



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE NA
AMAZÔNIA OCIDENTAL**

**ASPECTOS DA FAUNA FLEBOTOMÍNEA EM PARQUES URBANOS NO
MUNICÍPIO DE RIO BRANCO, ACRE, AMAZÔNIA OCIDENTAL BRASILEIRA.**

EDMILSON PEREIRA BARROSO

Rio Branco – AC

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
NA AMAZÔNIA OCIDENTAL

ASPECTOS DA FAUNA FLEBOTOMÍNEA EM PARQUES URBANOS,
RIO BRANCO, ACRE, AMAZÔNIA OCIDENTAL BRASILEIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental da Universidade Federal do Acre, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Andreia Fernandes Brilhante

Co-orientador: Prof. Dr. Leonardo Augusto Koraha
Melchior

Rio Branco – AC

2022

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da
UFAC

B277a Barroso, Edmilson Pereira, 1988 -
Aspectos da fauna flebotomínea em parques urbanos, Rio Branco, Acre,
Amazônia ocidental brasileira / Edmilson Pereira Barroso; orientador: Dra.
Andreia Fernandes Brilhante e coorientador: Dr. Leonardo Augusto Koraha
Melchior. – 2022.
53 f.: il.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental, Rio Branco, 2022.
Inclui referências bibliográficas e anexos.

1. Phlebotominae. 2. Parques urbanos. 3. *Leishmania*. I Brilhante,
Andreia Fernandes (orientador). II. Melchior, Leonardo Augusto Koraha
(coorientador).
III. Título.

CDD: 610.7

Bibliotecário: Uéliton Nascimento Torres CRB-11º/10074

EDMILSON PEREIRA BARROSO

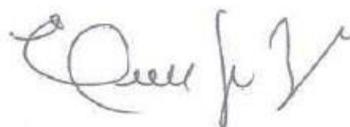
Exame de defesa apresentado como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência da Saúde no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental da Universidade Federal do Acre - UFAC:

data da aprovação: 01 de Novembro de 2022

BANCA EXAMINADORA



Profa.Dra. Andreia Fernandes Brilhante (Presidenta)
Universidade Federal do Acre-UFAC



Profa. Dra. Eunice Aparecida Bianchi Galati (Membro Externo)
Faculdade de Saúde Pública- Universidade de São Paulo



Profa. Dra. Márcia Moreira de Ávila
Instituto Federal do Acre-IFAC

RIO BRANCO-AC

2022

DEDICATORIA

Dedico, primeiramente, a Deus e toda a minha família e a todos que contribuíram para esse momento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, ao criador, meu fiel e meu salvador Deus, por ter guiado e protegido todos os meus passos e escolhas.

Aos meus pais, principalmente minha mãe Antônia de Lima por sempre acreditar em mim e ajudar em todos os momentos difíceis que passei.

À minha orientadora Profa. Dra. Andreia Fernandes Brilhante por todas as orientações que foram dadas e por sempre estar disposta a me assistir quando precisei. Gratidão!

Aos meus companheiros de pesquisas Ana Carolina e Eduardo Alcici por toda ajuda e apoio que me deram nas coletas, dissecação e triagem dos insetos no laboratório de Entomologia Médica da Universidade Federal do Acre.

Ao Ylêdo Fernandes de Menezes Júnior por toda ajuda que me destes nos dias de coletas com o transporte, capturas e recolhimentos das armadilhas nos parques estudados.

À minha irmã Maria Raimunda por todo apoio nos estudos e por ceder seu espaço domiciliar para minha hospedagem durante esses anos de estudos. Muito Obrigado!

Ao meu amigo Jorgimar Peres pelo ajuda em toda formatação do meu trabalho. Obrigado pela paciência e pelo tempo dedicado neste auxílio.

EPIGRAFE

**“DEIXE-ME CONTAR-LHE O SEGREDO QUE ME CONDUZIU AO MEU
OBJETIVO: A MINHA FORÇA RESIDE APENAS NA MINHA TENACIDADE.”**

Louis Pasteur

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Flebotomíneos fêmea da espécie *Lutzomyia Longipalpis*.
- Figura 2. Ciclo de vida dos flebotomíneos.
- Figura 3. Distribuição dos parques urbanos amostrados no estudo, Rio Branco, Acre, 2021
- Figura 4. Curvas da rarefação e extrapolação.
- Figura 5. Matriz ordenada de composição de espécies.

LISTA DE ABREVIATURAS

LTA: Leishmaniose tegumentar americana

LT: Leishmaniose tegumentar

LC: Leishmaniose cutânea

LV: Leishmaniose visceral

LRV: Vírus de RNA de *Leishmania*

Bi.- Bichromomyia

Br.- Brumptomyia;

Ev.- Evandromyia;

Lu.- Lutzomyia;

Mi.- Micropygomyia;

Mg.- Migonemyia;

Ny.- Nyssomyia;

Pi.- Pintomyia;

Pr.- Pressatia;

Pa.-Psathyromyia;

Ps.- Psychodopygus;

Sc. – Sciopemyia;

Th.- Trichophoromyia;

Vi.- Viannmyia.

M - Macho.

F - Fêmea.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição da fauna flebotomínea em parques urbanos de Rio Branco, Acre outubro de 2020 a setembro de 2021.

Tabela 2. Valores de diversidade observada e estimada em parques urbanos de Rio Branco, Acre, outubro de 2020 a setembro de 2021.

Tabela 3. Similaridade na composição de espécies com base no índice qualitativo de sorensen.

Tabela 4. Resultados da detecção e identificação de tripanossomatídeos.

RESUMO

No Estado do Acre, as leishmanioses representam um importante problema de saúde pública, além de possuir uma grande diversidade de parasitos do gênero *Leishmania* como também de vetores. Os parques urbanos são ambientes de áreas verdes que atraem a população para atividades de lazer e desporto. Nessas áreas, alguns estudos da fauna flebotomínea já evidenciaram a presença de espécies consideradas vetoras de agentes de leishmanioses. Assim, o presente estudo tem como objetivo caracterizar a fauna flebotomínea em parques urbanos de Rio Branco, Acre, abordando sua diversidade, aspectos ecológicos e infecção natural por parasitos flagelados. Durante o período de outubro de 2020 a setembro de 2021, armadilhas luminosas automáticas do tipo CDC foram instaladas em três parques urbanos de Rio Branco: Capitão Ciríaco, Horto Florestal e Chico Mendes. Para análise de comparação da riqueza e diversidade de espécies entre os parques, foi analisada por meio de curvas de rarefação e de predição. Para detecção de *Leishmania* spp. em fêmeas de flebotomíneos, foram realizados testes moleculares por reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando como marcador o ITS1 e sequenciamento. Durante o período de estudo, foram coletados 2.674 espécimes, 1.207 machos e 1.467 fêmeas, distribuídas em 14 gêneros e 35 espécies. Destas, *Nyssomyia antunesi* (50,33%) e *Evandromyia walkeri* (12,93%) foram as mais frequentes, as demais espécies, embora menos frequentes, assinala-se a presença de importantes vetores, comprovados e suspeitos, e também espécies consideradas silvestres. Dentre os parques, o Horto Florestal é o que possui maior diversidade, riqueza e equitabilidade de espécies, em comparação ao Parque Chico Mendes e Capitão Ciríaco, sendo este último o de menor diversidade e riqueza. Nas espécies *Pintomyia nevesi* e *Ny. antunesi* foram detectadas com DNA de *Leishmania* spp.. O estudo demonstrou que os parques urbanos de Rio Branco podem ser um ambiente de risco de transmissão de leishmanioses para seus frequentadores.

Palavras-Chaves: Phlebotominae; Parques urbanos; *Leishmania*; Acre.

ABSTRACT

In the State of Acre, leishmaniasis represent an important public health problem, in addition to having a great diversity of parasites of the *Leishmania* genus as well as vectors. Urban parks are environments of green areas that attract the population to leisure and sports activities. In these areas, some studies of the phlebotomine fauna have already shown the presence of species considered to be vectors of leishmaniasis agents. Thus, the present study aims to characterize the sand fly fauna in urban parks in Rio Branco, Acre, addressing its diversity, ecological aspects and natural infection by flagellate parasites. During the period from October 2020 to September 2021, automatic light traps of the CDC type were installed in three urban parks in Rio Branco: Capitão Ciríaco, Horto Florestal and Chico Mendes. To compare the richness and diversity of species between the parks, it was analyzed through rarefaction and prediction curves. For detection of *Leishmania* spp. in female sandflies, molecular tests were performed by polymerase chain reaction (PCR) using ITS1 as a marker and sequencing. During the study period, 2,674 specimens were collected, 1,207 males and 1,467 females, distributed in 14 genera and 35 species. Of these, *Nyssomyia antunesi* (50.33%) and *Evandromyia walkeri* (12.93%) were the most frequent, the other species were less frequent, but indicating the presence of important vectors, proven and suspected, as well as species considered wild. Among the parks, Horto Florestal has the greatest diversity, richness and equitability of species, compared to Parque Chico Mendes and Capitão Ciríaco, the latter being the one with the least diversity and richness. The species *Pintomyia nevesi* and *Ny. antunesi* were detected with *Leishmania* spp. DNA. The study showed that the urban parks of Rio Branco can be an environment of risk of transmission of leishmaniasis to their visitors.

Keywords: Phlebotominae; Urban parks; Leishmania; Acre.

SUMÁRIO

1	Introdução	15
2	Justificativa.....	16
3	Revisão de literatura	17
3.1	Aspectos gerais das leishmanioses	17
3.2	Epidemiologia da LTA	19
3.3	Características dos flebotomíneos	20
3.4	Flebotomíneos do Acre	22
3.5	Fauna flebotomíneos em parques no Brasil.....	23
4	Objetivos	25
4.1	Objetivo geral	25
4.2	Objetivos específicos	25
5	Materiais e métodos	26
5.1	Área de Estudo	26
5.2	Coleta e identificação	27
5.3	Análises ecológicas da fauna flebotomínea	28
5.4	Análises moleculares	29
6	Resultados	30
6.1	A fauna flebotomínea de parques urbanos e seus aspectos ecológicos..	30
6.2	Detecção de <i>Leishmania</i> em flebotomíneos	34
7	Discussão.....	35
8	Conclusão	39
9	Cronograma de execução	40
10	Orçamento financeiro	41
11	Referências	42
12	Anexos	51

1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses são zoonoses causadas por diversas espécies de protozoários do gênero *Leishmania* (BRASIL, 2017; OMS, 2007), sendo transmitida a hospedeiros vertebrados, humanos e outros animais, através da picada das fêmeas de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) (GALATI et al., 2017; RODRIGUES et al., 2013), e estão presentes em 98 países e 5 continentes (ALVAR et al., 2012; RODRIGUES et al., 2019) afetando de um a dois milhões de pessoas por ano (KARIYAWASAM et al., 2020).

No estado do Acre (AC) localizado no noroeste do Brasil, a leishmaniose tegumentar americana (LTA) é considerada uma doença endêmica, com alta incidência e prevalência (DA SILVA-NUNES et al., 2008; DA SILVA; MUNIZ, 2009; MELCHIOR; BRILHANTE; CHIARAVALLLOTI-NETO, 2017). No entanto, estudos sobre essas parasitoses e flebotomíneos no estado do Acre são poucos (ÁVILA et al., 2018). Ainda assim, em algumas regiões foram relatados a presença de *Leishmania* spp. em casos humanos bem como em casos caninos (BRILHANTE et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2005; TELES et al., 2016; TOJAL DA SILVA et al., 2006), e em relação aos vetores de *Leishmania* spp, algumas espécies de flebotomíneos de interesse epidemiológico como *Trichophoromyia auraensis*, *Nyssomyia antunesi*, *Nyssomyia whitmani* e *Psychodopygus davisii* foram relatadas (AZEVEDO et al., 2008; ÁVILA et al., 2018), assim como, a presença de *Ny. umbratilis*, espécie antropofílica e associada à transmissão da LTA, no Parque Chico Mendes (AZEVEDO et al., 2008).

Os parques urbanos são áreas verdes para recreação comunitária, que auxiliam no bem estar social, além de contribuir para o favorecimento da biodiversidade na cidade e são um facilitador no controle da temperatura e clima (IBERDROLA, 2020). No que concerne à fauna flebotomínea nestes ambientes, há diversos estudos no Brasil que demonstram alta diversidade de espécies de flebotomíneos, sendo algumas delas de importância epidemiológica (MARGONARI et al., 2010; MOSCHIN et al., 2013; TONELLI et al., 2017). Dessa forma, parques florestais abertos ao público podem fornecer condições favoráveis para manter um ciclo de transmissão de *Leishmania* spp. (SÁNCHEZ UZCÁTEGUI et al., 2020).

Em Rio Branco, capital do estado do Acre, a presença de parques ecológicos e recreativos merecem especial atenção pela potencialidade de favorecer a

transmissão de agentes da leishmaniose tegumentar americana (LTA), por localizarem-se em fragmentos de florestas primárias com a ocorrência de animais silvestres, população humana vivendo nas proximidades e um grande número de pessoas visitantes.

A região amazônica apresenta rica fauna flebotomínea e uma das mais diversas do mundo (BRILHANTE et al., 2017; ZORILLA et al., 2017). Assim sendo, o fato de Rio Branco integrar esse bioma são necessários mais estudos longitudinais, com amostragens em diferentes áreas e periodicidade regular de coletas na busca de informações sobre a diversidade, os aspectos ecológicos e o comportamento da fauna de flebotomíneos em seus parques urbanos, sobretudo porque algumas regiões da cidade são consideradas endêmicas para a LTA. Vale lembrar que apesar de existirem estudos em parques urbanos de Rio Branco, Parque Chico Mendes (AZEVEDO et al., 2008) e no Horto Florestal (ÁVILA et al., 2018) as coletas foram esporádicas.

2 JUSTIFICATIVA

Os parques urbanos são importantes ambientes de lazer e desporto da população, pois além de serem gratuitos, podem propiciar um contato mais próximo da natureza trazendo maior qualidade de vida para a população. No entanto, sabe-se que muitas espécies de flebotomíneos têm estreita ligação com os ambientes florestais e fragmentos de matas, assim essas áreas podem representar também um risco de transmissão de agentes veiculados por esses insetos à população que frequenta esses locais.

Tendo em vista os escassos trabalhos realizados sobre a diversidade flebotomínea nos parques de Rio Branco – Acre, e devido o grande índice de doenças ocasionadas por vetores na região Amazônica, o presente estudo busca demonstrar a importância da identificação das espécies de flebotomíneos, bem como aspectos sobre o comportamento das mesmas. Com isto auxiliar na identificação dos locais prováveis de infecção dos casos humanos subsidiando a tomada de decisão referente às recomendações de prevenção, vigilância e controle das leishmanioses.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aspectos gerais das leishmanioses

A leishmaniose é considerada principalmente uma doença zoonótica. É uma doença que acomete os seres humanos quando expostos ao ciclo de transmissão do parasita (BRASIL, 2014).

Considerada um grande problema de saúde pública, representando uma doença complexa com espectro clínico diverso e causadas por protozoários intracelulares do gênero *Leishmania* (*Kinetoplastida*, *Trypanosomatidae*) e transmitidas pela picada de fêmeas infectadas de flebotomíneos da família *Psychodidae* (VASCONCELOS et al., 2018).

Apresenta uma vasta diversidade de vetores além de reservatórios em animais silvestres, marsupiais e domésticos que estão envolvidos em seu ciclo de transmissão, sendo considerada uma doença ligada à pobreza, e que fatores sociais, ambientais e climáticos também influenciam diretamente em sua epidemiologia (BRASIL, 2016).

Globalmente está entre as dez principais doenças tropicais negligenciadas com mais de 12 milhões de pessoas infectadas, reportando anualmente 0,9 a 1,6 milhão de novos casos e com 20.000 e 30.000 mortes. Estima-se também que cerca de 350 milhões de pessoas correm o risco de infecção. É uma doença que se apresenta nas suas formas clínicas visceral e tegumentar (cutânea, mucosa e cutânea difusa) (OMS, 2021).

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença parasitária, sistêmica, crônica e potencialmente fatal para o ser humano, cujos reservatórios no ambiente urbano são os cães e no ambiente silvestre, as raposas e os marsupiais. O agente etiológico é transmitido por dípteros da família *Psychodidae*, sendo a principal espécie a *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi* infectados por *Leishmania donovani* e *Leishmania infantum* (BRASIL, 2022).

É uma doença que se apresenta com alta letalidade e mortalidade, principalmente, em indivíduos não tratados e crianças desnutridas, sendo considerada também emergente em pessoas portadoras do vírus da imunodeficiência humana (HIV), tornando-se uma comorbidade importante na atualidade (BRASIL, 2014).

Transfusão de sangue, uso de drogas intravenosas, transplantes de órgãos e acidentes congênitos e laboratoriais, constituem modos excepcionais de transmissão. A forma zoonótica, causada pelo protozoário *Leishmania infantum*, ocorre na bacia do Mediterrâneo, China, Oriente Médio e América do Sul, e tem o cão como principal reservatório. A forma antroponótica causada por *Leishmania donovani*, é prevalente na África Oriental, Bangladesh, Índia e Nepal (VAN GRIENSVEN; DIRO, 2012; VAN GRIENSVEN; DIRO, 2019).

Anualmente, cerca de 500.000 novos casos de LV ocorrem no mundo. O subcontinente Indiano e a África Oriental apresentam cerca de 70% dos casos de LV (VAN GRIENSVEN; DIRO, 2019). No continente americano, foram registrados em 13 países (Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicarágua, Paraguai, Uruguai e Venezuela), com 3.500 casos e com taxa média de letalidade de 7%. 97% dos casos foram notificados pelo Brasil, e o demais casos pela Argentina, Bolívia, Colômbia, Paraguai, Venezuela e Uruguai (OPAS, 2021).

Com relação a leishmaniose tegumentar, esta se subdivide em leishmaniose cutânea, mucosa e cutânea difusa. A LC evidenciada por lesões únicas ou múltiplas e quase sempre são indolores na pele. Inicialmente, são pequenas feridas de fundo granular e purulento com bordas vermelhas que aumentam de tamanho e demoram a cicatrizar (BRASIL, 2022).

A leishmaniose cutânea difusa (LCD) é considerada uma doença rara, grave e incapacitante e está associada a múltiplas lesões nodulares pelo corpo. Caracteriza-se pela ausência de uma resposta celular específica que provém de infecções adquiridas na infância (BRASIL, 2007). No Brasil, está associada exclusivamente à infecção causada por *Leishmania (L.) amazonensis*. Esta espécie tem uma habilidade especial de interferir negativamente em vários mecanismos imunológicos necessários gerando uma resposta imune ineficaz, tornando a doença de difícil tratamento e com recidivas quando não tratada adequadamente (COELHO et al., 2014).

A leishmaniose mucosa é uma forma clínica grave e pode levar a deformidades irreversíveis na nasofaringe que impactam negativamente na autoestima dos pacientes acometidos, com envolvimento psicológico devido ao estigma social (BRASIL, 2022; BENNIS et al., 2015). Cantanhêde et al. (2015)

relata que de 5 a 10% dos pacientes assintomáticos quanto indivíduos que receberam tratamento inadequado ou se recuperaram para leishmaniose cutânea podem desenvolver a forma mucosa.

Os fatores que podem estar envolvidos na gravidade das formas de leishmaniose cutânea (LC) à leishmaniose mucosa ainda não estão bem compreendidos, mas autores relatam que espécies de parasitas, vetores, características genéticas e o estado imune do hospedeiro, bem como, a presença de um vírus endossimbiótico de RNA de *Leishmania* (LRV) podem corroborar para o desfecho clínico da doença (CARVALHO et al., 2021; IVES et al., 2011).

A leishmaniose tegumentar, inicialmente era considerada uma zoonose de animais silvestres que acometia ocasionalmente indivíduos que adentravam na floresta. No entanto, intervenções antrópicas em áreas florestais favorecem a adaptações dos vetores em novos nichos ecológicos em zonas rurais e periurbanas, assim como a interação entre reservatórios (BRASIL, 2022).

Devido ao aumento global significativo e sua incidência, tem havido um interesse crescente pelas leishmanioses nas últimas décadas. Além de relatar epidemias recentes em áreas endêmicas, há evidências de disseminação das leishmanioses em áreas anteriormente não endêmicas. Tais aumentos podem ser explicados em parte por um melhor diagnóstico e relato dos casos, mas também resultam de fatores associados ao aumento da migração populacional, maior detecção das leishmanioses associadas às infecções oportunistas, o surgimento de resistência às drogas usadas no tratamento e a adaptação dos ciclos de transmissão aos ambientes peridomiciliares devido à urbanização e ao desmatamento (ANVERSA et al., 2018).

3.2 Epidemiologia da leishmaniose tegumentar

A leishmaniose tegumentar presente em 98 países no mundo e distribuída em 5 continentes (ALVAR et al., 2012). Estima-se que ocorram 1,5 milhão de novos casos a cada ano, sendo relatada em 20 países das Américas, 18 dos quais são endêmicos (Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, El Salvador, Guatemala, Guiana Francesa, Guiana, Honduras, Nicarágua, México, Panamá, Paraguai, Peru, Suriname e Venezuela (OMS, 2022).

Entre os 10 países do mundo com maior número de casos de leishmaniose tegumentar, 5 estão nas Américas: Brasil, Colômbia, Peru, Nicarágua e Bolívia. Atualmente, ocorrem em média 55.000 casos de leishmaniose tegumentar por ano, que juntos, representaram 81% dos casos na região com uma taxa média de incidência regional de 18,37 casos por 100.000 habitantes (OPAS, 2021).

Em relação ao sexo, 71% dos casos ocorreram em homens entre 20 e 50 anos, no entanto, cinco países registraram mais de 35% dos casos em mulheres (Costa Rica, El Salvador, Nicarágua, Panamá e Venezuela), indicando a necessidade de investigação entomológica para verificar uma possível transmissão domiciliar (OMS, 2021).

No Brasil foram notificados 17.772 casos, com um coeficiente de incidência de 8,3/100.000 hab, sendo a Região Norte com a maior taxa média do país, com 46,4 casos por 100.000/hab. O estado do Acre localizado no sudoeste da Região Norte do Brasil, notificou 1.097 casos de leishmaniose tegumentar apresentando uma incidência de 12,1 casos por 10.000 habitantes (BRASIL, 2021).

É importante ressaltar que, essa incidência está, principalmente, em zonas rurais na maioria das microrregiões estudadas, como Brasiléia (83,2%), Cruzeiro do Sul (71,3%), Tarauacá (70,9%), Sena Madureira (70) e Rio Branco (50%) (MELCHIOR et al., 2017).

3.3 Características dos flebotomíneos

Os flebotomíneos, são dípteros da família Psychodidae, subfamília Phlebotominae (LAINSON e SHAW 2005, GALATI, 2018). São vetores de importância médica e veterinária devido à sua capacidade de propagar inúmeros patógenos (vírus, bactérias e protozoários) a hospedeiros vertebrados, incluindo o homem, animais domésticos e silvestres. Esses vetores são largamente espalhados em todo o mundo e geralmente utilizam-se como fonte de alimento o sangue de aves e mamíferos (DE ARAUJO-PEREIRA et al., 2020; RANGEL; LAINSON, 2009; SANTOS; PINHEIRO; ANDRADE, 2014).

São insetos (Figura 1) pequenos em tamanho, com comprimento médio de 2 a 5 mm, variando na cor amarelo claro ao marrom escuro, pernas longas, corpo delgado e cerdoso (GALATI, 2018). Têm como perfil vôo saltitante e a manutenção das asas eretas, mesmo em inatividade, e quando pousam permanecem eretas

em forma de lança (BASANO; CAMARGO, 2004), desses aspectos, originaram-se suas sinônimas populares como “cangalhinha”, “mosquito-palha” “birigui”, “tatuquina”, “anjinho”, “flebóti” (DIAS; LOROSA; REBÊLO, 2003; BRASIL, 2016; RANGEL e LAISON, 2003).



Figura 1. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) fêmea da espécie *Lutzomya longipalpis*. Fonte: (COSTA, 2015)

São holometábolos cujas formas imaturas (Figura 2) se desenvolvem no meio ambiente, onde o calor e umidade são necessários para o desenvolvimento larval, além disso, alimentam-se de matéria orgânica em decomposição, preferencialmente de origem vegetal (CASANOVA et al., 2013; GÓMEZ-BRAVO et al., 2019; GUIMARÃES, 2019). Os adultos, criptozoários, possuem exoesqueleto quitinoso e delicado, o que os tornam bem limitados às modificações do ambiente. Dentre as características, as fêmeas são exclusivamente hematófagas, utilizando-se do alimento para desenvolvimento dos ovos (VIEIRA, 2014).

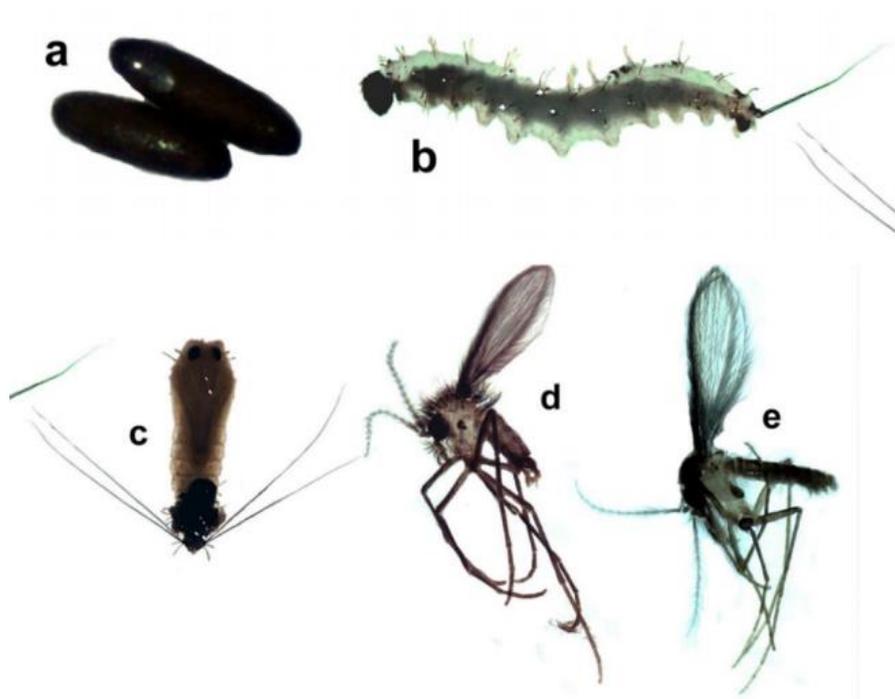


Figura 2. Ciclo de vida do flebotomíneo: A. Ovo, B. Fases larvais: A a D, C. Pupa, E. Inseto adulto. Fonte: (GUIMARÃES, 2019; Acervo EDTA).

Outros aspectos apontam que, dos vários estudos feitos em ambiente de florestas, é que esses vetores são frequentemente encontrados em ecótopos naturais, raízes de contraforte, troncos, solo, na copa das árvores, ocas de animais, folhas caídas no solo, além de frestas em rochas e em cavernas (ARAÚJO-PEREIRA et al., 2014; BARATA et al., 2008; SILVA et al., 2008).

3.4 Flebotomíneos do Acre

Existem aproximadamente 1.000 espécies de flebotomíneos no mundo, das quais 547 são conhecidas nas Américas (SHIMABUKURO; ANDRADE; GALATI, 2017; GALATI, 2018). Das espécies descobertas nas Américas, pelo menos 56 estão envolvidos na transmissão das leishmanioses (SZELAG et al., 2016). No Brasil foram encontradas 229 espécies e subespécies (ALMEIDA et al., 2010) e 122 podem ser encontradas na Amazônia (CHAGAS et al., 2016).

Na Amazônia, a fauna flebotomínea é apontada como uma das mais diversas e rica em espécies (BRILHANTE et al., 2017; ALVES et al., 2012). O estado do Acre localizado na amazônia ocidental brasileira, em seus poucos estudos sobre a fauna flebotomíneas foram notificadas 116 espécies e 15 gêneros (GODOY et al.,

2022), reportando a ocorrência de alguns potenciais vetores de importância epidemiológica, tais como: *Bi. flaviscutellata*, *Migonemyia migonei*, *Ny. whitmani*, *Ny. antunesi*, *Ny. umbratilis*, *Ps. ayrozai*, *Ps. davisii*, *Ps. paraensis*, e *Th. ubiquitalis* (SILVA-NUNES et al., 2008; AZEVEDO et al., 2008; TELES et al., 2016; BRILHANTE, 2017; ÁVILA et al., 2018).

Os estudos foram realizados nos municípios de Acrelândia, Assis Brasil, Brasília, Bujari, Cruzeiro do Sul, Feijó, Rio Branco e Xapuri e os gêneros com mais espécies relatadas foram *Evandromyia*, *Psychodopygus*, *Psathyromyia*, *Lutzomyia*, *Nyssomyia*, *Trichophoromyia*, *Micropygomyia*, *Pintomyia*, *Pressatia*, *Sciopemyia*, *Bichromomyia*, *Brumptomyia*, *Trichopygomyia*, *Viannamyia* e *Migonemyia* (GODOY et al., 2022).

A presença de espécies vetoras nos peridomicílios, intradomicílio, inclusive em áreas urbanas foram reportados (AZEVEDO et al., 2008; ÁVILA et al., 2018; BRILHANTE et al., 2021). Isso pode estar relacionado às ações antrópicas do homem para atividades agrícolas que favorecem a introdução desses vetores em ambientes nunca antes descritos (GARCIA et al., 2007; BRILHANTE, 2017; FIOCRUZ, 2019).

Dentre os ambientes de transmissão estão os parques florestais, pouco estudados no estado do Acre, com apenas um estudo, no Horto Florestal (ÁVILA et al., 2018) e parque Chico Mendes (AZEVEDO et al., 2008), demonstrando espécies de importância epidemiológica e a necessidade de mais estudos nestes ambientes.

3.5 Fauna flebotomíneos em parques no Brasil

Os parques urbanos são áreas verdes para recreação comunitária, que auxiliam no bem estar social, além de contribuir para o favorecimento da biodiversidade na cidade e um facilitador no controle da temperatura e clima (IBERDROLA, 2020). No que concerne à fauna flebotomínea nestes ambientes, há diversos estudos no Brasil que demonstram uma alta diversidade de espécies de flebotomíneos nesses locais, sendo algumas delas de importância epidemiológica (MARGONARI et al., 2010; MOSCHIN et al., 2013; TONELLI et al., 2017; PEREIRA et al., 2019).

No Parque Urbano do Rio Preto (Minas Gerais, Brasil), foram capturados em

áreas peridomiciliares cerca de 3.129 flebotomíneos, pertencentes a 19 espécies. *Lutzomyia evandroi* foi a espécie predominante (76,48%) (CERQUEIRA et al., 2018). Segundo Albuquerque (2018), essa espécie pode ser capaz de atuar na transmissão de *Leishmania infantum chagasi*, agente etiológico da Leishmaniose visceral em cães.

Também foram encontradas em áreas peridomiciliares entorno do Parque Nacional da Serra do Cipó – MG, 16 espécies de flebotomos pertencentes ao genero *Lutzomyia*, sendo que seis são vetores incriminados de leishmaniose, a saber, *Pi. fischeri*, *Lu. intermedia*, *Mg. migonei*, *Pi. pessoai*, *Ny. whitmani* e *Lu. longipalpis* (LANA et al., 2015). Após um interesse ampliado de entomologistas em busca de flebotomíneos, muitos relatam a presença de vetores potenciais e suspeitos em áreas antropizadas, isso, devido a adaptação, principalmente das espécies, *Lutzomyia longipalpis*, *Lutzomyia intermedia* e *Nyssomyia whitmani* em áreas urbanas em muitas cidades do Brasil (MARGONARI et al., 2010).

Em uma pesquisa realizada por Lavitschka; Ceretti-Junior; Marrell (2018), em parques urbanos municipais (Parque Anhanguera, Burle Marx Park, Parque de Previdência e Parque Santo Dias) na cidade de São Paulo, demonstrou que das 05 espécies (*Psychodopygus lloydi*, *Pintomyia fischeri*, *Lutzomyia amarali*, *Nyssomyia whatmani* e *Migonemyia migonei*), três destas podem está envolvidas na transmissão do agente causador da leishmaniose tegumentar. Em outros parques urbanos estaduais (Parques Estadual da Cantareira e Parque Estadual Alberto Löfgren) da mesma cidade, *Migonemyia migonei* e *Pintomyia fischeri* também foram relatados (MOSCHIN et al., 2013).

Também, em observações realizada em regiões antropizadas para atividades canavieiras no Parque Estadual do Morro do Diabo, no município de Teodório Sampaio, foram encontradas nove espécies diferentes de flebotomíneos, entre elas a *Nyssomyia neivai* responsável pela transmissão da leishmaniose tegumentar americana (LTA) (CASAGRANDE; GUIMARÃES, 2019).

Um estudo ecológico em áreas rurais entorno do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, foram coletadas nove espécies: *Nyssomyia whitmani*, *Lutzomyia longipalpis*, *Evandromyia lenti*, *Sciopemyia sordellii*, *Lutzomyia evandroi*, *Bichromomyia flaviscutellata*, *Lutzomyia wellcomei*, *Evandromyia termitophila* e *Lutzomyia intermedia*. Sendo que, *Nyssomyia*

whitmani e *Lutzomyia longipalpis* foram as espécies mais abundantes neste estudo (PEREIRA FILHO et al., 2015) sendo este último o principal vetor da leishmaniose visceral humana (FIOCRUZ, 2019).

Os flebotomíneos, além das várias características apresentadas, funcionam também como bioindicadores ambientais mostrando o impacto produzido sobre um habitat, comunidade ou ecossistema. Em um levantamento de flebotomíneos realizado no Parque Estadual de Guajará-Mirim próximo a áreas urbanas no estado de Rondônia, foram encontrados em abundância a espécie *Trichophoromyia auraensis* e *Nyssomyia antunesi*, além de uma nova espécie de flebotomíneo do gênero *Pintomyia* (PEREIRA et al., 2019). Outros novos registros de espécies de flebotomíneos como *Evandromyia pinottii*, *Evandromyia andersoni* e *Psychodopygus geniculatus* foram reportados no Parque Nacional Serra da Mocidade, nas proximidades de áreas indígenas Yanomami no estado de Roraima (RAMOS et al., 2018).

Outro estudo de fauna flebotomínea em parques urbanos foi realizado no Parque Urbano de Belém do Pará, região Norte do Brasil, onde foram capturados 19 espécies; entre elas a *Nyssomyia antunesi* incriminada na transmissão de LTA (SÁNCHEZ UZCÁTEGUI et al., 2020).

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Caracterizar a fauna flebotomínea em parques urbanos de Rio Branco, Acre, abordando sua diversidade, aspectos ecológicos e detecção por *Leishmania* spp.

4.2 Objetivos específicos

- Identificar as espécies de flebotomíneos, e as potenciais vetoras, em parques urbanos de Rio Branco
- Diagnosticar a presença de *Leishmania* em fêmeas de flebotomíneos;
- Estimar a riqueza e a diversidade da fauna flebotomínea entre os parques amostrados
- Estimar a similaridade das espécies de flebotomíneos coletadas entre os parques amostrados

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Área de Estudo

O estudo foi realizado na cidade de Rio Branco (09 ° 58'29 "S, 67 ° 48'36" W) capital no estado do Acre, localizado na Região Norte do país e atualmente possui 22 municípios (ACRE, 2020). De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, Rio Branco possui uma população estimada em torno de 413.418 habitantes para o ano de 2020. Possui uma área territorial de 8.834,942 km², com densidade demográfica de 38,03 habitantes por km². Apresenta 13.8% de domicílios urbanos em vias públicas com arborização e 20.4% de domicílios urbanos em vias públicas com urbanização adequada (IBGE, 2020).

A cidade de Rio Branco conhecida também como a “Capital da Natureza” tem quatro Parques, sendo esses com características distintas. O Horto Florestal, com 17 hectares, é palco para as práticas esportivas e atrativos ambientais, além de oferecer serviços como a Ecoteca e cursos. Entre as belezas cênicas do Horto Florestal, estão árvores centenárias, como mogno, castanheira e ipês, além de um lago com mirante e lâmina d’água de aproximadamente 01 (um) hectare para contemplação e conservação da fauna e flora aquática (BADARANE et al., 2018).

O Parque Chico Mendes, inaugurado em 1998, é o maior parque ambiental da cidade, com 57 hectares, o único com zoológico e tem como característica principal a utilização e maior visitação nos finais de semana. É um parque temático em conservação da fauna e flora regional como: castanheiras, seringueiras, o macaco-esquilo (*Saimiri boliviensis*), o saki (*Pithecia irrorata*), o macaco-coruja (*Aotus nigriceps*), o mico (*Saguinus labiatus*), a paca (*Agouti paca*), o esquilo (*Sciurus spp.*), preguiças (*Bradypus variegatus*, *Choloepus didactylus* e *Choloepus hoffmanni*), a jibóia (*Boa constrictor*), a liana (*Chironius bicarinatus*) e várias espécies de lagartos e aves (AZEVEDO et al., 2008; IFAC, 2015).

O Parque Municipal Capitão Ciríaco, com aproximadamente 4,6 hectares de área, é temático da cultura e economia extrativista, conservando o patrimônio de 400 árvores de seringueiras nativas que foram utilizadas na coleta do látex no período do Ciclo da Borracha. Conhecido também como “museu a céu aberto”, retratando a cultura dos seringais nativos da Amazônia (ACRE, 2015).

5.2 Coleta e identificação

Foram realizadas coletas entomológicas em fragmentos de matas de três parques urbanos da cidade de Rio Branco Acre; a saber: Parque Chico Mendes, Parque Capitão Ciríaco e Horto Florestal (Figura 3). As coletas foram feitas em doze meses consecutivos, de outubro de 2020 a setembro de 2021, sendo uma coleta a cada mês. Para captura dos insetos foram utilizadas armadilhas luminosas automáticas do tipo CDC (Center for Disease Control and Prevention), instaladas aproximadamente a 1,5 m de altura do solo e de 100 a 200 metros de distância uma das outras. As armadilhas foram distribuídas conforme a extensão territorial de cada parque. No parque Chico Mendes foram instaladas 05 (cinco) armadilhas, no Horto Florestal com 04 (quatro) e no Capitão Ciríaco, 03 (três), de maneira a abranger todo o perímetro de cada parque estudado, das 18:00h e retiradas às 6:00h.

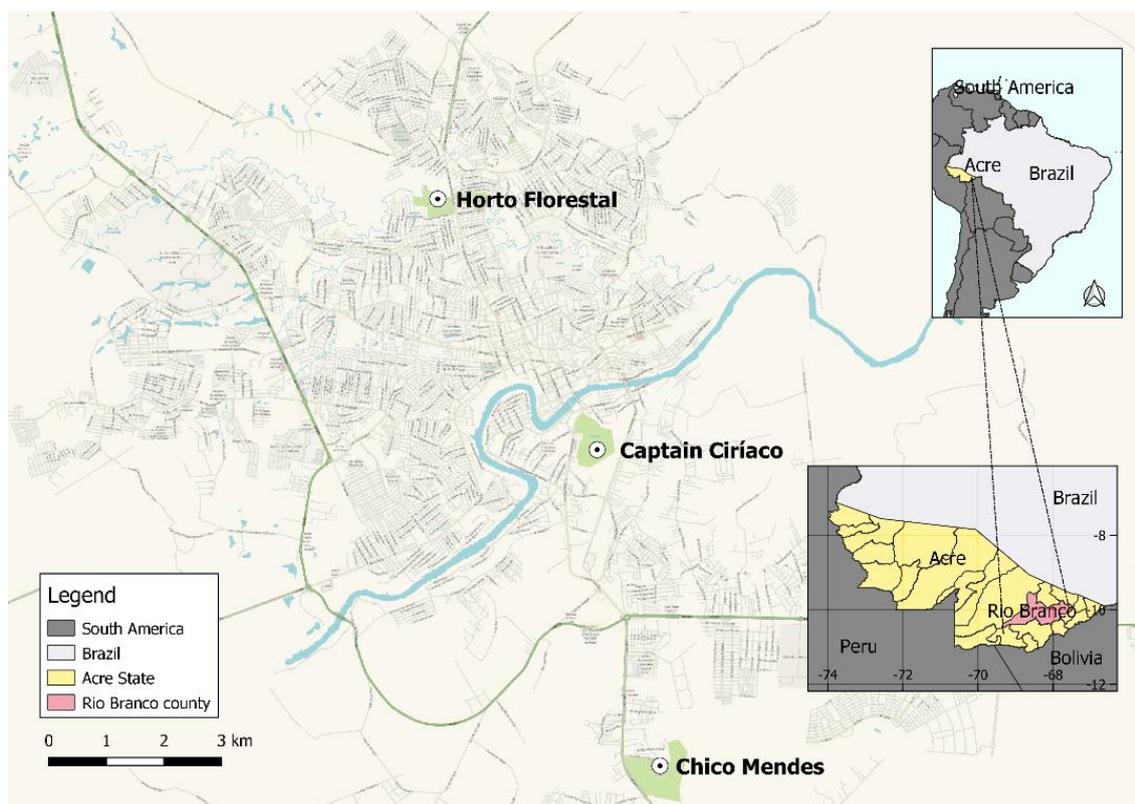


Figura 3. Distribuição dos parques urbanos amostrados no estudo, Rio Branco, Acre, 2021. Mapa elaborado por Melchior (2021).

Os insetos coletados foram levados ao Laboratório de Entomologia Médica da Universidade Federal do Acre, onde foram eutanasiados em freezer a -20°C .

Por meio de um microscópio estereoscópico (40x), parte das fêmeas foram dissecadas em lâmina em meio a uma gota de solução fisiológica estéril, para retirada das pernas e asas, e exposição do tubo digestivo e espermatecas, para pesquisa de infecção natural por flagelados e identificação da espécie de flebotomíneo, respectivamente, através de microscopia óptica de campo claro. As fêmeas que não foram dissecadas e os machos foram submetidos a um processo de clarificação, sendo montados em bálsamo entre lâmina e lamínula, para posterior identificação específica. A classificação adotada para a identificação dos flebotomíneos foi a de GALATI (2018) e abreviações conforme (MARCONDES, 2007).

5.3 Análises ecológicas da fauna flebotomínea

A comparação da riqueza e diversidade entre os locais de estudo e entre os diferentes tipos de ambientes foi analisada por meio de curvas de rarefação (interpolação) e de predição (extrapolação). Para cálculo dos índices e construção das curvas, utilizou-se os modelos propostos por CHAO et al., (2014) obtidos com base nos números de Hill (1973). A partir deste método foi possível obter comparações interpoladas e extrapoladas de riqueza e diversidade de flebotomíneos entre os parques estudados. Os índices de diversidade obtidos equivalem ao exponencial do índice de entropia de Shannon ($EXP H'$) e ao inverso do índice de Simpson ($1/D$). Os intervalos de confiança de 95% para as estimativas foram calculados pelo método de bootstrap com base em 100 replicações. Uma vez que o esforço amostral diferiu entre os ambientes (o número de armadilhas instaladas foi diferente entre os três parques) as curvas de rarefação/extrapolação foram construídas com base em indivíduos e não em amostras.

Para verificar a variação na composição de espécies foram utilizadas duas estratégias. A primeira foi medir a similaridade de espécies entre os pares de parques utilizando o índice de similaridade qualitativo de Sorensen. A segunda estratégia foi mensurar a dissimilaridade total na composição de flebotomíneos e particionar esta dissimilaridade nos componentes nestedness (aninhamento) e turnover (rotatividade) (BASSELGA, 2010). Nestedness ocorre quando a composição de espécies de uma área é formada por um subconjunto da composição de espécies de outra área com maior riqueza, refletindo um processo não randômico de perda de espécies. Por sua vez, turnover ocorre quando há

substituição de espécies entre ambientes, refletindo processos randômicos ou características locais que favoreçam a colonização, permanência ou exclusão de determinadas espécies em cada área. Estas duas propriedades da diversidade beta podem ser medidas a partir do particionamento do índice de dissimilaridade total de Sorensen (BASSELGA, 2010).

As análises foram feitas utilizando o ambiente computacional R (R core team, 2019) com o auxílio do pacote iNEXT (HSIEH et al., 2016).

A taxa de infecção por flagelados e *Leishmania* spp. foi calculada de acordo com fórmula descrita por (PAIVA et al., 2007).

5.4 Análises moleculares

Foram dissecadas 348 fêmeas, armazenadas em microtubos contendo etanol absoluto, de forma individualizadas ou em *pools* de até 3 fêmeas da mesma espécie, local e data de coleta, e mantidas em freezer a -20°C.

As amostras foram submetidas a extração de DNA utilizando o Genra Puregene® kit (Qiagen, Valencia, CA, USA), e seguiu as recomendações do fabricante. Para a análise da reação em cadeia da polimerase (PCR) foi utilizado como marcador alvo, o *Internal Transcribed Spacer 1* (ITS1), e as condições da PCR foram conforme descritas por Schönian et al. (2003). Utilizou-se como controle positivo a cepa de referência *Leishmania (Viannia) braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903), e como controle negativo água ultra pura.

Os produtos da PCR foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1%, e revelados com brometo de étidio (10mg/dl). As amostras positivas foram purificadas com ExoSAP-IT (ThermoFischer Scientific) seguindo as recomendações do fabricante, e em seguida submetidas a sequenciamento na Plataforma de Sequenciamento Genético da Fundação Oswaldo Cruz – Instituto René Rachou, Minas Gerais (RÊGO et al., 2019).

As sequencias obtidas foram analisadas e alinhadas através dos softwares Finch TV (Geospiza, Inc.) and Seqtrace (STUCKY, 2012), e as comparações foram feitas com as sequências depositadas no GenBank através do algoritmo de alinhamento do BLAST. Foi levado em consideração organismos que apresentaram identidade acima de 90% para nível de gênero e 98% para nível de espécie.

6 RESULTADOS

6.1 A fauna flebotomínea de parques urbanos e seus aspectos ecológicos

Durante o período de estudo, foram coletados 2.674 insetos, 1.207 machos e 1.467 fêmeas, distribuídas em 14 gêneros e 35 espécies, sendo *Nyssomyia antunesi* (50,33%) e *Evandromyia walkeri* (12,93%) as mais frequentes. Dentre os parques analisados, o Chico Mendes foi o que apresentou o maior número de espécimes (1.630) coletados, enquanto que o Horto Florestal, foi de 818 flebotomíneos e Capitão Ciríaco, 226 (Tabela 1).

Tabela 1. Composição da fauna flebotomínea em parques urbanos de Rio Branco, Acre, outubro de 2020 a setembro de 2021.

Espécies/Sexo	Ecótopos								Total
	Parque Chico Mendes		Parque Horto Florestal		Parque Capitão Ciríaco		Subtotal		
	M	F	M	F	M	F	M	F	
<i>Bi. flaviscutellata</i>	4	7	2	7	-	-	6	14	20
<i>Br. pentacantha</i>	14	-	4	-	16	-	34	-	34
<i>Br. avellari</i>	1	-	-	-	33	-	34	-	34
<i>Brumptomyia</i> sp.	-	10	-	3	1	41	1	54	55
<i>Ev. begoniae</i>	-	2	-	-	-	-	-	2	2
<i>Ev. bourroli</i>	-	-	-	3	-	-	-	3	3
<i>Ev. infraespinosa</i>	-	1	-	-	-	-	-	1	1
<i>Ev. lenti</i>	-	16	-	15	-	7	-	38	38
<i>Ev. saulensis</i>	5	17	17	30	-	2	22	49	71
<i>Ev. termitophila</i>	-	-	-	-	1	-	1	-	1
<i>Ev. walkeri</i>	67	73	103	65	25	13	195	151	346
<i>Ev. williamsi</i>	1	-	-	-	-	-	1	-	1
<i>Ev. wilsoni</i>	-	-	-	-	1	-	1	-	1
<i>Lu. sherlocki</i>	36	44	6	8	-	-	42	52	94
<i>Mi. longipennis</i>	-	-	1	-	-	-	1	-	1
<i>Micropygomyia</i> sp.	-	-	-	1	-	-	-	1	1
<i>Mi. trinidadensis</i>	1	6	-	-	-	-	1	6	7
<i>Mg. migonei</i>	-	-	8	3	-	-	8	3	11
<i>Ny. antunesi</i>	447	620	83	133	32	52	562	805	1367
<i>Nyssomyia</i> sp.	-	-	-	2	-	-	-	2	2
<i>Ny. whitmani</i>	2	2	20	59	-	1	22	62	84
<i>Pi. nevesi</i>	3	-	32	19	-	-	35	19	54
<i>Pi. serrana</i>	-	-	24	9	-	-	24	9	33
<i>Pr. calcarata</i>	1	1	5	9	-	-	6	10	16
<i>Pr. choti</i>	3	1	61	-	-	-	64	1	65
<i>Pressatia</i> sp.	-	12	-	35	-	-	-	47	47
<i>Pa. campbellii</i>	2	-	-	-	-	-	2	-	2
<i>Pa. elizabethdorvalae</i>	-	4	-	-	-	-	-	4	4
<i>Psa. punctigeniculata</i>	1	2	-	-	-	-	1	2	3
<i>Ps. amazonensis</i>	-	-	6	-	-	-	6	-	6

<i>Ps. clauserei</i>	-	1	4	1	-	-	4	2	6
<i>Ps. davisii</i>	55	37	1	-	1	-	57	37	94
<i>Ps. llanosmartiinsi</i>	-	2	-	-	-	-	-	2	2
<i>Sc. servulolimai</i>	-	-	2	1	-	-	2	1	3
<i>Sc. sordellii</i>	11	13	-	5	-	-	11	18	29
<i>Sc. vattierae</i>	2	-	2	-	-	-	4	-	4
<i>Th. auraensis</i>	6	-	10	-	-	-	16	-	16
<i>Th. melloi</i>	17	3	-	-	-	-	17	3	20
<i>Trichophoromyia</i> sp.	25	47	-	19	-	-	25	66	91
<i>Vi. furcata</i>	2	3	-	-	-	-	2	3	5
Subtotal	706	924	391	427	110	116			
Total		1630		818		226			2674

Bi.-Bichromomyia; *Br.*- Brumptomyia; *Ev.*- Evandromyia; *Lu.*- Lutzomyia; *Mi.*- Micropygomyia; *Mg.*- Migonemyia; *Ny.*- Nyssomyia; *Pi.*- Pintomyia; *Pr.*- Pressatia; *Pa.*- Psathyromyia; *Ps.*- Psychodopygus; *Sc.* – Sciopemyia; *Th.*- Trichophoromyia; *Vi.*- Viannmyia. M - Macho. F - Fêmea.

Com relação a riqueza de espécies observada e estimada, verificou-se que nos parques Chico Mendes e Horto Florestal são semelhantes e o intervalo de confiança para a estimativa de espécies tendem a se sobrepor conforme a amostra de indivíduos aumenta. Por sua vez, a riqueza do parque Capitão Ciriaco se mostra relativamente menor em comparação aos demais (Figura 4).

Para a diversidade de espécies, o Horto Florestal se mostrou bastante superior em relação aos outros dois parques, tanto para o índice de Shannon quanto para o de Simpson. Isso mostra que este parque apresenta maior equilíbrio na relação entre riqueza e equabilidade. O Chico Mendes foi o segundo mais diverso, seguido pelo Capitão Ciriaco (Figura 4).

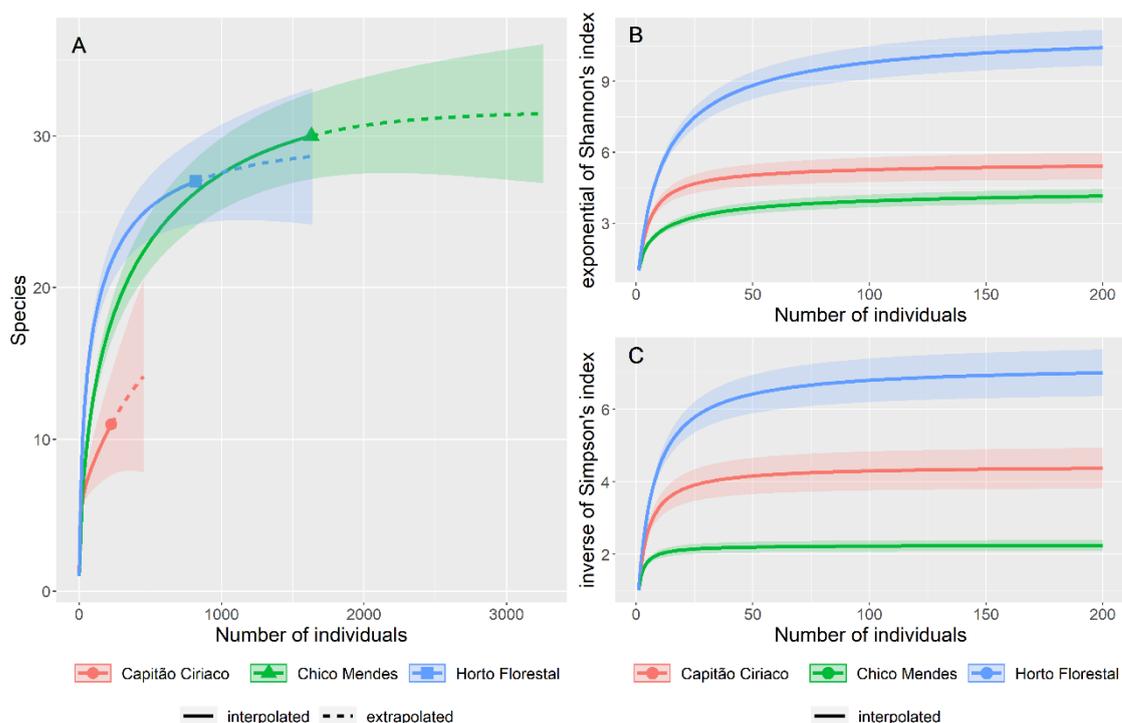


Figura 4. Curvas de rarefação e extrapolação (com IC de 95%) para a comparação da riqueza de espécies (A), índice de Shannon (B) e índice de Simpson (C) para flebotomíneos coletados em três parques urbanos da cidade de Rio Branco. As áreas sombreadas representam o intervalo de confiança de 95% para a estimativa média.

Com relação a similaridade entre os parques amostrados, foi verificado que há menor similaridade na composição de espécies entre os parques Horto Florestal e Chico Mendes do que entre estes e o parque Capitão Ciriaco (Tabela 2). Já a dissimilaridade total foi de 0.533. A partição desse valor resultou em um

foram positivas para *Leishmania* spp., correspondendo a uma taxa de infecção de 1.1% (Tabela 4).

Tabela 4. Resultados da detecção e identificação de tripanossomatídeos, segundo espécie de flebotomíneo, cepa de referência do GenBank, e ecótopos de parques urbanos de Rio Branco, Acre, Amazônia Ocidental.

Sand fly species	Seq ID BLAST	Similarity (%)	Reference strain Genbank	Ecotope
<i>Ny. antunesi</i>	<i>L. guyanensis</i>	100%	MT606266.1	Horto Florestal
<i>Pi. nevesi</i>	<i>L. guyanensis</i>	99%	FJ753387.1 DQ182541.1	Horto Florestal

7 DISCUSSÃO

Os parques estudados apresentaram uma fauna flebotomínea rica e diversa, com espécies que ocorrem exclusivamente em um determinado parque, e outras que apresentam ampla distribuição entre os mesmos. A maioria das espécies coletadas neste estudo já foi relatada em estudos prévios realizados em Rio Branco (AZEVEDO et al., 2008; ARAUJO-PEREIRA et al., 2014; ÁVILA et al., 2018), sendo grande parte dessas espécies consideradas vetoras comprovadas ou incriminadas na transmissão de parasitas de *Leishmania* spp. (RANGEL et al., 2018).

No presente estudo, nota-se que, em quantidade, a diversidade e riqueza de espécies se concentraram nos parques de maior cobertura vegetal (Chico Mendes e Horto Florestal), o que demonstra que os flebotomíneos amazônicos possuem ligação com o ambiente florestal, ainda que estas áreas tenham ações antrópicas ao seu redor. Durante o período de estudo, verificou-se que a curva de acumulação das espécies se estabilizou, demonstrando menor probabilidade que novas espécies sejam coletadas nestas áreas, diferindo de outras observações realizadas em áreas florestais preservadas do Acre (BRILHANTE et al., 2017; BRILHANTE et al., 2021). Assim, a maior diversidade e riqueza de espécies de flebotomíneos tende a se concentrar em áreas com relações ecológicas em equilíbrios (FEITOSA et al., 2012; CARVALHO et al., 2013; SARAIVA et al., 2015).

Dentre as espécies mais frequentes neste estudo, destaca-se *Ny. antunesi*, que em estudos prévios em Rio Branco, tem demonstrado ser uma espécie antropofílica, sendo coletada em abundância em fragmentos de mata de área urbana, e sendo encontrada com DNA de *Leishmania* (ARAÚJO-PEREIRA et al., 2014; ÁVILA et al., 2018) como também em ambiente intradomiciliar (BRILHANTE et al., 2022). Assim, com estas observações esta espécie merece atenção com relação a transmissão de *Leishmania*, devendo estas áreas serem monitoradas regularmente afim de verificar sua expansão.

Estudos sobre fauna flebotomínea em parques da região Amazônica do Brasil têm demonstrado que esses ambientes podem desempenhar importantes focos de transmissão de *Leishmania* (PEREIRA et al., 2019; CARNEIRO et al., 2022; LEÃO et al., 2020; REBÊLO et al., 2010). Em parque urbano de Belém, no Pará, verificou-se que *Ny. antunesi* foi uma das espécies mais frequentes (SÁNCHEZ UZCÁTEGUI et al., 2020).

Nyssomyia antunesi foi encontrada em nosso estudo infectada por *Leishmania guyanensis*, como também, infectada em fragmentos de mata da Universidade Federal do Acre (CARNEIRO et al., 2022). Em estudo prévio realizado no Parque Horto Florestal, *Ny. antunesi* foi detectada com DNA de *Leishmania braziliensis* (ÁVILA et al., 2018), assim como, em uma região de fronteira do estado (ARAÚJO-PEREIRA et al., 2020). Em outros estudos realizados na Amazônia, esta espécie vem sendo encontrada infectada com *Leishmania naiffi* em Porto Velho (SILVA et al., 2021), *Leishmania* (V.) *lindenbergi* e *Leishmania* ssp. no Pará (CHAGAS et al., 2018), como também em outros países fronteiriços (TRUJILLO et al., 2013). Sua abundância, ampla distribuição e detecção de espécimes com protozoário do gênero *Leishmania* no Acre justificam sua importância no papel de transmissão de agentes causativos de leishmaniose tegumentar na região.

Outra espécie frequente em nosso estudo é *Evandromyia walkeri*, que em estudos prévios realizados em Rio Branco foi coletada em baixa densidade populacional em parques urbanos e fragmentos de matas (AZEVEDO et al., 2008; ARAÚJO-PEREIRA et al., 2014; ÁVILA et al., 2018).

Evandromyia walkeri até o presente momento, não é considerada uma espécie vetora. Estudos no Acre foi diagnosticado espécimes com infecção por *Leishmania braziliensis* em um parque urbano (ÁVILA et al., 2018) e com *Leishmania guyanensis* em um campus universitário de Rio Branco (CARNEIRO

et al., 2022), bem como, em outros países da América do Sul com *L. (V.) braziliensis* (NIEVES et al., 2014; ZORILLA et al., 2017).

Em estudo realizado em Palma Tocantins, Machado et al., (2017) reportam pela primeira vez esse flebotomíneo infectado com *Leishmania (L.) amazonensis*, destacando a possibilidade de sua atuação no ciclo de transmissão da leishmaniose cutânea difusa na região. Além desses novos relatos, esta espécie tem sido encontrada com frequência em ambientes de florestas e em áreas antropizadas, sendo detectada no intra e peridomiciliar em áreas rurais (FIGUEIRA et al., 2013; MACHADO et al., 2017; PEREIRA JÚNIOR et al., 2019; PINHEIRO et al., 2021), bem como, em áreas urbanas (FIGUEIREDO et al., 2016). Em floresta da Mata Atlântica, esta espécie vem se adaptando às alterações antrópicas do ambiente e paisagens (PINHEIRO et al., 2021).

Apesar de não ser encontrado infectado com *Leishmania* spp. em nosso estudo, este flebotomíneo tem demonstrado um comportamento antropofílico em algumas regiões, sendo importante ressaltar que, esta espécie pode ser um vetor putativo da leishmaniose tegumentar na atualidade e podendo estar envolvida na cadeia epidemiológica de transmissão da doença (ZORILLA et al., 2017).

Nossos resultados encontraram *Pi. nevesi* detectada com DNA de *Leishmania guyanensis*, sendo relatada com *L. braziliensis* em estudo realizado no Horto Florestal por Ávila et al., (2018), e mais recentemente em outras áreas florestais do Acre por Araújo-Pereira et al., (2020), além de demonstrar comportamento antropofílico (BRILHANTE et al., 2017). Esta espécie pertence à série Evansi (GALATI, 2018), na qual a maioria das espécies tem sido apontada como vetores de agentes da leishmaniose tegumentar e visceral (MAROLI et al., 2013, KATO et al., 2021), pouco se sabe sobre o comportamento e implicação epidemiológica, de *Pi. nevesi*, no entanto, outras espécies do gênero *Pintomyia*, têm demonstrado serem suspeitas na transmissão de *Leishmania* (PERRUOLO et al., 2006; GALVIS-OVALLOS et al., 2021; SOSA-OCHOA et al., 2020), o que alerta para a necessidade de estudos sobre a competência e capacidade na transmissão de parasitos, das espécies que compõem este gênero.

A espécie *Nyssomyia whitmani* é importante vetora de *Leishmania* spp. no Brasil, foi coletada em todos os parques amostrados, em menor frequência, sendo esta espécie também coletada em outros parques urbanos do Brasil, como Parque Estadual do Rio Doce em Minas Gerais (SOUZA et al., 2015), nos Lençóis Maranhenses (PEREIRA FILHO et al., 2015) e no Parque Estadual da Serra da

Tiririca (RODRIGUES et al., 2013). Em parques do Acre, assim como em áreas de fragmentos de mata, esta espécie tem sido assinalada, demonstrando sua estreita relação com o ambiente florestal nos locais onde é encontrada, como também se adaptando ao ambiente peridomiciliar (AZEVEDO et al., 2008; ÁVILA et al., 2018; BRILHANTE et al., 2022). Além disso, *Ny. whitmani*, vem sendo diagnosticada com diferentes espécies de parasitos do gênero *Leishmania* em diversas regiões da amazônia, com *L. braziliensis*, *L. lainsoni* e *L. amazonensis* no Maranhão (PEREIRA-FILHO et al., 2018), *L. guyanensis* no Amapá (SOUZA et al., 2017) além de ter sido relatada no Pará com *L. shawi* (SOUZA et al., 2016). No Acre, *Ny. whitmani* já foi relatada infectada por flagelados (AZEVEDO et al., 2008) e por *L. guyanensis* (BRILHANTE et al., 2022).

De acordo com estudos recentes realizado no Acre, o gênero *Trichophoromyia*, e em particular a espécie *Th. auraensis* têm assinalado sua relevância por ser um possível vetor envolvido na transmissão de agentes etiológicos da leishmaniose tegumentar americana, sendo encontrada em diferentes ambientes florestais, peri e intradomiciliares, além de detectada com DNA de *Leishmania (Viannia)* sp. (TELES et al., 2016; TELES et al., 2017; ARAÚJO-PEREIRA et al., 2020; BRILHANTE et al., 2021). Em levantamentos de fauna flebotomínea em estado vizinho, esta espécie tem sido coletada em alta densidade populacional, e positiva para *Leishmania* spp. (PEREIRA JÚNIOR et al., 2019; RESADORE et al., 2019), como também nas regiões de fronteiras com o Peru (VALDIVÍA et al., 2012). Assim, esta espécie tem demonstrado ser uma importante vetora de *Leishmania* na Região Norte do Brasil (SANTOS e SILVEIRA, 2020), particularmente na Amazônia Ocidental.

O gênero *Psychodopygus* possui grande diversidade de espécies na região amazônica (SOUZA et al., 2016; PEREIRA-JÚNIOR et al., 2019; CHAGAS et al., 2018), sendo *Ps. davisii* a espécie mais frequente neste estudo, coletada em todos os ambientes amostrados, demonstrando sua expansão e importância epidemiológica, que ao longo dos anos vem sendo relatada na Amazônia (LE PONT et al., 1988; GIL et al., 2003; SOUZA et al., 2016; PEREIRA-JÚNIOR et al., 2019; ARAÚJO-PEREIRA et al., 2020; BRILHANTE et al., 2021).

Outras espécies consideradas silvestres foram coletadas neste estudo, no entanto, em menor frequência. Dentre as espécies mais relacionadas ao ambiente silvestre, aqui destacamos *Ev. saulensis* e *Pr. choti*, que já foi assinala em Rio Branco em estudos anteriores, e encontrada infectada com *Leishmania (Viannia)*

spp. (ARAÚJO-PEREIRA et al., 2017), sendo possivelmente associada aos ciclos zoonóticos de transmissão de parasitos entre os hospedeiros silvestres.

8 CONCLUSÃO

Concluimos que a fauna flebotomínea dos parques urbanos de Rio Branco possuem uma fauna rica e diversa, pelo menos 35 espécies, com a presença de seis espécies: *Bichromomyia flaviscutellata*, *Migonemyia migonei*, *Nyssomyia antunesi*, *Nyssomyia whitmani*, *Pychodopygus davisii* e *Trichophoromyia auraensis*, reconhecidas como vetoras de *Leishmania* spp.

A maior riqueza de espécie foi encontrada nos Parques Chico Mendes e Horto Florestal, áreas com maior cobertura vegetal, demonstrando a ligação dessas espécies com o ambiente florestal.

Em duas espécies de flebotomíneo, *Ny. antunesi* e *Pi. nevesi* detectou-se a presença de DNA de *Leishmania guyanensis*. Assim, os parques urbanos podem ser um ambiente de risco de transmissão desse parasita, e possivelmente de outras *Leishmanias*, pois seus vetores foram coletados, devendo ser monitorados regularmente, e seus visitantes alertados para que medidas de proteção individual sejam aplicadas.

10 ORÇAMENTO FINANCEIRO

Em relação ao custo financeiro deste projeto, parte dele será de doações de professores pesquisadores da UFAC e de outras instituições de ensino e pesquisa do Brasil. Assim como, este projeto será submetido a algum edital de fomento para a aquisição dos itens Gasolina e os materiais referentes aos ensaios moleculares.

Item n.	Descrição	Qt.	Valor unitário	Valor total
01	Gasolina	60	5,00	300,00
02	Armadilhas CDC	06	500,00	3.000,00
03	Baterias 12 v 6ah	06	100,00	600,00
04	Laminas para microscopia	10	5,00	50,00
05	Lamínulas para microscopia 18x18	05	10,00	50,00
06	Etanol absoluto para biologia molecular	01	180,00	180,00
07	Reagentes para biologia molecular	01	4.000,00	4.000,00
08	Reagentes para extração de DNA	01	700,00	700,00
Total				8.880,00

11 REFERÊNCIAS

- ACRE. 2015. **GOVERNO DO ESTADO DO ACRE**. Disponível em: <<http://acre.gov.br/>>. Acesso em: 10 mar. 2021.
- ALMEIDA, P. S. et al. Espécies de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) coletadas em ambiente urbano em municípios com transmissão de Leishmaniose Visceral do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, n. 2, p. 304–310, 2010.
- ALVAR, J. et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PloS One**, v. 7, n. 5, p. e35671, 2012.
- ALVES, V. R. et al. Sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) from central amazonia and four new records for the amazonas state, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 56, n. 2, p. 220–227, 2012.
- ALBUQUERQUE, J. R. F. **Identificação das espécies de flebotomíneos no município de Timbaúba/PE e caracterização dos hemócitos de Lutzomyia migonei**. 2018. 69 f. Dissertação (Mestrado em biociências e biotecnologia em saúde) - Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2018. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/32683>>. Acesso em: 11 maio. 2020.
- ARAUJO-PEREIRA, T. et al. Sand fly fauna (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in an area of leishmaniasis transmission in the municipality of Rio Branco, state of Acre, Brazil. **Parasites and Vectors**, v. 7, n. 1, 2014.
- ARUJO-PEREIRA, T. et al. An overview of the sandfly fauna (Diptera: Psychodidae) followed by the detection of Leishmania DNA and blood meal identification in the state of Acre, Amazonian Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 115, n. 10, p.1-17, 2020.
- ÁVILA, M. M. et al. *Sciopemyia vattierae* (Le Pont & Desjeux, 1992) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): new record from Acre state, Brazil. **Check List**, v. 14, n. 4, p. 585, 2018.
- AZEVEDO, A. C. R. et al. Studies on the sandfly fauna (diptera: Psychodidae: Phlebotominae) from transmission areas of American cutaneous leishmaniasis in state of Acre, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 8, p. 760–767, 2008.
- ANVERSA, L. S. et al. Human leishmaniasis in Brazil: A general review. **Revista Da Associação Médica Brasileira**, v. 64, n.3, p.281–289, 2018.
- BASSELGA, A. Partitioning the turnover and nestedness components of beta diversity. **Global ecology and biogeography**, v. 19, n. 1, p. 134-143, 2010.

BADARANE, A. M. et al. **Parque Ambiental Horto Florestal**. p.15, 2018.

BARATA, R. A. et al. Flebotomíneos do Parque Nacional Cavernas do Peruaçu, MG. **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 2, p. 226–228, 2008.

BASANO, S.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 328–337, 2004.

BENNIS, I. et al. Control of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* in south-eastern Morocco. **Tropical Medicine & International Health**, v. 20, n. 10, p. 1297–1305, 2015.

BRASIL. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar**. Brasília: Ministério da saúde, 2007.

BRASIL. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

BRASIL. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar**. Brasília: Ministério da Saúde, 2016. Volume único. 1ª edição atualizada, 2016.

BRASIL. **Boletim epidemiológico das zoonoses e doenças de transmissão vetorial em áreas indígenas**. Brasília: Ministério da Saúde, 2022.

BRASIL. **Leishmaniose tegumentar (LT)**. 2022. Disponível em: <[https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/lit#:~:text=A%20Leishmaniose%20Tegumentar%20%C3%A9%20uma,\(Leishmania\)%20amazonensis%2C%20L.>](https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/lit#:~:text=A%20Leishmaniose%20Tegumentar%20%C3%A9%20uma,(Leishmania)%20amazonensis%2C%20L.>) Acesso em 15 de out., 2022.

BRASIL. **Leishmaniose tegumentar americana - Casos confirmados e notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Acre**. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/ltaac.def>>. Acesso em: 8 jul. 2021.

BRILHANTE, A. F. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana (LTA) no município de Xapuri, Estado do Acre, Brasil: estudo em população humana, cães domésticos e vetores TT - Epidemiology of American cutaneous leishmaniasis (ACL) in Xapuri municipality, Ac. p. 222, 2017.

BRILHANTE, A. F. et al. Preliminary observations of the urbanization and domiciliation of the American cutaneous leishmaniasis in Rio Branco, Acre, Western Amazon. **Journal of Brazilian Society of Tropical Medicine**, v. 55, p. e0359, 2022.

BRILHANTE, A. F. et al. Attractiveness of black and white modified Shannon traps to phlebotomine sandflies (Diptera, Psychodidae) in the Brazilian Amazon Basin, an area of intense transmission of American cutaneous leishmaniasis. **Parasite**, v. 24, 2017.

- BRILHANTE, A. F. et al. Leishmania (Viannia) braziliensis type 2 as probable etiological agent of canine cutaneous leishmaniasis in Brazilian Amazon. **PLoS ONE**, v. 14, n. 4, p. e0216291, 2019.
- BRILHANTE, A. F. et al. Remarkable diversity, new records and Leishmania detection in the sand fly fauna of an area of high endemicity for cutaneous leishmaniasis in Acre state, Brazilian Amazonian Forest. **Acta Tropica**. v. 223, p. 106103, 2021.
- CASAGRANDE, B.; GUIMARÃES, R. B. Vetores das leishmanioses no Parque Estadual do Morro do Diabo (PEMD), Município de Teodoro Sampaio - SP, Brasil. **Geografia (Londrina)**, v.28, n.1, p.225, 2019.
- CASANOVA, C. et al. Larval breeding sites of Lutzomyia longipalpis (Diptera: Psychodidae) in visceral leishmaniasis endemic urban areas in Southeastern Brazil. **PloS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 9, 2013.
- CANTANHÊDE, L. M. et al. Further Evidence of an Association between the Presence of Leishmania RNA Virus 1 and the Mucosal Manifestations in Tegumentary Leishmaniasis Patients. **PloS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 9, 2015.
- CARVALHO, R. V. H. et al. Endosymbiotic RNA virus inhibits Leishmania-induced caspase-11 activation. **Iscience**, v. 24, n. 1, p. 102004, 2021.
- CARVALHO, B. M. et al. Leishmaniasis transmission in an ecotourism area: potential vectors in Ilha Grande, Rio de Janeiro State, Brazil. **Parasite Vectors**, v. 13, n. 325, 2013.
- COSTA, T. S. **Identificação molecular (DNA BARCODE) de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) na terra indígena Wajãpi, Amazônia Oriental, Brasil.** 2015. 94 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Tropical) – Departamento de Pós-Graduação, Universidade Federal Amapá, Macapá, 2015. Disponível em: <http://repositorio.unifap.br:80/jspui/handle/123456789/527>. Acesso em 07 de set., 2020.
- COELHO, A. C. et al. In Vitro and In Vivo Miltefosine Susceptibility of a Leishmania amazonensis Isolate from a Patient with Diffuse Cutaneous Leishmaniasis. **PloS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 7, p.e2999, 2014.
- CERQUEIRA, R. F. V. et al. Phlebotomine fauna (Diptera, Psychodidae) in Rio Preto State Park, Southern Espinhaço Range, Minas Gerais, Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v.53, n.2, p.85–90, 2018.
- CHAGAS, A. P. et al. Aspectos ecológicos da fauna de flebotomíneos em focos de leishmaniose na Amazônia Oriental, Estado do Pará, Brasil. **Revista pan-amazônica de saúde**, v. 7, p. 123–132, 2016.
- CHAGAS, E. C. D. S. et al. Composition of sand fly fauna (Diptera: Psychodidae) and detection of Leishmania DNA (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in different ecotopes from a rural settlement in the central Amazon, Brazil. **Parasites & vectors**, v. 11, n. 1, 2018.
- CHAO, et al. Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: a framework for sampling and estimation in species diversity studies. **Ecological monographs**, v. 84, n. 1, p. 45-67, 2014.

DA SILVA, N. S.; MUNIZ, V. D. Epidemiology of american tegumentary leishmaniasis in the state of acre, Brazilian Amazon. **Cadernos de Saude Publica**, v. 25, n. 6, p. 1325–1336, 2009.

DA SILVA-NUNES, M. et al. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar e descrição das populações de flebotomíneos no município de Acrelândia, Acre, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 11, n. 2, p. 241–251, 2008.

DIAS, F. O. P.; LOROSA, E. S.; REBÊLO, J. M. M. Fonte alimentar sangüínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 5, p. 1373–1380, 2003.

FEITOSA, M. A. C. et al. Diversity of sand flies in domiciliary environment of Santarém, state of Pará, Brazil: species composition and abundance patterns in rural and urban areas. **Acta Amaz**, v. 42, p. 507–514, 2012.

FIGUEIRA, E. G. S. et al. Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) from Lábrea, state of Amazonas, Brazil, with a description of *Evandromyia* (*Aldamyia*) *apurinan* Shimabukuro, Figueira & Silva, sp. nov. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 108, n. 3, p. 280-287, 2013.

FIGUEIREDO, H. R. et al. Sand flies (Diptera: Psychodidae) in an endemic area of leishmaniasis in Aquidauana municipality, pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista do instituto de medicina tropical de São Paulo**, v. 58, 2016.

FIOCRUZ. FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. 2019. **Leishmanioses: conheça os insetos transmissores e saiba como se prevenir**. Disponível em: <<https://portal.fiocruz.br/noticia/leishmanioses-conheca-os-insetos-transmissores-e-saiba-como-se-prevenir>>. Acesso em: 13 jul. 2021.

GALATI, E. A. B. **Classificação de Phlebotominae**, in: **Rangel E. F. & R. Lainson**. *Brazilian Sandflies*. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz; Elsevier, 2018, p.618.

GALATI, E. A. B. et al. An illustrated guide for characters and terminology used in descriptions of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae). **Parasite**, v. 24, n. 7, 2017.

GALATI, E. A. B. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae): Classification, Morphology and Terminology of Adults and Identification of American Taxa. **Brazilian Sand Flies: Biology, Taxonomy, Medical Importance and Control**, p. 9–212, 2018.

GARCIA, A. L. et al. Epidemiological monitoring of American tegumentary leishmaniasis: molecular characterization of a peridomestic transmission cycle in the Amazonian lowlands of Bolivia. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 101, n. 12, p. 1208–1213, 2007.

GALVIS-OVALLOS, F. 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.

- GIL, L. H. et al. Recent observations on the sand fly (Diptera: Psychodidae) fauna of the State of Rondônia, Western Amazônia, Brazil: the importance of *Psychodopygus davisi* as a vector of zoonotic cutaneous leishmaniasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 6, p. 751-755, 2003.
- GODOY, R. E. et al. Sand fly (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) records in Acre, Brazil: a dataset. **Gigabyte**, v.18, p. 1-7, 2022.
- GÓMEZ-BRAVO, A. et al. High effectiveness of an adulticide-larvicide formulation for field control of sandflies (Diptera: Psychodidae) in the city of Clorinda, Argentina. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 7, 2019.
- GUIMARÃES, R. C. DE S. Aspectos ecológicos e detecção de *Leishmania* em flebotomíneos de um assentamento rural no estado do Amazonas, Brasil. **Fundação Oswaldo Cruz. Instituto de Pesquisas Leônidas e Maria Deane. Manaus, AM, Brasil.**, p. 74, 2019.
- HILL, M. O. Diversity and evenness: a unifying notation and its consequences. **Ecology**, v. 54, n. 2, p. 427-432, 1973.
- HSIEH, T. C. et al. iNEXT: an R package for rarefaction and extrapolation of species diversity (Hill numbers). **Methods in Ecology and Evolution**, v. 7, n. 12, p. 1451-1456, 2016.
- IVES, A. et al. *Leishmania* RNA Virus Controls the Severity of Mucocutaneous Leishmaniasis. **Science New York**, v. 331, n. 6018, p.775, 2011.
- IBERDROLA. **Parques urbanos, por que eles são tão importantes.** 2020. Disponível em: <<https://www.iberdrola.com/meio-ambiente/parque-urbano>>. Acesso em: 13 maio, 2021.
- IBGE. **PANORAMA RIO BRANCO - AC.** 2020. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ac/rio-branco/panorama>>. Acesso em: 10 mar, 2021.
- IFAC. INSTITUTO FEDERAL DO ACRE. **Lugares Turísticos.** 2015. Disponível em: <http://connepi.ifac.edu.br/?page_id=74>. Acesso em: 10 maio, 2020.
- KARIYAWASAM, R. et al. *Leishmania* RNA Virus 1 (LRV-1) in *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* isolates from Peru: A description of demographic and clinical correlates. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 102, n. 2, p. 280–285, 2020.
- KATO, H. et al. Natural infections of *Pintomyia verrucarum* and *Pintomyia maranonensis* by *Leishmania* (*Viannia*) *peruviana* in the Eastern Andes of northern Peru. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. v. 15, n. 4, p. e0009352, 2021.
- LAVITSCHKA, C. O.; CERETTI-JUNIOR, W.; MARRELL, M. T. Scientific Note Occurrences of Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae). **J Am Mosq Control Assoc**, v.34, n.2, p.151–153, 2018.

LANA, R. S. et al. Phlebotomine Sand Fly Fauna and Leishmania Infection in the Vicinity of the Serra do Cipó National Park, a Natural Brazilian Heritage Site. **BioMed Research International**, 2015.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. New World Leishmaniasis. In: FEG Cox, JP Kreir, D Wakelin (eds). **Microbiology and Microbial Infections, Parasitology**. Topley & Wilson's, Arnold, Sydney, Auckland; 2005. p. 313-349.

LE PONT, F. et al. Leishmaniose en Bolivie. *Psychodopygus carrerai carrerai* (Barretto, 1946) nouveau vecteur de *Leishmania braziliensis braziliensis* en milieu sylvatique de région subandine basse. **C. R. Acad. Sci**, v. 307, p. 279-282, 1988.

LEÃO, P. et al. Vertical stratification of sand fly diversity in relation to natural infections of *Leishmania* sp. and blood-meal sources in Jamari National Forest, Rondônia State, Brazil. **Parasites & vectors**, v. 13, n. 1, 2020.

MACHADO, T. D. O. et al. The role of gallery forests in maintaining Phlebotominae populations: potential *Leishmania* spp. vectors in the Brazilian savana. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 10, p. 681, 2017.

MAROLI, M. et al. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. **Medical and Veterinary Entomology**. v. 27, p.123-147, 2013.

MARCONDES, C. A proposal of generic and subgeneric abbreviations for phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the world. **Entomology News**. v.118, n.4, p.351-356, 2007.

MARGONARI, C. 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, 2010.

MELCHIOR, L. A. K.; BRILHANTE, A. F.; CHIARAVALLOTI-NETO, F. Spatial and temporal distribution of American cutaneous leishmaniasis in Acre state, Brazil. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 6, n. 1, p. 1–9, 2017.

MOSCHIN, J. C. et al. Aspectos ecológicos da fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae) da Serra da Cantareira, Região metropolitana da Grande São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 16, n.1, p.190–201, 2013.

NIEVES, E. et al. Effect of Environmental Disturbance on the Population of Sandflies and *Leishmania* Transmission in an Endemic Area of Venezuela. **Journal of tropical medicine**, 2014.

OLIVEIRA, J. G. S. et al. Polymerase chain reaction (PCR) is highly sensitive for diagnosis of mucosal leishmaniasis. **Acta Tropica**, v. 94, n. 1, p. 55–59, 2005.

OMS. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Neglected tropical diseases. **British Medical Journal**, v. 335, n. 7614, p. 269–270, 2007.

OMS. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Cutaneous and mucosal leishmaniasis**. 2022. Disponível em: < <https://www.paho.org/en/topics/leishmaniasis/cutaneous-and-mucosal-leishmaniasis>>. Acesso em: 15 de out., 2022.

OMS. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Leishmaniose**. 2021. Disponível em: <<https://www.paho.org/en/topics/leishmaniasis>>. Acesso em 15 de out. 2022.

OPAS. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Informe epidemiológico de leishmaniose das Américas**. 2021. Disponível em: < <https://iris.paho.org/handle/10665.2/53091>>. Acesso em 15 de out. 2022.

PAIVA, B. R. et al. Standardization of conditions for PCR detection of *Leishmania* spp. DNA in sand flies (Diptera, Psychodidae). **Cadernos de Saude Publica**, v. 23, n. 1, p. 87–94, 2007.

PEREIRA, A. M. et al. Survey of sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Guajará-Mirim State Park forest reserve, near the Brazil-Bolivian border, with a description of *Pintomyia fiocruzi*, a new sand fly species. **Zootaxa**, v. 4691, n. 3, p. 270–278, 2019.

PEREIRA JÚNIOR, A. M. et al. Diversity, natural infection and blood meal sources of phlebotomine sandflies (Diptera, Psychodidae) in the western Brazilian Amazon. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 114, n. 6, p. 1-9, 2019.

PEREIRA FILHO, A. A. et al. An ecological study of sand flies (Diptera: Psychodidae) in the vicinity of Lençóis Maranhenses National Park, Maranhão, Brazil. **Parasites and Vectors**, v. 8, n. 1, p. 1-8, 2015.

PEREIRA-FILHO, A. A. et al. Molecular identification of *Leishmania* spp. in Sand Flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the Lençóis Maranhenses National Park, Brazil. **J Med Entomol**, v. 55, p. 989–94, 2018.

PERRUOLO, G. et al. Isolation of *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* from *Lutzomyia spinicrassa* (species group *verrucarum*) Morales Osorno Mesa, Osorno and Hoyos 1969, in the Venezuelan Andean region. **Parasite**, v. 13, p. 17-22, 2006.

PINHEIRO, M. P. G. et al. Potential vectors of *Leishmania* spp. in an Atlantic Forest conservation unit in northeastern Brazil under anthropic pressure. **Parasites & Vectors**, v. 14, n. 1, 2021.

RANGEL, E. F. et al. Sand fly vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil. **Springer International Publishing AG, part of Springer Nature Cham**, p. 341-362, 2018.

RANGEL, E. F.; LAINSON, R. Proven and putative vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil: aspects of their biology and vectorial competence. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 7, p. 937–954, 2009.

RANGEL, E. F.; R. LAINSON. 2003. Ecologia das leishmanioses, p.291-309. In E.F. Rangel

& R. Lainson (org.), Flebotomíneos do Brasil, Rio de Janeiro, **Editora FIOCRUZ**, 368p, 2003.

RAMOS, W. R. *et al.* Sand fly fauna (Diptera: Psychodidae) from Serra da Mocidade Nacional Park: report of vectors and putative vectors of American cutaneous leishmaniasis and new records for the state of Roraima, Brazil. **Zootaxa**, v. 4500, n. 2, p. 289–291, 2018.

RESADORE, F. *et al.* Composition and Vertical Stratification of Phlebotomine Sand Fly Fauna and the Molecular Detection of *Leishmania* in Forested Areas in Rondônia State Municipalities, Western Amazon, Brazil. **Vector Borne Zoonotic Dis**, v. 19, n. 5, p. 347-357, 2019.

REBÊLO, J. M. M. *et al.* Ocorrência de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em focos de leishmanioses, em área de ecoturismo do entorno do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Brasil. **Cadernos de Saúde pública**, v. 26, n. 1, p. 195-198, 2010.

RÊGO, F. D. *et al.* Ecology and molecular detection of *Leishmania infantum* Nicolle, 1908 (Kinetoplastida: Trypanosomatida) in wild-caught sand flies (Psychodidae: Phlebotominae) collected in Porto Alegre, Rio Grande do Sul: a new focus of visceral leishmaniasis in Brazil. **J Med Entomol**, v. 56, p. 219-525, 2019.

RODRIGUES, A. A. F. *et al.* The sandfly fauna (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the Parque Estadual da Serra da Tiririca, Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, n. 7, p. 943–946, 2013.

RODRIGUES, M. G. D. *et al.* The role of deforestation on American cutaneous leishmaniasis incidence: spatial-temporal distribution, environmental and socioeconomic factors associated in the Brazilian Amazon. **Tropical Medicine & International Health**, v. 24, n. 3, p. 348–355, 2019.

SÁNCHEZ UZCÁTEGUI, Y. D. V. *et al.* Phlebotomines (Diptera: Psychodidae) from a Urban Park of Belém, Pará State, Northern Brazil and Potential Implications in the Transmission of American Cutaneous Leishmaniasis. **Journal of Medical Entomology**, v. 57, n. 1, p. 281–288, 2020.

SANTOS, T. V.; PINHEIRO, M. S. B.; ANDRADE, A. J. Catalogue of the type material of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) deposited in the Instituto Evandro Chagas, Brazil. **ZooKeys**, v. 395, n. 395, p. 11, 2014.

SANTOS, T. V.; SILVEIRA, F. T. Increasing putative vector importance of *Trichophoromyia* phlebotomines (Diptera: Psychodidae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, p. e190284, 2020.

SARAIVA, L. *et al.* Survey of sand flies (Diptera: Psychodidae) in an environmentally protected area in Brazil. **PLoS One**, v. 12, p. e0134845, 2015.

SILVA, A. M. *et al.* Diversidade, distribuição e abundância de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Paraná. **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 2, p. 209–225, 2008.

SILVA, A. N. R. *et al.* Detection of *Leishmania* species (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) in phlebotomine sand flies (Diptera, Psychodidae) from Porto Velho, Northern Brazil. **Acta tropica**, v. 213, 2021.

- SOUZA, A. A. et al. Natural Leishmania (Viannia) spp. infections in phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) from the Brazilian Amazon region reveal new putative transmission cycles of American cutaneous leishmaniasis. **Parasite**, v. 23, n. 22, 2016.
- SOUZA, C. F. et al. The phlebotomine sand flies fauna in Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brazil. **Parasites Vectors**, v. 8, n. 619, 2015.
- SOUZA, A. A. A. et al. Natural Leishmania (Viannia) infections of phlebotomines (Diptera: Psychodidae) indicate classical and alternative transmission cycles of American cutaneous leishmaniasis in the Guiana Shield, Brazil. **Parasite**, v. 24, n. 13, 2017.
- SOSA-OCHOA, W. et al. Detection of Leishmania infantum DNA in Pintomyia evansi and Lutzomyia longipalpis in Honduras. **Parasite & Vectors**, v. 13, n. 1, p. 593, 2020.
- SCHÖNIAN, G. A. et al. PCR diagnosis and characterization of Leishmania in local and imported clinical samples. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 47, p. 349-58, 2003.
- SHIMABUKURO, P. H. F.; ANDRADE, A. J.; GALATI, E. A. B. Checklist of American sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): genera, species, and their distribution. **ZooKeys**, v. 2017, n. 660, p. 67, 2017.
- STUCKY, B. J. Seqtrace: A graphical tool for rapidly processing DNA sequencing chromatograms. **Journal of Biomolecular Techniques**, v. 23, p. 90–93, 2012.
- SZELAG, E. A. et al. Argentinian phlebotomine fauna, new records of Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) for the country and the province of Chaco. **Zootaxa**, v. 4139, n. 3, p. 427–430, 2016.
- TELES, C. B. G. et al. Caracterização molecular da leishmaniose tegumentar americana em área de tríplice fronteira, Assis Brasil, Estado do Acre, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. 4, p. 343–347, 2016.
- TELES, C. B. G. et al. Trichophoromyia auraensis is a putative vector. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 7, p. 517-519, 2017.
- TOJAL DA SILVA, A. C. et al. Species diversity causing human cutaneous leishmaniasis in Rio Branco, state of Acre, Brazil. **Tropical Medicine and International Health**, v. 11, n. 9, p. 1388–1398, 2006.
- TONELLI, G. B. et al. Aspects of the ecology of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the Private Natural Heritage Reserve Sanctuary Caraça. **PLoS ONE**, v. 12, n. 6, p. 1–13, 2017.
- TRUJILLO, A. V. et al. Seasonal variation and natural infection of Lutzomyia antunesi (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), an endemic species in the Orinoquia region of Colombia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, n. 4, p. 463, 2013.
- VALDIVÍA, H. O. Natural Leishmania infection of Lutzomyia auraensis in Madre de Dios, Peru, detected by a fluorescence resonance energy transfer-based real-time polymerase chain reaction. **Am J Trop Med Hyg**, v. 87, n. 3, p.511-517, 2012.

VAN GRIENSVEN, J.; DIRO, E. Visceral Leishmaniasis: Recent Advances in Diagnostics and Treatment Regimens. **Infectious disease clinics of north américa**, v. 33, n. 1, p. 79-99, 2019.

VAN GRIENSVEN, J.; DIRO, E. Visceral Leishmaniasis: Recent Advances in Diagnostics and Treatment Regimens. **Infectious disease clinics of north américa**, v. 26, n. 2, p. 309-322, 2012.

VASCONCELOS, J. M. et al. American integumentary leishmaniasis: epidemiological profile, diagnosis and treatment. **Revista brasileira de análises clínicas**, v. 50, n. 3, 2018.

VIEIRA, V. R. **Aspectos da ecologia dos flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) em área de ocorrência de leishmaniose tegumentar, município de Paraty, orla marítima do Estado do Rio de Janeiro, Brasil**. 2014. 77 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Saúde) - Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014.

ZORILLA, V. et al. Distribution and identification of sand flies naturally infected with Leishmania from the Southeastern Peruvian Amazon. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 11, 2017.

12 ANEXOS

1. Autorização para atividades com finalidade científica nº 75711-1.



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 75711-1	Data da Emissão: 17/08/2020 15:41:37	Data da Revalidação*: 17/08/2021
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		
Dados do titular		
Nome: Andreia Fernandes Brilhante	CPF: 941.290.532-72	
Título do Projeto: Aspectos da fauna de dípteros em áreas de proteção ambiental e parques ecológicos, Estado do Acre, Brasil, Amazônia Ocidental Brasileira		
Nome da Instituição: Fundação Universidade Federal do Acre	CNPJ: 04.071.106/0001-37	