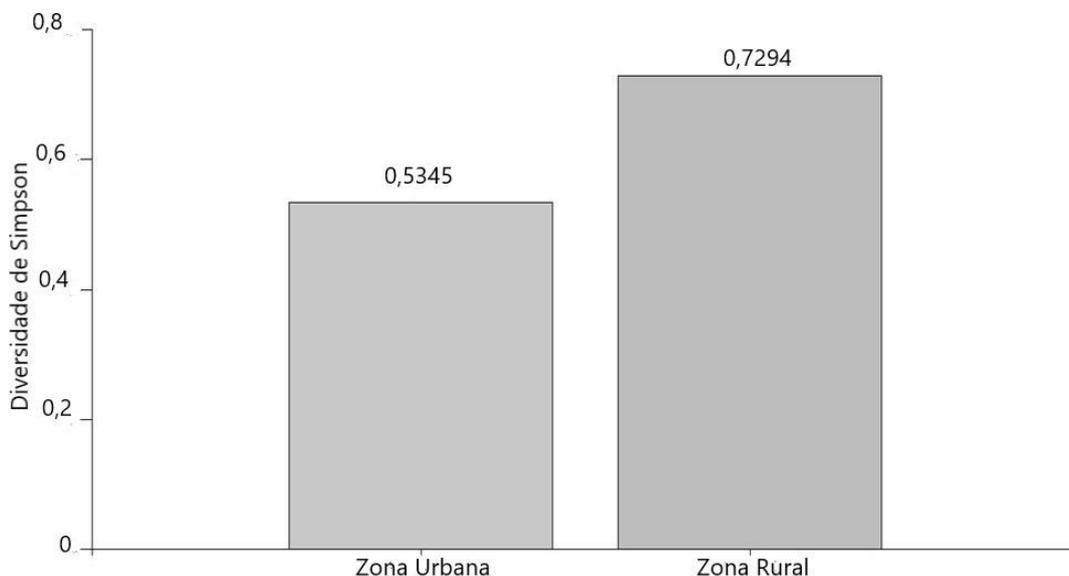
A riqueza de espécies também foi menor na zona rural, com um total de 15 espécies identificadas, enquanto nas grutas Isaias e Sorvetão foram identificados um total de 19 espécies (FIG. 16). A diversidade de espécies foi maior na zona rural do que na zona urbana, considerando o índice de diversidade de Simpson (FIG. 17).

Figura 16: Distribuição de espécies de flebotomíneos nas áreas rurais e urbanas.



Fonte: Do autor, 2021.

Figura 17: Índice de diversidade de Simpson das cavernas da zona rural e urbana de Pains, MG.



Entre as espécies de importância epidemiológica coletadas nas duas cavernas presentes na zona rural, estão *Lu. longipalpis* sendo 2 fêmeas e 1 macho, coletados nas regiões de entrada e arredores, *Mg. migonei*, 4 machos e 2 fêmeas, coletadas na entrada e zonas afóticas e 2 fêmeas de *Ny. whitmani* importante vetor de *L. braziliensis*, coletadas nos arredores e entrada das cavidades. A presença desses vetores em ambientes cavernícolas, pode ser essencial para a manutenção dos ciclos silvestres de *Leishmania*, realizando a transmissão para reservatórios e infectando acidentalmente humanos quando estes visitam cavernas (CAMPOS, *et al.*, 2016). Estes resultados alertam que, tanto regiões fóticas como afóticas de cavernas apresentam espécies vetores de leishmanias.

Outras espécies merecem atenção, como *Ev. cortelezzii* que foi coletada em maior densidade em zonas afóticas e com alta abundância de fêmeas em relação aos machos, sendo já identificada em outros estudos naturalmente infectada por *L. braziliensis* e *L. infantum* no estado de Minas Gerais (SARAIVA, *et al.*, 2010). Outros estudos identificaram a presença de DNA de *Leishmania* em espécimes de *Sc. sordelli* e *Ev. lenti* (SARAIVA, *et al.*, 2010; SILVA, *et al.*, 2014). Importante ressaltar que o encontro de DNA de *Leishmania* nessas espécies não comprovam sua capacidade vetorial, que

dependem de diversos fatores como realizar a hematofagia em humanos e reservatórios, capacidade de suportar o parasito após a ingestão, sua distribuição espacial e outros critérios evidenciados por Kilicck-Kendric (1990). Estes resultados evidenciam a importância da continuidade de estudo da biologia desses insetos para uma melhor compreensão da biodiversidade e dos ciclos das leishmanioses em ambientes cavernícolas.

Para as seis espécies encontradas em maior abundância no estudo e para *Lu. dispar* foi realizado o índice de constância em relação às zonas afóticas das quatro grutas estudadas (Tabela 8). As espécies *Ev. edwardsi*, *Ev. cortelezzii*, *Lu. renei* e *Sc. sordellii* foram consideradas espécies constantes neste ambiente, enquanto *Mi. quinquefer* e *Lu. longipalpis* foram consideradas espécies acessórias e *Lu. dispar* acidental.

Tabela 8: Frequência e constância de espécies de flebotomíneos em zonas afóticas das quatro grutas estudadas.

Espécies de flebotomíneos	N	F (%)	Constância
<i>E. edwardsi</i>	477	64,3	W
<i>M. quinquefer</i>	62	49,6	Y
<i>Ev. Cortelezzii</i>	84	93,3	W
<i>L. renei</i>	36	72	W
<i>Sc. Sordellii</i>	20	76,9	W
<i>Lu. Longipalpis</i>	12	50	Y
<i>Lu. dispar</i>	4	100	Z

Legenda: N= total de flebotomíneos coletados em zonas afóticas W= constante; Y=acessória; Z=acidental.

Ev. edwardsi já foi relatada em outros estudos como sendo uma espécie troglófilo (GALATI, *et al.*, 2010; CAMPOS, *et al.*, 2020) porém utilizar apenas o seu encontro em grande abundância em cavernas para essa classificação pode ser insuficiente para este tipo de análise. O encontro destas espécies em áreas afóticas, assim como o nível de constância em que foram

capturados nesse ambiente, podem ser usados como importantes indicadores de adaptação destas espécies aos ambientes subterrâneos.

A espécie *Sc. sordellii* já foi coletada em diversas cavernas pelo Brasil (GALATI et al. 1997, 2003, 2010; BARATA et al., 2008; ALVES et al., 2011; BARATA & APOLINÁRIO 2012; OGAWA et al., 2016; CARVALHO et al. 2013, 2017; CAMPOS et al. 2016; ALMEIDA et al., 2019; TEODORO et al., 2021), tendo uma importante relação com esses ambientes, podendo desenvolver todo o seu ciclo de vida dentro de cavidades (ANDRADE, et al., 2021) o que condiz com a alta frequência e constância dessa espécie encontrada em zonas afóticas deste estudo, reforçando sua classificação como organismo troglófilo.

Ev. cortelezzii teve uma frequência alta de espécimes coletadas em zonas afóticas da gruta Isaias, o mesmo não foi observado em outras cavidades. A alta frequência e a constância de espécies do gênero *Evandromyia* na zona afótica, contribuíram para uma menor diversidade na caverna. Pode-se observar um maior nível de degradação na gruta Isaias em relação as demais cavernas estudadas, portanto essas espécies parecem estar bem adaptadas a ambientes impactados, o que pode gerar uma alteração na fauna de flebotomíneos do local e de outros grupos de invertebrados.

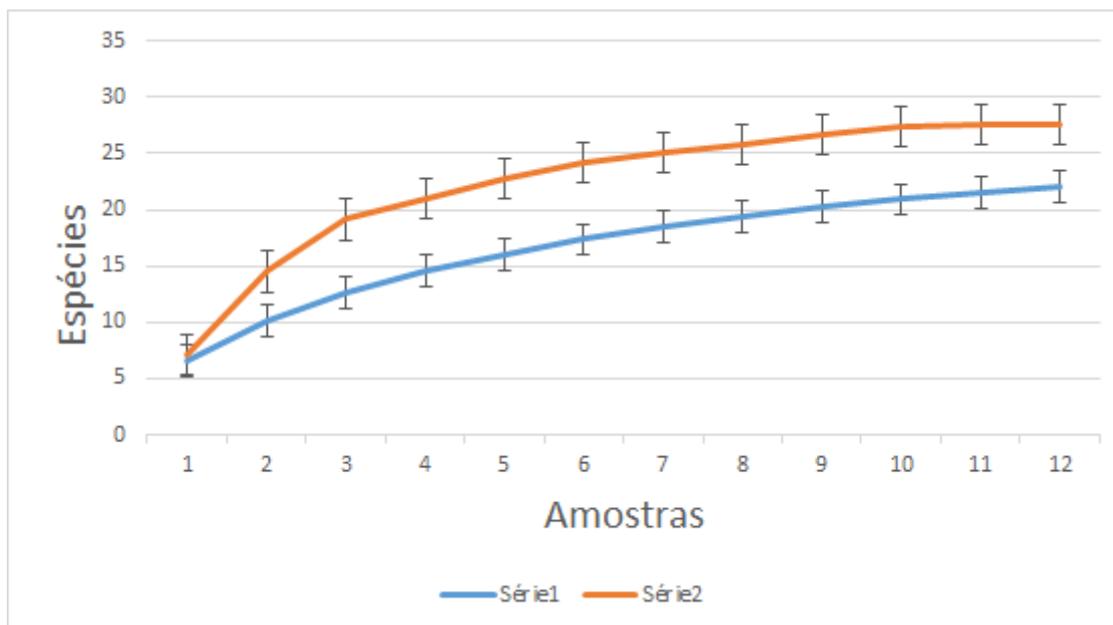
A classificação de *Lu. longipalpis* e *Mi. quinquefer* como espécies acessórias em zonas afóticas de cavernas, indica que essas espécies podem ter flutuações de populações dentro dessas cavernas, indicando que em diferentes períodos e condições haverá alteração na frequência de espécimes coletados.

Lu. dispar apesar de apresentar 100% de frequência em zonas afóticas, o baixo número de espécimes coletados contribuiu para sua classificação como espécie acidental em zonas afóticas das cavidades amostradas. Apesar deste estudo ter identificado essa espécie pela primeira vez em ambientes cavernícolas no estado de Minas Gerais, a sua relação com esses ambientes ainda precisam ser esclarecida com estudos posteriores.

O conhecimento da diversidade e riqueza de espécies de uma região depende de diversos fatores, entre eles o esforço amostral, neste sentido através da análise da curva do coletor (FIG. 18). é possível observar que as curvas de riqueza observada e esperada foram próximas, havendo um incremento de espécies a cada esforço amostral, entretanto não foi possível

atingir a assíntota durante os seis meses de coleta, sendo necessário novos estudos para que se possa permitir conhecer toda a fauna de flebotomíneos do local.

Figura 18: Riqueza observada e esperada para espécies de flebotomíneos coletados nos meses de outubro de 2020 a março de 2021 em cavernas no município de Pains, MG



Legenda: Série 1: Riqueza observada (Sobs); Série 2: Riqueza estimada (1º Jackknife).

A curva do coletor é uma prática bastante comum para estudos em ecologia, principalmente no Brasil (SILVA & SCARIOT 2004). Sendo um método competente para estabelecer a eficiência de coleta. A presença de um grande número de espécies raras é um importante fator para a não estabilização da curva (CONDIT *et al.*, 1996). Portanto, devido ao grande número de espécies encontradas em baixa abundância neste estudo, este seria um fator importante para que a curva não atingisse a assíntota e somando-se isso ao período de coleta, temos duas importantes variáveis que impedem que a curva se estabilize.

Portanto é necessário a continuação dos trabalhos a fim de identificar toda a fauna de flebotomíneos da região, assim como compreender a relação de dominância de espécies nessas cavernas durante diferentes períodos do ano.

6. Conclusão

A partir deste estudo pode-se concluir que:

- 1) Zonas afólicas e entrada das cavernas estudadas é o ambiente com maior densidade de flebotomíneos. Sendo *E. edwardsi* a espécie mais abundante na região de estudo.
- 2) A diversidade de espécies é maior na zona rural de Pains.
- 3) Cavernas localizadas no município de Pains, apresentam alta riqueza de espécies e características ambientais que propiciam a manutenção e reprodução de populações de flebotomíneos.

Referências:

ABONNENC, E. et al. An amendment to the paper" On the rational classification of Phlebotomidae". **Cahiers ORSTOM, Serie Entomologie Medicale et Parasitologie**, v. 14, n. 4, 1976.

AGUIAR, Gustavo Marins de; MEDEIROS, Wagner Muniz de. Distribuição regional e habitats das espécies de flebotomíneos do Brasil. In: **Flebotomíneos no Brasil**. p. 207-255. 2003

AGUIAR, Gustavo M.; VIEIRA, Vanessa R. Regional distribution and habitats of Brazilian phlebotomine species. In: **Brazilian sand flies**. Springer, Cham. p. 251-298. 2018.

AKHOUNDI, Mohammad et al.,A historical overview of the classification, evolution, and dispersion of Leishmania parasites and sandflies. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n.3, p. e0004349, 2016.

AKUFFO, Hannah et al.,New insights into leishmaniasis in the immunosuppressed. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 12, n. 5, p. e0006375, 2018.

ALENCAR, Benjamin Franklin Pinheiro; FIGUEIREDO, Ivan Abreu. Perfil epidemiológico dos casos de Leishmaniose Tegumentar Americana no estado do Maranhão no período de 2015 a 2017. **Revista de Investigação Biomédica**, v. 10, n. 3, p. 243-250, 2019.

ALEXANDER, B.; FREITAS, J. M.; QUATE, L. W. Some Psychodidae (Diptera) from Atlantic Forest in South-Eastern Brazil, with descriptions of *Trichomyia dolichopogon* sp. nov. and *Trichomyia riocensensis* sp. nov. **Brazilian Journal of Biology**, v. 61, n. 3, p. 467-474, 2000.

ALMEIDA, Paulo Silva de et al. Aspectos ecológicos de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em área urbana do município de Ponta Porã, Estado de Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 6, p. 723-727, 2010.

ALVES, Veracilda Ribeiro; FREITAS, Rui Alves de; BARRETT, Toby. *Lutzomyia maruaga* (Diptera: Psychodidae), a new bat-cave sand fly from Amazonas, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 3, p. 251-253, 2008.

ALVES, Veracilda Ribeiro *et al.*,Diversity of sandflies (Psychodidae: Phlebotominae) captured in sandstone caves from Central Amazonia, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 3, p. 353-359, 2011.

ANDRADE, Ana Rachel Oliveira de et al. Epidemiological study on leishmaniasis in an area of environmental tourism and ecotourism, State of Mato Grosso do Sul, 2006-2007. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 5, p. 488-493, 2009.

ANDRADE, B. B.; et al., Role of Sand Fly Saliva in Human and Experimental Leishmaniasis: Current Insights. **Scand. J. Immunol.**, v. 66, p. 122-127, 2007.

ANDRADE FILHO, José Dilermando *et al.*, Bilateral anomaly in the style of *Micropygomyia schreiberi* (Martins, Falcão e Silva) (Diptera, Psychodidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 48, n. 4, p. 583-585, 2004.

ANDRADE-FILHO, José Dilermando *et al.*, Occurrence and probability maps of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia cruzi* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Brazil. **Journal of medical entomology**, v. 54, n. 5, p. 1430-1434, 2017.

AULER, Augusto. Relevância de cavidades naturais subterrâneas: contextualização, impactos ambientais e aspectos jurídicos. **Ministério das Minas e Energia, Brasília, DF**, 2006.

BARATA, Ricardo Andrade *et al.* Phlebotomine sand flies in Porteirinha, an area of American visceral leishmaniasis transmission in the State of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 5, p. 481-487, 2004.

BARATA, Ricardo A. *et al.* Phlebotomine sandflies in Parque Nacional Cavernas do Peruaçu, Minas Gerais state, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 2, p. 226-228, 2008.

BARATA, Ricardo Andrade; APOLINÁRIO, Estefânia Conceição. Sandflies (Diptera: Psychodidae) from caves of the quartzite Espinhaço Range, Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 8, p. 1016-1020, 2012.

BARRAL, Aldina *et al.* Leishmaniasis in Bahia, Brazil: evidence that *Leishmania amazonensis* produces a wide spectrum of clinical disease. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 44, n. 5, p. 536-546, 1991.

BARRETTO, M. P. Subfamílias e gêneros neotropicais da família Psychodidae Big., 1854 (Diptera). **Pap Av Dep Zool S Paulo**, v. 14, p. 211-225, 1961.

BARRIOS, Suellem Petilim Gomes *et al.* Synanthropy and diversity of Phlebotominae in an area of intense transmission of visceral leishmaniasis in the South Pantanal floodplain, Midwest Brazil. **PloS one**, v. 14, n. 5, p. e0215741, 2019.

BOITÉ, Mariana C. *et al.* Trans-Atlantic Spillover: Deconstructing the Ecological Adaptation of *Leishmania infantum* in the Americas. **Genes**, v. 11, n. 1, p. 4, 2020.

Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Ministério da Saúde, 2006.

BRAZIL, R. P.; BRAZIL, B. G. Biologia de flebotomíneos do Brasil. **Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: Fiocruz**, v. 4, p. 257-274, 2003.

Burza S, Croft SL, Boelaert M. Leishmaniasis. **Lancet**. 2018.

CAJAÍBA, Reinaldo Lucas. Diagnóstico dos impactos ambientais causados por ações antrópicas em cavernas no município de Uruará-PA/Diagnosis of environmental impacts caused by human activity in the caves of Uruará-PA. **Revista Meio Ambiente e Sustentabilidade**, v. 7, n. 3, p. 490-507, 2014.

Camargo LMA, Barcinski MA Leishmanioses, feridas bravas e kalazar. **Ciência e Cultura** v.1:3. p.4-7, 2013.

CAMPOS, A. M. *et al.*, Photoperiod differences in sand fly (Diptera: Psychodidae) species richness and abundance in caves in Minas Gerais State, Brazil. **Journal of medical entomology**, v. 54, n. 1, p. 100-105, 2016.

CAMPOS, Aldenise Martins *et al.*, Similarity of species composition of sand flies (Diptera: Psychodidae) in caves of Quadrilátero Ferrífero, Estate Minas Gerais, Brasil. **BioRxiv**, p. 703231, 2019.

CARDOSO, L.; CABRAL, M. Leishmania e leishmaniose canina. **Rev. Port. Ciín. Vet.**, n. 13, p. 121-141, 1999.

CARRERA, Messias. Insetos de interesse médico e veterinário. In: **Insetos de interesse médico e veterinário**. 1991. p. 228-228.

CARVALHO, Gustavo ML *et al.*, Description of *Evandromyia spelunca*, a new phlebotomine species of the *cortezii* complex, from a cave in Minas Gerais State, Brazil (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Parasites & vectors**, v. 4, n. 1, p. 1-8, 2011.

CARVALHO, Gustavo Mayr de Lima *et al.* Molecular detection of *Leishmania* DNA in wild-caught phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) from a cave in the state of Minas Gerais, Brazil. **Journal of medical entomology**, v. 54, n. 1, p. 196-203, 2017.

Casanova, C. A Soil Emergence Trap for Collections of Phlebotomine Sand Flies. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.96(2): p.273-275, 2001.

CECAV. (2019). Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas. Referenciado de: < <https://www.icmbio.gov.br/cecav/canie.html>>. Acesso em 10 mai. 2020.

CHANCE, M. L. *et al.* The biochemical and immunotaxonomy of *Leishmania*. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v.72, n.6, p.93-110, 1985.

Colwell RK. Statistical estimation of richness and shared species from samples. Version 6.0b1. **User's guide and application**; 2001.

CONDIT, R. *et al.* Species-area and species individual relationships for tropical trees: a comparison of three 50-ha plots. **Journal of Ecology, London**, v. 84, p. 549-562, 1996.

COSTA, J. C. R. et al. First molecular evidence of frogs as a food source for sand flies (Diptera: Phlebotominae) in Brazilian caves. **Parasitology Research**, v. 120, n. 5, p. 1571-1582, 2021.

CUTOLO, André Antonio; GALATI, Eunice Aparecida Bianchi; VON ZUBEN, Claudio José. Sandflies (Diptera, Psychodidae) from forest areas in Botucatu municipality, central western São Paulo state, Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 19, n. 1, p. 1-4, 2013.

CRUZ, Jocy Brandão; PEREIRA, Karolina do Nascimento; JANSEN, Débora Campos. Anuário estatístico do patrimônio espeleológico brasileiro 2018. 2019.

DANTAS-TORRES, Filipe et al. Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the state of Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 6, p. 733-736, 2010.

DE ALMEIDA, Paulo Silva et al. Phlebotomine (Diptera: Psychodidae) fauna in a cavern containing cave paintings and its surrounding environment, Central-West Brazil. **Acta tropica**, v. 199, p. 105151, 2019.

DE OLIVEIRA, Everton Falcão et al. Climatic factors and population density of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) in an urban endemic area of visceral leishmaniasis in midwest Brazil. **Journal of Vector Ecology**, v. 38, n. 2, p. 224-228, 2013.

DE OLIVEIRA, E. F. et al. Behavioral aspects of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in urban area endemic for visceral leishmaniasis. **Journal of medical entomology**, v. 50, n. 2, p. 277-284, 2013.

DE LIMA CARVALHO, Gustavo Mayr *et al.*, Ecological aspects of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) from a cave of the speleological province of Bambuí, Brazil. **PLoS One**, v. 8, n. 10, p. e 77158, 2013.

DEANE, Leônidas de Mello; DEANE, Maria von Paumgarten. Encontro de leishmanias nas vísceras e na pele de uma raposa, em zona endêmica de calazar, nos arredores de Sobral, Ceará. **O hospital**, v. 45, n. 4, p. 419-421, 1954.

DIAS, Edelberto Santos et al., Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de um foco de leishmaniose tegumentar no Estado de Minas Gerais. 2007.

Duckhouse, D.A. Psychodidae, *In: Catalogue of the Americas South of the United States*. São Paulo, Papéis Avulsos do Departamento de Zoologia Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, p. 1-29, 1973.

ESCRIBANO, María Dolores Almenara; GÓMEZ, María Julia García; HURTADO, Enrique Javier Soto. Mediastinal cystic mass as atypical location of visceral leishmaniasis. **Medicina clinica**, v. 151, n. 9, p. 379-380, 2018.

ESPINOSA, O. A. et al., An appraisal of the taxonomy and nomenclature of trypanosomatids presently classified as *Leishmania* and *Endotrypanum*. **Parasitology**, v. 145, n. 4, p. 430-442, 2018.

Falcao et al. Experimental infection and transmission of *Leishmania* by *Lutzomyia cruzi* (Diptera: Psychodidae): Aspects of the ecology of parasite-vector interactions. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, n. 2, p. e0005401, 2017.

FAIRCHILD, G. B. The relationships and classification of the Phlebotominae (Diptera, Psychodidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 48, n. 3, p. 182-196, 1955.

FERREIRA, R. L.; GOMES, F. T.; SILVA, M. S. Uso da cartilha “Aventura da vida nas cavernas” como ferramenta de educação nas atividades de turismo em paisagens cársticas. **Revista Científica da Seção de Espeleoturismo da Sociedade Brasileira de Espeleologia, Campinas**, v.1, n. 2, p. 145-164, 11 dez. 2008.

FORATTINI, Oswaldo Paulo. Entomologia médica: 4º volume: psychodidae. phlebotominae. leishmanioses. bartonelose. In: **Entomologia médica: 4º volume: psychodidae. phlebotominae. leishmanioses. bartonelose**. 1973. p. 658-658.

FORATTINI, O.P. Entomologia Médica, São Paulo, E. Blücher/ EDUSP. 1973. Furusawa GP, Borges MF. Colaboração para o conhecimento do histórico da leishmaniose tegumentar americana no Brasil: possíveis casos entre escravos na Vila de Vassouras-RJ, nos anos 1820 a 1880. **Rev Patol Trop** 43: 7-25, 2014.

FIGUEIREDO, LAV de. Cavernas brasileiras e seu potencial ecoturístico: um panorama entre a escuridão e as luzes. **Turismo e meio ambiente. Fortaleza: UECE**, p. 1-22, 1998.

FRANÇA, C. Observations sur le genre *Phlebotomus*. **Botéria (Serie Zoologica)**, v. 17, p. 109-160, 1919.

França C, Parrot L. Introduction à l'étude systématique des Diptères du genre *Phlebotomus*. **Bull Soc Patho Exot**. 13:695-708, 1920.

FRANÇA, C.; PARROT, L. Essai de classification des Phlébotomes. **Archives de L'Institut Pasteur d'Algérie Institut Pasteur L'Afrique Nord**, v. 1, p. 279-284, 1921.

GALATI, Eunice A. Bianchi; CÁCERES, Abraham G.; LE PONT, Francois. Description of *Lutzomyia* (*Pifanomyia*) *robusta* n. sp. (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) from Peruvian Ecuadorian interandean areas. **Revista de saude publica**, v. 29, n. 2, p. 89-99, 1995.

GALATI, Eunice AB et al. Estudo de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, p. 378-390, 1997.

GALATI, Eunice AB *et al.*, Phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in caves of the Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 47, n. 2, p. 283-296, 2003.

GALATI, Eunice Aparecida Bianchi et al. Phlebotomies (Diptera, Psychodidae) in the Speleological Province of the Ribeira Valley: 3. Serra district-area of hostels for tourists who visit the Parque Estadual do Alto Ribeira (PETAR), state of São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, n. 4, p. 665-676, 2010.

GALATI, Eunice AB. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae): classification, morphology and terminology of adults and identification of American taxa. In: **Brazilian sand flies**. Springer, Cham, p. 9-212. 2018.

GRAMICCIA, M. et al. The burden of visceral leishmaniasis in Italy from 1982 to 2012: a retrospective analysis of the multi-annual epidemic that occurred from 1989 to 2009. **Eurosurveillance**, v. 18, n. 29, p. 20535, 2013.

GALVIS-OVALLOS, Fredy et al. A field study of the survival and dispersal pattern of *Lutzomyia longipalpis* in an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 12, n. 4, p. e0006333, 2018.

GALVIS-OVALLOS, Fredy et al. Detection of *Pintomyia fischeri* (Diptera: Psychodidae) With *Leishmania infantum* (Trypanosomatida: Trypanosomatidae) Promastigotes in a Focus of Visceral Leishmaniasis in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 58, n. 2, p. 830-836, 2021.

GERAIS, Minas. Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais. **Resolução SES/MG**, n. 760, 2013.

GUIMARÃES, Vanessa Cristina Fitipaldi Veloso et al. Molecular detection of *Leishmania* in phlebotomine sand flies in a cutaneous and visceral leishmaniasis endemic area in northeastern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n. 4, p. 357-360, 2014.

GUIMARÃES, Vanessa Cristina Fitipaldi Veloso et al. *Lutzomyia migonei* is a permissive vector competent for *Leishmania infantum*. **Parasites & vectors**, v. 9, n. 1, p. 1-6, 2016.

HENNIG, W. Phylogenetic systematics. Illinois, University of Illinois. **Urbana**, 263p, 1966.

HOLSINGER, John R.; CULVER, David C. The invertebrate cave fauna of virginia and a part of eastern tennessee-zoogeography and ecology. **Brimleyana**, n. 14, p. 1-162, 1988.

JACQUES, Colla et al. Biologia e ecologia de flebotomíneos, vetores de Leishmania, no estado de São Paulo. 2014.

INFRAN, J. O. M. et al. Nycthemeral rhythm of phlebotominae (Diptera: Psychodidae) in a craggy region, transitioning between the Wetland and the Plateau, Brazil. **Journal of medical entomology**, v. 54, n. 1, p. 114-124, 2017.

KILLICK-KENDRICK, R. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. **Medical and veterinary entomology**, v. 4, n. 1, p. 1-24, 1990.

KRÜGER, Andreas. Phlebotomine sandflies of Botswana: a taxonomic review and a faunistic update with the first record of genus Phlebotomus. **Acta tropica**, v. 171, p. 96-100, 2017.

LAINSON, Ralph et al., Amazonian visceral leishmaniasis-- distribution of the vector *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) in relation to the fox *Cerdocyon thous* (Linn.) and the efficiency of this reservoir host as a source of infection. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 85, n. 1, p. 135-137, 1990.

LAINSON, Ralph; RANGEL, Elizabeth F. *Lutzomyia longipalpis* and the ecoepidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 8, p. 811-827, 2005.

Lainson R, Shaw JJ. Evolution, classification and geographical distribution. In: Peters W, Killick-Kendrick R, editors. **The leishmaniasis in biology and medicine**. London: Academic Press; 1987. p. 12-120.

LARROUSSE, F. et al. A new American species of the genus Phlebotomus, *Phlebotomus brumpti*, sp. nov. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, v. 13, n. 8, p. 659-662, 1920.

LEWIS, D. J. et al. Proposals for a stable classification of the phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). **Systematic Entomology**, v. 2, n. 4, p. 319-332, 1977.

Hommel M *et al.*, Experimental models for leishmaniasis and for testing antileishmanial vaccines Ann. **Trop. Med. Parasitol.** 1995; v.89. p.55–73.

Margonari C, Soares RP, Andrade-Filho JD, Xavier DC, Saraiva L, Fonseca AL, Silva RA, Oliveira ME, Borges EC, Sanguinette CC, Melo MN. Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) and Leishmania infection in Gafanhoto Park, Divinópolis, Brazil. **J. Med. Entomol.** 2010; 47(6): 1212-9.

MARGONARI, Carina et al. Phlebotomine sand flies (Diptera: psychodidae) and leishmania infection in Gafanhoto park, Divinópolis, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 47, n. 6, p. 1212-1219, 2014.

MARTÍN-SÁNCHEZ, J. et al., Pool screen PCR for estimating the prevalence of *Leishmania infantum* infection in sandflies (Diptera: Nematocera,

Phlebotominae). **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 100, n. 6, p. 527-532, 2006.

MARTINS, A. V.; SILVA, J.; FALCÃO, A. L. Estudos sobre os flebótomos do estado de Minas Gerais. XIII: descrição do Macho e redescrição de fêmea de *Lutzomyia misionensis* (Castro,1960) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Revista Brasileira de Biologia**, v.96, p.75-79, 1977.

MARZOCHI, M. C. A. **A leishmaniose tegumentar no Brasil**. In Grandes Endemias Brasileiras, Universidade de Brasília, Brasília.1989.

MARZOCHI, Mauro Célio de Almeida. Curso-Doenças infecto-parasitárias: leishmanioses no Brasil: as leishmanioses tegumentares. **J. bras. Med**, p. 82-104, 1992.

Missawa NA, Michalsky EM, Fortes-Dias CL, Dias ES. *Lutzomyia longipalpis* naturally infected by *Leishmania* (L.) *chagasi* in Várzea Grande, Mato Grosso State, Brazil, an area of intense transmission of visceral leishmaniasis. **Cad. Saúde Pública**. 2010; 26(12): 2414-9.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR), SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. 2014

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR) SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar americana. 2017.

Nadim A e Faghih M. The epidemiology of cutaneous Leishmaniasis in the Isfahan province of Iran. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** 1968; 61: 534-549.

NEWSTEAD, Robert. The papataci flies (Phlebotomus) of the Maltese Islands. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 5, n. 2, p. 139-186, 1911.

OGAWA, Guilherme Maerschner et al. Sandfly fauna (Diptera: Psychodidae) from caves in the state of Rondônia, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, n. 1, p. 61-68, 2016.

OLIVEIRA, André Luis de; OBARA, Ana Tiyomi; RODRIGUES, Maria Aparecida. Educação ambiental: concepções e práticas de professores de ciências do ensino fundamental. **Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias**, v. 6, n. 3, p. 471-495, 2007.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Leishmaniasis. **Publicações eletrônicas**. Geneva, 2018. Disponível em: Acesso em março de 2020.

PANAGOPOULOS, Periklis et al. Visceral leishmaniasis during pregnancy: a rare case report from Greece. 2017.

Passos VMA, Barreto SM, Romanha AJ, Krettli AU, Volpini AC, Gontijo CMF, et al. Leishmaniose tegumentar na Região Metropolitana de Belo Horizonte: aspectos clínicos, laboratoriais, terapêuticos e evolutivos (1989-1995). **Soc Bras Med Trop Rev** 2001; 34:5-12.

PEREIRA, Cássio Avelino Soares. Políticas públicas no setor de turismo. **Revista Turismo em Análise**, v. 10, n. 2, p. 7-21, 1999.

PÉREZ, Luisa Balbina Diéguez. Projeto de intervenção sobre o comportamento das Leishmanioses Tegumentar Americana na terra indígena Xakriabá no Município de São João das Missões, Minas Gerais. 2015.

POULSON, Thomas L. WHITE, William B. The cave environment. **Science**, v. 165, n. 3897, p. 971-981, 1969.

RANGEL, Elizabeth F.; LAINSON, Ralph. Flebotomíneos do Brasil. In: **Flebotomíneos do Brasil**. 2003. p. 368-368.

Rodríguez EM, Díaz F, Pérez MV. Spatio-temporal clustering of American cutaneous leishmaniasis in a rural municipality of Venezuela. **Epidemics** 2013; 5:11-9.7

RÊGO, Felipe Dutra et al. Potential vectors of leishmania parasites in a recent focus of visceral leishmaniasis in neighborhoods of Porto Alegre, State of Rio Grande do Sul, Brazil. **Journal of medical entomology**, v. 57, n. 4, p. 1286-1292, 2020.

Revez L, Maia-Elkhoury AN, Nicholls RS, Romero GA, Yadon ZE. Interventions for American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis: a systematic review update. **PLoS One**. 2013; 8(4): e61843

SACKS, D. L. Leishmania – Sand Fly Interactions Controlling Species-specific vector competence. **Cell. Microbiol.**, v. 3, n. 4, p. 189-196, 2001.

SALOMÓN, Oscar D. et al. Phlebotominae sand flies in Paraguay: abundance distribution in the Southeastern region. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 2, p. 185-190, 2002.

Saraiva L, Andrade-Filho JD, Silva SO, Andrade ASR, Melo MN. The molecular detection of different Leishmania species within sand flies from a cutaneous and visceral leishmaniasis sympatric area in Southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 2010; 105: 1033–1039.

Saraiva L, Carvalho GM, Gontijo CM, Quaresma PF, Lima AC, Falcão AL, Andrade Filho JD. Natural infection of Lutzomyia neivai and Lutzomyia sallesi (Diptera: Psychodidae) by Leishmania infantum chagasi in Brazil. **J Med Entomol** 2009; 46: 1159-1163.

SENNA, André R. et al., A importância e os desafios para o conhecimento e a catalogação da biodiversidade no Brasil. **Acta Scientiae et Technicae**, v. 1, n. 1, 2013.

Sherlock IA. Importância Médico-Veterinária: A importância dos flebotomíneos. In Rangel EF e Lainson R, editores. *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: **Editora Fiocruz**, 2003; 15-21.

SHIMABUKURO, Paloma Helena Fernandes; GALATI, Eunice Aparecida Bianchi. Lista de espécies de Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do Estado de São Paulo, Brasil, com comentários sobre sua distribuição geográfica. **Biota Neotropica**, v. 11, p. 685-704, 2011.

SHIMABUKURO, Paloma Helena Fernandes; DE ANDRADE, Andrey José; GALATI, Eunice Aparecida Bianchi. Checklist of American sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): genera, species, and their distribution. **ZooKeys**, n. 660, p. 67, 2017.

SINGH, Om Prakash et al. Elimination of visceral leishmaniasis on the Indian subcontinent. **The Lancet infectious diseases**, v. 16, n. 12, p. e304-e309, 2016.

SILVA, Jorge Antonio Santos. Turismo diante das tendências de globalização e integração regional: Mercosul (1988-1993). **Revista Turismo em Análise**, v. 6, n. 1, p. 89-117, 1995.

SILVA, Marconi Souza; FERREIRA, Rodrigo Lopes; DAMASCENO, Roberta Correa. Cavernas e o desenvolvimento de práticas no estudo de ciências: um estudo com alunos do sexto ano escolar. **Revista Brasileira de Ensino de Ciência e Tecnologia**, v. 7, n. 3, 2014.

SILVA, Rafaella Albuquerque et al., Ecology of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei* in an endemic area for visceral leishmaniasis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 3, p. 320-327, 2014.

SILVA, S. M. Avaliação clínica e laboratorial de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* (cunha e chagas, 1937), submetidos a um protocolo terapêutico em clínica veterinária de Belo Horizonte [Dissertação]. Belo Horizonte (MG): Universidade Federal de Minas Gerais, Setor de Parasitologia, 2007.

SILVA, L. A.; SCARIOT, A. Composição e estrutura da comunidade arbórea de uma floresta estacional decidual sobre o afloramento calcário no Brasil Central. **Revista Árvore, Viçosa**, v. 28, p. 69-75, 2004.

SILVA, Túlio Romão Ribeiro da et al. Molecular Detection of *Leishmania* in sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) collected in the Caititu indigenous reserve of the municipality of Labrea, state of Amazonas, Brazil. **Journal of medical entomology**, v. 51, n. 6, p. 1276-1282, 2014.

SILVEIRA, NETO. S., O. NAKANO, D. BARBIN & N. VILLA NOVA. Manual de ecologia dos insetos. São Paulo. **Agronômica Ceres**, 419p, 1976.

SOUZA, Marcos Barbosa de et al. Ausência da *Lutzomyia longipalpis* em algumas áreas de ocorrência de leishmaniose visceral no Município do Rio de Janeiro. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 6, p. 1881-1885, 2003.

SOUZA, Carina Margonari de et al., Study on phlebotomine sand fly (Diptera: Psychodidae) fauna in Belo Horizonte, state of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 8, p. 795-803, 2004.

SPIR, Patrícia Rodrigues Naufal et al. Epidemiology of human immunodeficiency virus-visceral leishmaniasis-co-infection. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 49, n. 2, p. 295-299, 2016.

TEIXEIRA, S. P. D.; DIAS, Marcelo S. Levantamento espeleológico da região cárstica de Arcos, Pains, Doresópolis, Córrego Fundo e Iguatama, frente às atividades degradadoras. In: **Anais XVIII Congresso Brasileiro de Espeleologia**. 2003. p. 193-199.

TEMPONI, Andrea Oliveira Dias et al. Ocorrência de casos de leishmaniose tegumentar americana: uma análise multivariada dos circuitos espaciais de produção, Minas Gerais, Brasil, 2007 a 2011. **Cadernos de saúde pública**, v. 34, p. e00165716, 2018.

TEODORO, Layane Meira et al. Phlebotomine sand flies (Diptera, Psychodidae) from iron ore caves in the State of Pará, Brazil. **Subterranean Biology**, v. 37, p. 27, 2021.

THEODOR, O. The mouth parts, alimentary tract, and salivary apparatus of the female in *Phlebotomus papatasi*. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 20, n. 1, p. 109-142, 1926.

THEODOR O. Classification of the old world species of the subfamily Phlebotominae (Diptera, Psychodidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 39, p. 85-115, 1948.

THOMAZ-SOCCOL, Vanete et al. Hidden danger: Unexpected scenario in the vector-parasite dynamics of leishmaniasis in the Brazil side of triple border (Argentina, Brazil and Paraguay). **PLoS neglected tropical diseases**, v. 12, n. 4, p. e0006336, 2018.

TRAJANO, E.; GNASPINI, P. Fauna cavernícola brasileira, com uma análise preliminar da distribuição dos táxons. **Revta bras. Zool**, v. 7, n. 3, p. 383-407, 1991.

VAN GRIENSVEN, Johan et al. Visceral leishmaniasis and HIV co-infection in Northwest Ethiopia: antiretroviral treatment and burden of disease among patients enrolled in HIV care. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 98, n. 2, p. 486-491, 2018.

WILLIAMS, Paul; CARVALHO, Aurora LM. Description of the female of *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *dispar*, with a redescription of the male (Diptera:

Psychodidae: Phlebotominae). **Journal of medical entomology**, v. 16, n. 4, p. 325-330, 1979.

XIMENES, Maria de Fátima Freire de Melo et al. Effect of abiotic factors on seasonal population dynamics of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in northeastern Brazil. **Journal of medical entomology**, v. 43, n. 5, p. 990-995, 2006.

Young DG, Duncan MA. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). **Mem. Am. Entomol. Inst.** 1994; 54:1-881.

ZHOU, Peng; SHI, Zheng-Li. SARS-CoV-2 spillover events. **Science**, v. 371, n. 6525, p. 120-122, 2021.