



THIAGO PASQUA NARCISO

**AVALIAÇÃO DO ESTADO EPIDEMIOLÓGICO E PRINCIPAIS
FATORES RELACIONADOS À DINÂMICA DAS
LEISHMANIOSES NO MUNICÍPIO DE LAVRAS, MINAS
GERAIS, BRASIL**

LAVRAS - MG

2019

**AVALIAÇÃO DO ESTADO EPIDEMIOLÓGICO E PRINCIPAIS FATORES
RELACIONADOS À DINÂMICA DAS LEISHMANIOSES NO MUNICÍPIO DE LAVRAS,
MINAS GERAIS, BRASIL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Doutor.

Dra. Joziana Muniz de Paiva

Barçante

Orientadora

Dr. Sidney de Almeida Ferreira

Coorientador

LAVRAS - MG

2019

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

Narciso, Thiago Pasqua.

Avaliação do estado epidemiológico e principais fatores relacionados à dinâmica das leishmanioses no município de Lavras, Minas Gerais, Brasil / Thiago Pasqua Narciso. - 2019.

51 p. : il.

Orientador(a): Joziana Muniz de Paiva Barçante.

Coorientador(a): Sidney de Almeida Ferreira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. parasitologia. 2. leishmanioses. 3. epidemiologia. I. Barçante, Joziana Muniz de Paiva. II. Ferreira, Sidney de Almeida. III. Título.

**AVALIAÇÃO DO ESTADO EPIDEMIOLÓGICO E PRINCIPAIS FATORES
RELACIONADOS À DINÂMICA DAS LEISHMANIOSES NO MUNICÍPIO DE LAVRAS,
MINAS GERAIS, BRASIL**

*EVALUATION OF EPIDEMIOLOGICAL STATE AND MAIN FACTORS RELATED TO THE
LEISHMANIAN DYNAMICS IN THE CITY OF LAVRAS, MINAS GENERAL, BRAZIL*

Tese apresentada à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do Programa
de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,
área de concentração em Ciências Veterinárias,
para a obtenção do título de Doutor.

Aprovada em: 20/11/2019

Dr. Sidney de Almeida Ferreira	UFLA
Dra. Lívia Ataíde	UFLA
Dra. Angélica de Souza da Mata	UFLA
Dr. Fábio Raphael Pascoti Bruhn	UFRGS
Dra. Raquel Aparecida Ferreira	FIOCRUZ/MG

Dra. Joziana Muniz de Paiva Barçante

Orientadora

Dr. Sidney de Almeida Ferreira

Coorientador

LAVRAS - MG

2019

*À todas as famílias que participaram deste trabalho por me presentearam com a
oportunidade de compartilhar empatia, esperança e muitos sorrisos*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Luiz Carlos e Valéria, e minha irmã Adélia Maria pelo amor incondicional, carinho e inspiração todos os dias, por me ensinarem a respeitar o próximo desde meus primeiros dias e por estarem ao meu lado nessa jornada em todos os momentos.

À Jozi, minha amiga e orientadora, por todo o acolhimento, carinho, conhecimento e experiência compartilhados comigo ao longo de oitos anos de trabalho, da monitoria de parasitologia humana até à docência na pós-graduação.

A todos os amigos e amigas que tive o prazer de conhecer em Lavras e em tantas viagens pelo Brasil durante o período de doutoramento, me ajudando a ser uma pessoa melhor e a encarar os desafios da vida de cabeça erguida e com um sorriso no rosto.

À todos os amigos e amigas de NEP e BIOPAR por me ensinarem muito sobre como trabalhar em equipe e por permitirem que eu pudesse concluir meu trabalho através de um suporte incondicional independente do dia e horário.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias por toda atenção, amparo e acolhimento durante o doutoramento.

À todos os amigos e amigas da Vigilância em Saúde de Lavras, local no qual fui capaz de aprender, desde o meu primeiro semestre de graduação em campanhas antirrábicas ao último semestre de doutorado, que trabalhar pela saúde é acima de tudo buscar oferecer meu melhor ao próximo.

Ao professor Ricardo Fujiwara, Josinha e Tarcísio no ICB-UFMG pelo apoio e disponibilidade ímpar com todas as análises sorológicas, moleculares e dos flebotômíneos coletados no direcionamento de todos os casos de leishmaniose humana e tegumentar de Lavras, atuando como colaboradores essenciais para a conclusão deste trabalho.

À profa. Angélica do DFI/UFLA pela dedicação e parceria no desenvolvimento deste trabalho, me apresentando a modelagem matemática e trazendo novas possibilidades e oportunidades para os estudos das leishmanioses em Lavras.

Ao professor Sidney pela atenção e disposição em ajudar com a elaboração e execução deste trabalho, especialmente durante o processo de Qualificação.

À dra. Raquel Ferreira da Fundação Oswaldo Cruz - Instituto René Rachou, à profa. Lívia Ataíde do Departamento de Entomologia da UFLA e ao prof. Fábio Raphael Pascoti Bruhn do Departamento de Veterinária Preventiva da UFPEL por aceitarem o convite para participar da banca de avaliação deste trabalho, permitindo que possamos unir forças em diferentes regiões do Brasil no estudo das leishmanioses.

Aos membros da minha banca de qualificação, formada pelos professores Joziana, Thales, Nelson, Sidney e Djeison por toda a contribuição acadêmica na minha formação durante o processo de doutoramento.

Aos discentes, docentes e colaboradores do UNILAVRAS por toda parceria profissional e pessoal nos últimos três anos de rotina dupla de trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) via projeto APQ-02553-14 pelo apoio financeiro.

Em especial gratidão a todos os animais que participaram deste processo de evolução pessoal e profissional ao longo de 11 anos de trabalho, permitindo que eu pudesse continuar acreditando que nosso mundo é um só.

“Ninguém nasce feito. Vamos nos fazendo aos poucos, na prática social de que tomamos parte.”

Paulo Freire

RESUMO

As leishmanioses compreendem um conjunto de doenças parasitárias causadas por parasitos do gênero *Leishmania*, acometem especialmente populações pobres em países subdesenvolvidos e levam todos os anos a milhares de óbitos por leishmaniose visceral humana (LVH) e a deformidades cutâneas por leishmaniose tegumentar (LT). A leishmaniose visceral (LV) também pode acometer os cães domésticos (LVC), que são considerados os principais reservatórios do parasito no ambiente urbano. Considerando o aumento do número de humanos e cães infectados por *Leishmania*, no presente trabalho objetivou-se avaliar o estado epidemiológico e os principais fatores relacionados à dinâmica da LT e LV no município de Lavras, Minas Gerais, Brasil. Coletas sistematizadas e não sistematizadas foram realizadas com armadilhas luminosas tipo CDC e tipo Shannon adaptada ao longo quatro anos em diferentes bairros de Lavras, permitindo a identificação de 16 espécies de flebotomíneos, entre eles *Lutzomyia longipalpis*, *Nyssomyia whitmani*, *Pintomyia fischeri* e *Evandromyia cortelezzii*. Estes resultados sugerem a adaptação destes insetos ao ambiente peridomiciliar do município, bem como uma possível relação com a transmissão de LT e LV. De forma a compreender melhor a dinâmica da LV em Lavras, foi realizado o primeiro relato científico de LVH no município e na região Sul de Minas Gerais. A paciente em questão, do sexo feminino e 12 anos, apresentava histórico clínico de febre recorrente, anorexia, tosse persistente e pancitopenia. O diagnóstico de LVH foi confirmado através da utilização do teste rápido IT-LEISH®, bem como amostra de punção medular positiva em PCR. O tratamento foi realizado com anfotericina B lipossomal e a paciente apresentou melhora clínica e recuperação completa em cerca de 60 dias. A eficácia da utilização do antimoniato de meglumina em administração intralesional (AM-IL) em um paciente de Lavras com LT em Lavras diagnosticado como positivo para *Leishmania* spp através da técnica de PCR também foi avaliada. O paciente do sexo masculino, 22 anos, apresentou histórico de viagem prévia a cavernas, e uma pequena lesão apareceu após exposição múltipla a picadas de flebotomíneos. O exame clínico revelou úlcera com prurido de 2,5 cm de diâmetro com base granular, bordas elevadas e exsudato seroso. Iniciado o tratamento com AM-IL, cinco dias após a terceira sessão de AM-IL a lesão estava completamente epitelizada e sem infiltração local. O paciente não apresentou efeitos adversos ao medicamento, demonstrando a segurança e eficácia desta forma de administração medicamentosa em pacientes com LTA. De forma a integrar as diferentes pesquisas realizadas no município acerca das leishmanioses, foram utilizadas ferramentas de modelagem matemática aplicadas à dados da fauna flebotomínica do município, casos de LVC e LVH e dados secundários de inquéritos censitários caninos do município, nos quais foram utilizados o teste DPP® para triagem e ELISA-EIE como confirmatório. Entre os principais resultados, a presença de correlação temporal entre os indivíduos infectados (cães, humanos e flebotomíneos) bem como uma densidade estável e baixa de flebotomíneos infectando cães e humanos foi observada. As informações obtidas neste trabalho podem ser de grande utilidade para a elaboração e o estabelecimento de medidas preventivas, terapêuticas e estratégias de controle para as leishmanioses no município e em qualquer região que apresente condições semelhantes, reforçando também a necessidade de novas pesquisas na área de modelagem matemática aplicada às Doenças Negligenciadas.

Palavras chave: epidemiologia, doenças negligenciadas, diagnóstico, transmissão vetorial

ABSTRACT

Leishmaniasis comprises a set of parasitic diseases caused by *Leishmania* parasites, especially affecting poor populations in underdeveloped countries and leading each year to thousands of deaths from human visceral leishmaniasis (HVL) and cutaneous deformities due to American tegumentary leishmaniasis (ATL). Visceral leishmaniasis (VL) can also affect domestic dogs (CVL), which are considered the main reservoir of the parasite in the urban environment. Considering the increase in the number of humans and dogs infected with *Leishmania*, this study aimed to evaluate the epidemiological status and the main factors related to the dynamics of ATL and VL in Lavras, Minas Gerais, Brazil. Systematic and non-systematized collections were performed with CDC and Shannon-type light traps adapted over four years in different quarters of Lavras, allowing the identification of 16 species of sand flies, including *Lutzomyia longipalpis*, *Nyssomyia whitmani*, *Pintomyia fischeri* and *Evandromyia cortelezzii*, suggest the adaptation of these insects to the peridomiliary environment of the municipality, as well as a possible relationship with the transmission of ATL and VL. In order to better understand the dynamics of VL in Lavras, the first scientific report of HVL was conducted in the city and in the southern region of Minas Gerais. The female patient, 12 years old, had a clinical history of recurrent fever, anorexia, persistent cough and pancytopenia. The diagnosis of HVL was confirmed by using the IT-LEISH® rapid test, as well as PCR positive spinal puncture sample. The treatment was performed with liposomal amphotericin B and the patient showed clinical improvement and complete recovery in about 60 days. The efficacy of the use of meglumine antimoniate for intralesional administration (MA-IL) in a Lavras ATL patient in Lavras diagnosed as positive for *Leishmania* spp by PCR was also evaluated. The 22-year-old male patient had a history of previous cave travel, and a minor injury appeared after multiple exposure to sand flies. Clinical examination revealed a 2.5 cm diameter itchy ulcer with granular base, raised edges and serous exudate. After treatment with MA-IL, five days after the third session of MA-IL, the lesion was completely epithelized and without local infiltration. The patient had no adverse effects to the drug, demonstrating the safety and efficacy of this form of drug administration in patients with ATL. In order to integrate the different research carried out in the municipality about leishmaniasis, mathematical modeling tools were applied to the phlebotomine fauna data of the municipality, cases of CVL and HVL and secondary data of canine census surveys of the municipality, in which the DPP® screening test and ELISA-EIE were used as confirmatory. Among the main results, the presence of temporal correlation between infected individuals (dogs, humans and sand flies) as well as a stable and low density of sand flies infecting dogs and humans was observed. The information obtained in this work can be very useful for the elaboration and establishment of preventive, therapeutic and control strategies for leishmaniasis in the city and in any region that presents similar conditions, also reinforcing the need for further research in modeling mathematics applied to Neglected Diseases.

Keywords: epidemiology, neglected diseases, diagnosis, vectorial transmission

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação taxonômica do gênero <i>Leishmania</i> e formas clínicas da doença. Adaptado de Bates, 2007.....	16
Figura 2 - Exemplar de flebotomíneo macho (esquerda) e fêmea (direita) do gênero <i>Lutzomyia</i> . Fonte: Do autor, 2017.....	19
Figura 3 - Estado de endemidade da leishmaniose tegumentar no mundo. Adaptado de WHO, 2016.	21
Figura 4 - Estado de endemidade da leishmaniose visceral no mundo. Adaptado de Burza et al., 2019	23

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

LV	Leishmaniose visceral
LT	Leishmaniose tegumentar
LTA	Leishmaniose tegumentar Americana
LC	Leishmaniose cutânea
LM	Leishmaniose mucocutânea
LVH	Leishmaniose visceral humana
LVC	Leishmaniose visceral canina
PCR	Reação em cadeia de polimerase
qPCR	Reação em cadeia de polimerase em tempo real
DPP	<i>Dual path plataform</i>
ELISA	Ensaio de imunoadsorção enzimática
AM	Antimoniato de meglumina
AM-IL	Antimoniato de meglumina intralesional
MS	Ministério da Saúde

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE.....	14
1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	14
1.1 Objetivo Geral	15
1.2 Objetivos Secundários.....	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1 Leishmanioses e o gênero <i>Leishmania</i>	16
2.2 Histórico das leishmanioses	17
2.2.1 Histórico da leishmaniose tegumentar (LT)	17
2.2.2 Histórico da leishmaniose visceral (LV).....	18
2.3 Vetores biológicos e ciclo de transmissão de <i>Leishmania</i>	19
2.4 Leishmaniose Tegumentar americana - LTA	21
2.5 Leishmaniose visceral – LV	22
2.5.1 Leishmaniose visceral humana - LVH.....	23
2.5.2 Leishmaniose visceral canina - LVC	24
2.5.3 Medidas de controle para as leishmanioses	26
2.6 Modelagem matemática e a LV.....	27
3 DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	41
ARTIGO 1 – First report of an autochthonous human visceral leishmaniasis in a child from the south of Minas Gerais state, Brazil	41
ARTIGO 2 – <i>Evandromyia cortelezzii</i> (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in an endemic area of leishmaniasis, Lavras, Brazil.....	41
ARTIGO 3 – First report of <i>Nyssomyia whitmani</i> (Antunes & Coutinho, 1939) and <i>Pintomyia fisheri</i> (Pinto, 1926) in a transmission area of american cutaneous leishmaniasis, in south of Minas Gerais state, Brazil.....	41

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Parasitas do gênero *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) são protozoários digenéticos responsáveis por um grupo de doenças parasitárias genericamente agrupadas como leishmanioses, que possuem como vetores insetos dípteros da família Psychodidae, denominados flebotomíneos e que acometem seres humanos e animais em diferentes regiões do globo. As leishmanioses são responsáveis por um elevado impacto na saúde pública, e podem manifestar-se em seres humanos e animais nas formas visceral (LV) e tegumentar (LT). Embora as leishmanioses estejam presentes em todas as unidades federativas do Brasil, a compreensão de fatores relacionados à epidemiologia dos flebotomíneos, dinâmicas de transmissão da doença e dispersão do parasito no ambiente urbano ainda necessitam de maiores estudos.

No período de janeiro de 2017 a agosto de 2019, oito casos e dois óbitos por LV foram notificados na cidade de Lavras, bem como centenas de cães foram diagnosticados como reagentes em inquéritos sorológicos. Somado a estes fatos, flebotomíneos infectados por *Leishmania* sp. já foram identificados em estudos prévios de monitoramento da ectofauna realizados em diferentes bairros do município.

Diante desse cenário, o presente trabalho teve como objetivo identificar e georreferenciar os casos de LV humana e canina, assim como a ocorrência de flebotomíneos na área de estudo a fim de propor uma nova análise computacional matemática para a transmissão da LV. Considerando a distribuição espaço-temporal dos agentes envolvidos na dinâmica, bem como a mobilidade da população utilizando uma rede de metapopulação multiplex, para validar o modelo matemático foram utilizados dados reais da cidade de Lavras, Minas Gerais, Brasil.

Visando melhorar a modelagem de fenômenos do mundo real, o presente trabalho poderá ser aplicado em diferentes localidades, auxiliando na antecipação de surtos epidêmicos, previsão do aumento populacional de vetores e, futuramente, estratégias de imunização e educação em saúde. Os resultados permitirão também orientar os serviços de Vigilância em Saúde de cidades no Brasil e no mundo onde possam existir interações epidemiológicas favoráveis entre hospedeiros e vetores de *Leishmania* spp.

1.1 Objetivo Geral

Avaliar o estado epidemiológico e os principais fatores relacionados à dinâmica das leishmanioses no município de Lavras, Minas Gerais, Brasil.

1.2 Objetivos Secundários

- Identificar e georreferenciar os casos de leishmaniose visceral canina e humana no município de Lavras;
- Identificar e georreferenciar a fauna flebotomínica presente no município de Lavras;
- Identificar e georreferenciar os casos de leishmaniose tegumentar presentes no município de Lavras;
- Propor um modelo matemático para estudo da leishmaniose visceral em uma área de transmissão recente.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Leishmanioses e o gênero *Leishmania*

As leishmanioses compreendem um conjunto de doenças parasitárias causadas por pelo menos 20 espécies de protozoários do gênero *Leishmania* (família Trypanosomatidae, ordem Kinetoplastida), transmitidos por insetos vetores (Figura 1) e que possuem as fêmeas de flebotomíneos como transmissoras entre hospedeiros mamíferos (BURZA, 2019). Apresentam duas principais formas de manifestações clínicas classificadas como leishmaniose tegumentar (LT) nas formas cutânea (LC) e mucocutânea (LCM), e leishmaniose visceral (LV), acometendo cerca de um milhão de pessoas em 98 países das regiões tropicais e subtropicais da África, Ásia, Mediterrâneo, Europa e Américas do Sul e Central (WHO, 2016; LIDANI, 2017). A LT e a LV são classificadas como doenças tropicais negligenciadas pela OMS, e representam as principais doenças transmitidas por vetores emergentes e reemergentes nas Américas (WHO, 2019).

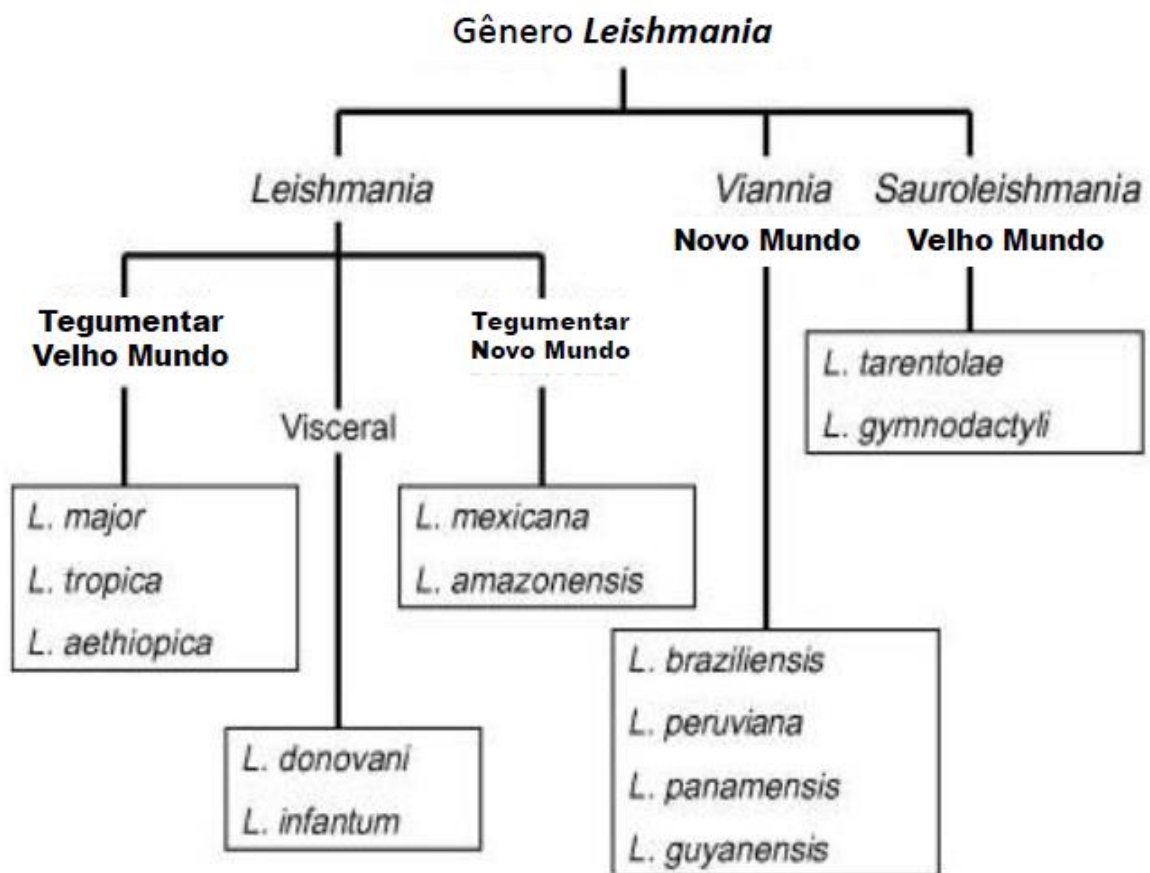


Figura 1- Classificação taxonômica do gênero *Leishmania* e formas clínicas da doença. Adaptado de Bates, 2007.

2.2 Histórico das leishmanioses

Os primeiros relatos do contato dos seres humanos com as leishmanioses datam de registros assírios de lesões cutâneas do século VII a.C, que se seguem no século III a.C com a descoberta de DNA mitocondrial de *Leishmania* em múmias egípcias e registros em papiros de lesões semelhantes à LT do século I a.C. Nas Américas, macrófagos infectados com *Leishmania* foram observados em uma múmia peruana, que data do ano 800 a.C (MASPERO, 1910; MANSON-BAHR, 1996; ZINK et al., 2006; FRÍAS; ARAÚJO, 2013).

2.2.1 Histórico da leishmaniose tegumentar (LT)

Os primeiros registros precisos de LT acometendo seres humanos datam do século I d.C., no Peru, Equador e também na Ásia Central, onde a ferida era conhecida como “úlceras de Balkh” (MAGALHÃES, 2001). No Brasil, estudos sugerem que a LT surgiu na Amazônia em tempos arqueológicos e se disseminou pelo território nacional devido às migrações em massa ocorridas em períodos como no ciclo econômico da borracha (1880-1912), durante a construção de estradas e ferrovias, mineração do ouro e exploração da madeira (VALE, 2005).

A primeira observação clínica da forma Americana da LT (LTA) no Brasil ocorreu em 1895 por Juliano Moreira, que nomeou a úlcera como “Botão da Bahia”. Em meados de 1900, Lindenberg confirmou a presença de *Leishmania* spp. de amostras de lesões cutâneas e nasobucofaríngeas em construtores de rodovias do interior de São Paulo acometidos pela então denominada “úlceras de Bauru”. Em 1911, o parasito foi isolado a partir de feridas em mucosas e foi nomeado como *Leishmania braziliensis* por Gaspar Vianna, e apenas em 1922 Aragão comprovou a importância do flebotomíneo como vetor do parasito (BRASIL, 2010).

Até a década de 1950, a LTA disseminou-se por todo o território nacional, com novos casos coincidindo com regiões em que o desmatamento era causado pela construção de estradas e assentamentos populacionais, apresentando maior incidência nos estados de São Paulo, Paraná, Minas Gerais, Ceará e Pernambuco. Este quadro se estabilizou nas populações rurais dos estados mais populosos na década de 1960, e desde então a doença vem apresentando forte associação com outros fatores como o ecoturismo, prática que estreita o contato entre humanos e flebotomíneos infectados em ambientes silvestres (VALE, 2005; BURZA et al., 2019).

2.2.2 Histórico da leishmaniose visceral (LV)

As primeiras pesquisas relacionadas à LV datam do século 19 em um artigo publicado por William Twining (1827), relatando a ocorrência de esplenomegalia, anemia aguda e febre intermitente em pacientes da cidade de Bengala, Índia (TWINING, 1827). Relatos da observação de parasitos semelhante à *Leishmania* foram realizados nas décadas posteriores em diferentes regiões da Ásia, Europa e Subcontinente Indiano, de forma coincidente ao aumento da endemicidade da LV nos países acometidos (CUNNINGHAM, 1885; HOARE, 1938; GIBSON, 1983). Somente em 1903, após os trabalhos pioneiros na identificação morfológica do parasito realizados por Leishman e Donovan serem publicados (LEISHMAN, 1903; DONOVAN, 1903) Ross propõe a denominação *Leishmania donovani* (ROSS, 1904), com a espécie *Leishmania infantum*. Esta espécie foi descrita infectando especialmente crianças e cães apenas em 1908 por Nicolle e Comte (NICOLLE; COMTE, 1908).

Após a realização dos trabalhos clássicos de Penna e Chagas (PENNA, 1934; CHAGAS et al, 1937) casos humanos de leishmaniose visceral (LV) foram observados em diferentes regiões da América, sendo o Brasil o país com a maior presença endêmica da doença com transmissão ativa distinta do ciclo original do Mediterrâneo no período. Na década de 1950, o Brasil apresentava zonas endêmicas de LV restritas principalmente à região nordeste e algumas áreas específicas nos estados do Pará e Minas Gerais, com casos esporádicos sendo observados também em outras regiões do país, onde os aspectos epidemiológicos da doença estavam associados às áreas rurais e à presença de *Lutzomyia longipalpis* (DEANE, 1956). Esse cenário começou a mudar em menos de 30 anos, com a doença se deslocando para algumas áreas urbanas e urbanizando-se alguns anos depois (WERNECK, 2008).

Em 2016 segundo relatório da Organização Pan-Americana da Saúde, 17 países endêmicos reportaram 48.915 casos de LC e LM, e somente o Brasil registrou 12.690 casos. Com relação à LV, foram registrados um total de 3.354 casos, com uma incidência de 4,51 e 1,04 casos por 100.000 habitantes (OPAS, 201). O elevado número de casos de LV e LT nos últimos anos deve-se a diversos fatores de caráter sociais e epidemiológicos, como globalização, mudanças climáticas, aumento das viagens internacionais para áreas endêmicas, infecção através de transfusão sanguínea em países estrangeiros, aquecimento global, adaptação de novos vetores à *Leishmania* spp, entre outros (STEVERDING, 2017).

2.3 Vetores biológicos e ciclo de transmissão de *Leishmania*

Popularmente conhecidos como “mosquitos-palha”, “cangalhinha” e “asa-dura” (LAINSON; SHAW, 1979), os flebotomíneos são insetos de grande importância para a saúde pública uma vez que estão envolvidos na transmissão de patógenos, sobretudo os do gênero *Leishmania* (DESMOULIÈRE, 2010). A chave atual mais utilizada para a classificação dos flebotomíneos é encontrada no livro “Flebotomíneos do Brasil” de Rangel e Lainson e foi proposta por Galati (2003b). A obra possui uma revisão e reorganização completa da subfamília Phlebotominae (AKHOUNDI et al., 2016).

Os flebotomíneos são insetos holometábolos cujo ciclo compreende as fases de ovo, larva, pupa e adultos (BRAZIL; BRAZIL, 2003). As larvas desenvolvem-se em locais ricos em matéria orgânica (DIAS-LIMA, 2003) e possuem tempo de desenvolvimento médio de 18 dias, que pode ser prolongado por meses em condições ambientais desfavoráveis, como em locais de clima seco e frio (YOUNG; DUNCAN, 1994). Os adultos (Figura 2) possuem cerca 2,5 mm, corpo coberto por cerdas e coloração palha. Realizam voo saltado, possuem hábitos crepusculares e se abrigam em locais úmidos, escuros e com acúmulo de matéria orgânica, como tocas de animais, troncos de árvores e folhas caídas no solo (FORATTINI, 1973; ALEXANDER et al., 1992).



Figura 2 – Exemplar de flebotomíneo macho (esquerda) e fêmea (direita) do gênero *Lutzomyia*. Fonte: Do autor, 2017.

Quanto a seus hábitos alimentares, adultos de ambos os sexos se alimentam de soluções açucaradas como néctar de flores e frutos, através de sucção (ALEXANDER; USMA, 1994; SHERLOCK; SHERLOCK, 1972), e as fêmeas iniciam a telmatofagia, adaptação biológica exclusiva das fêmeas para completar o processo de maturação ovariana. Fêmeas e machos podem ser diferenciados a partir dos últimos segmentos abdominais, onde são formadas as genitálias e pelas probóscides, adaptadas nas fêmeas para a hematofagia (BRAZIL; BRAZIL, 2003).

A infecção das fêmeas de flebotomíneos ocorre durante o repasto sanguíneo pela ingestão de células do sistema fagocítico monoclear dos hospedeiros mamíferos infectadas pelas formas amastigotas, que se transformam em promastigotas no intestino do vetor e multiplicam-se na região posterior e região média para os subgêneros *Viannia* e *Leishmania*, respectivamente (LAINSON; SHAW, 1979). Apenas as formas promastigotas metacíclicas do parasito são capazes de iniciar a infecção nos hospedeiros mamíferos (LAINSON; SHAW, 1987).

As espécies envolvidas na transmissão de *L. infantum* no Brasil são *L. longipalpis* e *L. cruzi*, sendo que *L. longipalpis* tem ampla distribuição geográfica, enquanto *L. cruzi* é incriminado como vetor no Estado de Mato Grosso do Sul (BRASIL, 2014). Quanto as principais espécies de flebotomíneos envolvidas na transmissão de espécies dermatrópicas de *Leishmania*, temos: *L. flaviscutellata*, *L. whitmani*, *L. umbratilis*, *L. intermedia*, *L. wellcomei* e *L. migonei* (BRASIL, 2017). As espécies de flebotomíneos *Nyssomia whitmani*, *Evandromyia cortelezzi* e *Pintomia fischeri* também são incriminados como responsáveis pela transmissão de espécies envolvidas na LT, como *L. braziliensis* e *L. amazonensis*, e podem ser encontradas em um grande número de áreas endêmicas em associação com ampla diversidade de vegetação (BARRETO et al, 2014). Barçante e colaboradores (2018) observaram que *N. whitmani*, por exemplo, demonstra ser um flebotomíneo que se adapta a novos ambientes, como áreas degradadas, em associação com animais domésticos e humanos em áreas rurais e urbanas, bem como *P. fischeri*, que pode ser encontrado em abundância em áreas desmatadas, sugerindo que estas espécies se adaptam às alterações ambientais, mantendo a transmissão de *L. braziliensis* entre animais silvestres nas áreas florestais adjacentes às habitações humanas (BARÇANTE et al., 2018).

2.4 Leishmaniose Tegumentar americana - LTA

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença caracterizada por um espectro de manifestações clínicas em humanos, que podem variar de úlceras dérmicas localizadas a lesões mucocutâneas, que embora apresentem um bom prognóstico frente ao tratamento adequado, podem levar a deformidades nos indivíduos acometidos, acarretando distúrbios de ordem psicossocial como isolamento, ansiedade por contato e depressão (MARCONDES; DAY, 2019). Casos da doença possuem ampla distribuição mundial, e nas Américas há registros em países como Brasil (em todas as Unidades Federativas), Argentina, Colômbia, Equador, México, Estados Unidos, entre outros, com exceção de Chile e Uruguai (BRASIL, 2017) (Figura 3).

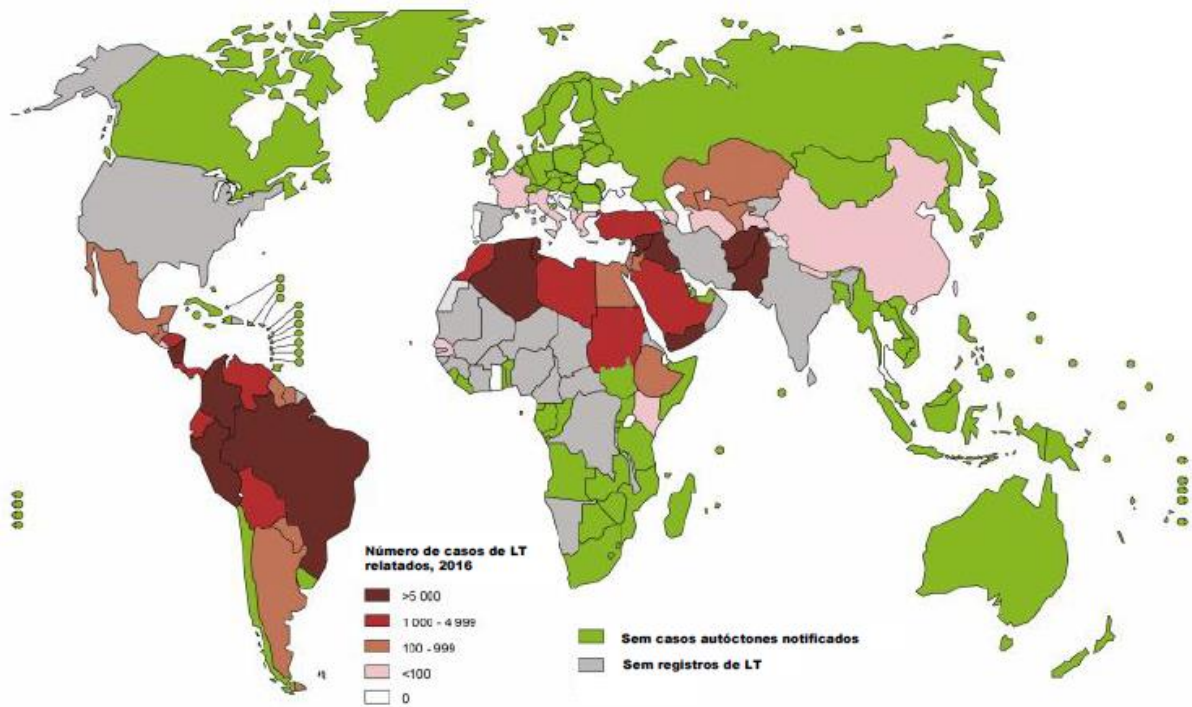


Figura 3 – Estado de endemicidade da leishmaniose tegumentar no mundo. Adaptado de WHO, 2016.

Classicamente a LT é classificada em duas formas distintas: leishmaniose cutânea (LC) e leishmaniose mucocutânea (ou mucosa) (LMC). Nas Américas é denominada leishmaniose tegumentar Americana (LTA), e possui como principais agentes etiológicos no Brasil as espécies *L. braziliensis*, *L. guyanensis* e *L. amazonensis*, e de acordo com o quadro clínico do paciente, é classificada nas formas cutânea localizada, cutânea disseminada, recidiva cútis e cutânea difusa, e manifesta-se a partir de uma úlcera cutânea com fundo granuloso, indolor e

com bordas infiltradas em moldura. Já a LCM pode ser causada pela infecção por *L. braziliensis* e *L. amazonensis*, e manifestar-se nas formas mucocutânea tardia, sem lesão cutânea prévia, concomitante, contígua e primária, e manifesta-se através de úlcera na mucosa nasal, com ou sem perfuração ou perda do septo nasal, podendo atingir lábios e boca (palato e nasofaringe) (MARZOCHI, 1989; BRASIL, 2017, WHO, 2019).

A ocorrência das variantes mais raras da leishmaniose cutânea, como as formas difusa, disseminada e *recidivans* correlacionam-se com um espectro subjacente de respostas imunes contrastantes, especialmente em pacientes que apresentem quadro de imunossupressão como HIV+, em terapias quimioterápicas e outras comorbidades (SCOTT; NOVAIS, 2016).

Para o diagnóstico confirmatório da LTA são recomendados exames parasitológicos (demonstração direta do parasito em lâmina, isolamento em cultivo *in vitro* ou isolamento *in vivo*, com inoculação em animais), testes sorológicos) e exames moleculares (PCR) (BRASIL, 2017). O material necessário para o exame direto pode ser coletado diretamente da lesão existente por meio de diversas técnicas, como biópsia com impressão por aposição, escarificação, punção aspirativa ou lavagem das mucosas nasal e oral (GOMES, 2014).

No Brasil, o antimoniato de meglumina (AM) (Glucantime®) é a droga de primeira escolha e pode ser administrado via intravenosa ou intramuscular em ambiente ambulatorial (ALMEIDA, 2011). Apesar de sua cardiotoxicidade, hepatotoxicidade e nefrotoxicidade reconhecida, a terapia anti-*Leishmania* sistêmica convencional vem sendo empregada há várias décadas, e buscando uma alternativa mais segura, a administração intralesional de antimoniato de meglumina (AM-IL) está sendo utilizada promovendo aos pacientes a redução da absorção sistêmica do fármaco e de efeitos colaterais, reduzindo também casos de abandono do tratamento (SILVA et al., 2018).

2.5 Leishmaniose visceral – LV

A LV possui como agentes etiológicos parasitos do gênero *Leishmania*, é classificada pela OMS como uma doença negligenciada e acomete principalmente populações de países sub-desenvolvidos e em desenvolvimento (WHO, 2019). Este parasito pode infectar diversas espécies de mamíferos, ocorrendo de forma antropofílica na Índia, Paquistão, China Oriental, Bangladesh, Nepal, Sudão e Kênia e apresentando como agente etiológico *L. donovani*. Já o ciclo zoonótico é observado na Ásia central e sudoeste, no nordeste da China, norte da África, Europa mediterrânea e nas Américas, com a espécie *L. infantum* responsável pela doença nos

12 países onde ocorre (STEVERDING, 2017). No Brasil *L. infantum* é transmitida através da picada de flebotomíneos das espécies *L. longipalpis* e *L. cruzi* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) (BRASIL, 2014).

Entre os diferentes hospedeiros mamíferos de *Leishmania*, os cães domésticos também podem se infectar com diferentes espécies de *Leishmania* através da picada flebotomíneos, e dentre elas *L. infantum*, responsável pelas manifestações clínicas da LVH e da leishmaniose visceral canina (LVC) (ALVAR et al., 2013).

2.5.1 Leishmaniose visceral humana - LVH

A Leishmaniose Visceral Humana (LVH), Calazar ou “Kala-azar”, é considerada uma das doenças negligenciadas de maior impacto na saúde pública principalmente em regiões pobres do globo, e está em segundo lugar no número de fatalidades por doenças causadas por protozoários atrás apenas de malária (KAIMING, 2018). É altamente endêmica no subcontinente indiano e na África Oriental, e mais de 90% dos novos casos ocorrem em seis países: Bangladesh, Brasil, Etiópia, Índia, Sudão do Sul e Sudão (Figura 4) (WHO, 2019).

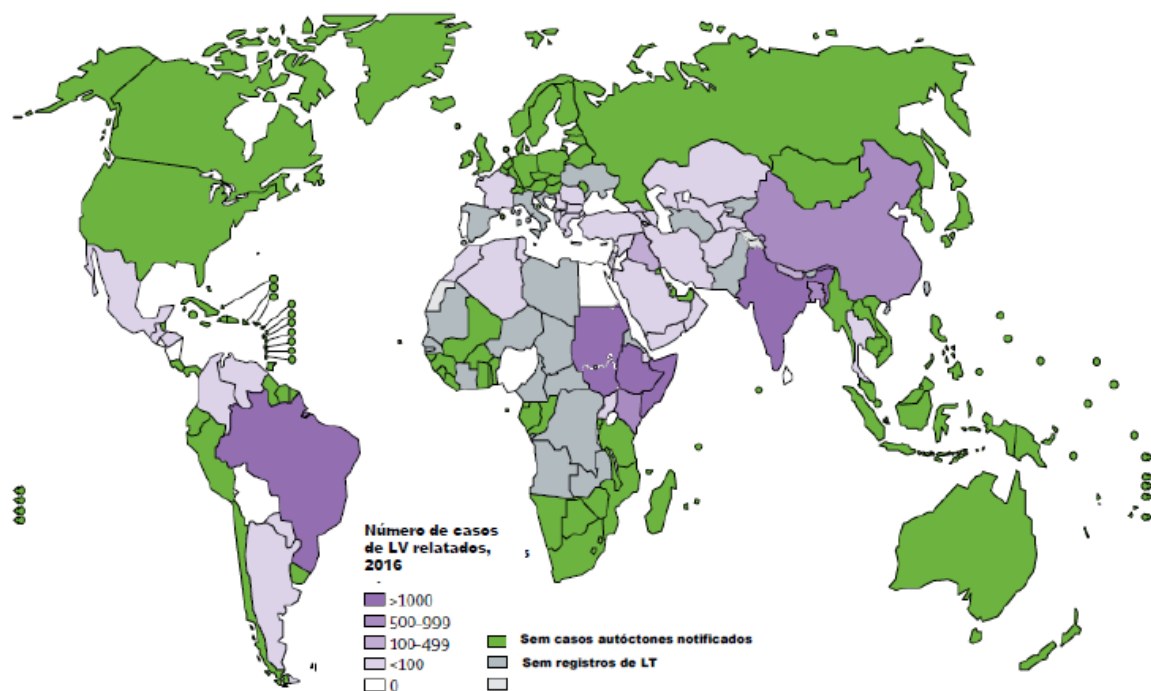


Figura 4 – Estado de endemicidade da leishmaniose visceral no mundo. Adaptado de Burza et al., 2019.

Doença de caráter tipicamente crônico, a LVH pode apresentar início abrupto com febre alta de caráter persistente ou intermitente, associada com frequência a alterações

gastrointestinais, prostração e emagrecimento progressivo que pode levar à caquexia acentuada. A distensão abdominal decorrente de hepatomegalia ou esplenomegalia, marcante na fase crônica da LVH, também pode cursar com dispneia, sopro sistólico plurifocal e insuficiência cardíaca (DUARTE; BADARÓ, 2009)

No diagnóstico da LVH, segundo o Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (BRASIL, 2014), além utilização do teste rápido imunocromatográfico com utilização do antígeno recombinante rK39 como confirmatório (OnSite™ - Bio Advance Diagnóstico) também podem ser utilizados métodos sorológicos como Imunofluorescência Indireta (IFI), ELISA, esfregaços de medula óssea para análise em microscopia e PCR.

No Brasil, o atual tratamento de primeira linha para LV consiste na utilização do antimoniato de meglumina - MA (20 mg Sb + 5 / kg / dia por 20 dias), ou com fármacos considerados de segunda linha como a anfotericina B desoxicolato–Ampho B (1 mg/kg/dia por 14 dias) ou anfotericina lipossomal B-LAMB (3 mg/kg/dia por 7 dias) (ROMERO et al., 2017). Embora o tratamento com MA reduza os riscos relacionados à hospitalização devido sua administração ao nível ambulatorial, os pacientes podem apresentar toxicidade ao medicamento, sendo a Ampho B e a B-LAMB as únicas opções no tratamento de gestantes e de pacientes em condições de imunossupressão ou que manifestem toxicidade relacionada ao uso dos antimoniatos (MARINS, 2011; BRASIL, 2014).

2.5.2 Leishmaniose visceral canina - LVC

Os cães são considerados os principais reservatórios de *L. infantum* no ambiente urbano, o que atribui a esta espécie uma importância epidemiológica significativa no ciclo de transmissão do parasito em países da bacia do Mediterrâneo, América do Sul, América Central e China (MORENO; ALVAR, 2002; GRAMICCIA; GRADONI, 2005). No Brasil, a capacidade de *L. longipalpis* se infectar com *L. infantum* a partir do repasto sanguíneo em cães, foi comprovada em estudos pioneiros realizados por Deane e colaboradores (1955). Os mesmos autores afirmaram que estes insetos são capazes de se adaptarem facilmente ao ambiente peridoméstico ou habitações humanas, com as fêmeas se alimentando frequentemente do sangue de cães (DEANE; DEANE, 1955; LAINSON; RANGEL, 2005).

Um conjunto de fatores como a virulência da cepa do parasito, fatores genéticos e estado imunológico do hospedeiro irão determinar se o cão infectado será capaz de controlar a infecção, apresentar evolução aguda e doença grave ou curso progressivo que leva

inexoravelmente à morte se não for adotado tratamento e terapia adequados (RIBEIRO et al., 2018). O período de incubação da doença nos cães pode variar de três meses a vários anos (com valor médio de 180 dias) e na sua forma clássica, um dos primeiros e mais comuns sinais clínicos da doença é a linfadenopatia, bem como frequentes anormalidades dermatológicas de caráter tardio e variáveis em sua caracterização e extensão (MANCIANTI et al., 1988, SBRANA et al., 2014). Na sintomatologia dermatológica clássica nos cães, pode-se observar dermatite esfoliativa não pruriginosa, com ou sem alopecia e de caráter localizado ou disseminado e dermatite erosivo-ulcerativa. Sinais como onicogribose, anorexia, enterite crônica e perda de peso, esplenomegalia e hepatomegalia, distúrbios oftálmicos, articulares e neurológicos também podem ser observados (SOLANO-GALLEGO et al., 2011; GIANUZZI et al., 2017).

Os diferentes testes disponíveis para o diagnóstico da LVC podem ser baseados em características sorológicas, imunológicas, parasitológicas ou moleculares (BRASIL, 2014; COURA-VITAL, 2014). No Brasil, o diagnóstico da LVC é realizado utilizando como triagem o teste rápido imunocromatográfico de plataforma dupla (DPP® - Bio-Manguinhos/FIOCRUZ) e o ensaio de imunoadsorção enzimática ELISA (EIE-LVC®) como teste confirmatório (BRASIL, 2014). Considerando que o resultado falso positivo pode levar um cão saudável à morte, e casos falso negativos podem causar a manutenção de cães infectados entre a população devido à baixa sensibilidade dos testes rápidos em animais assintomáticos (GONDIM, 2019), a detecção de DNA de *Leishmania* utilizando a técnica de reação em cadeia de polimerase convencional (PCR) ou a PCR em tempo real (*qPCR*) vem sendo descritas como uma excelente estratégia para um diagnóstico mais preciso da LVC (CECCARELLI, 2014; MAGALHÃES-JUNIOR, 2016).

Atualmente, o Brasil é o único país com um programa de larga escala de eutanásia sistemática de cães para controlar a LVC (BRASIL, 2014). Como alternativa à essa medida de controle, o tratamento de cães infectados pode ser realizado com a miltefosina (Milteforan™ - MSD), único medicamento disponível para o tratamento da LVC no Brasil e autorizado para registro pela Nota Técnica Conjunta n° 001/2016-MAPA/MS em 2016 (BRASIL, 2016). Estudos recentes utilizando xenodiagnóstico e *qPCR* indicaram que o tratamento com miltefosina apresenta eficácia e segurança para cães naturalmente infectados, bem como leva à redução da carga parasitária, infectividade aos flebotomíneos e promove melhora do quadro clínico dos animais em um período inferior a 60 dias (BORJA et al., 2016; SANTOS-NOGUEIRA et al., 2019). Embora apresente eficácia no tratamento canino, o custo da terapia

com a miltefosina é elevado, e diferentes cepas de *L.donovani* e *L. infantum* veem apresentando resistência ao medicamento na Índia e na América do Sul, respectivamente (PONTE-SUCRE et al., 2017).

2.5.3 Medidas de controle para as leishmanioses

Buscando aprimorar o controle vetorial e do reservatório, as pesquisas atuais estão sendo direcionadas ao desenvolvimento de estratégias do controle dos vetores de forma a buscar uma melhor compreensão da bionômica de vetores e suas interações com os reservatórios, das características da população vetorial, incluindo resistência a inseticidas e promover o desenvolvimento novas tecnologias de controle de vetores e reservatórios, incluindo marcadores de controle bem-sucedidos (BURZA, 2019). Aliada à estas medidas, a utilização da modelagem matemática se torna uma alternativa interessante para a análise de diferentes fatores relacionados à dinâmica e epidemiologia da LTA, LV e LVC, como dispersão de vetores, movimentação de cães infectados, risco de infecção para a população humana, entre outros, buscando melhor compreender a heterogeneidade do processo de transmissão (SHIMOZAKO et al., 2017).

De forma a bloquear o ciclo de transmissão da LTA, LV e LVC, um dos principais objetivos do controle é impedir o contato de cães e humanos com os insetos vetores, através da utilização de barreiras físicas como redes e mosquiteiros, repelentes à base de deltametrina, evitando a exposição dos cães ao horário crepuscular ou recolhendo possíveis acúmulos de matéria orgânica, ambiente no qual os flebotomíneos se reproduzem (RIBEIRO et al., 2018).

A dispersão da LV na América Latina está relacionada principalmente à movimentação em massa de populações humanas e caninas entre diferentes ambientes silvestres e urbanos, bem como pela dificuldade do controle da população vetorial e subnotificação de casos humanos e caninos (ALVAR, 2013).

As medidas de controle e prevenção direcionadas aos cães são baseadas na utilização de coleiras repelentes impregnadas com piretróides sintéticos (deltametrina, permetrina) associada à vacinação de cães comprovadamente negativos para LVH, que embora seja uma importante ferramenta profilática, apresenta baixa eficácia protetora, com valores variando de 68% a 71% (DAVOUST et al., 2013, FERNANDES et al., 2014). Desta forma, o uso conjunto de coleiras repelentes e vacinação dos cães são considerados os métodos mais eficazes no controle da doença (BRASIL, 2014).

Como alternativa para melhor coordenar recursos entre cuidados de saúde humana e veterinária, a abordagem *One Health* pode auxiliar na resolução de diversos desafios para o controle da LV, como a identificação dos cães infectados com a utilização de métodos de diagnóstico mais precisos, a controvérsia em torno da ética e eficácia da eutanásia de cães, a eficácia limitada das vacinas atualmente disponíveis para cães, entre outros (PALATINIK-DE-SOUSA; DAY, 2011). O uso desta abordagem também pode auxiliar na redução de despesas associadas à distribuição de coleiras repelente para cães e também na acessibilidade do tratamento médico veterinário licenciado para a LVC (MARCONDES; DAY, 2019).

2.6 Modelagem matemática e a LV

A utilização de modelos matemáticos descritivos e preditivos para transmissões epidêmicas, quando aplicados à dinâmica da LV, possibilitam avaliar parâmetros e variáveis relacionados à disseminação da doença, bem como os fatores dominantes mais relevantes (KAIMING et al., 2018). As ferramentas utilizadas nestes estudos podem ser genericamente categorizadas em modelos de sistemas dinâmicos, incluindo equações diferenciais ordinárias (EDO) ou equações diferenciais parciais (EDP), além de modelos estatísticos e *machine learning* (BUCKINGHAM-JEFFERY et al., 2019).

Nos últimos 20 anos, as pesquisas utilizando modelagem matemática aplicadas ao controle da LV foram capazes de elaborar equações que representam todos os agentes envolvidos no ciclo do parasito, no formato com 4 EDO's suscetível-latente-infeccioso-resistente (SLIR) considerando a transmissão entre humanos, cães e vetores com 11 EDO's (RIBAS et al., 2013) e, mais recentemente, utilizando um modelo simplificado de 8 EDO's no qual a população não humana envolvida no ciclo de transmissão (cães e flebotomíneos) é classificada em grupos suscetíveis e infectados (BISWAS et al., 2017).

A utilização da modelagem matemática possibilitou identificar fatores dominantes no controle epidêmico da LV, como sensibilidade da população humana infectada perante o desafio do controle vetorial avaliando a eficácia entre duas medidas de controle (RIBAS et al., 2013), importância da susceptibilidade canina à infecção (ZHAO et al., 2016), repasto sanguíneo e taxa de nascimento de flebotomíneos associados à taxa de recuperação de humanos sintomáticos, entre outros, atuando na prevenção de novos casos e possíveis surtos decorrentes da alteração do perfil epidemiológico da doença em determinada localidade (SUBRAMANIAN et al., 2017). Somado à utilização da modelagem como ferramenta de vigilância, outros fatores

relacionados à LVH e LVC podem ser analisados para o estabelecimento de medidas de controle, tais como eficácia e custo benefício do tratamento canino e humano com os medicamentos disponíveis (BURATINI et al., 1998, LEE et al., 2012; MARINHO et al., 2015; SHIMOZAKO et al., 2017).

A heterogeneidade geográfica associada a alterações climáticas são os principais fatores na modelagem de outras doenças transmissão vetorial, como por exemplo dengue e malária (KIM et al., 2017). Para entender a complexidade da dinâmica de transmissão da dengue, por exemplo, foi demonstrado que a sazonalidade desempenha um papel importante no tamanho da população de mosquitos, e influencia diretamente na definição de estratégias de controle eficazes (LUNEV et al., 2016).

Para modelos desenvolvidos para entender os padrões de movimento relevantes para a transmissão da malária e considerando a gravidade como fator de dispersão para indivíduos infectados e suscetíveis, características como viagens e noites de sono fora da residência, demografia do local visitado, número de adultos e crianças, movimentação de trabalhadores jovens, entre outras são consideradas relevantes, e possibilitam a melhor compreensão da relação dos hospedeiros humanos com os vetores, que no continente africano são *Anopheles gambiae* e *Anopheles funestus* (DOUGNON, 2010; MARSHALL et al., 2018).

Modelos ecológicos de distribuição espaço-temporal também são utilizados para avaliar a dispersão de doenças causadas por helmintos, como por exemplo na infecção por espécies do gênero *Schistosoma*, possibilitando a elaboração de mapas de risco e dispersão do parasito entre a população humana como demonstrado por Navas e colaboradores (2019) e em estudos prévios realizados na Tanzânia e nas Filipinas (CLEMENTS et al., 2008; SOARES MAGALHÃES et al., 2015; NAVAS et al., 2019).

3 DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

As leishmanioses apresentam grande importância no contexto da saúde pública mundial e são classificadas como Doenças Negligenciadas (DNs), são transmitidas por vetores flebotomíneos e acometem especialmente populações pobres em países subdesenvolvidos e levam todos os anos à milhares de óbitos por LV e à deformidades por LT. Os anos de vida perdidos ajustados por incapacidade (DALYs) para as leishmanioses, no qual mede-se simultaneamente o efeito da mortalidade e dos problemas de saúde que afetam a qualidade de vida dos indivíduos, são próximos de 2,4 milhões de anos, nos quais temos 1,0-1,5 milhões de casos de LT e 500.000 casos de LV anualmente, com uma 350 milhões de pessoas em situação

de risco (WHO, 2019). Apesar da escassez de dados disponíveis confiáveis, estima-se que o número real de casos seja consideravelmente maior.

Até o ano de 2013, Lavras era considerada uma área silenciosa e não vulnerável para LV, situação que se altera após Alvarenga e colaboradores (2014) encontrarem 20% de taxa de soropositividade em cães de um abrigo filantrópico da cidade (ALVARENGA, 2014). Seguindo as orientações do Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (BRASIL, 2014) para áreas com casos não vulneráveis, após a identificação do primeiro caso de LVC, a Vigilância em Saúde de Lavras do município iniciou o inquérito censitário canino. O inquérito consistiu na avaliação de 6.090 residências e testagem de 6.782 animais no período de junho de 2013 a junho de 2018, utilizando-se o teste rápido (TR) DPP® (Bio-Manguinhos/FIOCRUZ) como teste de triagem e o ELISA (EIE-LVC®) como confirmatório. Durante este período, um total de 759 animais apresentaram resultados positivos no TR, e destes, 443 animais foram positivos no TR e no ELISA, com a maioria dos casos concentrando-se nos seguintes bairros do município: Jardim Glória, Jardim das Alterosas e Joaquim Sales (CAICEDO, 2019).

Os flebotomíneos se adaptaram muito bem ao ambiente peridomiciliar e antropofílico, reproduzindo-se em maiores taxas nas regiões de contato com áreas de mata, geralmente coincidentes com regiões de construção de novos bairros e habitações. Considerando o aumento do número de casos caninos e humanos e a necessidade de conhecer a fauna flebotomínica de Lavras, foram realizados diferentes estudos utilizando coletas com armadilhas luminosas HP, tipo Shannon adaptada e ferramentas moleculares como a PCR para um diagnóstico mais preciso, identificando no período de outubro de 2013 à fevereiro de 2019 um total de 22 espécies de flebotomíneos no município, sendo as mais abundantes: *L. longipalpis*, *M. migonei*, *E. complex cortezzei* e *N. whitmani*. Não foram verificadas correlações significativas entre pluviosidade ou temperatura e abundância de flebotomíneos em nenhum dos estudos realizados (CASTRO et al., 2019; CAICEDO, 2019).

A diversidade de espécies de flebotomíneos no município vem sendo constatado por diversos estudos realizados anteriormente no município, e os primeiros relatos de *N. whitmani* e *P. fischeri*, bem como *E. cortezzei* em áreas rurais e urbanas de Lavras foram realizados por Barçante e colaboradores (2018) (BARÇANTE, 2018; MILGRES, 2018). Estas espécies tem sido encontradas com frequência em áreas endêmicas para LTA nas regiões Sudeste e Nordeste do Brasil, apresentam hábitos antropofílicos e são tipicamente encontradas no peridomicílio, em áreas de desmatamento recente e abrigos de animais (VIRGENS et al., 2008, TANURE,

2017). O DNA de *L. infantum* já foi detectado no estado de Minas Gerais em fêmeas das espécies *N. whitmani* e *E. cortelezzii* naturalmente infectadas, porém o papel destes flebotomíneos no ciclo de transmissão de LV ainda não estão esclarecidos (CARVALHO et al., 2008; SARAIVA et al., 2010; MARGONARI et al., 2010). Presente geralmente em regiões endêmicas para LTA e de comportamento semelhantes à *N. whitmani* e *E. cortelezzii*, espécimes de *Pintomia* sp. já foram encontradas em algumas regiões do Brasil com DNA de *Leishmania*, porém sua participação no ciclo da LV também é desconhecida (PITA-PEREIRA et al., 2011, TANURE, 2017).

Somado aos trabalhos de identificação da fauna flebotomínica em Lavras, Castro e colaboradores (2019) identificaram pela primeira vez o DNA de *Leishmania* spp em *L. longipalpis* na área urbana da cidade, o que reforça a importância desta espécie de flebotomíneo na epidemiologia da LVH e LVC (CASTRO et al., 2019).

Com relação à LTA, Lavras apresentou nos últimos 10 anos nove casos suspeitos notificados, sendo oito confirmados, sete tratados e fechados como cura e um óbito devido à toxicidade do medicamento utilizado no tratamento (BRASIL, 2017). Casos de LMC também foram notificados no município nos últimos 5 anos, o que demonstra a possível disseminação de diferentes espécies de *Leishmania* no município, como *L. braziliensis* e *L. amazonensis*. Embora não seja uma doença que apresente risco grave aos pacientes acometidos, a LTA pode levar a lesões desfigurantes e incapacitantes, necessitando de tratamento imediato para a resolução clínica do quadro cutâneo ou mucocutâneo.

A terapia com antimoniato de meglumina (AM) representa a primeira linha de escolha no tratamento da LTA, e nos últimos anos, a administração intralesional de antimoniato de meglumina (AM-IL) tem sido utilizada como uma alternativa relevante, já que apresenta maior segurança e reduz os efeitos colaterais quando comparada à administração intravenosa (DUQUE et al., 2016). A eficácia da utilização da AM-IL em um paciente do município de Lavras diagnosticado como positivo para *Leishmania* spp através da técnica de PCR foi comprovada por Narciso e colaboradores em 2018 (dados ainda não publicados). O paciente do sexo masculino, 22 anos de idade, relatou que uma pequena lesão apareceu após exposição múltipla a picadas de flebotomíneos ao visitar uma caverna no sul da Bahia. O exame clínico revelou úlcera com prurido de 2,5 cm de diâmetro com base granular e bordas elevadas, endurecidas, eritematosas e irregulares com tecido de granulação central e exsudato seroso. Iniciado o tratamento com AM-IL, cinco dias após a terceira sessão de AM-IL a lesão estava completamente epitelizada e sem infiltração local, o que indica a AM-IL como uma excelente

alternativa para o tratamento sistêmico, que por sua vez pode levar ao risco de toxicidade cardíaca, hepática, pancreática e renal. A cura clínica foi determinada pela cicatrização com reepitelização completa e achatamento das bordas da lesão, bem como desaparecimento do endurecimento da base e ausência de novas lesões após o seguimento de 8 meses. O paciente citado neste trabalho apresentou excelente resposta clínica e alcançou a cura completa após apenas três sessões de AM-IL, sem efeitos adversos ou necessidade de internação devido toxicidade do medicamento, demonstrando a segurança e eficácia desta forma de administração medicamentosa em pacientes com LTA.

Narciso (2016) confirmou através da utilização de *qPCR* a presença de *Leishmania* spp. em cães do município de Lavras, e avaliou a técnica de ELISA com a proteína rKDDR, encontrando um valor de sensibilidade de 88,54%, porém não avaliou o estado clínico dos animais. De forma a avaliar parâmetros clínicos associados ao diagnóstico da LVC e utilizando uma proteína recombinante para o diagnóstico sorológico, Gondim (2019) realizou o primeiro estudo exploratório de avaliação extrínseca de testes para diagnóstico da LVC no município de Lavras, utilizando técnicas moleculares como padrão de referência. O estudo concluiu que TR's e ELISA com a proteína recombinante KDDR-plus apresentam resultados satisfatórios apenas nos cães com presença de sinais clínicos, e resulta em resultados falsos negativos para cães assintomáticos. O trabalho também relatou o primeiro caso canino confirmado e notificado de LVC na cidade de Nepomuceno, vizinha à Lavras, demonstrando a expansão da doença canina com casos notificados e amostrados, e que pode se estender a outros municípios da região como Campo Belo, Ijaci e Ribeirão Vermelho (GONDIM, 2019).

Na epidemiologia da LV, geralmente a LVC se manifesta antes da LVH em uma área livre (DANTAS-TORRES; BRANDÃO-FILHO, 2006), e de forma semelhante, o primeiro caso de LVH no município de Lavras e no sul de Minas Gerais ocorreu em janeiro de 2017, cerca de quatro anos após o primeiro relato de LVC. A paciente em questão, do sexo feminino e 12 anos de idade, apresentava histórico de febre recorrente, anorexia, caquexia, fadiga crônica, perda de peso, edema unilateral palpebral esquerdo, tosse persistente e pancitopenia. Para o diagnóstico de LVH, foi utilizado o teste rápido confirmatório IT-LEISH® (DiaMed Latino-America SA, Suíça), bem como amostra de punção medular para PCR. O tratamento foi realizado com anfotericina B lipossomal, prescrita devido o quadro de Diabetes Mellitus tipo I descompensada apresentada pela paciente, que apresentou melhora clínica e recuperação completa em cerca de 60 dias. Este também foi o primeiro relato de leishmaniose visceral do sul de Minas Gerais, destacando a necessidade de manutenção de programas permanentes de

vigilância e controle na cidade e região, incluindo a busca ativa de flebotomíneos, casos humanos e caninos (NARCISO et al., 2018).

Desde então, sete novos casos de LVH foram diagnosticados no município, nos quais dois pacientes vieram à óbito durante o tratamento. Todos os pacientes receberam tratamento gratuito com antimoníato de meglumina (AM), e apenas duas pacientes receberam anfotericina B lipossomal devido ao quadro clínico delicado apresentado.

O conhecimento da distribuição geográfica dos flebotomíneos, casos de LVH e LVC em determinada região também é de grande importância para a definição de medidas de controle eficazes no combate à LV. Uma das ferramentas disponíveis para a elaboração destas medidas é a modelagem matemática, que nos permite projetar como as doenças podem progredir em determinado contexto epidemiológico, indicar a possibilidade de surtos e avaliar a eficácia de medidas de controle já implementadas, em especial para LV. Esta ferramenta permite avaliar também características espaciais e temporais já que a abundância dos flebotomíneos está também relacionada à sazonalidade (BUCKINGHAM-JEFFERY et al., 2019).

Rock e colaboradores (2015) contabilizaram em uma revisão 24 artigos abordando modelagem matemática relevante de LV, dos quais somente dois consideravam os aspectos espaciais da transmissão, indicando uma tendência contínua de excluir essa heterogeneidade na transmissão (ROCK et al., 2015). De forma a compreender melhor os fatores ecoepidemiológicos da LV, uma interessante alternativa é a utilização da modelagem matemática baseada em uma rede *multiplex*, composta por conjuntos de redes “L” (camadas) representando diferentes populações e suas interações em determinado conjunto de “N” nós. Cada nó é representado uma vez em cada camada de rede, e em modelos matemáticos nos quais os nós respondem por localizações geográficas, cada camada representa a rede de mobilidade da população enquanto cada subpopulação é representada em cada camada. Dessa forma, a rede *multiplex* captura a coexistência dentro de cada subpopulação bem como de diferentes tipos de agentes com diferentes preferências de mobilidade (D. SORIANO-PAÑOS et al., 2018).

Em um estudo recente realizado por Narciso e colaboradores (dados ainda não publicados), a partir do estudo de referência realizado por Soriano-Paños e colaboradores (2018) foi utilizado um modelo de rede *multiplex* buscando compreender melhor a heterogeneidade da transmissão da LV no município de Lavras. No cenário analisado, temos a interação de três populações (cães, humanos e flebotomíneos), distribuídas em um conjunto de amostras na qual o número de indivíduos de cada espécie em cada sistema é diferente. Cães e seres humanos podem ser infectados por flebotomíneos infectados e, por sua vez, flebotomíneos

suscetíveis também podem ser infectados por cães infectados no mesmo sistema. A transmissão da LV ocorre de acordo com o modelo SIR (suscetível infectado removido) para flebotomíneos e o modelo SIS (suscetível infectado suscetível) para humanos e cães, diferença necessária para manter a população humana e de cães constante. Os parâmetros de infecção foram estimados a partir de abordagens experimentais realizadas previamente por Burattini (1998) e Kaabi (2018), e os dados secundários utilizados foram fornecidos pela Vigilância em Saúde de Lavras (BURATTINI et al., 1998; KAABI et al, 2018). Como principais resultados, foi observado que uma densidade estável e baixa de flebotomíneos infectados é capaz de manter um estado com poucos cães e humanos infectados, o que corrobora com o estado endêmico da LV em Lavras. A mobilidade das populações demonstrou-se fator essencial para a disseminação da doença, a correlação temporal entre os indivíduos infectados (cães, humanos e flebotomíneos).

As informações obtidas nestes trabalhos podem ser de grande utilidade para o estabelecimento de medidas de controle e estratégias de prevenção para as leishmanioses no município e em qualquer região do país que esteja em situação endêmica, reforçando também a necessidade de novas pesquisas na área de modelagem matemática aplicada às Doenças Negligenciadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKHOUNDI, M. et al. A historical overview of the classification, evolution, and dispersion of *Leishmania* parasites and sandflies. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 3, e0004349, 2016.
- ALEXANDER, B.; USMA, M. C. Potential sugar sources of *Lutzomyia youngi* (Diptera: Psychodidae) in a Colombian coffee plantation. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 88, n. 5, p. 543-549, 1994.
- ALEXANDER, B. et al. Ecology of phlebotomine sand flies in a focus of *Leishmania braziliensis* in Northeastern Colombia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, p. 387-395, 1992.
- ALVAR, J. et al. Case study for a vaccine against leishmaniasis. **Vaccine**, v. 31, p. 244-249, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.11.080>. Acesso em: 30/10/19.
- ALVARENGA, I. M. et al. Avaliação dos resultados obtidos a partir da realização dos exames de DPP® e ELISA em cães de uma área endêmica para leishmaniose visceral canina. **Anais do XXIV Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia (XXIV CBP) e do XXIII Congresso Latinoamericano de Parasitologia – CLP/FLAP**, 2015, Salvador, 1 CD ROM.
- BARCANTE, T. A. et al. First report of *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) and *Pintomyia fisheri* (Pinto, 1926) in a transmission area of American cutaneous leishmaniasis, in south of Minas Gerais state, Brazil. **Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research**, v. 7, p. 99-101, 2018.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Casos de Leishmaniose Tegumentar. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas (1990 a 2015). **Sistema de Informação de Agravos de Notificação, Brasília/DF**, 2016.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, Brasília/DF, 2017.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, Brasília/DF, 120 p., 2014.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Nota informativa nº 3/2018. CGLAB/DEVIT/SVS/MS**, Brasília, 3 p., 2018.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Nota técnica conjunta Nº 11/2016/CPV/DFIP/SDA/GM/MAPA**, Brasília, 2016.
- BRAZIL, P. P.; BRAZIL, B. G. Biologia de flebotomíneos neotropicais. Disponível em: **Flebotomíneos do Brasil**, Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 257 – 274, 2003.

BUCKINGHAM, J. E. et al. Spatio-temporal modelling of *Leishmania infantum* infection among domestic dogs: a simulation study and sensitivity analysis applied to rural Brazil. **Parasites and Vectors**, v. 12, 2019.

BURATTINI, M. N. et al. Modelling the dynamic of leishmaniasis considering human, animal host and vector population. **Journal of Biological Systems**, v. 6, p. 337-356, 1998.

BURZA, S., CROFT, S. L., BOELAERT, M. Leishmaniasis. **The Lancet**, v. 392, p. 951 – 970 2019.

BLANCO, Y. A. C. **Identification and observational epidemiological study of flebotomine fauna (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the transmission area of canine visceral leishmaniasis in the municipality of Lavras-MG, Brazil**. 2019. 49p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de Lavras, 2019.

CARVALHO, G. M. L. et al. Naturally Infected *Lutzomyia* Sand Flies in a *Leishmania*-Endemic Area of Brazil. **Vector-Borne Zoonotic Diseases**, v. 8, p. 407-414, 2008.

CASTRO, J. C. Molecular detection of *Leishmania* spp in *Lutzomyia longipalpis* in the city of Lavras, Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 52, n. 9, e8224. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1414-431X20198224>, 2019.

CECCARELLI, R. S., et al. First case of autochthonous human visceral leishmaniasis in the urban center of Rio de Janeiro: case report. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, p. 81-84, 2014.

CHAGAS, E. et al. Leishmaniose visceral americana. (Nova entidade mórbida do homem na América do Sul) - Relatório dos trabalhos realizados pela Comissão Encarregada do Estudo da Leishmaniose Visceral Americana em 1936. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, n. 32, p. 321-385, 1937.

CLEMENTS, A. C. A. et al. Bayesian spatial analysis of a national urinary schistosomiasis questionnaire to assist geographic targeting of schistosomiasis control in Tanzania, East Africa. **International Journal for Parasitology**, v. 38, p. 401-415, 2008.

COURA-VITAL, W. et al. Evaluation of changes in canine diagnosis protocol adopted by the visceral leishmaniasis control program in Brazil and a new protocol for diagnosis. **Plos One**, v. 9, n. 3, e91009, 2014.

CUNNINGHAM, D. D. On the presence of peculiar parasitic organisms in the tissue of a specimen of Delhi Boil. **Scientific Memorial from Medical Office Army of India**, v. 1, p. 21-31, 1885.

SORIANO-PAÑOS, D. et al. Spreading Processes in Multiplex Metapopulations Containing Different Mobility Networks. **Physical Review X**, v. 10, v. 8, n. 3., 2018.

DANTAS-TORRES, F.; BRANDAO-FILHO, S. P. Leishmaniose visceral no Brasil: revisitando os paradigmas da epidemiologia e controle. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n. 3, p. 151-156, 2006. Disponível: <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652006000300007>. Acesso em 30/10/19.

DAVOUST, B. C. A twenty-year follow-up of canine leishmaniosis in three military kennels in southeastern France. **Parasites & Vectors**, v. 6, n. 1, 2013.

DEANE, M. P.; DEANE, L. M. Infecção natural do *Phlebotomus longipalpis* por leptomonas, provavelmente de *Leishmania donovani*, em foco de Calazar, no Ceará. **Hospital**, v. 45, p. 697 – 702, 1954.

DESMOULIÈRE, S. J. M. et al. Distribuição de flebotomíneos (Diptera: Psychodidea) na Amazônia legal através de técnicas de informática e geoprocessamento. **Caminhos de Geografia**, v. 11, n. 36, p. 142-149, 2010.

DIAS-LIMA, A. G.; CASTÉLLON, E. G.; SHERLOCK, I. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de uma floresta primária de terra firme da estação experimental de silvicultura tropical, estado do Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*; v. 33, p. 303-316, 2003.

DONOVAN, C. On the possibility of the occurrence of trypanosomiasis in India. **Brazilian Medical Journal**, v. 2, n. 79, 1903.

DOUGNON, I. **Migratory trends among two Malian ethnic groups, the Songhai and the Dogon, migrating to Ghana: A comparative study**. University of Bamako, Bamako, Mali, 2010.

FERNANDES, C. B. et al. Comparison of two commercial vaccines against visceral leishmaniasis in dogs from endemic areas: IgG, and subclasses, parasitism, and parasite transmission by xenodiagnoses. **Vaccine**, v. 32, n. 11, p. 1287–1295, 2014.

FORATTINI, O. P. Phlebotominae – Leishmanioses – Bartonelose. **Entomologia Médica**, Edgard Blucher. São Paulo, 1973.

FRIAS, L.; LELES, D.; ARAÚJO, A. Studies on protozoa in ancient remains - a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, p. 1-12, 2013.

GIANNUZZI, A. P. et al. Neurological manifestations in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*: descriptions of 10 cases and a review of the literature. **Journal of Small Animal Practice**, v. 58, p. 125-138, 2017.

GIBSON, M. E. The identification of kala azar and the discovery of *Leishmania donovani*. **Medical History**, v. 27, p. 203-213, 1983.

GOMES, C. M. et al. Complementary exams in the diagnosis of American tegumentary leishmaniasis. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 89, n. 5, p. 701-709, 2014.

GONDIM, C. N. **Diagnóstico da Leishmaniose Visceral canina em uma área de transmissão recente: mais de 25% dos cães soronegativos estavam infectados**. 103p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de Lavras, 2019.

GRAMICCIA, M.; GRADONI, L. The current status of zoonotic leishmaniases and approaches to disease control. **International Journal of Parasitology**, v.35, p. 1169-1180, 2005.

HOARDE, C. A. Early discoveries regarding the parasites of Oriental sore. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 32, p. 66-92, 1938.

KAABI, B.; ZHIOUA, E. Modeling and comparative study of the spread of zoonotic visceral leishmaniasis from Northern to Central Tunisia. **Acta Tropica**, v. 178, p. 19-26, 2018.

KAIMING, B. et al. Current Visceral Leishmaniasis Research: A Research Review to Inspire Future Study. **BioMed Research International**, v. 2018, 13p., 2018.

LAINSON, R., RANGEL, E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 811-27, 2005.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. The role of animals in the epidemiology of South American leishmaniasis. **Biology of the Kinetoplastida**, p. 1–116, 1979.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. Evolution, classification and geographical distribution. **The leishmaniasis in biology and medicine**, v. 1, 120 p., 1987.

LEE, B. Y. et al. The economic value of a visceral leishmaniasis vaccine in Bihar State, India. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 86, n. 3, p. 417-425, 2012.

LEISHMAN, W. B. On the possibility of the occurrence of trypanosomiasis in India. **British Medical Journal**, v. 1, p.1252-1254, 1903.

LIDANI, K. C. F. et al. Visceral Leishmaniasis and Natural Infection Rates of *Leishmania* in *Lutzomyia longipalpis* in Latin America. **The Epidemiology and Ecology of Leishmaniasis**, Mar. 2017.

LUNEV, S. et al. Identification and Validation of Novel Drug Targets for the Treatment of *Plasmodium falciparum* Malaria: New Insights. **Current Topics in Malaria**, v. 12, 2016.

MAGALHÃES, R. S. **A Leishmaniose Tegumentar: estudo do 1º foco ocorrido na cidade do Rio de Janeiro**. 2001. Dissertação. Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 69 p., 2001.

MAGALHÃES-JUNIOR, J.T. et al. Xenodiagnosis on dogs with visceral leishmaniasis: Canine and sandfly aspects related to the parasite transmission. **Veterinary Parasitology**, v. 223, p. 120–126, 2016.

MANCIANTI, F. et al. Studies on canine leishmaniasis control.1. Evolution of infection of different clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 82, n. 4, p. 566-567, 1988.

MANSON-BAHR, P. E. C. Old World leishmaniasis. **The Wellcome Trust Illustrated History of Tropical Diseases**, Londres, p. 206-217, 1996.

MARCONDES, M.; DAY, M. J. Current status and management of canine leishmaniasis in Latin America. **Research in Veterinary Science**, v. 1, n. 22, 2019.

- MARGONARI, C. et al. Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae) and *Leishmania* Infection in Gafanhoto Park, Divinópolis, Brazil. **Journal Medical Entomology**, v. 47, p. 1212-1219, 2010.
- MARINHO, D. S. et al. Health economic evaluations of visceral leishmaniasis treatments: a systematic review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 2, 2015.
- MARSHALL, J. M. Mathematical models of human mobility of relevance to malaria transmission in Africa. **Scientific Reports**, v. 8, 2018.
- MARZOCHI, M. C. A. A leishmaniose tegumentar no Brasil. **Grandes endemias brasileiras**. Brasília: Editora Universidade de Brasília, 1989.
- MASPERO, G. The Dawn of Civilization - Egypt and Chaldaea. **London: Society for the Promotion of Christian Knowledge**, p. 218, 1910.
- MILAGRES, T. F. et al. *Evandromyia cortelezzii* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in an Endemic Area of Leishmaniasis, Lavras, Brazil. **Annals of Clinical Cytology and Pathology**, 2018.
- MORENO, J.; ALVAR, J. Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 9, p. 399-405, 2002.
- NAVAS, A. L.A et al. Modeling *Schistosoma japonicum* Infection under Pure Specification Bias: Impact of Environmental Drivers of Infection. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, 2019.
- NARCISO, T. P. **Investigação do estado da leishmaniose visceral canina no município de Lavras – MG**. 2016. 43 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.
- NARCISO, T. P. et al. First report of an autochthonous human visceral leishmaniasis in a child from the South of Minas Gerais State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 61, 2018.
- NICOLLE, C.; COMTE, C. Origine canine du kala-azar. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, v. 1, p. 299-301, 1908.
- OPAS, Organização Pan-Americana da Saúde. **Informe de Leishmanioses**, n. 6, fev., 2018.
- PALATINIK-DE-SOUZA, C. B.; DAY, M. J. One Health: The global challenge of epidemic and endemic leishmaniasis. **Parasites and Vectors**, v. 4, 2011.
- PENNA, H.A. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brasil Médico**, n. 48, p. 949-950, 1934.
- PITA-PEREIRA, D et al. *Lutzomyia (Pintomyia) fischeri* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), a probable vector of American Cutaneous Leishmaniasis: Detection of natural infection by *Leishmania (Viannia)* DNA in specimens from the municipality of Porto Alegre (RS), Brazil. **Acta Tropica**, v. 120, p. 273-275, 2011.

- PONTE-SUCRE, A. et al. Drug resistance and treatment failure in leishmaniasis: A 21st century challenge. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n.12, e0006052, 2017.
- RIBEIRO, M.E.S. Canine Leishmaniasis: An Overview of the Current Status and Strategies for Control. **BioMed Research International**, v. 2018.
- ROCK, K. S. et al. Uniting mathematics and biology for control of visceral leishmaniasis. **Trends in Parasitology**, v. 31, p. 251-259, 2015.
- ROMERO, G. A. S. et al. Efficacy and safety of available treatments for visceral leishmaniasis in Brazil: A multicenter, randomized, open label trial. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 6, e0005706, 2017.
- ROSS, R. Further notes of Leishman's bodies. **British Medical Journal**, v. 2, p. 1401, 1903.
- SARAIVA, L. et al. 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**, v. 105, n. 8, 2010.
- SBRANA, S. et al. Retrospective study of 14 cases of canine arthritis secondary to *Leishmania* infection. **Journal of Small Animal Practice**, v. 55, n. 6, p. 309–313, 2014.
- SCOTT, P.; NOVAIS, F.O. Cutaneous leishmaniasis: immune responses in protection and pathogenesis. **Nature Reviews Immunology**, v. 16, p. 581-592, 2016.
- SHERLOCK, I. A.; SHERLOCK, V. A. Métodos práticos para criação de flebotomíneos em laboratório. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 32, p. 209-217, 1972.
- SHIMOZAKO, H. J. Mathematical modelling for zoonotic visceral leishmaniasis dynamics: a new analysis considering updated parameters and notified human Brazilian data. **Infectious Diseases Modelling**, v. 2, p. 143-160, 2017.
- SILVA, R. E. et al. Towards a standard protocol for antimony intralesional infiltration technique for cutaneous leishmaniasis treatment. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, p. 71-79, 2018.
- SOARES MAGALHÃES, R. J. et al. Mapping the Risk of Soil-Transmitted Helminthic Infections in the Philippines. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, e0003915, 2015.
- SOLANO-GALLEGO, L. G et al. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniasis. **Parasites and Vectors**, v. 4, 2011.
- STEVERDING, D. The history of leishmaniasis. **Parasites and Vectors**, v. 10, n. 82, 2017.
- TANURE, A. **Estudo dos flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) na localidade de Casa Branca, município de Brumadinho, área de transmissão para leishmanioses no Estado de Minas Gerais**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte, 2017.

TWINING, W. Observations on diseases of the spleen particularly on the vascular engorgement of that organ common in Bengal. **Transactions of Medical and Physiology Society of Bengal**, v. 3, p. 351-412, 1827.

VALE, E. C. S.; FURTADO, T. Tegumentary leishmaniasis in Brazil: a historical review related to the origin, expansion and etiology. **Anais Brasileiros em Dermatologia**, v. 80, n. 4, p. 421-428, 2005.

VALVERDE, R. **Doenças Negligenciadas**. Fundação Oswaldo Cruz, Ministério da Saúde, 2013. Disponível em: <https://agencia.fiocruz.br/doencas-negligenciadas>. Acesso em: 30/10/19.

VIRGENS, T. M. et al. Phlebotomine sand flies (Diptera, Psychodidae) in an American tegumentary leishmaniasis transmission area in northern Espírito Santo State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, p. 2969-2978, 2008.

WHO. The World Health Organization. **Global Burden of Disease Geneva**, 2016. Disponível em: <http://www.who.int/trade/glossary/story036/en/>. Acesso em: 30/10/19.

WHO. The World Health Organization. **Leishmaniasis**. 2019. Disponível em: <https://www.who.int/leishmaniasis/en/>. Acesso em 30/10/19

YOUNG, D. G.; DUNCAN, M. A. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). **American Entomological Institute**, p. 419, 1994.

ZINK, A. R. et al. Leishmaniasis in Ancient Egypt and Upper Nubia. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, p. 1616-167, 2006.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1 – First report of an autochthonous human visceral leishmaniasis in a child from the south of Minas Gerais state, Brazil

ARTIGO 2 – *Evandromyia cortelezzii* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in an endemic area of leishmaniasis, Lavras, Brazil

ARTIGO 3 – First report of *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) and *Pintomyia fisheri* (Pinto, 1926) in a transmission area of american cutaneous leishmaniasis, in south of Minas Gerais state, Brazil

First report of an autochthonous human visceral leishmaniasis in a child from the South of Minas Gerais State, Brazil

Thiago Pasqua Narciso¹, Richardson Costa Carvalho^{2,3}, Luciano Carvalho Campos^{4,5}, Agostinho Gonçalves Viana⁶, Ricardo Toshio Fujiwara⁶, Thales Augusto Barçante², Ingrid Marciano Alvarenga¹, Joziana Muniz de Paiva Barçante²

ABSTRACT

American visceral leishmaniasis (VL) is a vector-borne disease transmitted by some species of phlebotomine sandflies from the genus *Lutzomyia*. This neglected tropical zoonosis shows increasing urbanization process, since the end of the 1980s. After the emergence of foci of the disease in urban areas, VL has assumed an important role in public health. Although VL is widely prevalent in several parts of the world, diagnosing the illness is still difficult. We present a case of a 12-year-old girl with a history of recurrent fever, anorexia, cachexia, chronic fatigue, weight loss, left palpebral unilateral edema, persistent cough and pancytopenia. A diagnosis of VL was performed using a reference immunochromatographic rapid test. Identification of the infecting protozoan was directly obtained by PCR of bone marrow. The patient responded favorably to treatment using liposomal amphotericin B. This is the first report of human visceral leishmaniasis in the city of Lavras in the South of Minas Gerais State. This first report of VL highlighted the need of maintenance of permanent surveillance and control programs in the city of Lavras, including the active search of sandflies, human and canine cases. The current situation of Lavras should also be taken as an alert to other near cities where favorable eco-epidemiological conditions may exist.

KEYWORDS: Leishmaniasis. Neglected diseases. Vector-borne disease.

INTRODUCTION

American visceral leishmaniasis (VL) is a vector-borne disease transmitted by some species of phlebotomine sandflies from the genus *Lutzomyia*¹. VL is endemic in at least 98 tropical and subtropical countries on five continents². This neglected tropical disease is the most severe clinical form of leishmaniasis, and it has an estimated incidence of 500,000 new cases and 60,000 deaths per year³. Brazil is among the six countries that harbor over 90% of the cases worldwide⁴.

VL is characterized by irregular bouts of fever, weight loss, enlargement of the spleen and liver, and anaemia⁵. The disease is fatal if untreated with a fatality rate in developing countries that can reach 100% within two years⁶. In this way, early diagnosis is considered an essential component of VL control.

After the emergence of foci of the disease in urban areas, visceral leishmaniasis (VL) has assumed an important role in public health⁷. The first autochthonous case of visceral leishmaniasis in Minas Gerais State was detected in Belo Horizonte in 1959. In the last 59 years, the disease has spread to other regions of the State

¹Universidade Federal de Lavras, Departamento de Medicina Veterinária, Lavras, Minas Gerais, Brazil

²Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciências da Saúde, Lavras, Minas Gerais, Brazil

³Vigilância Epidemiológica, Secretaria da Saúde, Prefeitura de Lavras, Minas Gerais, Brazil

⁴Santa Casa de Misericórdia de Lavras, Minas Gerais, Brazil

⁵Prefeitura Municipal de Lavras, Minas Gerais, Brazil

⁶Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Parasitologia, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

Correspondence to: Joziana Muniz de Paiva Barçante
Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciências da Saúde, Campus Universitário, Aqueanta Sol, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brazil
Tel: +55 35 99195-5858, +55 35 3829-5250

E-mail: joziana@dsa.ufla.br,
jbarcante@gmail.com

Received: 7 May 2018

Accepted: 19 July 2018

as the number of human and canine cases of VL has substantially increased, suggesting an expansion in the rate of transmission of the disease.

In January 2017, the first autochthonous case of human visceral leishmaniasis was diagnosed in the Southern region of Minas Gerais State, which elevated to 226 the number of municipalities with reported cases of human VL.

Lavras is a city in Southern Minas Gerais State, Brazil located at an altitude of 919 m (21°14'43"S 44°59'59"W). Lavras has a population of roughly 99,229 inhabitants and the total area of the city is 564.7 km².

CASE REPORT

A 12-year-old healthy female patient was hospitalized in December 2016 with a one-month history of recurrent fever, anorexia, cachexia, chronic fatigue, weight loss, left palpebral unilateral edema, persistent cough and pancytopenia. Physical examination revealed that she was hypochromic, icteric (++)/4, with normal bowel sound, and had a mild splenomegaly. Abdominal examination was otherwise normal. Blood laboratory assessments are presented in Table 1. During the period of one month, the patient was hospitalized and her clinical status slowly progressed to a wasting disease.

There was no serological evidence of HIV infection, hepatitis C, hepatitis B, liver disease or alcohol abuse. However, the patient presented a severe metabolic decompensation due to diabetes.

In the present case, 20 days have passed since the appearance of the first symptoms until the definitive diagnosis of VL using a reference immunochromatographic rapid test based on the rK39 antigen (IT-LEISH®, DiaMed Latino-America SA, Switzerland). Examination of the bone marrow aspirate revealed some structures that resembled *Leishmania*

fragments. Identification of the infecting protozoan was directly obtained by PCR of the bone marrow sample using the primers 5-TTTTCTGGTCCCGCGGGTAGG-3 and 5-CCACCTGGCCTATTTTACACCA-3 (Figure 1).

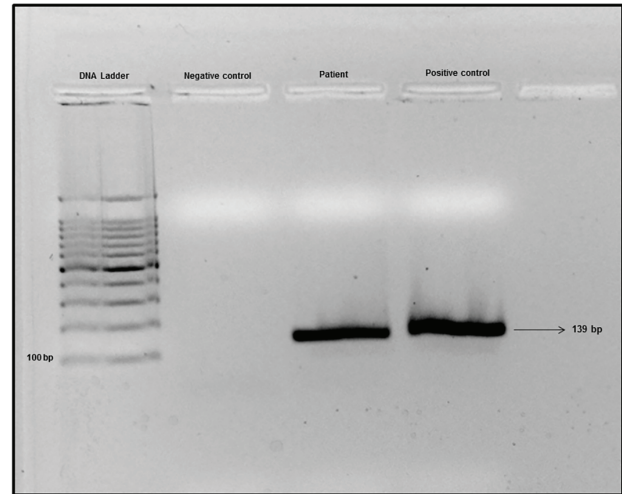


Figure 1 - Gel electrophoresis of PCR products. Lane 1, DNA ladder 100 bp. Lane 2, negative control. Lane 3, sample of patient. Lane 4, *Leishmania infantum* DNA - positive control.

Treatment was initiated in January 6th, 2017, with a daily regimen of 4 mg/kg/day of liposomal amphotericin B (LAMB - AmBisome®, United Medical, Brazil), during five consecutive days, totaling 20 ampoules or 1 g of liposomal amphotericin B. Glycemia was stabilized with the use of 4 UI of subcutaneous insulin (Humulin®, Eli Lilly do Brasil Ltda). The patient experienced an uneventful recovery and was discharged five days after the beginning of the use of LAMB, and is currently being followed as an outpatient, demonstrating clinical improvement. Laboratory exams performed on days 1 and 15 after treatment are presented in Table 1.

Table 1 - Laboratory data at admission to the inpatient unit, during and after treatment with liposomal amphotericin B

	Reference values	Beggining of treatment	Day 1 aet	Day 15 aet
Hemoglobin (g/dL)	12-16	9.4	9.1	8.9
Hematocrit (%)	36-48	31.1	28.3	32.1
Red blood cells (10 ¹² /L)	4-5.8	3.89	3.7	3.95
Total White blood cells (/mm ³)	4-11	2.6	3	4
Band neutrophils (/mm ³)	0-3	6	4	20
segmented neutrophils (/mm ³)	40-75	53	28	63
Platelet (/mm ³)	150-450	174	100	330
Glucose (mg/dL)	60-99	361	79	110
AST (U/L)	< 36	643	1614	22
ALT (U/L)	19-44	472	804	25

AST – aspartate transaminase; ALT – alanine transaminase; Aet - after the end of treatment

DISCUSSION

Human visceral leishmaniasis is usually preceded by canine cases⁸⁻¹⁰. In this way, the detection of new geographical areas of canine VL is a critical point for starting or improving the epidemiological surveillance of leishmaniasis⁹.

It is indisputable that if not suspected or left untreated, VL has devastating consequences. Therefore, it is of great clinical importance that health professionals be familiar with the clinical patterns of VL to avoid delayed or missed diagnosis¹¹. Since the first confirmed case of canine VL in 2013, and the first report of *Lutzomyia longipalpis* in the municipality of Lavras in 2015¹², several health education actions were implemented by the authors, who were aware of the importance of the disease and the early diagnosis and treatment. These actions were applied to health professionals, teachers of elementary and secondary education schools and throughout the community by the distribution of explanatory brochures, flipcharts, and lectures. Health education is considered an important tool in controlling leishmaniasis¹³. Of note, the delay and failure in the early diagnosis leading to health worsening, often evidence the negligence of the disease by health professionals^{12,14,15}. In the present case, 20 days have passed since the appearance of the first symptoms until the definitive diagnosis. As such, health education actions might be important in the rapid diagnosis of the patient and consequently to improve the success of the early beginning of correct treatment.

According to the Brazilian Ministry of Health, the primary treatment of visceral leishmaniasis should be with Glucantime^{®11}. However, in the reported case, due to a severe metabolic decompensation related to diabetes, the treatment was conducted using the LAMB, resulting in a rapid resolution of symptoms. Five days after the beginning of the use of LAMB, the patient was discharged. Fifteen days after treatment, all hematological parameters returned to normal. Romero *et al.*¹⁶, during the assessment of efficacy and safety of the currently recommended treatments for VL in Brazil, point towards a recommendation for the use of LAMB as the first line treatment for VL in Latin American countries. LAMB presents an acceptable efficacy profile, lower toxicity and shorter administration time when compared to Glucantime. Results on the safety and efficacy of LAMB were also shown by other groups in Europe¹⁷⁻¹⁹.

In this study, the patient presented jaundice (++/4). Although jaundice and ascites are considered rare features in VL²⁰, other studies have demonstrated that different degrees of jaundice has been observed as an usual clinical presentation, particularly in children^{21,22}.

After this first report of human VL, other four cases were diagnosed in the city of Lavras in 2017: a 36-year-old man, a 1-year-old child, a 38-year-old woman and a 3-year-old child. Furthermore, four cases of tegumentary leishmaniasis were also diagnosed in 2017. These reports highlighted the need of maintenance of permanent surveillance and control programs in the city of Lavras, including the active search of sandflies, human and canine leishmaniasis cases. The current situation of Lavras should also be taken as an alert to other near cities where favorable eco-epidemiological conditions may exist.

ACKNOWLEDGMENTS

We wish to thank the Health Surveillance, Epidemiological Surveillance and Environmental Surveillance of the city of Lavras for their support and for providing the patient's data.

REFERENCES

1. Bauzer LG, Souza NA, Maingon RD, Peixoto AA. *Lutzomyia longipalpis* in Brazil: a complex or a single species? A mini-review. Mem Instituto Oswaldo Cruz. 2007;102:1-12.
2. Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PLoS One. 2012;7:e35671.
3. Belo VS, Werneck GL, Barbosa DS, Simões TC, Nascimento BW, Silva ES, et al. Factors associated with visceral leishmaniasis in the Americas: a systematic review and meta-analysis. Plos Negl Trop Dis. 2013;7:e2182.
4. Sousa-Gomes ML, Romero GA, Werneck GL. Visceral leishmaniasis and HIV/AIDS in Brazil: are we aware enough? Plos Negl Tropic Dis. 2017;11:e0005772.
5. World Health Organization. Leishmaniasis. [cited 2018 July 19]. Available from: <http://who.int/leishmaniasis/en/>
6. Bora D. Epidemiology of visceral leishmaniasis in India. Natl Med J India. 1999;12:62-8.
7. Marzochi MC, Coutinho SG, Souza WJ, Toledo LM, Grimaldi Júnior G, Momen H, et al. Canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil: clinical, parasitological, therapeutical and epidemiological findings. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1985;80:349-57.
8. Werneck GL. Forum: geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Introduction. Cad Saude Publica. 2008;24:2937-40.
9. Quinnell RJ, Courtenay O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. Parasitology. 2009;136:1915-34.
10. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Casos confirmados de leishmaniose visceral, Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas: 1990 a 2013. [cited 2018

- July 30] Available from: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/setembro/09/LV-Casos.pdf>
11. Silva GA, Boechat TO, Ferry FR, Pinto JF, Azevedo MC, Carvalho RS, et al. First case of autochthonous human visceral leishmaniasis in the urban center of Rio de Janeiro: case report. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2014;56:81-4.
 12. Barçante TA, Botelho MC, Freitas HF, Soares GD, Barçante JM. First report of the main vector of visceral leishmaniasis in America, *Lutzomyia longipalpis* (Lutz, Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), in southern Minas Gerais State, Brazil. *J Vector Ecol*. 2015;40:412-4.
 13. Brasil, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar. Brasília: Ministério da Saúde; 2017. [cited 2018 July 30]. Available from: http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf
 14. Oyama J, Ferreira FB, Conter CC, Lera-Nonose DS, Ramos-Milaré AC, Venazzi EA, et al. American tegumentary leishmaniasis: diagnostic and treatment challenges in a clinical case. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2018;60:e3.
 15. Silva GA, Eyer-Silva WA, Magalhães MC, Ferry FR, Pinto JF, Azevedo MC, et al. A novel case of human visceral leishmaniasis from the urban area of the city of Rio de Janeiro: autochthonous or imported from Spain? *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2017;59:e11
 16. Romero GA, Costa DL, Costa CH, Almeida RP, Melo EV, Carvalho SF, et al. Efficacy and safety of available treatments for visceral leishmaniasis in Brazil: a multicenter, randomized, open label trial. *Plos Negl Trop Dis*. 2017;11:e0005706
 17. di Martino L, Davidson RN, Giacchino R, Scotti S, Raimondi F, Casragnola E, et al. Treatment of visceral leishmaniasis in children with liposomal amphotericin B. *J Pediatr*. 1997;131:271-7.
 18. Davidson RN, di Martino L, Gradoni L, Giacchino R, Gaeta GB, Pempinello R, et al. Short-course treatment of visceral leishmaniasis with liposomal amphotericin B (AmBisome). *Clin Infect Dis*. 1996;22:938-43.
 19. Syriopoulou V, Daikos GL, Theodoridou M, Pavlopoulou I, Manolaki AG, Sereti E, et al. Two doses of a lipid formulation of amphotericin B for the treatment of Mediterranean visceral leishmaniasis. *Clin Infect Dis*. 2003;36:560-6.
 20. Mamoon AB, Chowdhury ZA, Jahan K, Begum N, Chowdhury SA, Masum MA. Seroprevalence of kala-azar and its clinical presentation in a rural community of Bangladesh. *Orion*. 2005;22:291-3.
 21. Prakash A, Singh NP, Sridhara G, Malhotra V, Makhija A, Garg D, et al. Visceral leishmaniasis masquerading as chronic liver disease. *J Assoc Physicians India*. 2006;54:893-4.
 22. Rashid AM, Mamun AA, Rasul CH, Asrafuzzaman MD, Hossain M, Rahman MM. Jaundice in pediatric visceral leishmaniasis (kala-azar) patients. *J Med*. 2007;8:14-6.

Research Article

Evandromyia cortelezzii (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in an Endemic Area of Leishmaniasis, Lavras, Brazil

Tarcísio F. Milagres¹, Joseane C. Castro¹, Daniel I. Moulin², Yuly AC Blanco³, Ingrid M. Alvarenga³, Thiago P. Narciso³, Barçante TA², and Barçante JMP^{2,3*}

¹Department of Parasitology, Federal University of Minas Gerais, Brazil

²Department of Health Sciences, Federal University of Lavras, Brazil

³Department of Veterinary Medicine, Federal University of Lavras, Brazil

*Corresponding author

Barçante JMP, Department of Health Sciences, Federal University of Lavras, Brazil, Email: joziana@dsa.ufla.br

Submitted: 28 February 2018

Accepted: 26 March 2018

Published: 29 March 2018

ISSN: 2475-9430

Copyright

© 2018 Barçante et al.

OPEN ACCESS

Keywords

- Sand fly
- *Leishmania*
- Vector-borne disease

Abstract

The eco-epidemiology of leishmaniasis is driven by the presence of sand flies that serve as vectors infecting humans with *Leishmania* spp. parasites. The emergence and re-emergence of this disease across Latin America calls for further studies to identify geographical distribution of vectors and reservoir species associated. This is the first report of *Evandromyia cortelezzii* (Brèthes) occurrence at the urban area of Lavras, Minas Gerais State, Brazil. The sand flies were captured with HP luminous traps, during an investigative study. Nine specimens were collected and classified into the genus *Evandromyia*.

INTRODUCTION

Leishmaniasis is a vector-borne disease that affects approximately 12 million people in more than 98 countries. The disease remains a public health problem worldwide that can occur in cutaneous and visceral forms [1], caused by different species of *Leishmania* genus which transmit the disease to humans through phlebotominae bites [2].

In the Neotropical region, several phlebotominae species (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) are involved in the transmission of the disease. The subfamily Phlebotominae consists of about 800 species known worldwide and 98 of these are vectors proven or suspected of transmitting *Leishmania* sp., being among these species of the genus *Evandromyia* [3,4].

During the period from 2004 to September 2013, the Health Environmental Surveillance reported five cases of human ACL and more than 1,200 dogs infected with *L. infantum* (= *L. chagasi*) in the municipality of Lavras. Due to the risk of transmission of cutaneous and visceral leishmaniasis in Lavras, an entomological survey of phlebotominae sand flies was carried out in the city, aiming at detecting the presence of the vectors and to investigate the autochthony of the registered cases of the diseases. The geographical distribution of the sand flies species depends on their ability to adapt to different ecological niches [5]. In this way, knowledge about local phlebotominae fauna composition and the

behavior of sand flies species helps shed light on several aspects involved in the transmission of leishmaniasis and has been the focus of several investigations [6-8].

MATERIAL AND METHODS

Lavras is a city in Southern Minas Gerais state, Brazil; located at an altitude of 919 m. It has a population density of roughly 99,229 inhabitants and an area of the city is 564.7 km² (IBGE 2014).

The climate of the areas is of the CWA type according to the Köppen classification, with an average annual temperature of 19°C and average annual rainfall of 1,530 mm. In the soil sampling period, the temperature variation ranged from 10.0 to 33.8°C with an average temperature of 28°C and average precipitation of 14 mm (Meteorological Station of the Federal University of Lavras - UFLA). The town native vegetation is represented by a mosaic of different phytophysognomies of forest and Cerrado, which have been partially by substituted by pastures and agricultural crops, only small fragments of native vegetation remaining, usually quite anthropized [9].

The captures were undertaken by the teams from the Ambiental Surveillance and from the BIOPAR laboratory of the Universidade Federal de Lavras (BIOPAR/UFLA), in October 2014. The entomological survey was performed during three

consecutive nights for 12h per night (6:00pm to 6:00am). Twenty HP light traps were installed being ten in the urban area and ten in the rural area.

The second and most current source of information for the sand flies classification of the New World was proposed by [10]. Females were identified by transferring the guts of the sand flies to a drop of buffered saline on a microscope slide using a pair of mounted entomological pins. A cover slip was then placed over the drop and the thorax, sperm thecae and cibarium were examined under an optical microscope. The male specimens were prepared and mounted. A cover slip was then placed over the drop and the thorax and cibarium were examined under an optical microscope.

RESULTS AND DISCUSSION

During the period of September 2014 to October 2014, a total of nine phlebotomine as were collected and identified (5 male and 4 female) collected in the urban area were identified as belonging to the species *Evandromyia cortelezzii*.

The species *E. sallesi*, *E. spelunca*, *E. cortelezzii* and *E. corumbaensis*, are part of the complex *cortelezzii* [9,11]. These species have many similar morphological characteristics, generating errors in identification. Because of this difficulty, allied the morphological parameters, information on the geographical distribution are used to guide the classification of different species to each other, which further increases the importance of the reports of these flies in the entire Brazilian territory [11].

Evandromyia cortelezzi is present in many regions in Brazil. It was demonstrated that the three species of the complex *cortelezzi* including *Evandromyia cortelezzi* occur in all states of the Center-west Region, in the Southeast Region and Northeast Region [9,12,13]. The natural infections by the *Leishmania* spp. in this specie of sand flies are described in this country [14].

Although it is not considered an important species in the epidemiology of leishmaniasis in Brazil, *Evandromyia cortelezzi* has aroused scientific interest by virtue of its having been found naturally infected by *Leishmania infantum* in an endemic area for ACL in Argentina [15]. The authors found *Evandromyia cortelezzi* females naturally infected, thus reinforcing the hypothesis that the members of the *cortelezzii* complex act as vectors of the disease [15]. In that country it is considered to be the probable secondary vector species both for AVL and ACL [16].

In the present work, although the number of captured *Evandromyia cortelezzi* specimens was small, this species is rarely abundant in entomological surveys of sand flies in Brazilian leishmaniasis transmission areas [17]. Despite the low densities found, this is the first report of *Evandromyia cortelezzi* in the municipality of Lavras. The present record not only contributes to our knowledge of the geographical distribution of sand flies, but can also contribute to the epidemiology of leishmaniasis, including the possibility of new species in the transmission of the parasites.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful Andrey José de Andrade for all support during this work. This work was supported by Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (APQ 02553-14), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brazil and CAPES.

REFERENCES

1. Pavli A, Maltezou HC. Leishmaniasis an emerging infection in travelers. *Int J Infect Dis.* 2010; 14: 1032-1039.
2. Barreto MB, Carneiro AL, Torres FA, Sampaio RN. *Lutzomyia whitmani* is the main vector of American Cutaneous Leishmaniasis in the Brazilian Federal District and the most prevalent species in residential areas of the Administrative Region of Sobradinho. *An Bras Dermatol.* 2014; 89: 372-374.
3. Carvalho GM, Andrade Filho JD, Falcao AL, Rocha Lima AC, Gontijo CM. Naturally infected *Lutzomyia* sand flies in a *Leishmania*-endemic area of Brazil. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 2008; 8: 407-414.
4. Saraiva L, Carvalho GML, Quaresma PF, Lima MR, Falcão AL, Andrade-Filho JD. Natural infection of *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) and *Evandromyia sallesi* (Galvão & Coutinho, 1939) (Diptera: Psychodidae) by *Leishmania infantum* chagasi Cunha and Chagas, 1937 in Minas Gerais, Brazil. *J Med Entomol.* 2009; 46: 1159-1163.
5. Carvalho GML, Brasil RP, Sanguinette CC, Andrade-Filho JD. Description of *evandromyia spelunca*, a new phlebotomine species of the *cortelezzii* complex, from a cave in Minas Gerais State, Brazil (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Parasit Vectors.* 2011; 4: 158.
6. Aguiar GM, Soucasaux T. Ecological aspects of phlebotomus of the parque nacional da serra dos Orgãos, Rio de Janeiro. I. Monthly frequency in human baits (diptera, psychodidae, phlebotominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1984; 79: 197-209.
7. Ximenes MF, Souza MF, Castellon EG. Density of sand flies (Diptera: Psychodidae) in domestic and wild animal shelters in an area of visceral leishmaniasis in the state of Rio Grande do Norte, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1999; 94: 427-432.
8. Kuhls K, Alam MZ, Cupolillo E, Ferreira GE, Mauricio IL, Oddone R, et al. Comparative microsatellite typing of new world *Leishmania infantum* reveals low heterogeneity among populations and its recent old world origin. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5: e1155.
9. Gomide PHO, Silva MLN, Castro GC, Soares CRFS, Oliveira AH, Curi N. Vegetation characterization in gully areas as basis for soil conservation. *Cienc Agrotec.* 2014; 38: 149-159.
10. Galati EAB. Morfologia e Taxonomia. In: Rangel EFR, Lainson, editors. 23-51. *Flebotomíneos do Brasil.* Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. 2003.
11. Carvalho GML, Brasil RP, Falcão AL, Andrade-Filho JD. Distribuição geográfica do complexo *cortelezzii* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) no Brasil. *Neotrop Entomol.* 2009; 38: 876-879.
12. Carvalho SMS, Guimarães EM, Souza YB, Braga VB, Vianna LC, Santos PR, et al. First report of *Lutzomyia cortelezzii* (Brèthes, 1923) in Ilhéus City, Bahia. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2005; 38: 442-443.
13. Alves JRC. Espécies de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) da Fazenda São José, Município de Carmo, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. 2008.

14. Andrade ARO, Dorval ME, Andrade SMO, Marques A, Lima Júnior MSC, Silva BAK, et al. First report of natural infection of phlebotomines for *Leishmania (Leishmania) chagasi* captured in Ponta Porã, on the border between Brazil and Paraguay. *Asian Pac J Trop Dis.* 2011; 1: 253-258.
15. Rosa J, Pereira DP, Brazil RP, Filho JD, Salomón O, Szelag E. Natural infection of *cortezzezii* complex (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) with *Leishmania braziliensis* in Chaco, Argentina. *Acta Tropica.* 2012; 123: 128-131.
16. Ministério Salud. *Leishmaniasis visceral.* 2010; 1-40.
17. Oliveira AG, Andrade Filho JD, Falcão AL, Brazil RP. Study of sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in the urban area of Campo Grande, Mato Grosso do Sul State, Brazil, from 1999 to 2000. *Cad Saúde Pública.* 2003; 19: 933-944.

Cite this article

Milagres TF, Castro JC, Moulin DI, Blanco YAC, Alvarenga IM, et al. (2018) *Evandromyia Cortezzezii* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in an Endemic Area of Leishmaniasis, Lavras, Brazil. *Ann Clin Cytol Pathol* 4(1): 1098.

First report of *nyssomyia whitmani* (antunes & coutinho, 1939) and *pintomyia fisheri* (pinto, 1926) in a transmission area of American cutaneous leishmaniasis, in south of minas gerais state, Brazil

Abstract

The epidemiology of American Cutaneous Leishmaniasis (ACL) is driven by the presence of vectors infecting humans with *Leishmania* spp parasites, in this way sand flies regarding to *Lutzomyia* genera. The emergence and re-emergence of this disease around the world calls for studies to identify geographical distribution of vectors and reservoir species associated with zoonotic transmission of the parasite. Although cases of ACL have been reported in Lavras, Minas Gerais State, Brazil, the epidemiological aspects of the disease remain unknown. In this way, an entomological survey of phlebotomine sand flies was carried out in the city, aiming at detecting the presence of potential vectors. HP traps light were able to capture a sample of phlebotomines composed of *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho) in the peridomiliary of both urban and rural area. In other hand, *Pintomyia fisheri* (Pinto, 1926) and *L. shannoni* (Dyar, 1929) were collected just in the rural area of the municipality. Despite the low densities found, this is the first report of *N. whitmani*, the main vector of ACL and *P. fisheri*, a potential vector of ACL in the municipality of Lavras. The present record not only contributes to our knowledge of the geographical distribution of sand flies, but can also be used to understanding of the epidemiological aspects of the *Leishmania* transmission that can be used to design better vector control strategies to mitigate the incidence of ACL in endemic areas.

Keywords: leishmaniasis, sand fly, Minas Gerais, distribution

Volume 7 Issue 3 - 2018

Thales A Barçante,¹ Yuly Andrea Caicedo Blanco,² Richardson Costa Carvalho,¹ Ingrid Marciano Alvarenga,² Tarcísio Freitas Milagres,³ Joseane Camilla de Castro,³ Thiago Pasqua Narciso,² Joziana MP Barçante^{1,4}

¹Department of Health Sciences, Federal University of Lavras, Brazil

²Department of Veterinary Medicine, Federal University of Lavras, Brazil

³Department of Parasitology, Federal University of Minas Gerais, Brazil

⁴Coordination of Prevention of Endemias, Federal University of Lavras, Brazil

Correspondence: Joziana MP Barçante, Department of Health Sciences, Post-graduation Program in Health Sciences, Federal University of Lavras, CEP 37200-000, Box Office 3037, Lavras, Minas Gerais, Brazil, Email joziana@dsa.ufla.br

Received: February 21, 2018 | **Published:** June 04 2018

Introduction

In the New World, several phlebotomize species (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) are involved in the transmission of parasites belonging to genus *Leishmania*. In an interesting way, sandflies are adapting to anthropic modifications. Some species which were restricted to their natural environment are now found near human dwellings, banana plantation and domestic animal shelters.¹ In Brazil, American Coetaneous Leishmaniasis (ACL) is widely distributed, with several cases having been reported throughout the country. ACL generally affect the skin and mucosal membranes of several terrestrial mammals' species. The spectrum of disease includes diffuse cutaneous leishmaniasis, mucosal disease or single ulcerative lesions, circular with well-defined raised borders and a bed of granulation tissue.² The etiological agents consist of different species of *Leishmania*, including *L. (V.) braziliensis*, *L. (L.) mexicana*, *L. (V.) panamensis* responsible for because the disease in the definite host through sandflies bites.^{3,4} During the period from 2004 to September 2013, the Vigilância Epidemiológica reported five cases of ACL, being two from rural area and three from urban areas in the municipality of Lavras. The patients' ages range from 30 to 81 years old. Due to the cases of ACL registered in Lavras, an entomological survey of phlebotomize sand flies was carried out in the city, aiming at detecting the presence of the vectors and to investigate the autochthony of the registered ACL cases. Knowledge about local sandflies fauna composition and behavior helps shed light on several aspects involved in the transmission of leishmaniasis and has been the focus of several investigations.^{1,5,6}

Material and methods

Lavras is a city in Southern Minas Gerais state, Brazil; located at an altitude of 919m (Figure 1). It has a population density of roughly 99,229 inhabitants and an area of the city is 564.7km² (IBGE 2014). The climate of the areas is of the Cwa type according to the Köppen classification, with an average annual temperature of 19°C and average annual rainfall of 1,530mm. In the soil sampling period, the temperature variation ranged from 10.0 to 33.8°C with an average temperature of 28°C and average precipitation of 14mm (Meteorological Station of the Federal University of Lavras - UFLA). The town native vegetation is represented by a mosaic of different phytophysionomies of forest and Cerrado, which have been partially by substituted by pastures and agricultural crops, only small fragments of native vegetation remaining, usually quite anthropized.⁷

The captures were undertaken by the teams from the Vigilância Ambiental and from the Laboratório de Biologia Parasitária of the Universidade Federal de Lavras (BIOPAR/UFLA), in October 2013. The entomological survey was performed during three consecutive nights for 12h per night (6:00pm to 6:00am). Eight HP light traps were installed being four in a small property equipped with a chicken houses and a kennel with near 500 dogs located at the boundary of the highway area and a small forest (Figure 2). The others four traps were installed in an urban area nearby chicken houses (Figure 2). The second and most current source of information for the sand flies classification of the New World was proposed by Galati,⁸ which uses 88 morphological characters in an attempt to resolve the characterization

of sand flies. All collected phlebotomies were identified according to the Galati classification system.⁸ Females were identified by transferring the guts of the sand flies to a drop of buffered saline on a microscope slide using a pair of mounted entomological pins. A cover slip was then placed over the drop and the thorax, sperm thecae and ciborium were examined under an optical microscope. The male specimens were prepared and mounted. A cover slip was then placed over the drop and the thorax and ciborium were examined under an optical microscope.

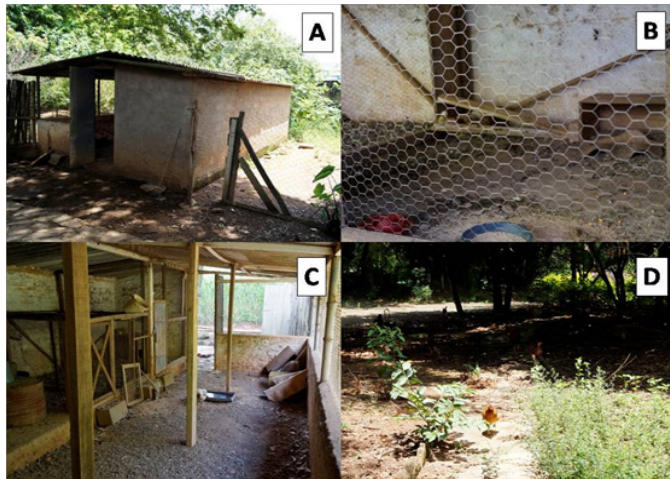


Figure 1 Places where sand flies were collected.

(A-D) Places near chicken house in the urban area of the Municipality of Lavras, Minas Gerais State, Brazil.

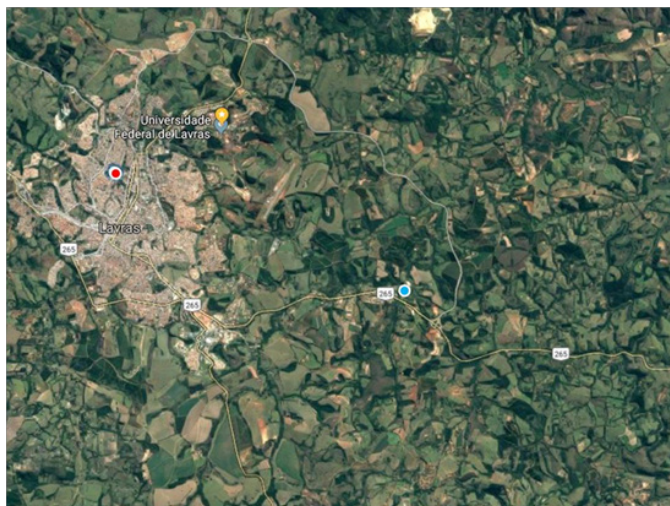


Figure 2 Spatial distribution of the entomological trapping sites in the urban area (red) and rural area (blue) of Lavras (Minas Gerais State, Brazil). The study was conducted September and October 2013.

Results and discussion

During the period of September 2013 to October 2013, a total of 10 phlebotomies were collected and identified as presented in Table 1. Six specimens (3 male and 3 female) collected in the urban area were identified as belonging to the species *L. (N.) whitmani*, all of them being

from the chicken houses (Figure 3). Barretto⁹ in his entomological studies in São Paulo, Brazil, considered *L. (N.) whitmani* as a silvatic species, although it could be found inside houses that were situated within or near the forest. At dusk it was found biting man, in addition to feeding on dogs and was shown to be present in large numbers in chicken houses.⁴



Figure 3 Map of Brazil, with emphasis on the state of Minas Gerais, where the specimens of sand flies were collected. The map also displays the Municipality of Lavras where the specimens were collected.

Nowadays, this sand fly is suggested to be the most important vector of ACL in Brazil.³ It has been recorded in a large number of endemic areas and in association with wide vegetation diversity.⁴ The aforesaid alterations in ecology, together with climatic changes, most probably account for the spread of ACL in Brazil in recent years.¹⁰ Similar to the observed by Costa et al.,⁴ and Shaw,¹¹ in this report *N. whitmani* appears to be a sand fly which adapts to new environments, such as degraded areas, in association with domestic animals and man in rural and urban areas. In the rural area, two different species of phlebotomies were collected near the kennel. *P. fisheri* has been registered in the Brazilian States of Central-east, Northeast, Southeast and South regions of the country. Lainson (1983), considering the abundance of this sandfly in deforested ACL areas, suggested that this species must be adapted to environmental changes, maintaining the transmission of *L. (V.) braziliensis* among wild animals in the secondary forested areas. This species has been adapting to per domestic rural habitats since 1953, reported to inhabit proximities of domestic animal shelters.^{4,5} Recently, *P. fisheri* has been found naturally infected by *L. (V.) braziliensis*.¹² Although *P. fisheri* present an anthropophagic behavior, there is some discussion concerning its preference for feeding on dogs and chickens.¹³⁻¹⁵ In the present study, *P. fisheri* was collected only in the rural area, near the kennel and chicken houses.

Conclusion

Despite the low densities found, this is the first report of *N. whitmani*, the main vector of ACL³ and *P. fisheri*, a potential vector of ACL in the municipality of Lavras. The present record not only contributes to our knowledge of the geographical distribution of sand flies, but can also be used to design better vector control strategies to mitigate the incidence of ACL in endemic areas.

Acknowledgements

This work was supported by the Minas Gerais Research Support Foundation (APQ 02553-14), National Council of Scientific and Technological Development, Brazil and CAPES.

Conflict of interest

Author declares there is no conflict of interest.

References

1. Ximenes MF, Souza MF, Castell'on EG. Density of sand flies (Diptera: Psychodidae) in domestic and wild animal shelters in an area of visceral leishmaniasis in the state of Rio Grande do Norte, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1999;94(4):427–432.
2. Bernardo G, Carvalho MLR. Leishmaniose tegumentar americana. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2003;36(1):71–80.
3. Barreto MB, Carneiro AL, Torres FAG, et al. *Lutzomyia whitmani* is the main vector of American Cutaneous Leishmaniasis in the Brazilian Federal District and the most prevalent species in residential areas of the Administrative Region of Sobradinho. *An Bras Dermatol.* 2014;89(2):372–374.
4. Costa SM, Cechinel M, Bandeira V, et al. *Nyssomyia whitmanis* (Antunes & Coutinho, 1939) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) and the epidemiology of American cutaneous leishmaniasis in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007;102(2):149–153.
5. Aguiar GM, Soucasaux T. Ecological aspects of phlebotomus of the parque nacional da serra dos Orgãos, Rio de Janeiro. I. Monthly frequency in human baits (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Mem Inst Oswaldo.* 1984;79(2):197–209.
6. Kuhls K, Alam MZ, Cupolillo E, et al. Comparative microsatellite typing of new world *Leishmaniain infantum* reveals low heterogeneity among populations and its recent old world origin. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011;5(6):e1155.
7. Gomide PHO, Silva MLN, Castro GC, et al. Vegetation characterization in gully areas as basis for soil conservation. *Cienc Agrotec.* 38(2):149–159.
8. Galati EAB. *Morfologia e Taxonomia*. In: Rangel EF, Lainson R, editors. *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. p. 23–51.
9. Barretto MP. *Observações sobre a biologia em condições naturais dos flebotomos do estado de São Paulo (Diptera: Psychodidae)*. Faculdade de Medicina da USP: São Paulo; 1943.
10. Shaw J. The leishmaniasis-survival and expansion in a changing world. A mini-review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007;102(5):541–547.
11. Shaw J. *How climatic and environmental variations affect the eco-epidemiology of the leishmaniasis and their control*. 3rd Workshop on Genetics and Molecular Biology of Tropical Disease Vector Insects. 2008. 13 p.
12. Rocha LS, Falqueto A, Santos CB, et al. Survey of natural infection by *Leishmania* in sand fly species collected in southeastern Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2010;104(7):461–466.
13. Souza NA, CA Andrade-Coelho CA, Vilela ML. Seasonality of *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), occurring sympatrically in area of cutaneous leishmaniasis in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2002;97(6):759–765.
14. Rangel EF, Lainson R. Proven and putative vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil: aspects of their biology and vectorial competence. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009;104(7):937–954.
15. Salom'on OD, Rossi GCi, Cousiño B, et al. Phlebotominae sand flies in Paraguay. Abundance distribution in the Southeastern region. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2003;98:185–190.